EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Meningeoma progresszió és kiújulás lehetséges molekuláris markereinek immunhisztokémiai és klinikopatológiai vizsgálata

DR. CSONKA TAMÁS

Témavezető: Dr. Hortobágyi Tibor

DEBRECENI EGYETEM

IDEGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

DEBRECEN, 2017.

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke 3

2. Bevezetés 5

3.Irodalmi áttekintés 6

3.1. Meningeomák 6

3.2. PARP fehérjecsalád 23

3.3. p53 fehérje 26

3.4. Progesteron receptor 29

3.5. Ki-67 fehérje, Mib1 antitest 31

4. Anyagok és módszerek 33

4.1 Első körben végzett vizsgálataink 35

4.2 Második körben végzett vizsgálataink 36

5. Eredmények 41

5.1 Első körben végzett vizsgálataink eredménye 41

5.2. Második körben végzett vizsgálataink eredménye 44

6. Megbeszélés 52

7. Összefoglalás 57

8. Summary 58

9. Köszönetnyilvánítás 59

10. Tárgyszavak 59

Magyarul: 59

Angolul: 59

11. Saját közlemények jegyzéke 60

12. Függelék 63

13. Irodalomjegyzék 66

1. Rövidítések jegyzéke

ATP	Adenosine tri-phosphate
ARTD1	ADP-ribosyltransferase D-type 1
AD	Aktiváló domain
AIF	Apoptosis indukáló factor
ATR	Ataxia teleangiectasia gén
ATM	Ataxia teleangiectasia mutated gén
BER	Base excision repair, báziskivágó javítás
CEA	Carcinoembrionalis antigén
CIN	Cervicalis intraepithelialis neoplasia
CHK	Checkpoint kinase
cAMP	Cyclicus-adenosine monophosphate
CD	Cluster of differentiation
CT	Computer tomograph
CDK	Cyclin dependens kinase
CK	Cytokeratin
DFC	Dense fibrillary component, tömött fibrillaris komponens
DBD	DNA-binding core domain, DNS kötő magi domain
DSB	Double strand DNA break, duplaszálú DNS törés
EMA	Epithelialis membrán antigén
ERK	Extracellularis-signal-regulált kinase
FFPE	Formalin-fixed paraffin-embedded, formalin-fixált és paraffinba ágyazott
GFAP	Glial fibrillary acidic protein, glialis fibrillaris savas fehérje
GSK3	Glucogen synthase kinase-3
HG	High grade, magas grádus
HIER	Heat induced antigene retrieval, hő indukálta antigén visszanyerés
H&E	Hematoxilin-eosin
hpf	High power field, nagy nagyítású látótér
HR	Homolog recombinatio
OD	Homo-oligomerisatios domain
IHC	Immunohistochemitsry, immunhisztokémia

LG	Low grade, alacsony grádus
Li	Labelling index, jelölődési index
MRI	Magnetic resonance imaging, mágneses rezonancia képalkotás
MAPK	Mitogen-aktivált protein kinase
Mib1	Molecular immunology Borstel 1
NF2	Neurofibromatosis 2
nNOS	Neuronalis nitrogén-monoxid synthetase
NAD+	Nicotinamide adenin dinucleotid
non-R/R	Nincs relapus/recurrencia
NFκB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NR3C3	Nuclearis receptor subfamily 3, group C, member 3
OS	overall survival, átlagos túlélés
PAS	Periodic acid and Schiff reagent, perjódsavas Schiff reagens
PAR	Poly(ADP-ribose)
PARP	Poly(ADP-ribose) polymerase
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis
PARG	Poly(ADP-ribose) glucohydrolase
PFS	Progression free survival, progresszió mentes túlélés
PR	Progesteron receptor
R/R	Relapsus/recurrencia
RB1	Retinoblastoma 1 gén
Si1-3	1+, 2+ és 3+ nuclearis pozitivitású sejtek aránya
Si2-3	2+ és 3+ nuclearis pozitivitású sejtek aránya
SNP	Single nucleotide polymorphismus
SSB	Single strand DNA break, egyszálú DNS törés
SDS	Sodium dodecyl sulfate
Si	Staining intensity, festődési erősség
TMA	Tissue microarray, szöveti multiblokk
WHO	World Health Organization, Egészségügyi Világszervezet
XRCC1	X-ray complementing gene 1

2. Bevezetés

A központi idegrendszeri daganatok a rutin pathologiai munkában speciális ismereteket igényelnek, emiatt számos neuro-onkológiai centrumban tapasztalt neuropathologus vizsgálja e mintákat. Az általuk analizált központi idegrendszeri tumorokon belül az agyhártya kiindulású meningeomák jelentős hányadot tesznek ki. Az esetek döntő többségében e tumorok leletezése nem ütközik nehézségekbe, de sajnálatosan vannak olyan esetek, melyek megnehezítik a neuropathologus napjait. Nyugati, fejlett, gazdag országokban a kiegészítő molekuláris vizsgálatok, epigenetikai elemzések hasznos segítséget nyújthatnak a napi rutin gyakorlatban is, és elérhetőek a mindennapi munka során. Azonban a kelet közép európai országokban, köztük Magyarországon is, az ilyen jellegű vizsgálatok rutin felhasználása még csak álom, sem anyagi, sem technikai feltételek nem adottak jelenleg.

Célkitűzésünk között szerepelt a Debreceni Egyetem Pathologiai Intézet Neuropathologiai Tanszékén olyan, a mindennapi rutin részét képezhető vizsgálatok kidolgozása, melyek segíthetik a neuropathologus munkáját, támpontot adhatnak a kérdéses esetekben, jelenleg is elérhetőek a pathologiai intézetekben, illetve költségigényük sem kiemelkedően magas. Emellett a visszatérő tumorok vizsgálata során olyan fehérjéket kerestünk, melyek segítséget nyújthatnak a veszélyeztetett populáció kiszűrésében, ezáltal a klinikusok mindennapi munkájában.

Munkámban olyan hagyományos immunhisztokémiai módszerekkel kimutatható fehérjéket vizsgáltunk, amelyek segítséget nyújthatnak a meningeomák grádusának meghatározásában, illetve támpontul szolgálhatnak a prognózis megítélésében a relapsus/recurrencia vonatkozásában. Ugyancsak fontos az egyes esetek kiújulása során, hogy ezen második daganatok milyen változáson mentek keresztül, hogyan „fejlődtek” tovább, emiatt vizsgáltuk, hogy ugyanabból a betegből származó mintában hogyan változnak az egyes fehérjék. Alapvetően olyan fehérjéket választottunk melyek egyrészt a DNS hibajavítás révén jelentősen befolyásolhatják a daganatok kialakulását, mint például a poly(ADP-ribose) polymerase. Másodsorban a genom integritásának a megőrzésében jelentősek és számos tumorban kimutatták közreműködésüket (p53); illetve a sejtosztódás aktív fázisában mutathatóak ki (Ki-67, Mib1 antitest). Valamint jómagunk is vizsgáltuk a sokak által elemzett progesteron receptort, ami közismerten fordítottan összefügg a grádussal, de a kiújuláshoz való viszonyáról kevesebbet tudunk.

3.Irodalmi áttekintés

3.1. Meningeomák

Definíció szerint a meningeomák, melyet Harvey Cushing (1869-1939) amerikai idegsebész nevezett így először 1922-ben, meningothelialis (arachnoidealis) sejtekből kialakuló daganatok, melyek tipikusan a dura mater belső felszínéhez tapadnak. Általában jóindulatú lefolyásúak, noha ritkán rossz prognózis is előfordulhat [1].

A meningeomák az egyik leggyakoribb intracranialis daganatok, általában sporadicusak, de lehetnek familiarisak is. Incidenciájuk korral nő, 60-70 éves korban a leggyakoribb; és enyhe női predominanciát mutatnak (1,7:1) [2-4]. A spinalis meningeomák azonban kifejezetten női predominanciájúak, 90%-ban nőket érint [5]. A meningeomák teszik ki az intracranialis daganatok csaknem 24-30%-át. Éves incidenciájuk körülbelül 13/100000 lakos [4]. Boncolások 1,4%-ban található incidentalisan meningeoma [6]. Az esetek mintegy 10%-ában multiplexek. Azon meningeomák, melyek tumor szindrómákhoz társulnak, például a Neurofibromatosis 2 (NF2) típushoz, fiatalabb korban jelentkeznek és enyhe férfi túlsúlyt mutatnak.

A meningeomák tipikusan lassan növő tumorok, lokalizációtól és mérettől függően klinikailag lehetnek teljesen tünetmentesek (ezek általában kisebbek, mint 2 cm). Ilyen esetekben kezelés nem feltétlenül szükséges. Azonban focalis nyomási tüneteket és következményes neurológiai deficitet (spasticus izomgyengeséget, aphasiát), diplopiát, fejfájást vagy epilepsziás epizódokat is okozhatnak, mely esetekben hagyományos vagy radio-sebészeti eljárás vehető igénybe, esetleg kiegészítve sugártherapiával. A meningeomák MRI-n (Magnetic Resonance Imaging, Mágneses Rezonancia Képalkotás) tipikusan isodens, kontrasztanyagot egyenletesen halmozó, dura materrel összekapaszkodott terimék. Az esetleges meszesedést (psammoma testeket) CT-vel (Computer Tomograph) lehet jól vizsgálni, illetve kontraszt anyag használatával tovább lehet pontosítani a diagnózist. Karakterisztikus jellemzője az úgynevezett dura farok, a tumorhoz kapcsolódó dura lemezben látható reaktív fibrovascularis szövet (ami nem tumoros infiltráció). Peritumoralis agyi vizenyő gyakrabban látható atypusos és anaplasticus esetekben [7].

Etiologiájuk nem teljesen tisztázott. Ám a teljes koponya besugárzás, mint rizikófaktor, jól ismert tény [8, 9], kifejezetten a skalpot érintő besugárzás, illetve atombomba túlélők körében. A sugárdózistól függően lehet meningealis daganat kialakulásával számolni: alacsony dózis esetében átlagosan 35 év, közepes dózis esetében átlagosan 26 év, míg nagy dózisok esetében 19-24 év elteltével [10]. A sugár-indukált meningeomák gyakrabban jelentkeznek fiatalabb korban és általában agresszívebb lefolyásúak [11-13]. A korábbi feltételezések ellenére a gyakori fogászati röntgen [14] és a mobiltelefon használat nem befolyásolja kialakulását [15]. A *Tinea Capitis Cohort Study* kimutatása alapján genetikai predispositio figyelhető meg a sugárhatásra kialakult meningeomás betegek esetében [16]. A nemi hormonok hatása még kevésbé tisztázott. Azonban a női perdominancia, a túlsúlyosság, az endogen/exogen hormon, a dohányzás kockázat fokozó hatása [17], valamint az oestrogen (átlagosan az esetek 40%-ban pozitív), a progesteron (átlagosan az esetek 88%-ban pozitív) és az androgen (átlagosan az esetek 39%-ban pozitív) hormon pozitivitás ezt támasztja alá [18].

X-chromosoma inactivatiós Southern blot analízis vizsgálatok kimutatták, hogy a meningeomák monoclonalis növedékek [19], valamint visszatérő esetekben a primer és a második daganat clonalisan megegyeznek [20]. Ugyancsak hasonló eredményt mutatott multiplex meningeomás betegek X-chromosoma inactivatiós és NF2 gén mutációs analízise is [21-23]. A meningeomák az egyik első olyan szolid daganatok voltak, ahol leírtak cytogenetikai eltéréseket, úgymint a 22-es chromosoma monosomiát [24] vagy a hosszú karjának deletioját [24-27]. Emellett atypusos és anaplasticus meningeomák esetében kiterjedtebb genetikai eltéréseket találtak: 1-es chromosoma rövid karjának deletioját, 6-os, 10-es, 14-es, 18-as chromosoma hosszú karjának vagy 19-es chromosomának az elvesztését [24, 28-34].

A 22-es chromosomán található Neurofibromatosis 2 gén deletioja, insertioja vagy nonsense mutációja megtalálható a sporadikus meningeomák 60%-ban [35-38], mely nem működő merlin fehérjét eredményez. Meglepő, hogy sugár indukálta meningeomákban az NF2 mutáció és a 22-es chromosoma vesztés ritka, valamint az 1p chromosoma eltérések kifejezetten gyakoriak [39-42]. Számos NF2 mutációval nem rendelkező családban is leírtak meningeoma halmozódást [38]. Ám más tumor szindrómák mint Gorlin (SUFU vagy PTCH1 germline mutációja) [43, 44], Werner vagy Cowden szindróma kapcsolata nem teljesen tisztázott [45, 46]. Jóindulatú intracranialis daganatok, úgymint a meningeomák, a schwannomák, a neurofibromák, a neuromák; emellett a melanomák és valószínűleg az emlő daganatok családi halmozódása is megnövekedett meningeoma kialakulási kockázattal jár [47]. A 22-es chromosomán elhelyezkedő egyéb gének közül a LARGE, a MN1, a BAM22 és a INI1

jön számításba, mint szerepet játszó tumor supressor gén [48-50]. Szintén gyakori a TRAF7, a KLF4, a AKT1 és a SMO gének eltérési benignus meningeomákban [51]. A rossz prognózist jelentő 9p21 régió deletioja gyakori jelenség az anaplasticus meningeomákban. Nemrégiben megjelent kutatások érdekes összefüggést mutattak ki a BRIP1 (17q22) három variánsa és a meningeoma kockázata között: ez a gén kódolja a FACJ fehérjét, mely a BRCA1-gyel lép kölcsönhatásba [52]. Emellett epigenetikai eltérések is szerepet játszhatnak a kialakulásukban [42]. Leggyakoribb epigenetikai eltérések meningeomák esetében a TIMP3, a TP73 vagy a RASSF1A promoter hypermetilatioja. A metilatiós státusz alapján kiválasztották a kiújulási kockázattal összefüggőeket (HOXA6, HOXA9, PENK, UPK3A és IGF2BP1), és egy egyszerűsített scoring rendszert is kidolgoztak [53]. Emellett a histon-modificatios rendszer zavara, valamint a micro-RNS-ek is hozzájárulhatnak a kifejlődésükhöz (miR-29c-3p; miR-190a; miR-219-5p; miR-200a; miR-145) [54].

Elhelyezkedésüket tekintve lehetnek intracranialis, intraspinalis vagy orbitalis lokalizációjúak. A koponyaűrben legtöbbször a convexitason (~19%) vagy a parasagittalisan (~25%) helyezkednek el, a falx cerebrihez kapcsolódva. Ugyancsak gyakori az sphenoidealisan (~17%), az olfactorius ideg és bulbus öblében (~8%), a parasellaris régióban (~9%), a tentoriumon (~3%) való lokalizáció. Az intraspinalis meningeomák leggyakrabban a mellkasi szakaszon találhatóak [55]. Az anaplasticus meningeomák áttétei főként a csontokban, a tüdőben, a pleurán és a májban találhatóak [56].

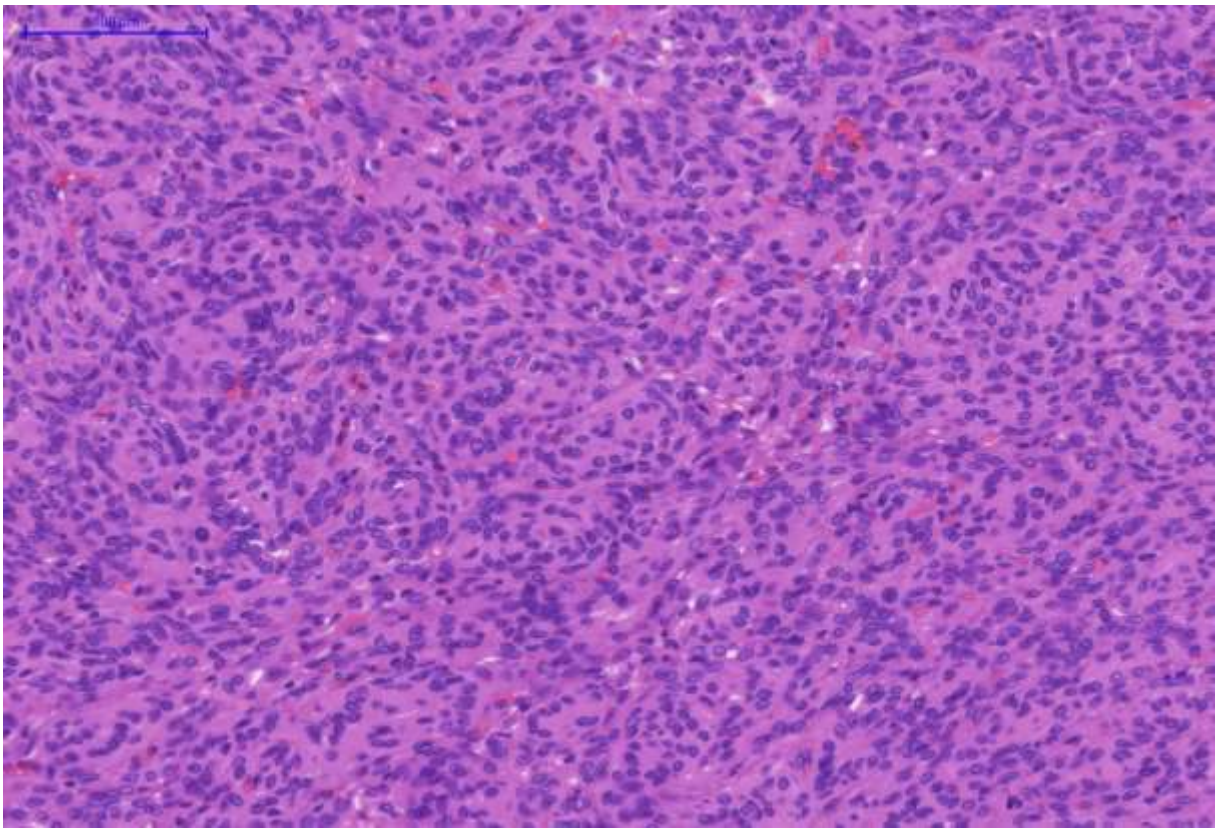
A pathologiai feldolgozás során makroszkóposan a meningeomák rugalmasan tömött, jól körülírt, néha lebenyezett, kerekded göbök (1. ábra). A kapcsolódó agyhártya, valamint duralis sinusok inváziója előfordulhat. Előrehaladott esetben a dura materen áttörve a koponyacsontot is beszűrhetik. A környező agyállományon gyakran benyomatot képeznek, de az agyi invázió ritka (ez esetben minimum WHO II-es gradusú a daganat), mikroszkóposan gyakran növi körbe az agyi ereket, de érbetörés ritkán látható.

1. ábra: Meningeoma makroszkópos képe. Az A ábrán a teljes, egészben eltávolított meningeoma, mely szeletelve a B ábrán látható (a későbbi szöveti feldolgozás során WHO I. grádusú fibrosus meningeomának bizonyult).

A meningeomák számos szöveti variánsa meghatározza a WHO (World Health Organization) grádust is. A grádus meghatározása a 2007-es *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System* alapján: a kórszövettani altípus, a morphologiai megjelenés és a megnövekedett mitotikus aktivitás alapján történik [57]. Eltérő glycosylatios mintázat látható az egyes meningeoma altípusokban, ami alapján a meningeoma sejtek pluripotens differentiatiojában szerepet játszó leptin vizsgálata fontos szerepet kaphat a későbbiekben [58]. Immunhisztokémiai vizsgálatokkal a meningeomák EMA-val (epithelialis membrán antigén), Vimentin és S100 markerrel általában pozitívak, azonban az EMA magasabb grádusokban gyengébben vagy ritkábban jelölődik. Mivel a vizsgálataink elvégzése során az akkor érvényben lévő 2007-es ajánlás alapján történt az esetek gradálása, a későbbiekben e kritériumokról lesz szó, a 2016-os kiadásban szereplő grádusbeli változtatásokat *dőlt betűvel* jelezzük.

Meningothelialis meningeoma (WHO I. grádus)

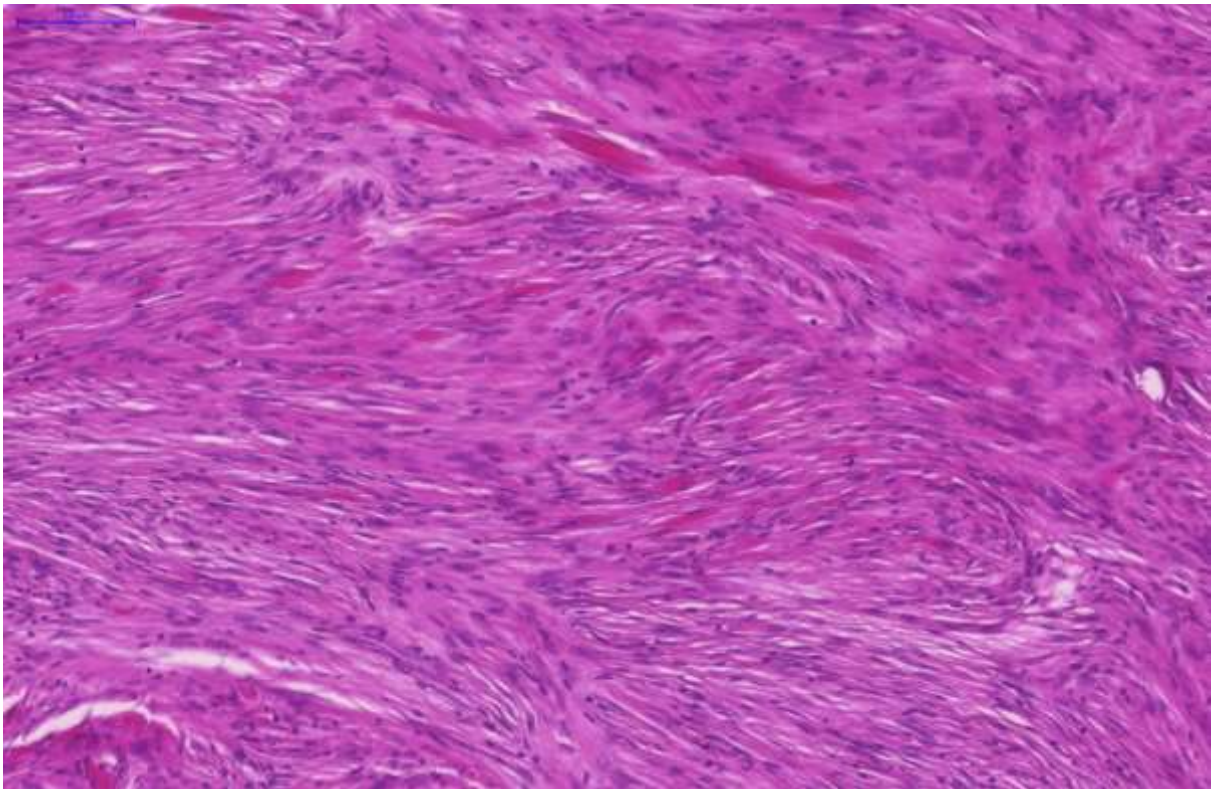
Gyakori, klasszikus variáns, melyben a tumoros sejtek lebenyeket képeznek, vékony kollagénes septumokkal határolva (2. ábra). A tumoros sejtek uniformisok, ovális maggal, finom chromatinszerkezettel rendelkeznek, melyben pseudoinclusiók, felritkulások megjelenhetnek. Ultrastrukturális vizsgálatok szerint számos intranuclearis vacuolum autophagia útján alakul ki [59]. Mivel a sejtek hasonlítanak az ép arachnoidealis 'cap' sejtekre, kis biopsziákban a reaktív hyperplasia utánozhatja a meningothelialis meningeoma képét. A lebenyeken belül a tumorsejtek syncitium-szerű formát képezhetnek, mert a finom, bonyolult formákat képző sejtnyúlványok nem minden esetben különíthetőek el fénymikroszkóppal. Elektronmikroszkópos vizsgálatokkal nagy mennyiségű intermedier filamentum (vimentin) és sejtes nyúlványok láthatóak desmosomalis sejtközti kapcsolatokkal. Citogenetikai vizsgálatokkal az NF2 mutáció itt ritkább, feltehetően eltérő genetikai út vezet a kialakuláshoz [37, 60]. Gyakran fordul elő a koponyaalap anterior régiójában.



2. ábra: Meningothelialis meningeoma szöveti képe. Kis lebenyeket képző, uniformis sejtek. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 100µm.

Fibrosus (fibroblastos) meningeoma (WHO I. grádus)

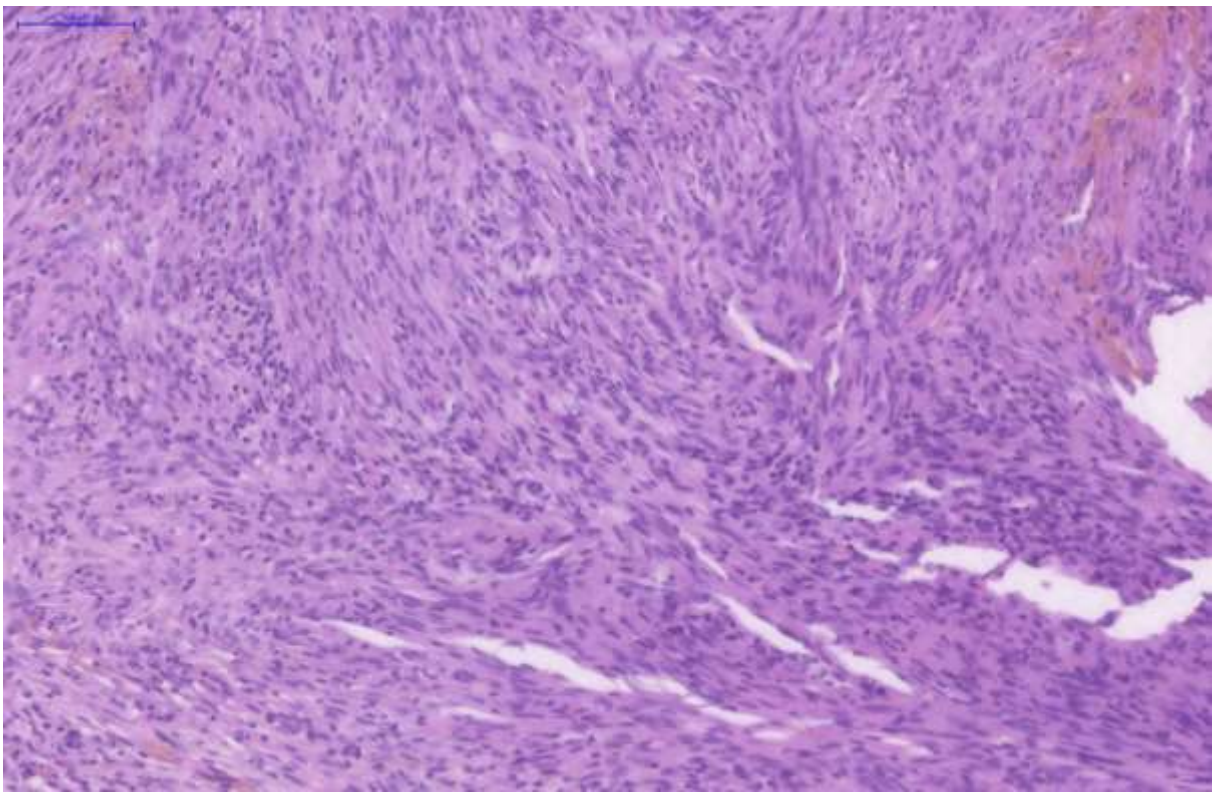
Ez az altípus orsó alakú sejtekből felépülő tumor, ami párhuzamos és kosárfonat szerű vaskos kötegeket képez a kollagén gazdag extracellularis mátrixban (3. ábra), azonban meningothelialis meningeomára jellemző magi megjelenések focalisan megtalálhatóak. A specialis architecturának köszönhetően differenciál diagnosztikai problémát jelenthet a soliter fibrosus tumor, illetve a haemangiopericitoma. Kifejezetten gyakori az NF2 mutáció ebben a szöveti altípusban [27]. Tipikus lokalizációja ennek a szöveti altípusnak a convexitas.



3. ábra: Fibrosus meningeoma szöveti képe. Kötegeket képző orsósejtes tumor. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 100µm.

Transitionalis (átmeneti) meningeoma (WHO I. grádus)

Ebben a gyakori variánsban a meningothelialis és fibrosus altípus megjelenési formája egymás mellett, keveredve található meg (4. ábra). Gyakrabban találhatók psammoma testek vagy örvénylő területek is benne. Lokalizációját tekintve a convexitás, molekuláris eltérést tekintve az NF2 mutáció gyakori ebben a csoportban.



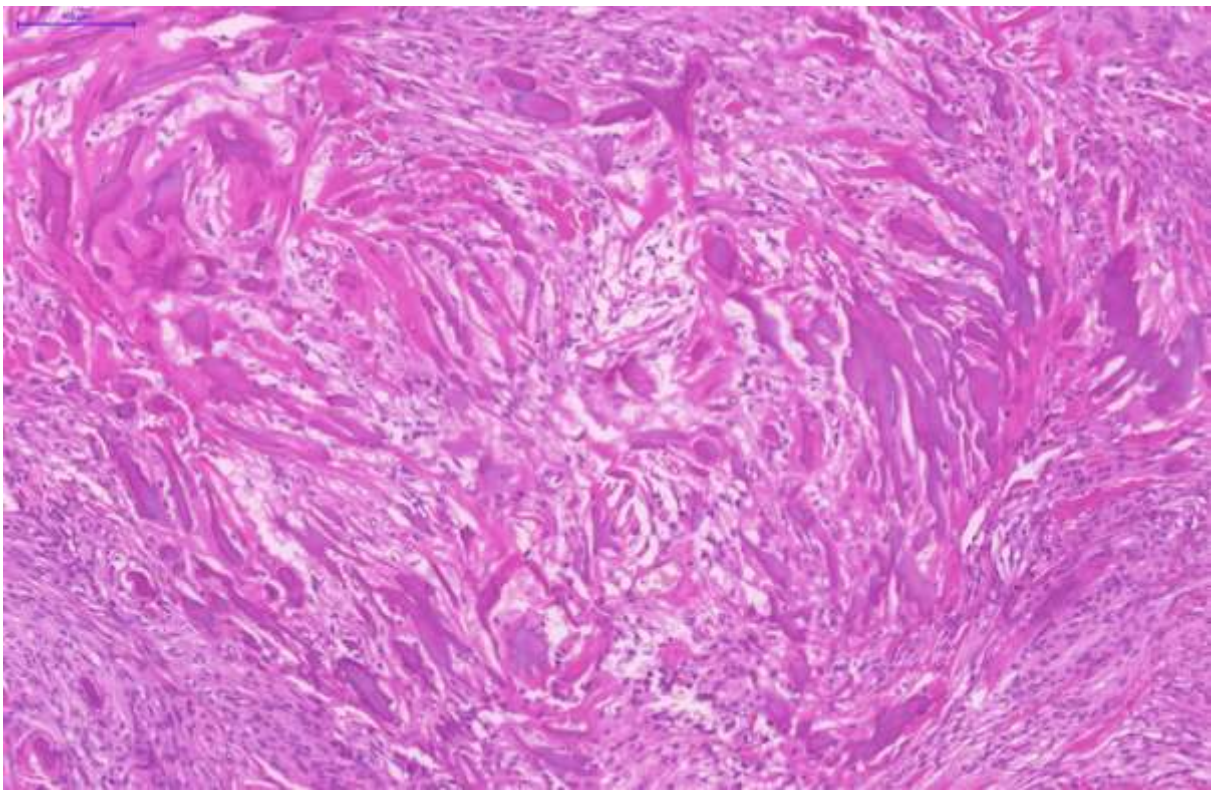
4. ábra: Transitionalis meningeoma szöveti képe. Mind a meningothelialis, mind a fibrosus komponens megfigyelhető. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 100µm.

Angiomatosus meningeoma (WHO I. grádus)

Ebben az altípusban kifejezett vasculatura látható, mely némely esetben elnyomja a tumoros sejteket is. A legtöbb ér kis vagy közepes méretű, kifejezett hyalinos fallal. Közepes fokú nuclearis atypia előfordulhat, de ezen daganatok legtöbbször jóindulatúak [61]. Differenciáldiagnosztikai problémát a vascularis malformatiok és a kapilláris haemangiomák jelentik. Kapcsolódó agyi vizenyő gyakran látható [7]. Az angiomatosus mengingeomák gyakran aneuploidok, és a polysomia gyakran érinti az 5, 13 és 20 chromosomákat [62].

Psammomatosus meningeoma (WHO I. grádus)

Ebben az altípusban dominálnak a psammoma testek – koncentrikusan elhelyezkedő, laminált, elmeszesedett gócok (5. ábra). Néha a meszesedés összefolyik és szabálytalan alakzatokat, estenként csontot is képezhet. A sejtek az átmeneti altípusra emlékeztetnek. Gyakran fordul elő thoracalis intraspinalis területeken, valamint középkorú nőkben.



5. ábra: Psammomatosus meningeoma, basophilan festődő meszes gócok, melyek gyakran metszési műtermékeket is okoznak. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 100µm.

Lympho-plasmocyta gazdag meningeoma (WHO I. grádus)

Nagy mennyiségű idült lobos infiltrátum jellemzi, mely néha elfedheti a meningothelialis tumoros sejteket. Nagyon ritka altípus, gyakran gyulladásos elváltozásra emlékeztet a viselkedése [63, 64].

Metaplasticus meningeoma (WHO I. grádus)

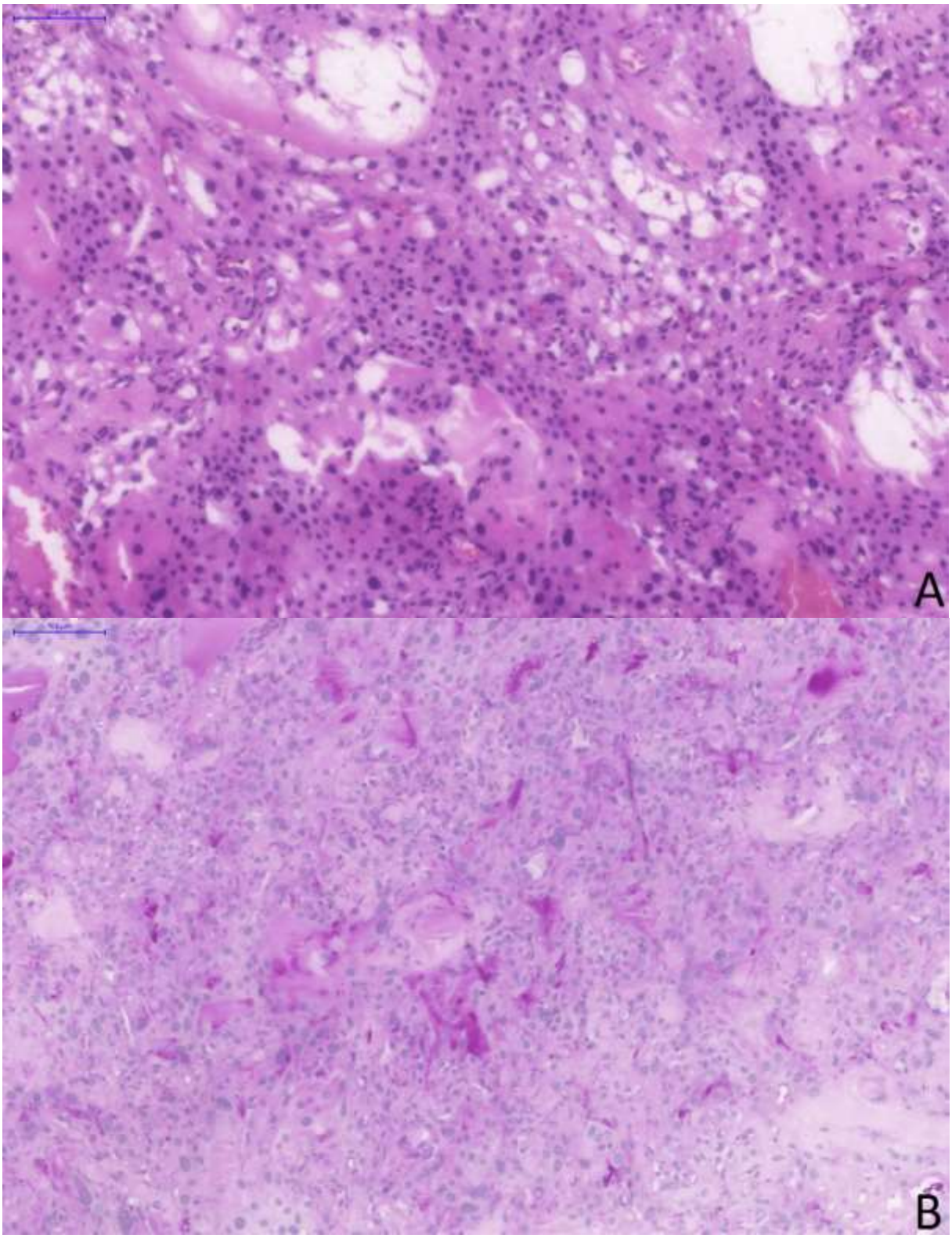
Feltűnő focalis vagy kiterjedt mesenchymalis – csont, porc, zsír, myxoid vagy xanthomatosus – komponens látható. A diagnosztikában a csontos metaplasia elkülönítése a csontos infiltrációtól nehézségekbe ütközhet.

Microcysticus meningeoma (WHO I. grádus)

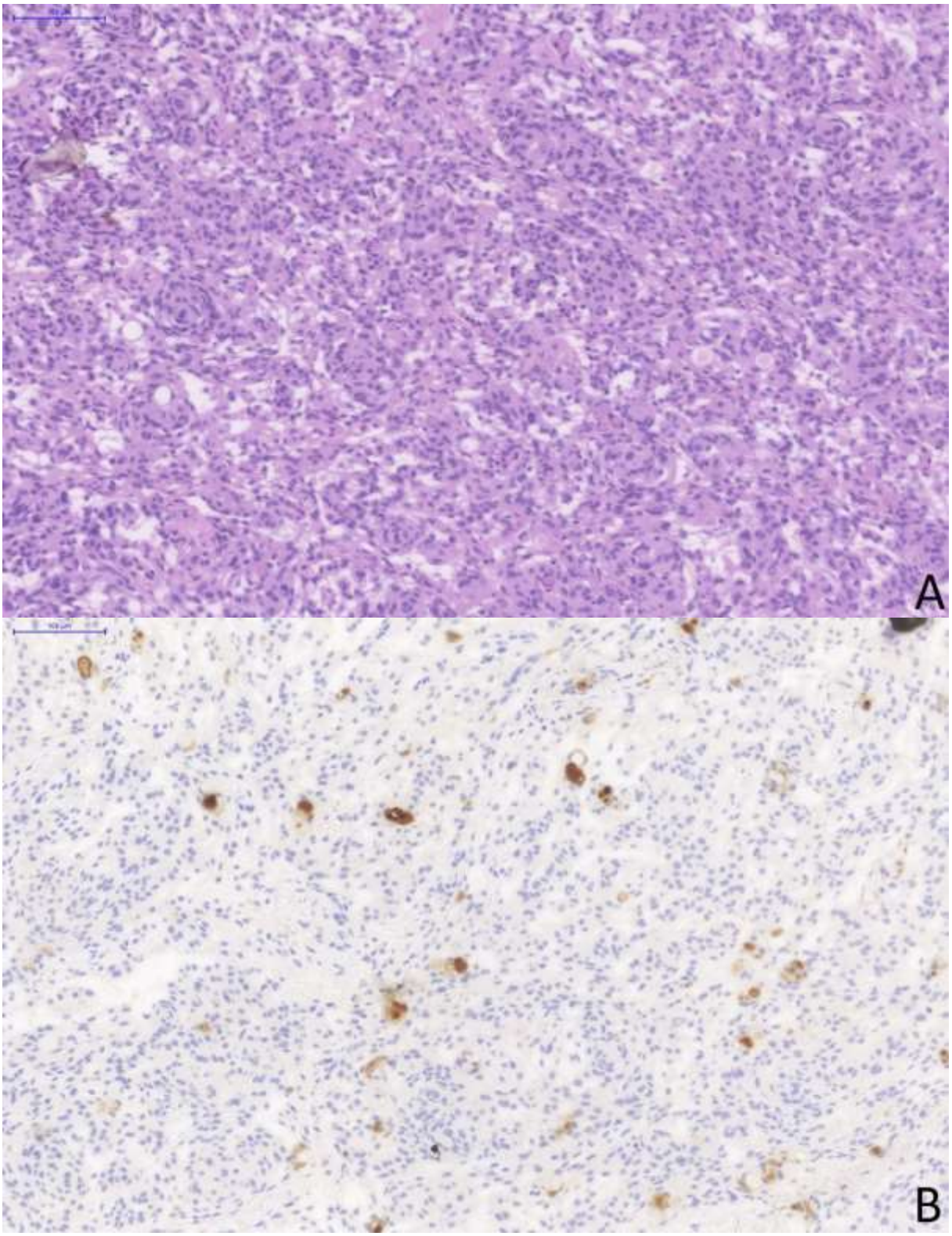
Ezen altípust felépítő sejteknek hosszúkás nyúlványaik vannak, melyek kis, mucintartalmú, PAS-pozitív (perjódsavas Schiff reagens, Periodic acid and Schiff reagent) microcystákat képeznek (6. ábra). Agyi vizenyő gyakoribb ebben az alcsoportban [65]. Elektronmikroszkóposan hosszú cytoplasmaticus nyúlványok jellemzik, melyek intercellularis electron-lucens mátrixot fog körbe, egymással pedig desmosomákkal kapcsolódnak. Emellett nagy lysosomák is megfigyelhetőek. Degenerativ nuclearis atypia gyakori, de ezen alcsoport is jóindulatúan viselkedik.

Secretoros meningeoma (WHO I. grádus)

Epithelialis differentiatio a jellemző, melyekben intracellularis PAS-pozitív eosinophil szekrétum található. A sejtek carcino-embrionalis antigén (CEA) és cytokeratin (CK) pozitívak [66, 67] (7. ábra). Ultrastruktúrális vizsgálatokkal egy vagy többszörös intracellularis epithel-szerű lumen látható a sejtekben [68]. Gyakran látható peritumoralis vizenyő [7], molekularis eltéréseket tekintve a KLF4, a K409Q és a TRAF7 együttes mutációja a gyakori [69].



6. ábra: Microcysticus meningeoma szöveti képe. Kis, mucintartalmú cysták képzése jellemzi, mely PAS festéssel jól látható. A: Hematoxilin-Eosin festés, B: PAS (Perjódsav-Schiff reagens) festés, lépték: 100µm.



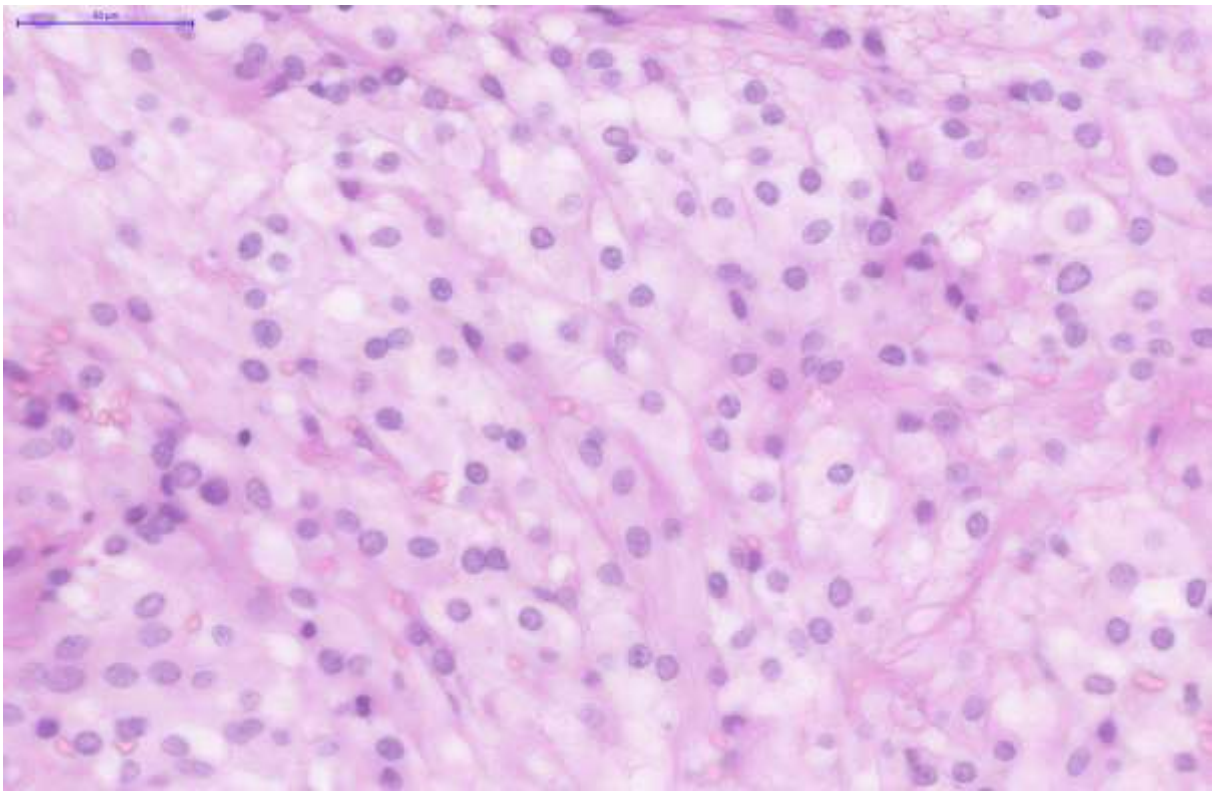
7. ábra: Secretoros meningeoma. Kis intracellularis űrök, melyekben CEA-pozitív (carcino-embrionalis antigen) szekrétum látható. A: Hematoxilin-Eosin festés, B: CEA immunreakció (diamino benzidin chromogen, hematoxilin magfestés), lépték: 100µm.

Chordoid meningeoma (WHO II. grádus)

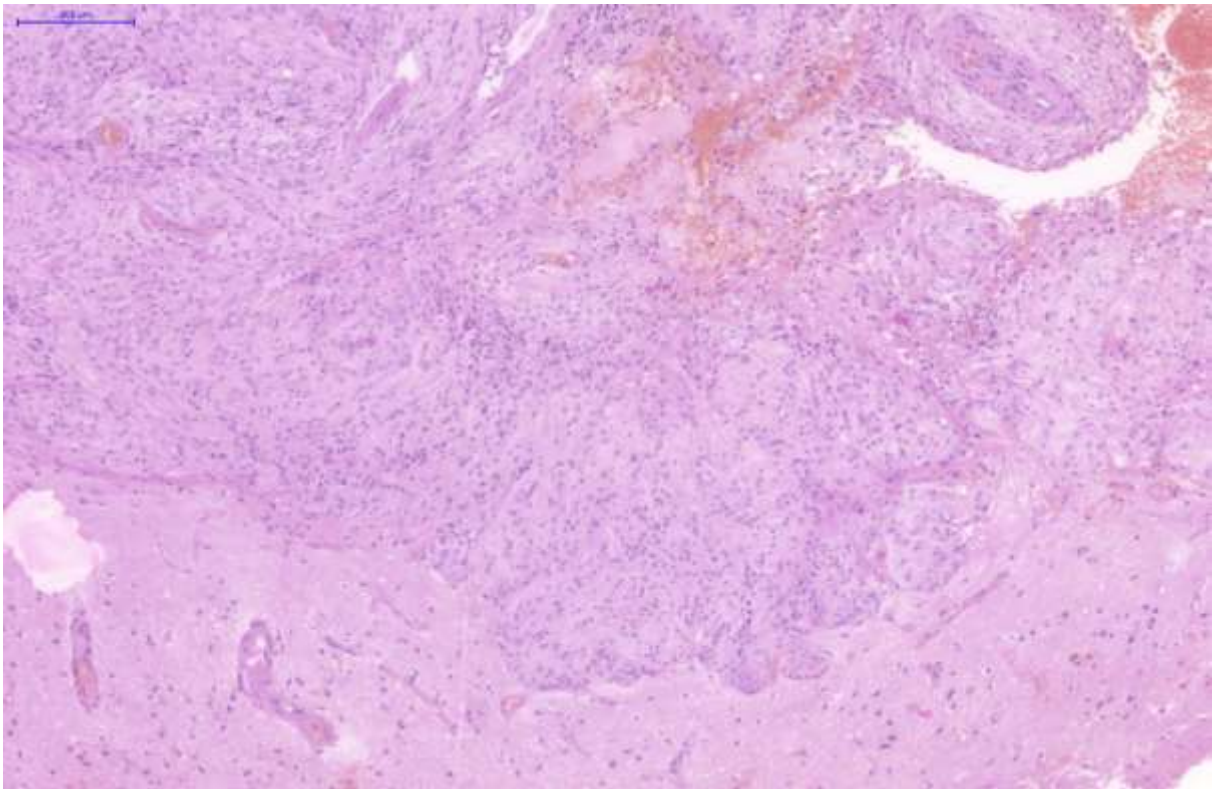
Ebben az altípusban chordomára emlékeztető szöveti kép látható: kötegeket, trabeculákat képző világos eosinophil sejtek, bőséges mucoid matrixban. Emellett lymphocytás infiltrátumok gyakran megfigyelhetőek. A chrodoid meningeoma kifejezetten nagyra növő, supratentorialis altípus, mely gyakran kiújulhat [70].

Világossejtes meningeoma (WHO II. grádus)

Ebben a ritka altípusban a gyakran speciális architectura nélküli tumort nagy, világos, kerek vagy polygonalis alakú, glicogen gazdag cytoplasmával rendelkező sejtek építik fel (8. ábra). A cytoplasma diastase érzékeny PAS pozitivitást mutat. A perivascularis vagy interstitialis kollagén összefolyva nagy sejtmentes területeket képezhet. Gyakran található a cerebellopontin régióban és a cauda equina területén, gyakoribb fiatalabb korban. A világossejtes meningeomák biológiai viselkedése agresszív, gyakran visszatérnek, infiltrálják az agyállományt (9. ábra), és számos esetben terjedhet a liquor áramláson keresztül [71, 72]. Familiaris halmozódás esetén a SMARCE1 mutáció tehető felelőssé [73].



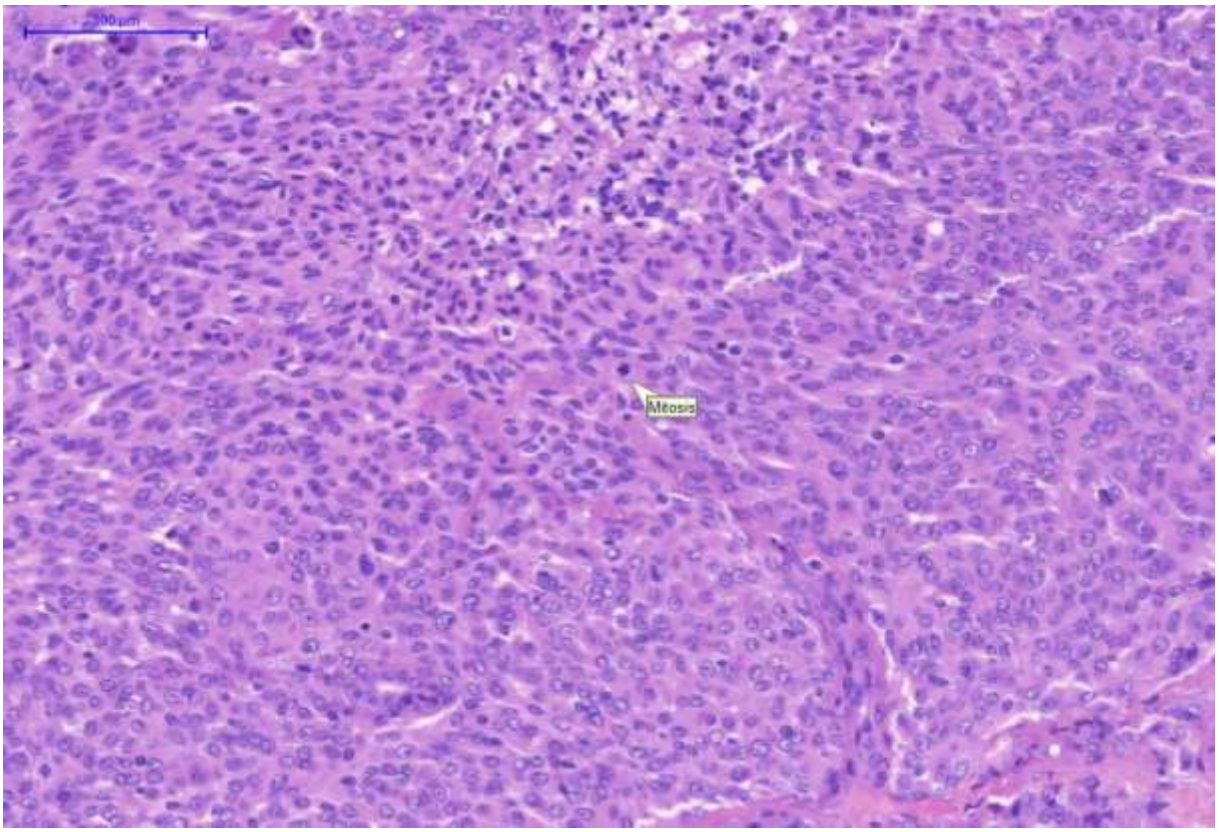
8. ábra: Világos sejtes meningeoma. Világos cytoplasmájú polygonalis sejtek építik fel a tumort. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 50µm.



9. ábra: Agyi infiltráció meningeomában. Az ábra alsó részén látható a tumorszövet által infiltrált agyállomány. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 200µm.

Atypusos meningeoma (WHO II. grádus)

Azon meningeomák tartoznak ebbe a csoportba, melyek megnövekedett mitoticus aktivitással (több mint 4/10 nagy nagyítású látótér, high power field, hpf) (10. ábra), *agyi invázióval*, vagy legalább 3 jellemzővel rendelkeznek az alábbiak közül: fokozott sejtdússág, kis sejtek nagy mag:cytoplasma aránnyal, prominens magvacska, mintázat nélküli vagy lapszerinti terjedés, focalis vagy „térképszerű" necrosisok. Ezen kritériumoknak megfelelő tumorok nyolcszor nagyobb valószínűséggel újulnak ki, mint a WHO I. grádusú meningeomák [74].



10. ábra: Atypusos meningeoma. Meningothelialis struktúra, azonban fokozott osztódási ráta látható, a nyíl egy mitosist jelöl. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 100μm.

Papilláris meningeoma (WHO III. grádus)

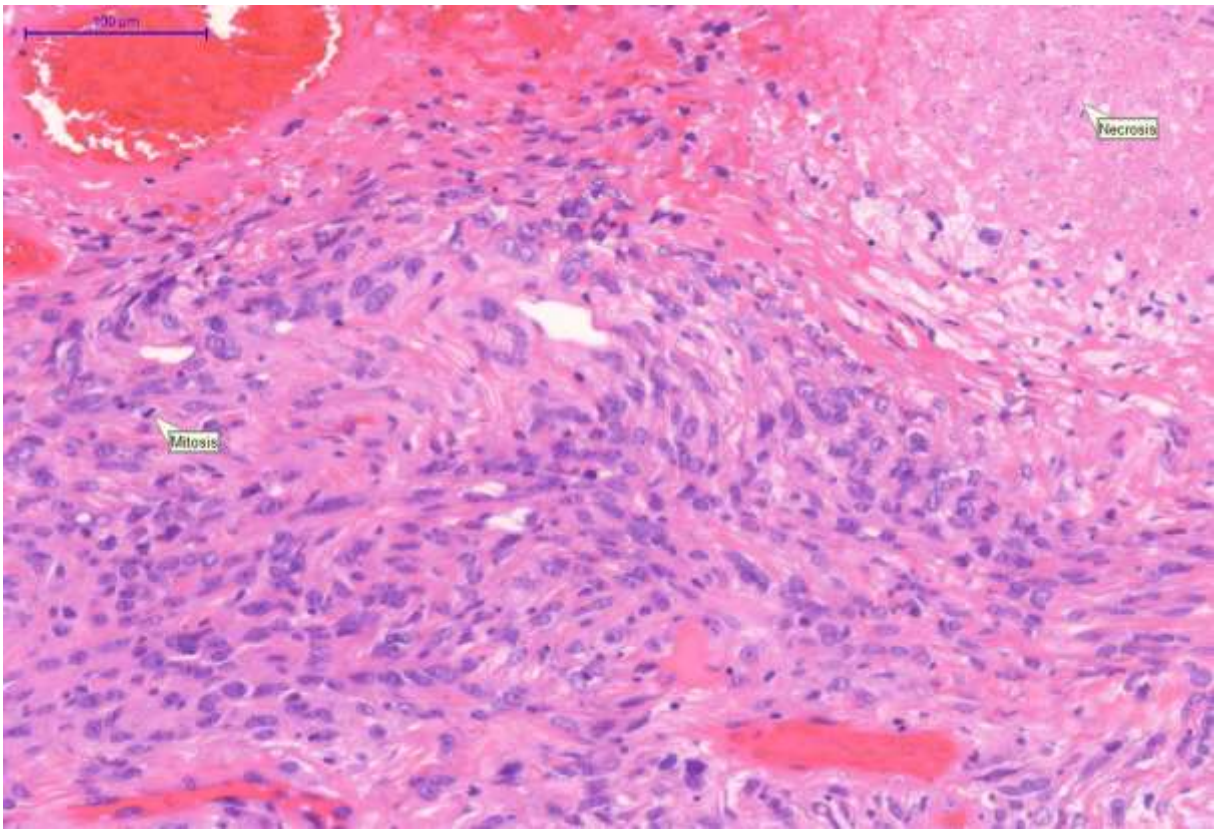
Ritka alcsoport, amit perivascularis pseudopapillaris illetve valódi papilláris struktúra jellemez. Gyakrabban fordul elő gyermekekben [75], lokális infiltráció az esetek mintegy 75%-ban megfigyelhető, gyakrabban tér vissza (az esetek 55%-ban), 20%-ban ad távoli, általában tüdő áttétet, és az esetek felében halálhoz vezet [76, 77]. Emiatt e tumorok WHO III. grádusú csoportban tartoznak.

Rhabdoid meningeoma (WHO III. grádus)

Ugyancsak ritka variáns, melyben a tumorsejtek rhabdoid karakterűek: felfújt sejtek láthatóak excentrikus maggal, rögös chromatinnal, prominens magvacskával, kifejezett eosinophil paranuclearis inclusioval. Számos eset magas osztódási rátával és a malignitás egyéb szöveti jellemzőivel is rendelkezik. Gyakran látható rhabdoid karakterű sejtek papillaris architecturába rendeződése. Ezen altípus agresszív viselkedése miatt tartozik magas WHO grádusba [78, 79].

Anaplasticus meningeoma (WHO III. grádus)

Azon esetek tartoznak ide, melyekben a tumor kifejezett malignus szöveti jelleget mutat, mely hasonlít carcinoma, melanoma vagy magas grádusú sarcoma szöveti megjelenéséhez. Kifejezett magas osztódás jellemzi (>20/10 hpf) [80] (11. ábra). A magas osztódási rátán túl magas Mib1 index, illetve kiterjedt necrosisok is megfigyelhetőek. Ezen tumorok kifejezetten agresszívak, az átlagos túlélés 2-5 év [80]. Klinikai rizikófaktorok: a nem koponya alapi kiindulás, a férfi nem, a korábbi műtéti beavatkozás [81].



11. ábra: Anaplasticus meningeoma. Necrosissal, és fokozott osztódással jellemezhető tumor. Számos prominens nucleolus látható, a tumor carcinomára emlékeztet. Hematoxilin-Eosin festés, lépték: 100µm.

2016-ban a WHO revideálta a 2007-es klasszifikációt a központi idegrendszeri tumorokra, köztük a meningeomára is, melyben minimális változás található az előző 2007-es könyvben leírtakhoz képest [82]. Rögzítették, hogy az agyi invázió szövetileg békés és agresszív tumorokban is előfordulhat és a relapsus aránya az atypusos tumorokéval egyezik meg [74], emiatt agyi invázió megléte esetén a WHO I-es benignus tumoroknak a WHO grádusa II-re változik. Azaz az agyi invázió önmagában is elégséges a WHO II. grádusú, atypusos meningeoma diagnózisához. Fontos, hogy agyi invázió esetén nyelvszerű tumornyúlványok infiltrálják az agyi parenchymát, úgy, hogy nincs leptomeninx réteg köztük. Ettől el kell különíteni, amikor a tumorsejtek a Virchow-Robin tereken keresztül benyomulnak, ilyenkor a pia mater nem sérül.

Jelenleg a daganat viselkedését a klinikai faktorok (kimetszés teljessége, tumor elhelyezkedése, invázió mértéke, anatómiai képletekhez való viszonya, a beteg kora, neme), valamint a szöveti paraméterei (WHO grádus [83], morphologiai variáns [29], mitosis index, a

Mib1 immunkémiai festődési index [80, 84, 85] és a progesteron receptor (PR) státusz) jelzik [86, 87]. Agyi invázió esetén a daganatsejtek szabálytalan, nyelvszerű nyúlványokat képeznek az agy állományában, mely körül reaktív astrocytosis látható. Emellett gyakori jelenség a GFAP-pozitív (glial fibrillary acidic protein) „becsapdázott" agyállomány a tumor széli részén. A tumorinvázióban szerepet játszó fehérjék meningeomákban kevésbé ismertek. A másik leggyakoribb primer agyi tumor, a glioblastoma vonatkozásában több prognosztikus szerepű fehérje ismert [88], melyek a meningeomákban is szerepet játszhatnak. Az extracranialis áttétek rendkívül ritkák (1/1000 meningeoma).

A recurrencia arány eltérő az egyes grádusokban: 7-25% WHO I. grádusban, 30-50% WHO II. grádusban és 50-95% WHO III. grádusban [4, 80, 86, 89]. A meningeomák esetében mind a progresszió mentes túlélés (PFS, progression free survival), az átlagos túlélés (OS, overall survival) szoros összefüggést mutat a WHO grádussal. A Simpson Grading System további információt nyújthat a recurrencia esélyéről [90]. A Simpson által megalkotott 5 fokozatú skálán (1. táblázat) jellemezhető a sebészi kimetszés teljessége a makroszkóposan teljes tumor-eltávolítástól (I. grádus) az egyszerű dekompressziós műtétig, biopsziával vagy anélkül (V. grádus).

I	Makroszkópos teljes resectio, durakapcsolat és a beszűrt csont eltávolítása
II	Makroszkópos teljes resectio, durakapcsolat koagulációjával
III	Makroszkópos teljes resectio, a durakapcsolat meghagyása
IV	Makroszkóposan subtotalis resectio
V	Egyszerű dekompresszió biopsziával vagy anélkül

1. táblázat: Simpson Grading System: a meningeomák sebészi eltávolításának teljessége (1957).

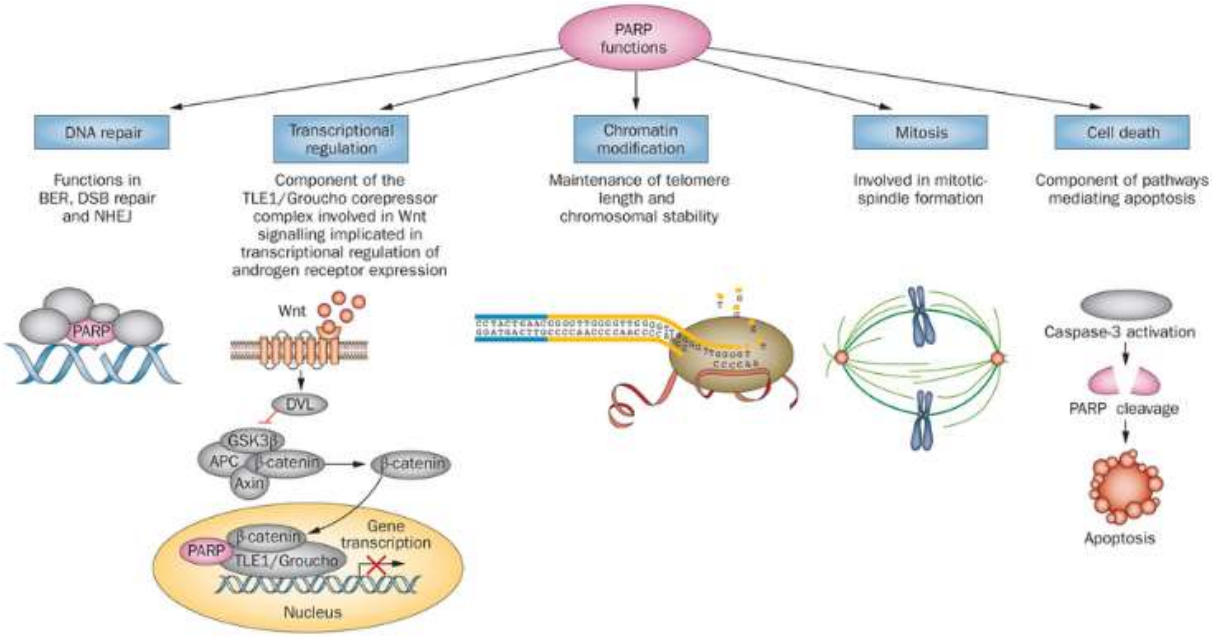
A Ki67 ellenes Mib1 antitest, a p53 és a progesteron receptor három jól ismert és gyakran használt immunhisztokémiai reakció a rutin pathologiai munkában. Magas grádusú meningeomákban a Mib1 jelölődési arány (Labelling index, Li) magasabb [80, 84, 85, 91]. A

csökkent PR immun-reaktivitás szintén jól ismert jellemző a magas grádusú meningeomákban [92-94]. A meningeomák EMA, oestrogen és progesteron receptor [94] ellenes antitesttel pozitívan jelölődnek, habár e markerek nem segítenek a grádus megállapításában és a klinikai kimenetel előre jelzésében.

A CD31 (CD, Cluster of differentiation) immunhisztokémiai jelölődés jól reprezentálja az érképleteket, melyek száma magasabb lehet atypusos meningeomákban, mint WHO I. grádusúakban. Azonban ezt a markert általában nem használjuk a rutin neuropathologiai diagnosztikában [95]. Ezen eredmények tükrében szükség lenne a meningeomák esetében egy vagy több „atypusos" illetve „malignus" markerre, valamint a relapsus/recurrencia megítélésére, mely használható a rutin diagnosztikában. Ilyen jelölt lehet a DNS hibajavító gén, mint a p53 vagy a poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1), illetve a Mib1 és a PR.

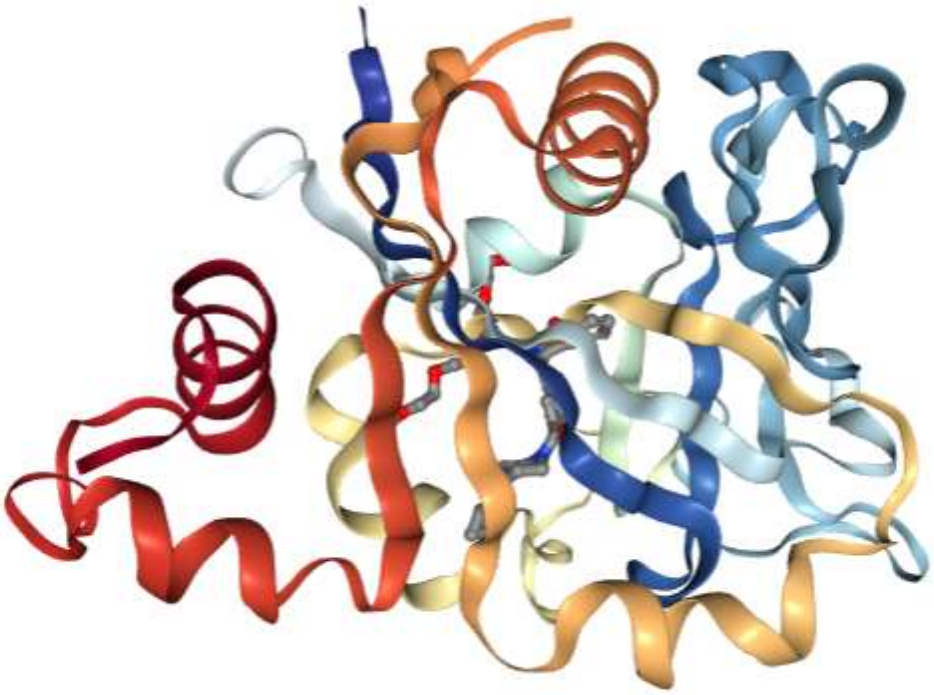
3.2. PARP fehérjecsalád

A PARP (Poly(ADP-ribose) polymerase) fehérjecsalád 17 tagból áll, melyek részben eltérnek egymástól, de általánosan elmondható, hogy fő feladatuk az egyszálú DNS hibajavítás (SSB, single strand DNA break) és a programozott sejthalálban való részvétel (12. ábra).



12. ábra: PARP fehérje fő funkciói [96].

A fehérjékben 4 domain van, ami fontos a funkciójuk betöltésében: katalitikus, auto-modificatiós, caspase-hasító és DNS kötő domain. DNS hiba észlelése esetén Zn-ujjal rendelkező DNS kötő domain bekapcsolódik a hibás DNS-hez, ami konformációváltozást okoz a fehérjében. A programozott sejthalálba való becsatlakozáshoz a caspase-hasító domain szükséges, mely a ’caspase’ utat katalizálja az apoptosis során (13. ábra). A család nem mindegyik tagja rendelkezik PARP aktivitással, néhánynak van, mint a PARP1 és PARP2; másoknak pedig nincs, mint a PARP3 vagy PARP6. Lebontásáért egyrészt a caspase-ok felelősek (feltehetően caspase 3 és 7), valamint a PARP1 által fenntartott ’autoregulatiós hurok’, amit az YY1 transcriptiós faktor szabályoz [97].



13. ábra: PARP1 fehérje kristályszerkezete [98].
Forrás: http://www.rcsb.org/pdb/ngl/ngl.do?pdbid=5DS3&bionumber=1

A PARP1 (más néven ADP-ribosyltransferase D-type 1, ARTD1) – ami a PARP aktivitás mintegy 90%-áért felelős - egy 116 kDa tömegű fehérje, ami a sejtmagban található. Génje az 1-es chromosoma hosszú karján helyezkedik el (1q42.12). A cDNS-ét először *Kurosaki* és munkacsoportja szekvenálta [99]. Egyik fő funkciója a PARP1-nek, hogy az SSB-k kijavításában vesz részt. Exogén és endogén genotoxicus hatások aktiválhatják, pl.: kémiai

(oxigén és nitrogén szabadgyökök), fizikai (sugár, hő), metabolikus (hypoxia, megnövekedett extracellularis glucose koncentráció, hormon, steroid) hatásra az enzim aktiválódik és kötődik a DNS-hez, az N-terminalis Zn-ujjakkal, majd ultrastrukturalis változáson megy keresztül mielőtt poly(ADP-ribose)-t (PAR) állít elő nicotinamide adenin dinucleotid (NAD+) felhasználásával. A PARP1 fehérje aktivitásának maximalizálása mitogen-aktivált protein kinase (MAPK) és Extracellularis-signal-regulalt kinase (ERK) hatásra bekövetkezett phosphorisatio révén jön létre [100]. PAR hatására más fehérjék – DNS ligase III, DNS polymerase beta, XRCC1 (X-ray complementing gene 1) – aktiválódnak és elindul a báziskivágó javítás (base excision repair; BER) [39, 101, 102]. Ezt követően a polymert a PARG (poly(ADP-ribose) glucohydrolase) bontja le [103]. Az aktiválódott PARP1 képes poly(ADP-ribosil)-alni más nuclearis enzimeket, ezáltal növelni a negatív töltésüket, megakadályozva az interakciót más anionos molekulákkal, mint pl. a DNS-sel. A DNS hibajavító funkción túl, az aktivált PARP1-nek fontos szerepe van az apoptosisban azáltal, hogy a 'caspase' út aktiválása mellett, az apoptosis indukáló factor (AIF) mitokondriumból a sejtmagba vándorlását idézi elő [104]. Azonban nagyfokú DNS károsodás során nagy mennyiségű PARP1 aktiválódik, amelyek elhasználják a NAD+-ot és következményes adenosine tri-phosphate (ATP) hiányt okoznak. Részben az ATP hiánya, részben a hexo-kinase aktivitásának gátlása akadályozza a glucose oxidációt és necrosist okozhat [105, 106]. A PARP1 aktivációs kaszkád szerepét szintén jellemezték agyi trauma utáni neuronalis őssejt transzplantációban patkányokon [107], valamint PARP1 aktivációt ischaemia-reperfusios károsodásban [108]. A PARP1 szerepe a tau protein hyper-phosphorilatióját katalizáló a glucogen syntase kinase-3 (GSK3) szabályozásában [109] jól ismert, továbbá Alzheimer-kórban az amyloid fehérje hatással van a PARP1 jelátvitelre. Mindemellett ma már azt is tudjuk, hogy a DNA hibajavító képessége révén a PARP az élettartamot is meghatározza az egyes fajokban. 13 emlős permeabilizált leukocytájában mérték meg a PARP aktivitást, ami az egyes fajok élettartamával korrelált [110]. Továbbá azt is kimutatták, hogy a PARylatios kapacitás kétszerese a hosszabb átlag élettartamú emberben mint a patkányokban [111]. Ugyanakkor a PARP1 azzal a Wrn fehérjével együtt vesz részt a DNS hibák kijavításában, mely felelős a Werner szindróma (korai öregedéssel járó tünet együttes) kialakulásáért. Mindezek támogatják a DNS károsodás okozta öregedés teóriáját, miszerint a nem kijavított és évek során összeadódott DNS hibák okozzák az öregedést. Tehát a DNS hibajavítás képessége hozzájárul a hosszú élettartamhoz [112]. Összességében megállapítható, hogy a PARP1 fehérje az emberi fejlődés minden szakaszában fontos szerepet tölt be, 'a bölcsőtől a koporsóig' elkísér [113].

Mindezeken felül a PARP1 ’knock out’ sejtekben csökkent SSB javítása miatt a DNS replicatios villa megáll és DSB-k (double strand DNA break, dupla szálú törés) jönnek létre, amik homolog recombinatio (HR) útján javítódnak ki. Emiatt a PARP1 hiányos sejtek hyper-recombinatios phenotypust mutatnak, valamint az ép HR miatt nincs negatív phenotypus az ilyen egyedekben, és nem nő a tumorok gyakorisága sem.

Korábbi kutatások igazolták, hogy a PARP1 szerepet játszik a BRCA1/BRCA2 mutáns emlődaganatokban. A PARP inhibitor szerek képesek a chemotherapetikumok hatását fokozni azzal, hogy gátolják az SSB javítást, mialatt a dupla szálú DNS törések javítása szintén károsodott a BRCA mutáció miatt [114]. A PARP1 szerepét számos szolid tumorban kutatták, de eddigi ismereteink szerint rajtunk kívül meningeomákban nem vizsgálták rendeltetését.

3.3. p53 fehérje

A p53 fehérje különböző homológja minden többsejtű élőlényben fontos fehérje, mely a daganatok kialakulását gátolja. A TP53 gén által, az emberben a 17 chromosoma rövid karján (17p13.1) kódolt p53 az egyik legfontosabb tumorsupressor fehérje [115-117]. Mint a legtöbb humán gén a TP53 is több isoformát kódol. Eddig 12 isoformát azonosítottak, melyek szövetfüggő módon jelennek meg [118]. A fiziológiás funkciója a p53-nak a sejtciklus szabályozása, a genom stabilitásának a megőrzése, a mutációk megelőzése. Ezért is hívják a „genom őrzőjének” [119, 120]. Nevét 1979-ben kapta, SDS-PAGE-vel (SDS, sodium dodecyl sulfate; PAGE, Polyacrylamide gel electrophoresis) tömegét 53 kDa-nak mérték. Azonban ma már tudjuk, hogy a felépítő aminosavak tömegének összegéből a p53 fehérje valós tömege kevesebb, 43,7 kDa. Az eltérést a magas prolin szint okozta, ami miatt lassabban haladt a gélben, ezáltal nehezebbnek bizonyult [121]. A 393 aminosavból álló fehérjének 7 domainje van: két aktiváló domain (egy ’N-terminalis AD1, mely a transcriptios faktorok aktiválódásért felelős; és AD2, ami fontos az apoptoticus aktivitásban), prolin-gazdag domain, DNS kötő mag domain (DNA-binding core domain, DBD), jelző domain, homo-oligomerisatios domain (OD, in vivo körülmények között a fehérje tetramerisatioja elengedhetetlen) és a ’C-terminalis down-regulatios domain. A p53 polymorphismus gyakori jelenség, a 72. helyen álló arginin-prolin cserében nyilvánul meg. Számos esetben vizsgálták ezt az SNP-t (single nucleotide polymorphismus), de daganat gyakorisággal kapcsolatban ellentmondásos eredmények

születtek [122-125]. A TP53 gén kópiaszáma megoldás lehet Richard Petoról elnevezett paradoxonra is, ami kimondja, hogy az élőlényt felépítő sejtek száma nem arányos a daganat előfordulás gyakoriságával, mivel pl. az elefántban 20 kópia TP53 van [126].

A p53 aktiválódhat DNS károsodás, oxidatív stressz, ozmotikus sokk, ultraibolya (UV) fény, ionizáló sugárzás, ribonucleotid depletio vagy oncogen expressio következtében. Az aktiváció hatására a fehérje fél-életideje jelentősen megnő és a conformatioja is megváltozik [127]. Az aktiváció során kritikus az 'N-terminalis szakaszon elhelyezkedő transcriptio aktiváló domain phosphorilatioja stressz szignál függő kinase-ok által, mint pl.: MAPK család vagy az ATR, ATM, CHK1 és CHK2 (ATR, Ataxia Teleangiectasia gén és RAd3-related; ATM, Ataxia Teleangiectasia mutated gén; CHK, Checkpoint kinase). Normál körülmények között az Mdm2 felelős a p53 alacsony szintjéért, azáltal, hogy köti és gátolja a p53 funkcióját, valamint a cytoplasmába szállítja, ahol kovalensen az ubiquitinhez kötődik és a proteosomában degradálódik.

A p53 daganat-ellenes hatása számos úton mehet végbe: aktiválja a DNS javító enzimeket DNS károsodás esetén, vagy az öregedés során; sejt-proliferatios gátat képez a G1/S szabályozó ponton a p21 közvetítésével CDK4/CDK6, CDK2 CDK1-en (Cyclin dependens kinase) keresztül [128], ezáltal elegendő időt biztosít a javító enzimeknek, hogy kijavítsák a DNS hibát; vagy apoptosist indukál, ha a DNS hiba irreverzibilis. A TP53 humán daganatokban a leggyakrabban mutálódó gén. Humán tumorok 50%-ban ismertek olyan TP53-at károsító mutagének, melyek szabályozatlan sejt proliferatiot okoznak [115]. Ezen mutációk recesszív, funkció vesztő jellegűek, leggyakrabban a DBD domaint érintik, meggátolva a DNS-hez kötődést. Néha azonban az OD domain is érintett lehet, ami révén a mutáns fehérjék kapcsolódnak a vad típusúakhoz, gátolva azok hatását is. A mutáns p53 nem tud a DNS-hez kötődni, ezáltal aktiválni a p21-et, ami 'stop' szignál a sejtosztódás számára. A genetikai változás hatására felhalmozódó p53-at immunhisztokémiai módszerekkel ki lehet mutatni, mely jó korrelációt mutat a mutációs státusszal. Azonban fiziológiás körülmények között megnövekedett p53 szint esetében fals pozitív eredményt kaphatunk [129], hiszen ilyenkor jellemzően gyengébb jelölődés látható. Ma már azt is tudjuk, hogy a p14ARF fehérje révén a p53 és az RB1 (retinoblastoma 1 gén) útvonal között is kapcsolat van [130]. Az UV fény hatására bekövetkezett p53 aktiváció hozzájárul a barnulás folyamatához is, illetve szerepet játszik a pathologiás hyperpigmentatio kialakulásában is [131]. Azon egyedekben, akiknek veleszületett p53 mutációja van (Li-Fraumeni szindróma), gyakran alakulnak ki daganatok korai felnőttkorban (sarcoma, emlő daganat, glioblastoma, mellékvese daganat, haematologiai

daganatok). Jelentőségét igazolva a p53 1993-ban elnyerte a Science magazin Év molekulája díját [132].

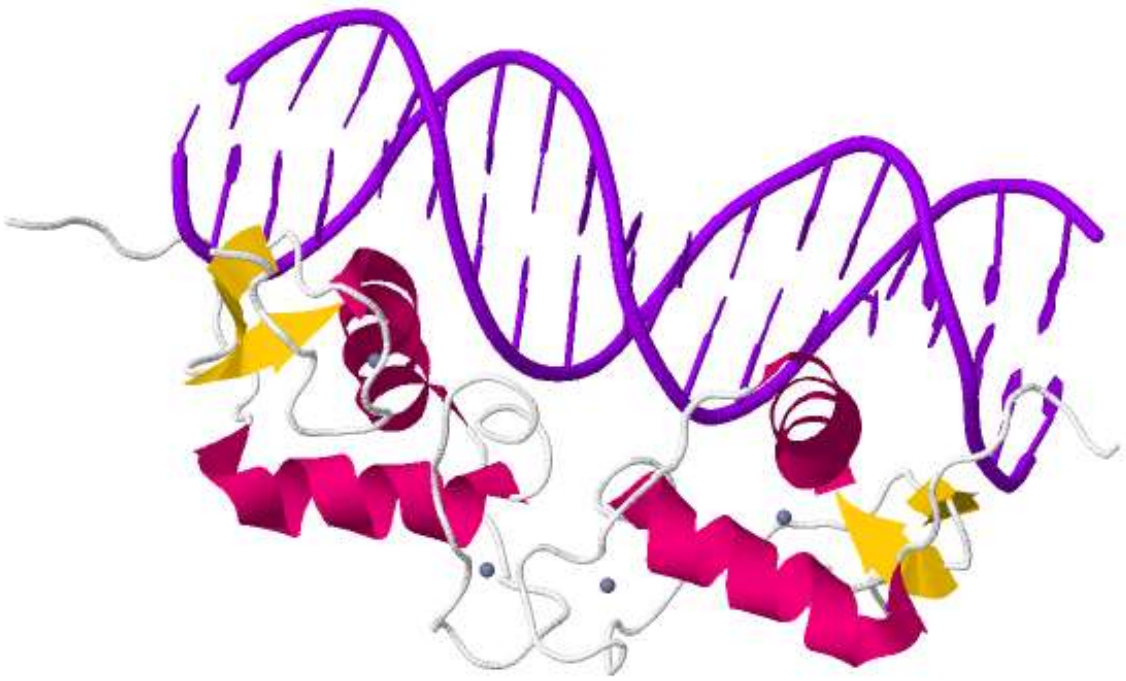
A p53 szerepét korábban vizsgálták meningeomákban: számos kutatás negatív vagy bizonytalan eredményt adott [85, 133-135], míg mások szignifikáns összefüggéseket találtak a p53 státusz és a tumor grádus vagy kiújulás között [12, 91, 136-144].

Számos publikáció jelent meg a PARP1 és a p53 fehérje kapcsolatára vonatkozóan. *Wieler* és munkatársai mutatták meg, hogy az endogén PARP1 funkciójának gátlása csökkenti a p53 transactivatiós hatását ionizáló sugárzás esetén. Így rávilágítottak, hogy a PARP1 az egyik kulcsszereplő a p53 DNS károsításra adott válaszának szabályozásában [145]. *Malanga* és kollégái bizonyították, hogy az ADP-ribose polymerek szerepet játszanak a p53 DNS-hez kötődésében azáltal, hogy meggátolják és visszaalakítják a p53-kötő palindrom szekvenciákat [146]. *Lee* és munkacsoportja a közelmúltban fedezte fel a PARylatio úttörő szerepét a p53 gén-specifikus szabályozásában, az MTA1 promoterén keresztül [147]. *Godoy* és társai ismerték fel a PARP1 és a p53 overexpressiót előrehaladott stádiumú epithelialis ovarium daganatokban, és írták le a két markert, mint a tumor agresszivitásának jelzőjét [148]. *Sabisz* és munkacsoportja mutatott rá a PARP1 kritikus szerepére a DNS károsító gyógyszerek által indukált G2 blokk fenntartásában, ezáltal a PARP1 inhibitorok, mint nem geno-toxikus szerek lehetséges szerepére a p53 aktivitás elindítására, nem működő p53 útvonal esetében [149]. A p53, a NFκB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) és a Sp1 transcriptios faktorok PARylatioja megakadályozza DNS-hez kötődésüket, és a transcriptios komplexek kialakulását [150].

3.4. Progesteron receptor

A progesteron receptor (PR) vagy más néven NR3C3 (nuclearis receptor subfamily 3, group C, member 3) egy steroid receptor [151]. A PR-t a PGR gén kódolja, ami a 11 chromosoma hosszú karján helyezkedik el (11q22) [152, 153]. A PR-nak két isoformája van: a PR-A és a PR-B, melyeket ugyanaz a 8 exon kódol; a fehérjék csak molekulasúlyukban térnek el egymástól [154]. A génnek emberben egy kópiája van, de az egyes exonon elhelyezkedő két promoter és translatiot indító rész révén képződik a két isoforma. Az isoformák identikusak, leszámítva a PR-B 'N-terminalis 165 aminosavból álló részét [155].

Mindkét altípusa rendelkezik regulator domainnel, DNS kötő domainnel, kapcsoló és ligand kötő domainnel, de csak a PR-B rendelkezik transcriptio aktiváló funkcióval az 'N-terminalis szakaszon (14. ábra). A PRG génnek ismert 4 különböző polymorphismusa és 5 gyakori haplotypusa, azonban összefüggés nem mutatható ki emlő-, illetve endometriumrák és az SNP-k között [156, 157].



14. ábra. Progesteron receptor kapcsolódása a DNS-hez [158].
Forrás: http://www.rcsb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=2C7A&bionumber=1

Hormon hiányában a ’C-terminalis gátolja a transcriptiot. Azonban, ha a progesteron hormon kötődik a receptorához, az dimerisalodik és a sejtmagba jut, ahol DNS-hez kötődve transcriptiot indukál. A létrejött mRNS a ribosomákba vándorolva beindítja a fehérjespecifikus translatiot. A progesteron antagonista gyógyszerek (pl.: mifepristone), illetve a szelektív progesteron receptor modulátorok (pl.: telapristone) a transformatio váltás megakadályozása révén fejtik ki hatásukat [159]. A ligand kötő domain a 4-8 exon által kódolt, 253 aminosavból álló 10 alfa-helix és 4 béta-redő a progesteron mellett a szelektív modulátorok kötődésének a helye is. Fiziológiás szerepe a női hormonális ciklus szabályozás, az ovulatio és a terhesség fenntartása [160] mellett, az emlőállomány fejlődésében és pubertás alatti átalakulásában van [161, 162]. A két isoforma eltérő módon változik a menstruatios fázisban. Míg a PR-B fokozódik a follicularis fázisban és csökkent a lutealis fázisban; addig a PR-A mind a stroma, mind az epithel sejtekben fokozódik follicularis fázisban, de nem változik a stroma sejtekben lutealis fázisban [163].

Említést érdemel még, hogy a progesteron nemcsak magi transcriptios faktoron keresztül fejti ki a hatását, hanem egy G protein kapcsolt 7 trans-membrán sejtfelszíni receptoron keresztül is, cAMP (cyclicus-adenosine monophosphate) intracellularis jelátvivővel.

A progesteron hormon PR receptoron keresztül hat az emlőre, mely részben a normál fejlődésben fontos, de az emlő carcinogenezisben is szerepet tölt be. A szintetikus progesteron analógok és az elnyújtott petefészek aktivitás (korai menarche, kései menopausa, nullipara, szoptatás hiánya) növelik az emlőrák esélyét, ellenben a kétoldali petefészek eltávolítás 50%-kal is csökkentheti az emlődaganat kockázatot [164-167].

Ismert tény, hogy a meningeomák pozitívak a PR ellenes antitestekkel, és a pozitív sejtek aránya fordított a WHO grádussal [86, 168, 169], ami így kérdéses esetekben segíthet a grádus meghatározásában. Korábbi kutatások feltárták azt is, hogy a meningeomák esetében a PR celluláris bioszintézise nem oestrogen által szabályozott folyamat, mint más sexhormon-függő szövetekben [170], csak néhány esetben látható oestrogen pozitivitás (noha az jobb kimenetellel kecsegtet) [171].

3.5. Ki-67 fehérje, Mib1 antitest

Az először *Gerdes* és munkatársai által 1983-ban leírt Ki-67 antigén [172] nuclearis elhelyezkedésű fehérje, melyet a 10-es chromosomán (10q25-ter) elhelyezkedő MKI67 gén kódol (15 exonból és 14 intronból áll) [173]. Nevét a felfedezés helyéről (Kiel) és a klón számról (67) kapta egy 96-kutas lemezen. A fehérje SDS-gél electrophoresises vizsgálata alapján a Ki-67 két isoformával rendelkező óriási, 395 kDa és 345 kDa tömegű fehérje [174], melyet 30 ezer bázispár kódol az emberi genomban. A 60-90 perces fél-életidővel rendelkező Ki-67 fehérje pontos funkciója mai napig nem ismert. Azt biztosan tudjuk, hogy a Ki-67 protein elengedhetetlen a sejtosztódásban, a sejtciklus minden aktív fázisában (G1, S, G2, M) megtalálható [175]. Továbbá a ribosomalis RNS transrciptiohoz is elengedhetetlen [176], azonban nem mutatható ki a G_0 fázisú sejtekben. Interfázisban csak a sejtmagban található, azonban a mitosis során a fehérje a chromosomák felszínéhez kötődik. A mitosis során phosphorilation és dephosphorilation esik át. Felépítése alapján feltételezik, hogy proteoliticus útvonalak szabályozzák a működését [177]. Egyes kutatók azt gondolják, hogy a Ki-67 protein a DNS szervezésében vesz részt [178]. Míg mások úgy tartják, hogy komplexeket képezve más fehérjékkel kötődik a DNS-hez vagy RNS-hez [179], mindemellett részt vesz a ribosomák szintézisében a sejtosztódás során. Ma már azt is tudjuk, hogy a Ki-67 fehérje kötődik a sejtmagvacska egyik kulcsfontosságú részéhez, a tömött fibrillaris komponenshez (dense fibrillary component, DFC) [180]. A fehérje elleni első antitest neve Ki-67 antitest volt, melyet Hodgkin lymphoma L428 sejtvonallal immunizált egér sejtmagból nyertek ki Kielben.

Mib1 (Molecular Immunology Borstel 1) [181], mint proliferatios marker a rutin gyakorlatban leggyakrabban használt Ki-67 fehérje ellenes antitest. A Mib1 és Ki-67 antitest ugyanannak a fehérjének két különböző epitopja ellen termeltetett monoclonalis antitestje. Azonban a Mib1 antitest már formalin fixált és paraffinba ágyazott (FFPE, formalin fixed paraffin embedded) mintán is használható előzetes mikrohullámú kezelés vagy HIER (heat induced antigene retrieval, hő indukálta antigén visszanyerés) után, nemcsak fagyasztott metszeteken, mint az eredeti Ki67 antitest. Az antitestek jelölődésének erőssége összefüggést mutat a sejtosztódási fázissal. G1-ben közepes, S és G2 fázison keresztül erősödik, majd a mitosisban éri el a legerősebb jelölődést [182], mely végül a mitosis végén (anafázis, telofázis) rohamosan csökken. A rutin pathologiai diagnosztikában a Mib1 kifejezetten fontos a lymphomákban (például: a follicularis lymphoma és reaktív follicularis hyperplasia elkülönítése, vagy a Burkitt lymphoma diagnosztikája). Emellett a melanocytás tumorok,

cervicalis intraepithelialis neoplasia (CIN), colitis ulcerosában a dysplasia megítélése, basaloid carcinoma elkülönítése a basal sejtes hyperplasiától prostatában [183]. A Mib1 Li erős összefüggést mutat a tumor növekedésének ütemével, a relapsus/recurrencia esélyével és a túléléssel, azaz a prognózissal számos haematologiai [184] és szolid daganattípusban [185-188], beleértve a meningeomákat is [84, 85, 91, 140]. Egyes szerzők arra az eredményre jutottak, hogy a jóindulatúnak tűnő szövettannal rendelkező esetekben is p53 és a proliferatios index rosszabb klinikai viselkedést jelez [171, 189]. Ma már ismert az is, hogy a proliferatios frakció aránya fordított a relapsus/recurrencia mentes idővel is [190].

4. Anyagok és módszerek

A rutin pathologiai feldolgozás során a 10 %-os pufferelt formalinban legalább 24 óráig, de nem több, mint 168 óráig fixált idegsebészeti minták makroszkópos leírását követően műanyag dobozokba (1x2x0,5cm), 'kazettákba' (Q Path MacroStar III 720-2233 VWR International Ltd, Radnor, Pennsylvania, USA) raktuk a mikroszkóposan megvizsgálni kívánt területekből származó részeket. Ezt követően a minták automata segítségével elvégzett víztelenítése következett *Shandon Pathcentre Tissue Processor automatán* (Thermo Fisher Scientific Waltham, Massachusetts, USA).

A víztelenített szövetmintákat a kiöntő állomásokon paraffinba ágyaztuk, 'paraffinos blokkokat' állítottunk elő. Ezekből 'kerekes microtome'-mal (Leica RM2245 - Semi-Motorized Rotary Microtome, Leica Biosystems, Wetzlar, Németország) 4µm vastag metszetek készültek silanisalt tárgylemezre fektetve, majd rehidrálás után, automatizált és standardizált körülmények között hematoxilin-eosin festést (H&E) alkalmaztunk a *Leica ST 5020* automatán (Leica Biosystems, Wetzlar, Németország). A H&E festett metszetekből kiadott kórszövettani leleteket a *MedSolution* (T-systems Magyarország Zrt. Debreceni Támogató Központ) egészségügyi adatbázisban, valamint az intézeti archívumban tároltuk el.

A vizsgálatainkhoz szükséges minták retrospektív előkeresése a korábban leletezett, *MedSolution* adatbázisban meglévő adatok alapján történtek. A kiválasztott esetek FFPE blokkjait kikerestük az intézeti archívumból. Minden esetben a 2007-es 'WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System' [57] alapján neuropathologus segítségével átvizsgáltuk, szövettani altípusba és a releváns WHO grádusba soroltuk.

Az immunhisztokémiai vizsgálatok minden esetben ugyancsak automatizált és standardizált körülmények között zajlottak. Az FFPE metszetekből 4 µm-es metszetek készültek, manuális módszerrel beállítottuk az antigén feltárás módját, valamint az antitest hígítást. A következő lépésként automatizált módszerrel végeztük az immunfestést *Leica Bond Max*™ immunhisztokémiai automatán (Leica Biosystems, Wetzlar, Németország) a *Bond*™ *Polymer Refine Detection* kittel. Az immunhisztokémiai reakció minden esetben a gyártók protokollja alapján történt, standardizált körülmények között. A 4 mikrométeres metszeteket PARP1 polyclonalis nyúl antitesttel (ab6079, Abcam Biotechnology Company, Cambridge, Egyesült Királyság), p53 monoclonalis egér antitesttel (M7001, clone: DO-7, DAKO, Dánia), progesteron receptor monoclonalis antitesttel (NCL-PGR-312, clone 16, Leica Microsystems,

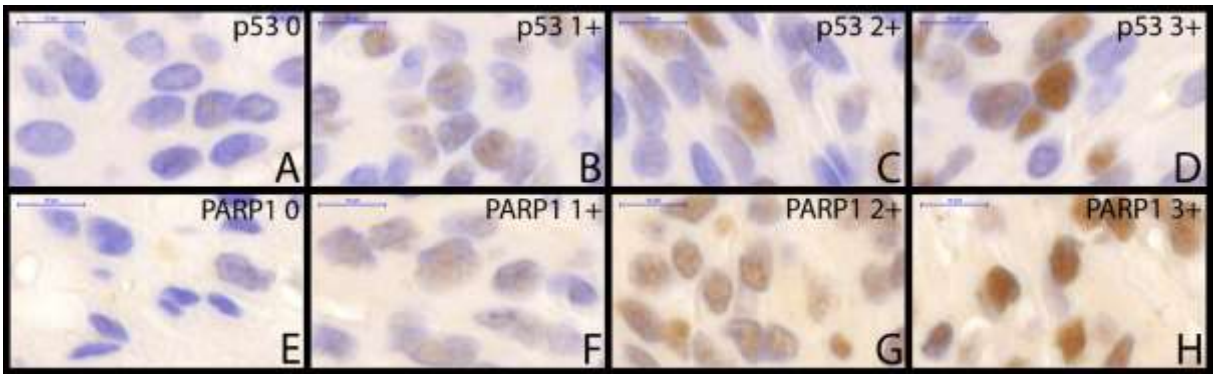
Wetzlar, Germany) és monoclonalis anti-Ki67 antitesttel (M7240, Mib1 clone, Agilent Technologies, Dako Denmark) jelöltük. Az antitestek hígítása 1:500 volt a PARP1, 1:100 a p53 esetében, 1:100 a PR, valamint 1:200 a Mib1 esetében. Vizualizációra a *Bond™ Polymer Refine Detection* kittet használtunk, *Leica Bond Max™* immunhisztokémiai automatán, negatív kontrollok mellett (a primer antitestet kihagytuk a reakcióelegyből).

Vizsgálatainkat két lépésben végeztük.

4.1 Első körben végzett vizsgálataink

Először egy kisebb betegcsoporton, 31 meningeomás páciens 41 mintáján végeztük el a PARP1 és a p53 immunhisztokémiai reakciókat [191]. A számolás során 100 random módon kiválasztott sejtet számoltunk le 10 látótérben, 400X nagyítás mellett; melynek során mértük a festődés intenzitását: negatív (0), gyenge (1+), közepes (2+), erős (3+) nuclearis festődés (15. ábra).

A festődés alapján két paramétert számoltunk minden esetben (staining intensity, Si): az 1+, 2+ és 3+-es esetek arányát (Si1-3), valamint az erősen festődő 2+ és 3+-es esetek arányát (Si2-3) az összes számolt sejthez viszonyítva.



15. ábra: Eltérő nulcearis festődési intenzitások a p53 és PARP1 antitestek tekintetében. Lépték: 10µm A-D p53, E-H PARP1 immunhisztokémiai jelölés (diaminobenzidin reakció, hematoxilin háttérfestés mellett).

Az eredményeket *SPSS 19.0 for Windows* statisztikai programmal elemeztük. Mivel a minták nem mutattak normál eloszlást, ezért nem parametricus statisztikai teszteket alkalmaztunk. A *Kruskall-Wallis H* teszttel a 3 vagy több eltérő csoport összehasonlítása végezhető el; a *Mann-Whitney U* teszt pedig két nem normál eloszlású csoport összehasonlítására alkalmas. Ezen statisztikai próbák segítségével azt vizsgáltuk, hogy az adott minták származhatnak-e ugyanabból a populációból. Ott ahol a szignifikancia szint kellően alacsony volt (<0,5; <0,1; <0,01) kimondhattuk, hogy a minták eltérő populációból származtak, azaz statisztikailag különböztek. A Spearman's rank order korrelációs vizsgálat (szintén nem parametricus vizsgálat) feltárja, hogy a két paraméter közötti kapcsolat leírható-e egy monoton függvénnyel (minden X értékhez csak egyetlen Y érték tartozik a koordináta rendszerben és

fordítva). Amennyiben igen, elmondható, hogy az egyik érték változása alapján a másik érték változását is meg lehet határozni, azaz a változások összefüggnek egymással.

Mindkét fehérje esetén (p53 és PARP1) először *Kruskall-Wallis H* teszttel vizsgálatuk mind az Si1-3, mind az Si2-3 értékeket a három WHO grádus vonatkozásában. Ezt követően *Mann-Withney U* tesztel hasonlítottuk össze az egyes WHO grádus párokat (I.-II. grádus, I.-III. grádus, II.-III. grádus). Majd két csoportot készítettünk a WHO grádus alapján: alacsony grádusú (I. grádus) és magas grádusú (II. és III. grádus) csoport és ezen értékeket hasonlítottuk össze *Mann-Whitney U* teszttel. A PARP1 és a p53 fehérje immunhisztokémiai jelölődés függetlenségének eldöntésére *Spearman's rank order* korrelációs vizsgálatot végeztünk (2. táblázat).

Kruskall Wallis H teszt	WHO I.-II.-III. grádus között
Mann-Withney U	WHO I. grádus és II. grádus között
Mann-Withney U	WHO I. grádus és III. grádus között
Mann-Withney U	WHO II. grádus és III. grádus között
Mann-Whitney U	WHO LG (I.) és HG (II.-III.) között
SpearmanS rank order korreláció	p53 és PARP1 között

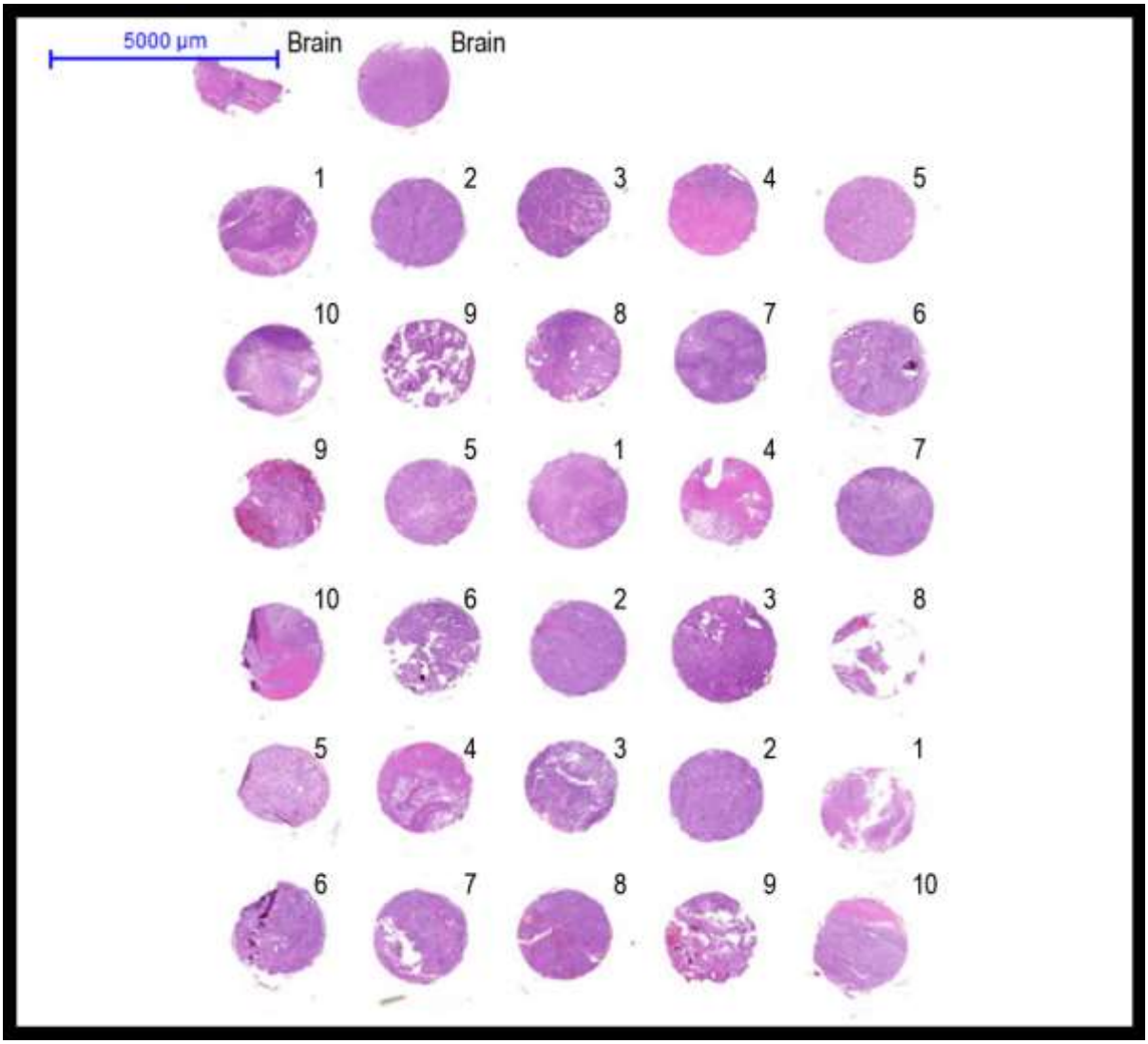
2. táblázat: Az első körben végzett statisztikai próbák összefoglalása, mind a PARP1, mind a p53 fehérje esetén ugyanazokat a csoportokat hasonlítottuk össze, ugyanazon statisztikai próbákkal. LG: low grade, alacsony grádus; HG: high grade, magas grádus

4.2 Második körben végzett vizsgálataink

Második lépésben nagyobb betegcsoporton, összesen 70 beteg 114 különböző sebészi mintáján végeztünk vizsgálatokat [192]. A minták 16 éves intervallumon belül retrospektív módon lettek kiválasztva. Azon betegeket, akiknél egy vagy több relapsus/recurrencia volt, az R/R csoportba soroltuk. A non-R/R csoport betegeinek nem volt sem radiológiailag, sem boncolás során kimutatható relapsusos/recurrens daganata. A relapsus (kiújulás) és recurrencia

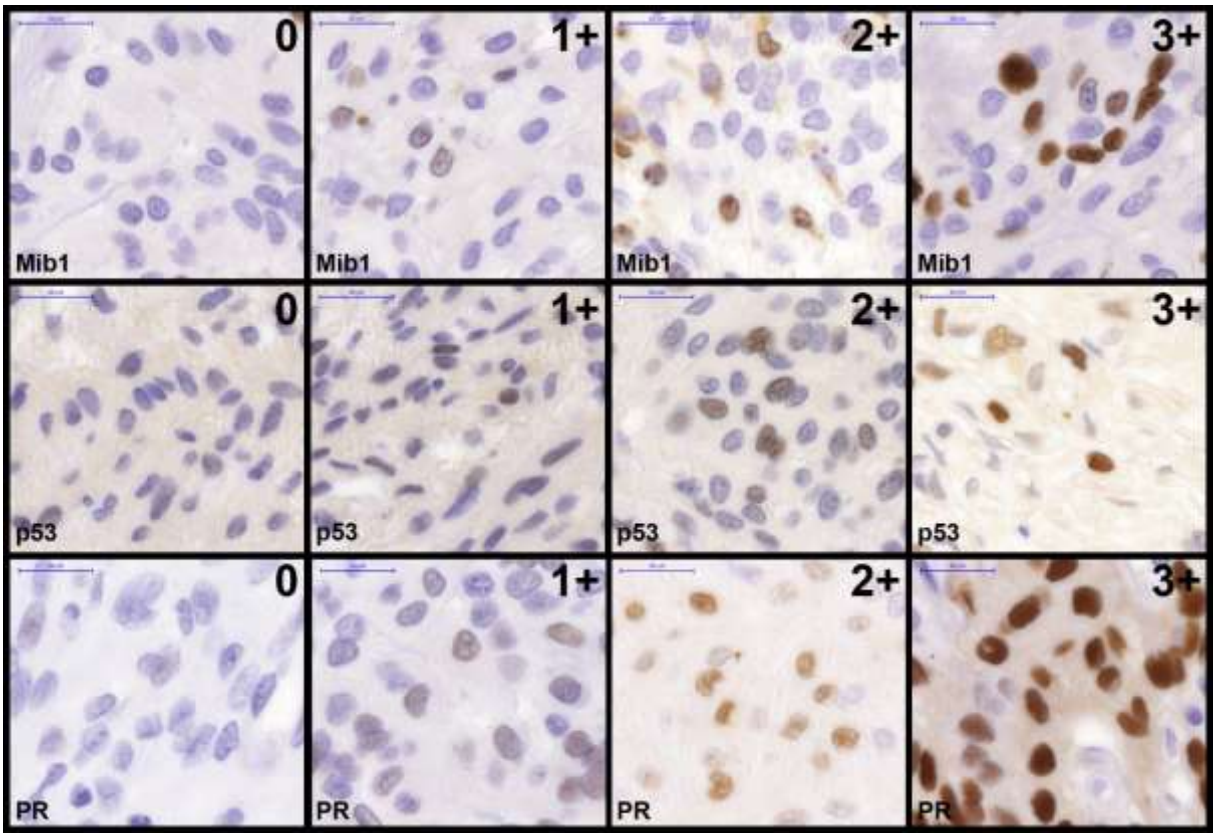
(visszatérő) elkülönítése nézeteink szerint akadémiai, mely molekuláris vizsgálatokkal lehetséges, de jelenleg a klinikai gyakorlatban, a kezelés tekintetében napjainkban ez nem releváns.

Minden egyes esetből egy vagy két reprezentatív blokkot kiválasztva az adott szöveti minta morphologiája alapján legjellemzőbb területekből származó hengerekből szöveti multi-blokkot építettünk (tissue micro array, TMA). Minden egyes TMA 10 recipiens blokkból származó mintát tartalmazott: mintánként 3-3 hengert; valamint 2 jelölő hengert (normál agyszövet), a bal felső sarokban (16. ábra). Így összesen 12 TMA épült, mely tartalmazta mind a 114 különönöző szövetmintát. Az így elkészített TMA-kon hematoxilin&eosin (H&E) festést és immunhisztokémiai (IHC) reakciókat végeztünk.



16. ábra: Szöveti multi-blokk képe (TMA, tissue microarray). A bal felső sarokban két ép agyállományból származó minta az azonosításhoz. Minden egyes TMA 10 donor blokkból tartalmazott mintákat. Az 5x6 tumorhenger melletti szám (1-10) az egy TMA-n belüli azonos donorból származó hengereket jelöli. Festés: Hematoxilin-Eosin. Lépték 5mm.

Minden egyes H&E és IHC metszet digitalizálva lett a *Pannoramic Scanner* gépen, minden egyes digitális mintából 6 db 400x nagyítású képet fotóztunk ki (2-2 minden egyes henger-keresztmetszetből). A pozitív sejtmagok intenzitása alapján 4 csoportot készítettünk: 0, 1+, 2+ és 3+ (17. ábra).



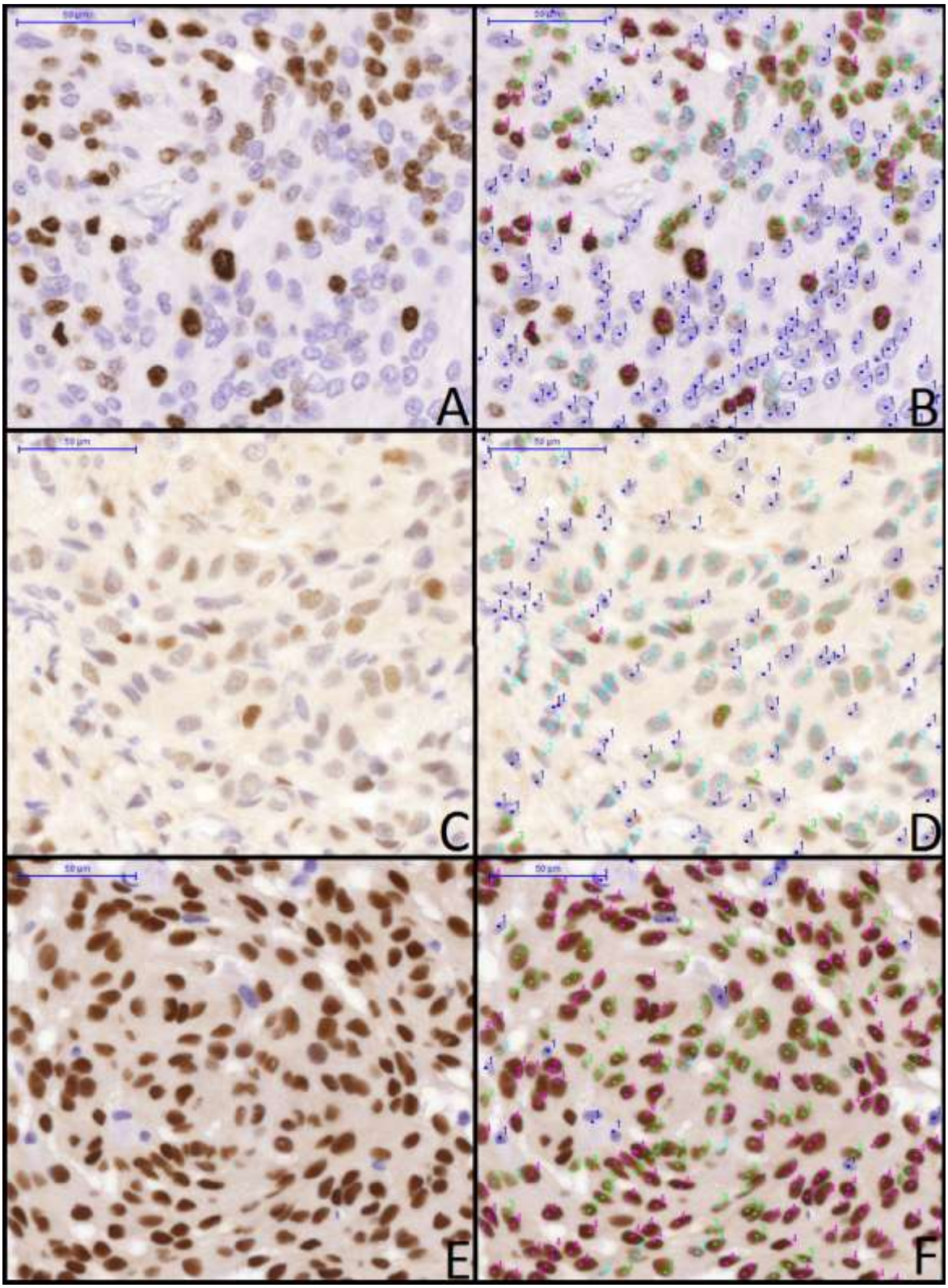
17. ábra: Ki-67 (Mib1 antitest), p53 és progesteron receptor (PR) eltérő nulcearis intenzitása: 0, 1+, 2+, 3+ esetében. Lépték: 20µm. Mib1m p53, PR immunhisztokémiai reakció (diaminobenzidin jelölés, hematoxilin háttérfestés mellett).

A vizsgálataink elején számos esetben az összes képen *ImageJ* (NIH, Bethesda, USA) program *Cell Counter* funkciójával pontosan kiszámoltuk a pozitívan festődő sejtek számát, arányát (18. ábra), a későbbiekben, pedig e képekhez hasonlítva állapítottuk meg az egyes minták festődési arányát (Labelling index, Li). Ezt követően a Histoscore-hoz hasonlóan - melyet az emlődaganatoknál régóta használnak - a festődő sejtek arányát és erősségét megszorozva egy arányszámot rendeltünk minden egyes szövettani mintához.

Az eredményeket az *SPSS 22.0 for Windows* (IBM, Armonk, NY, USA) statisztikai programmal elemeztük. Mivel nem normál eloszlást mutattak a minták, ezért nem parametricus teszteket használtunk: *Kruskall-Wallis H* tesztet, *Mann-Whitney U* tesztet és *Wilcoxon signed*

rank tesztet. *Wilcoxon signed rank* teszt a *kétmintás t próba* nem parametricus megfelelője az egymással összefüggő minták vizsgálatára. E módszerrel ugyanannak a betegnek két különböző műtéti időpontban vett mintájának, egymástól való eltérését vizsgáltuk.

Az etikai engedély száma: DEOEC RKEB: 2437-2005

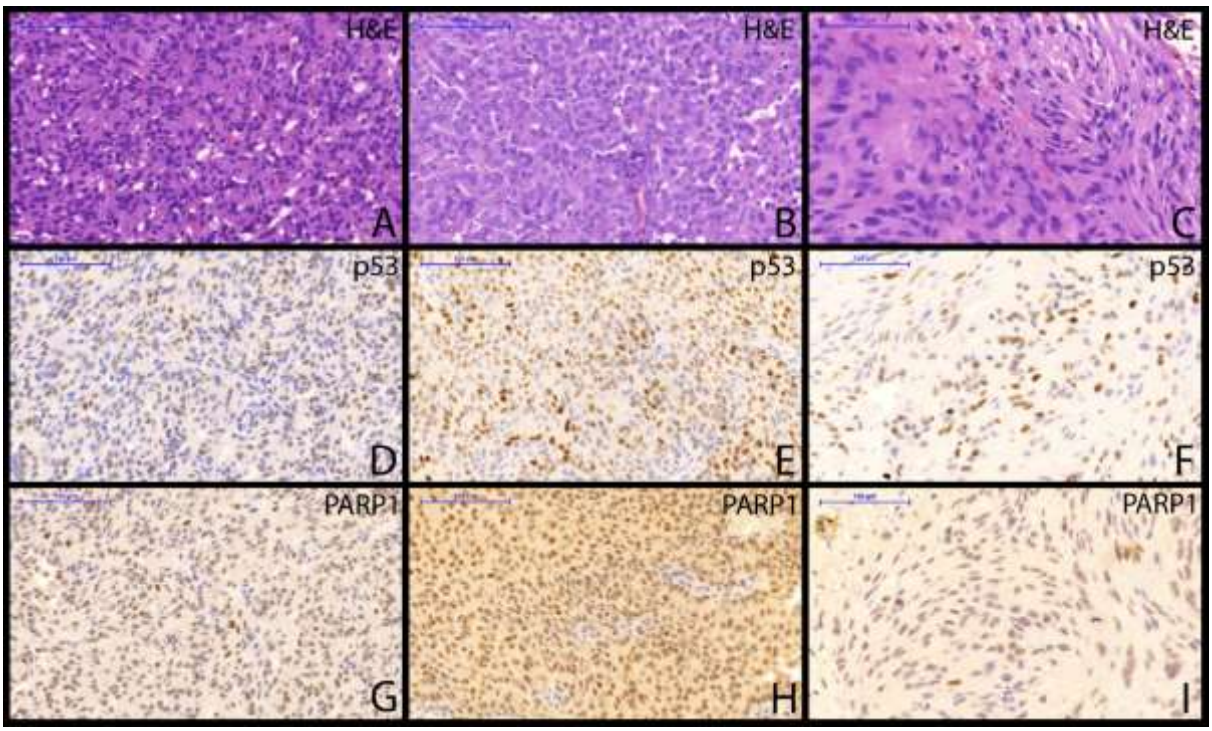


18. ábra: Ki-67 (Mib1 antitest), p53 és progesteron receptor (PR) pozitív sejtek jelölése és számolása az *ImageJ* program *Cell Counter* funkciója segítségével. A,C,E az eredeti képek; B,D,F pedig a Cell Counter segítségével megjelölt sejteket jelöli, eltérő színnel és számmal (1-4) az eltérő nuclearis intenzitásokat. A-B Mib1; C-D p53; E-F PR. Lépték 50µm.

5. Eredmények

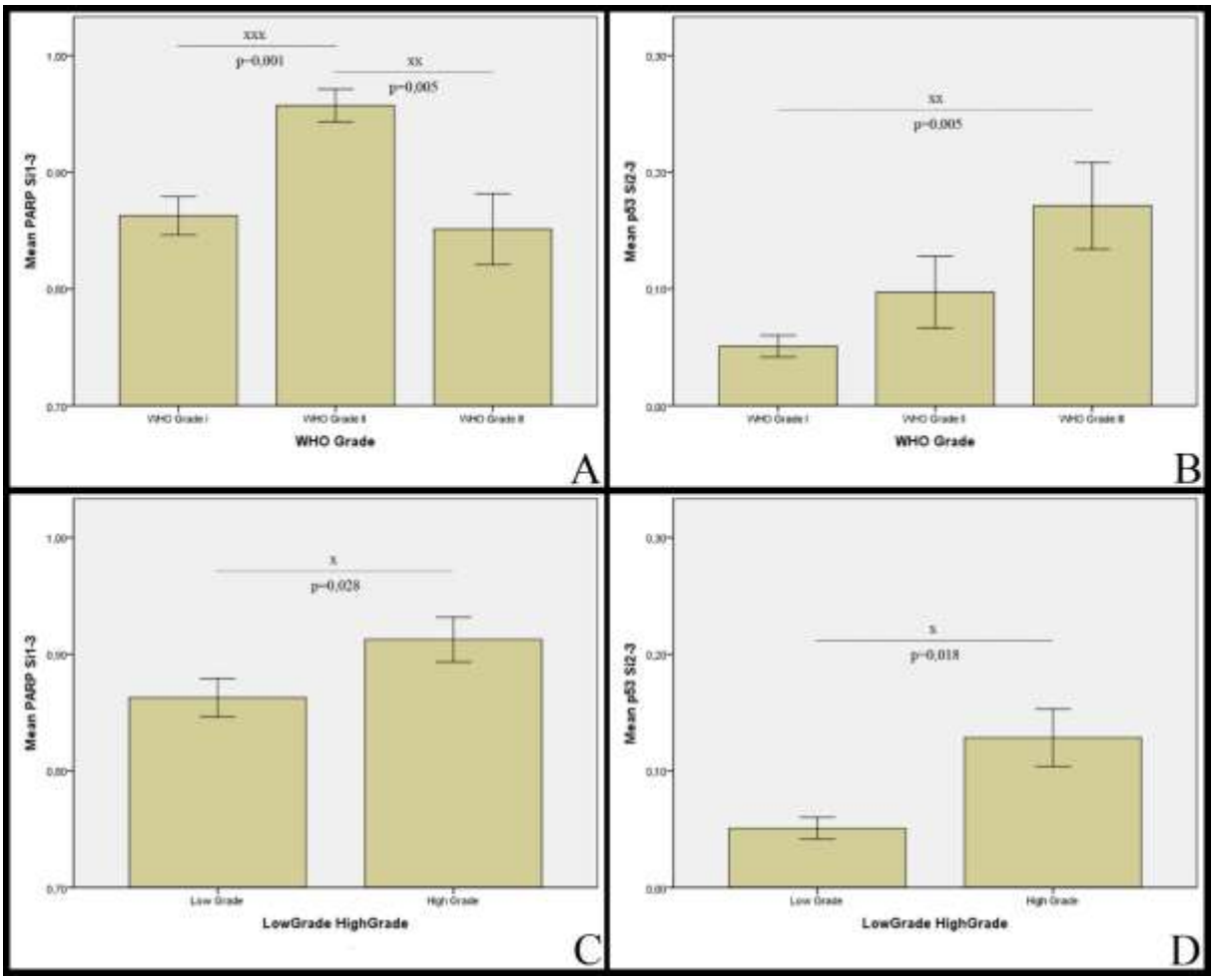
5.1 Első körben végzett vizsgálataink eredménye

Mind a 41 megvizsgált minta festődött PARP1 és p53 antitesttel (19. ábra). Szignifikáns korreláció volt a tumor grádus és a PARP1 expressio közt (Si1-3, p=0,001), valamint a p53 intenzív jelölődés között (Si2-3, p=0,012) *Kruskall-Wallis H* tesztel. Ezzel szemben nem volt statisztikailag jelentős összefüggés az Si2-3 PARP1 (p=0,523), az Si1-3 p53 (p=0,141) immunjelölődés és a tumor grádus tekintetében.



19. ábra: Hematoxilin-Eosin, p53 és PARP1 immunhisztokémiai jelölődés az egyes WHO grádusokban. A,D,G WHO I.-es grádus; B,E,H WHO II.-es grádus; C,F,I WHO III.-as grádus. Lépték 100µm

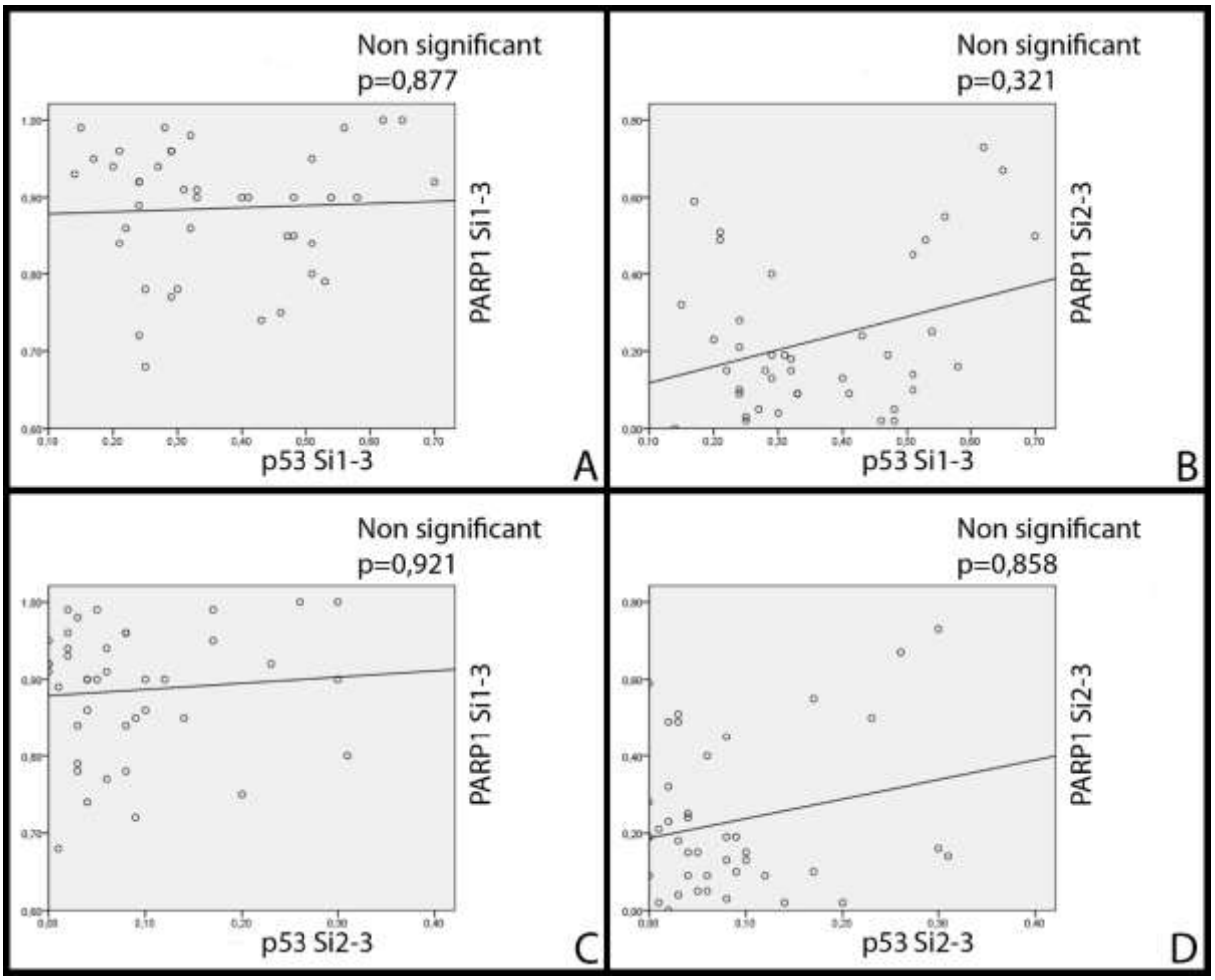
A *Mann-Whitney U* teszt PARP1 esetében az Si1-3 szignifikáns összefüggést mutatott WHO I.-II. grádus (p=0,001) és WHO II.-III. grádus (p=0,005) között. Továbbá a p53 esetében az Si2-3 mutatott szignifikáns összefüggést a WHO I.-III. grádus (p=0,002) közt (20. ábra). A PARP1 esetében a WHO II. grádusú daganatok, míg a p53-nála WHO III. grádusú daganatok mutatták a legintenzívebb jelölődést.



20. ábra: p53 és PARP1 festődési intenzitás az egyes WHO grádusok, valamint az alacsony (WHO I.) és magas grádusú (WHO II. és WHO III.) daganatok között.

Az alacsony (I. grádus) és magas (II.-III. grádus) malignitású daganatok összehasonlítása során szignifikáns összefüggés mutatkozott a PARP1 esetében a jelölődés (Si1-3, p=0,028), míg a p53 esetén az intenzív jelölődés (Si2-3, p=0,018) kapcsán. A tumorok szövettani alcsoport megoszlása a következő volt: I. grádusúak közül 11 meningothelialis, 8 transitionalis,

1 secretoros, 1 fibrosus és 1 microcysticus; a II. grádusúak közül 8 atypusos és 3 világos sejtes; a III. grádusúak közül mind anaplasticus volt. Nem volt szignifikáns különbség az egyes szövettani altípusok között, sem a PARP1, sem a p53 esetében. *Spearman's rank order* korrelációs vizsgálattal nem állt fenn kapcsolat a PARP1 és a p53 immunjelölődés között (21. ábra).



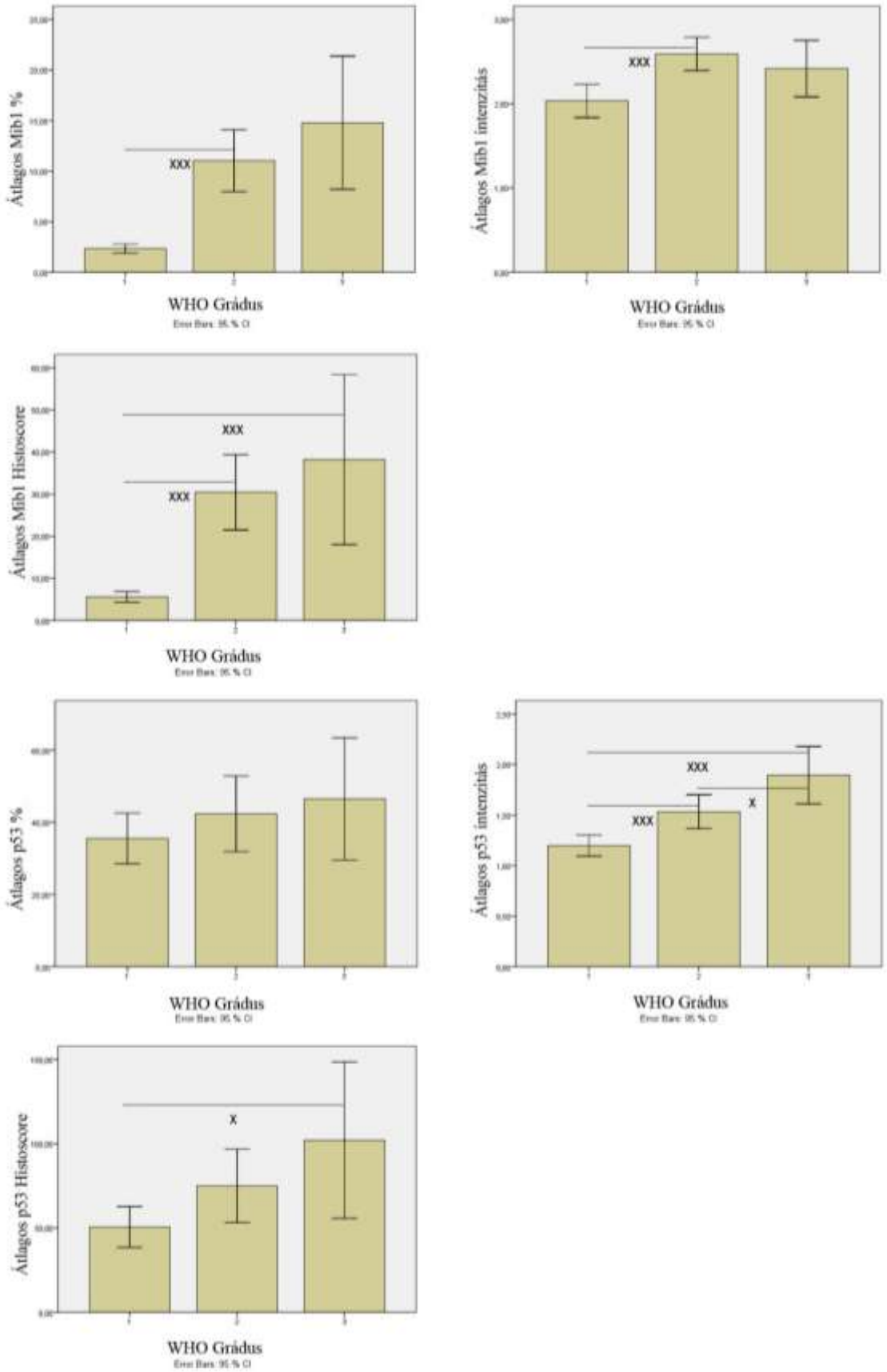
21. ábra: p53 és PARP1 immunhisztokémia reakció eredményeinek összehasonlítása *Spearman's rank order* korrelációs vizsgálattal az Si1-3 és Si2-3 értékeket illetően. Si1-3 1+-2+-3+ esetek aránya; Si2-3 2+-3+ esetek aránya.

5.2. Második körben végzett vizsgálataink eredménye

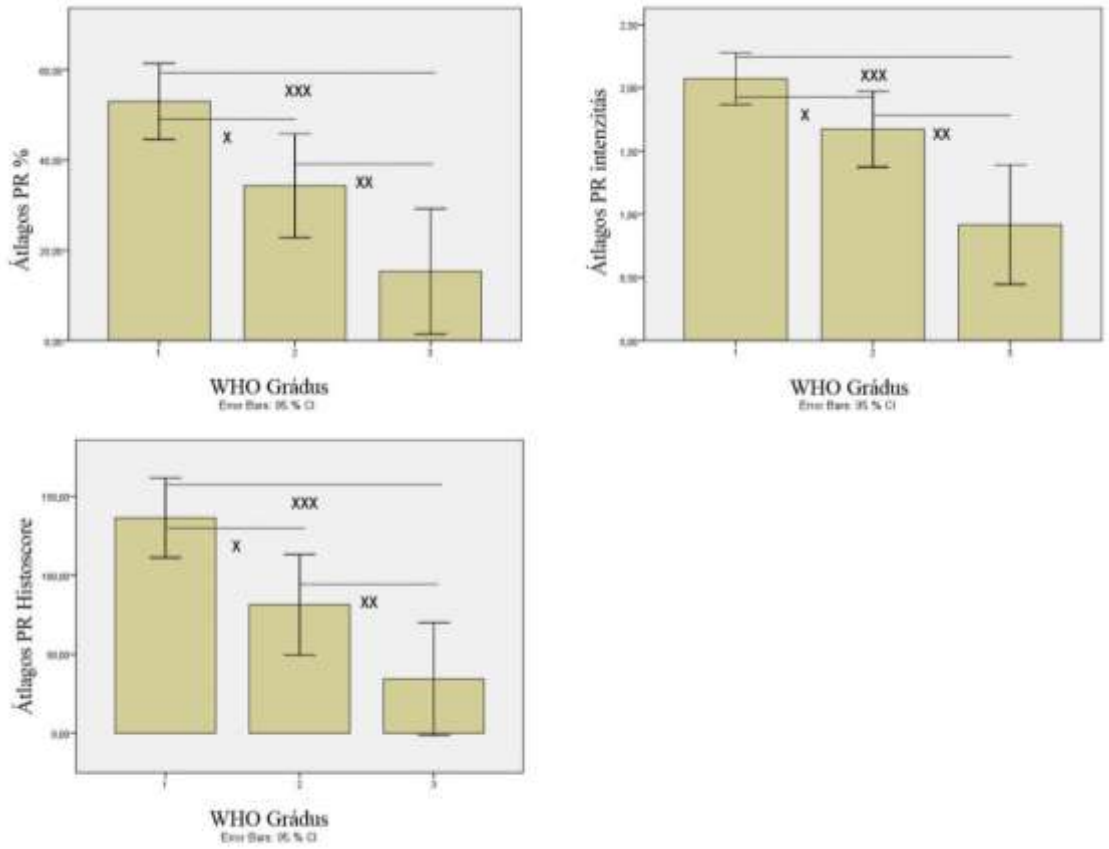
16 olyan beteg volt (3 férfi, 13 nő, átlagéletkor 54 év), akinek nem tért vissza a daganata legalább 5 évvel az első operációt követően (non-R/R csoport). 31 beteg esetében (8 férfi, 23 nő, átlagéletkor 53 év, átlagos recurrencia idő 19,6 hónap) képalkotókkal vagy kórboncolással daganat kiújulást igazoltak (R/R csoport). 23 olyan beteg volt (5 férfi, 18 nő, átlagéletkor 59 év), akiknél a vizsgálataink befejezése előtt 5 évvel történt az egyetlen operáció meningealis tumor miatt és nem volt recidíva igazolható, de az időablak rövidsége miatt e betegek kikerültek a non-R/R csoportból.

A vizsgált minták közül 65 WHO I. grádusúnak, 33 WHO II. grádusúnak és 16 WHO III. grádusúnak bizonyult. Az összes non-R/R eset WHO I. grádusba tartozott. Az R/R grádusban volt 19 WHO I. grádus, 9 WHO II. és 3 WHO III. grádus az első neuropathologiai szövettani vizsgálat során. Ezen betegek közül 8 mutatott grádusbeli progressziót, valamint 15, akiknek az első és utolsó szövettani mintájuk azonos grádusú volt. 6 olyan beteg került az R/R csoportban, akik csak egy szövettani mintával rendelkeztek. Esetükben a relapsust a képalkotó igazolta, szöveti mintavétel nélkül. Szöveti altípusok között nem volt szignifikáns különbség az egyes csoportokban: 6 meningothelialis, 5 transitionalis, 3 fibrosus ás 2 psammomatosus volt a non-R/R csoportban; míg 9 meningothelialist, 6 transitionalist, 3 fibrosust, 1 psammomatosust, 1 clear cellt, 8 atypusost és 3 anaplasticust találtunk az R/R csoportban. Relapsust tekintve, nem volt egyik szöveti altípus sem kiemelkedő a WHO I. grádusú daganatokból. Ugyancsak nem rögzítettünk a WHO II., WHO III. csoporton belül kiemelkedő recurrencia hajlammal rendelkező altípust sem (megjegyzendő, hogy az egyes altípusokra vonatkoztatva a vizsgálati mintaszám alacsony volt).

Az egyes WHO grádusokat *Kruskall-Wallis H* tesztel összehasonlítva szignifikáns összefüggést fedeztünk fel a Mib1 százalék, intenzitás és Histoscore; a p53 intenzitás és Histoscore; a PR százalék, intenzitás és Histoscore esetében. A WHO I. és WHO II. csoportok *Mann-Whitney U* teszttel összehasonlítva szignifikáns összefüggésre bukkantunk a Mib1 százalék, intenzitás és Histoscore; a p53 intenzitás; a PR százalék, intenzitás és Histoscore között. A WHO II. és WHO III. grádusú összehasonlítása során pedig a p53 intenzitás; a PR százalék, intenzitás és Histoscore mutatott szignifikáns eltérést. A WHO I. grádus és WHO III. grádus közt pedig a Mib1 százalék és Histoscore; a p53 intenzitás és Histoscore; a PR százalék, intenzitás és Histoscore esetén vettünk észre jelentős összefüggést (22. ábra, 3. táblázat).



22. ábra: Mindhárom WHO grádus összehasonlítása festődési százalék, intenzitás és Histoscore (százalék x intenzitás) Ki-67 (Mib1 antitest), p53 és progesteron receptor esetében.



22. ábra (folytatás): Mindhárom WHO grádus összehasonlítása festődési százalék, intenzitás és Histoscore (százalék x intenzitás) Ki-67 (Mib1 antitest), p53 és progesteron receptor esetében.

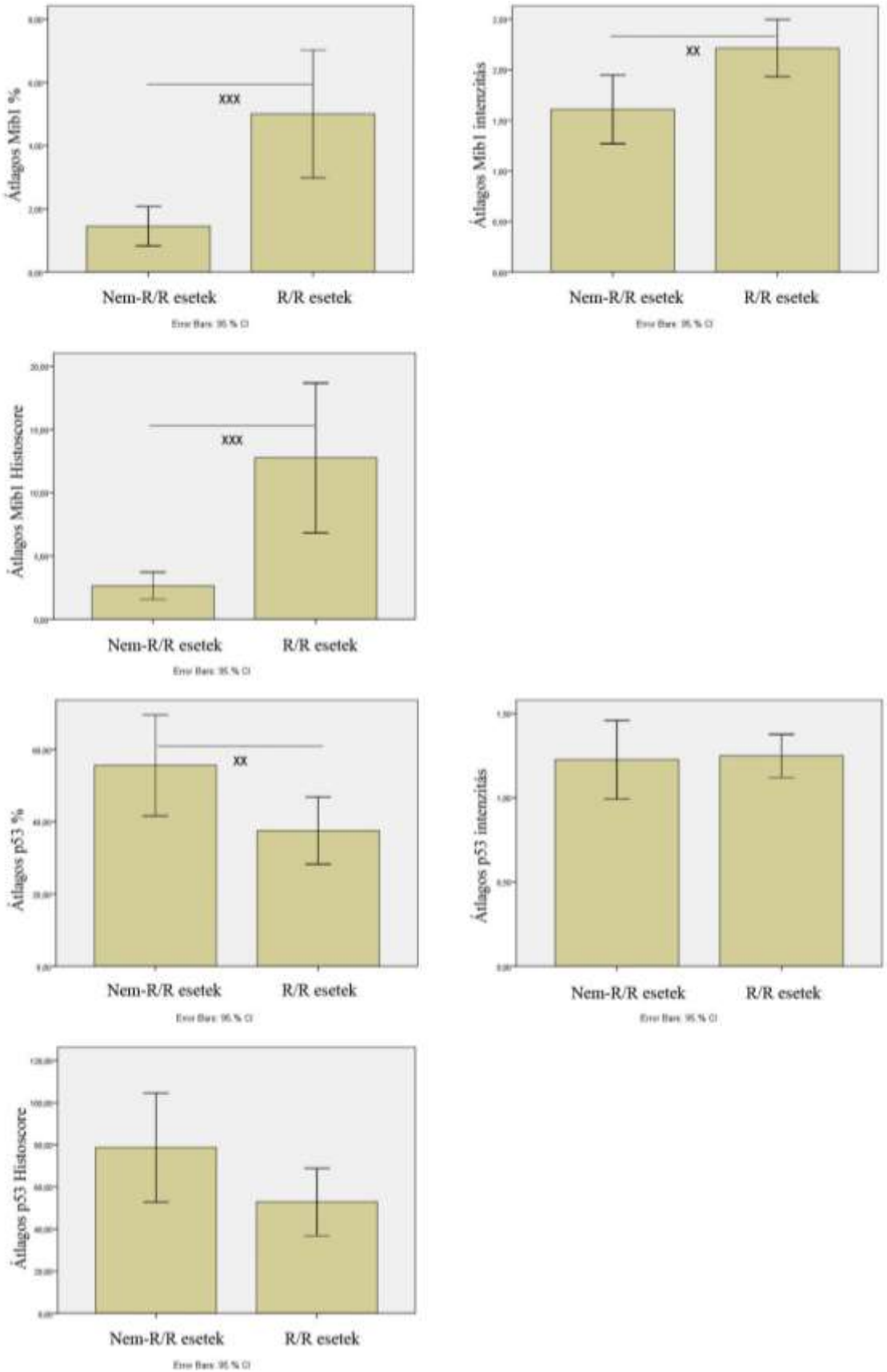
	Mib1 %	Mib1 Intenzitás	Mib1 Histoscore	p53 %	p53 Intenzitás	p53 Histoscore	PR %	PR Intenzitás	PR Histoscore
Kruskall-Wallis	**0,000**	**0,001**	**0,000**	0,316	**0,000**	**0,031**	**0,000**	**0,000**	**0,000**
Mann-Whitney grade I-II	**0,000**	**0,000**	**0,000**	0,272	**0,001**	0,065	**0,014**	**0,029**	**0,013**
Mann-Whitney grade II-III	0,449	0,320	0,831	0,654	**0,049**	0,376	**0,008**	**0,008**	**0,009**
Mann-Whitney grade I-III	**0,000**	0,086	**0,000**	0,198	**0,000**	**0,023**	**0,000**	**0,000**	**0,000**

3. táblázat: Mindhárom WHO grádus összehasonlítása *Kruskall-Wallis H* tesztel, valmint 2-2 WHO grádus összehasonlítása *Mann-Whitney U* teszttel Ki-67 (Mib1 antitest), p53 és progesteron receptor tekintetében. A táblázat a ’p’ értékeket mutatja.

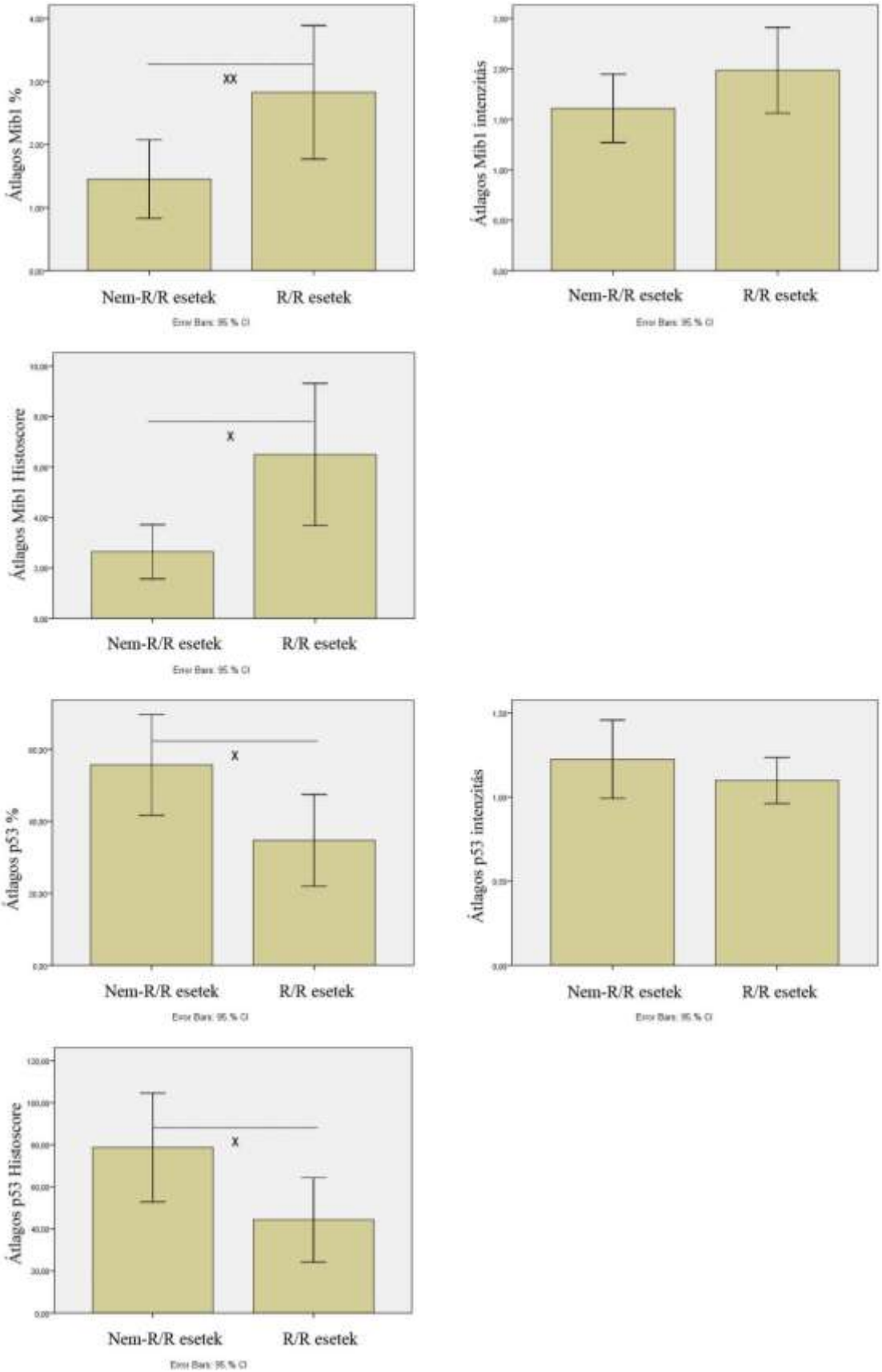
Az R/R és non-R/R csoport összehasonlítása során jelentős korreláció volt a Mib1 százalék, intenzitás és Histoscore; a p53 százalék és a WHO grádus között. Azonban amikor az R/R csoport WHO I. grádusba tartozó tagjait hasonlítottuk össze a non-R/R csoport tagjaival (mindegyik eset WHO I. grádusú volt) azt találtuk, hogy a Mib1 százalék, Histoscore; a p53 százalék és Histoscore között van szignifikáns összefüggés (23-24. ábra, 4. táblázat).

	WHO grádus	Mib1 %	Mib1 Intenzitás	Mib1 Histo score	p53 %	p53 Intenzitás	p53 Histo score	PR %	PR Intenzitás	PR Histo score
Mann-Whitney	**0,003**	**0,000**	**0,004**	**0,000**	**0,027**	0,955	0,069	0,207	0,497	0,215
Mann-Whitney (WHO I. grádus)	1,000	**0,009**	0,126	**0,029**	**0,032**	0,195	**0,038**	0,708	0,708	0,858

4. táblázat: A recurrens és a nem recurrens esetek összehasonlítása grádus-független módon (felső sor), valamint csak WHO I. grádus esetében, Mib1, p53 és progesteron receptor tekintetében *Mann-Whitney U* teszttel. A táblázat a ’p’ értékeket mutatja.



23. ábra: Festődési százalék, intenzitás és Histoscore (százalék x intenzitás) összehasonlítása a Ki-67 (Mib1 antitest) és p53 immunfestődés tekintetében a nem recurrens (nem-R/R esetek) és a relapsust mutató (R/R esetek) esetekben WHO grádusra tekintet nélkül, Ki-67 (Mib1 antitest) és p53 vonatkozásában.

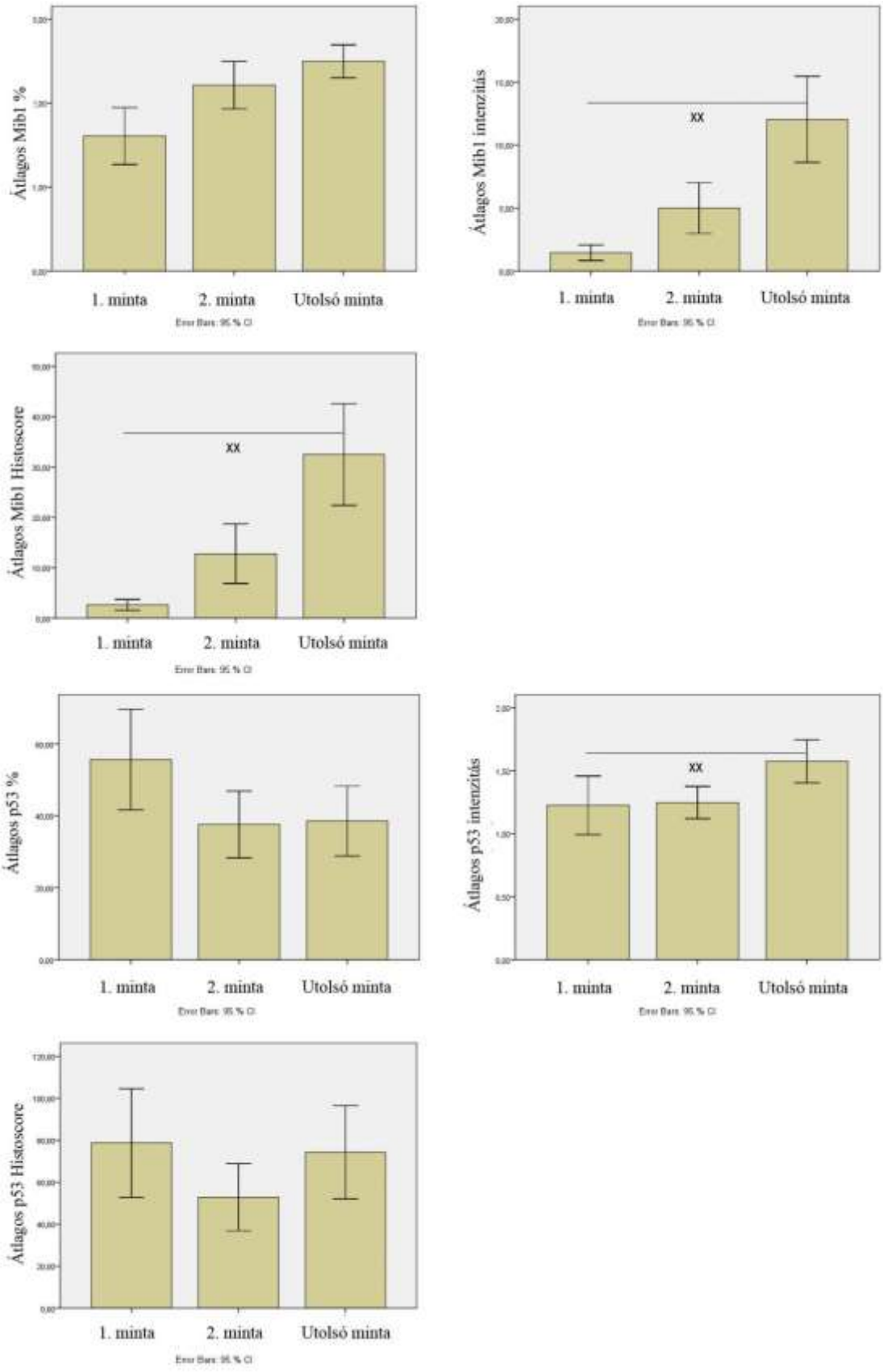


24. ábra: Festődési százalék, intenzitás és Histoscore (százalék x intenzitás) összehasonlítása a Ki-67 (Mib1 antitest) és p53 immunfestődés tekintetében a nem recurrens (mind WHO I. grádus volt) és a WHO I. grádusba tartozó relapsust mutató esetek között, Ki-67 (Mib1 antitest) és p53 esetében.

Végezetül az R/R csoport első és utolsó szövettani minták csoportjainak összehasonlítása következett: ekkor szignifikáns összefüggést találtunk a Mib1 százalék, Histoscore; a p53 intenzitás és a WHO grádus között. A *Wilcoxon signed rank* teszttel minden egyes beteghez tartozó első és utolsó szövettani minta összehasonlítása során szignifikáns különbség adódott a WHO grádus, a Mib1 százalék és Histoscore, valamint a p53 százalék között (25. ábra, 5. táblázat).

	WHO grádus	Mib1 %	Mib1 Intenzitás	Mib1 Histo score	p53 %	p53 Intenzitás	p53 Histo score	PR %	PR Intenzitás	PR Histo score
Mann-Whitney	**0,001**	**0,002**	0,098	**0,001**	0,861	**0,006**	0,553	0,154	0,154	0,159
Wilcoxon	**0,007**	**0,042**	0,237	**0,050**	**0,042**	0,484	0,559	1,000	0,545	0,876

5. táblázat: A relabált (azaz kiújuló) esetekből származó első és utolsó műtéti minta összehasonlítása *Mann-Whitney U* és *Wilcoxon signed rank* korrelációs teszttel.



25. ábra: Festődési százalék, intenzitás és Histoscore (százalék x intenzitás) összehasonlítása ugyanabból a betegből származó első, második és utolsó szövettani mintában, Ki-67 (Mib1 antitest) és p53 esetében.

6. Megbeszélés

Az egyik leggyakoribb intracranialis tumornak, a meningeomának, számos morphologiai variánsa ismert. Az aktuális (2016-os) WHO klasszifikáció szerint 13 szövettani variáns különböztethető meg [82]. Kilenc közülük az I. grádusúak közé tartozik, 2-2 tartozik a II. és a III. grádusba. Az atypusos (II. grádus) és az anaplasticus (III. grádus) definiált WHO morphologiai kritériumok alapján diagnosztizálható (szöveti megjelenés, mitosisszám, agyi invázió), habár olykor nehézségekbe ütközik. Mostanáig nem sikerült olyan megbízható immunhisztokémiai markert találni, amely segítene a grádusok elkülönítésében. Ugyanakkor igaz, hogy a Simpson (sebészi) grádus valóban segítséget nyújthat a recurrencia megítélésében [90]. A meningeomák alapvetően nem-infiltráló daganatok, ezáltal a sebészi eltávolítás általában kuratív. Azonban kis tumor-fészkek jelenhetnek meg a dura mater mentén, melyek recurrencia forrásai lehetnek. Mivel ilyen esetekben sem hatékony a chemotherapia, a radiotherapia pedig növeli a malignus transzformáció esélyét, ez további nyomós érv olyan egyszerű markerek keresése mellett, melyek segítenek a tumor progressziójának és recurrencia hajlamának megítélésében. A mai képalkotó vizsgálatok számos értékes információval bírnak, melyek egyrészt a sebész munkáját segítik (lokalizáció, anatomiai képletekhez való viszony, erezettség, peritumoralis vizenyő mértéke), de prognosztikai szempontból is jelentősek: dura farok, esetleges már meglévő tumor-fészkek a dura mentén. Jelenleg a Debreceni Egyetem, a nemzetközi irányelvekkel összhangban, a meningeomás betegeket utánköveti: egy post-operatív képalkotó vizsgálat elvégzését követően – az esetleges rezidualis tumor vizsgálatára – 1 évig félévente, majd 4 évig évente MRI vizsgálatot végeznek az esetleges relapsus kimutatására. Amennyiben nem diagnosztizálható kiújulás, akkor gyógyultnak minősítik a beteget.

Vizsgálataink során retrospektív elemzésnek vetettük alá a Debreceni Egyetem Általános Orvostudomány Kar Pathologiai Intézetében fellelhető, elmúlt 16 év során „meningeoma” szövettani diagnózist nyert betegek idegsebészeti műtétek során adott szövettani anyagait. A rendelkezésre álló anyagot klasszikus módon, a WHO 2007-es ajánlását követve osztályoztuk. Vizsgálataink során részben a DNS hibajavításban és a genom integritásának megőrzésében szerepet játszó két fehérje a PARP és a p53 szerepét vizsgáltuk, illetve e fehérjék kapcsolatát a WHO grádussal. Emellett analizáltuk a visszatérő meningeomás eseteket, és olyan fehérje

markereket kerestünk a rutin pathologiai gyakorlatból, mint például a Ki67, a progesteron receptor, a p53 melyek segítséget nyújthatnak a recurrencia megítélésben.

A PARP család 17 eleméből talán a legfontosabb és legtöbbet vizsgált fehérje a PARP1, aminek a DNS hibajavításban betöltött szerepe jól ismert és fontos funkciója van a caspase független apoptoticus útvonalban és a necroticus sejthalálban is. A PARP1 rendeltetését számos tumorban vizsgálták: az emlő daganatokon [193] kívül, petefészek [194-196], endometrium [197], hasnyálmirigy tumorok [198], gyomor daganatok [199], egyes vastagbél eredetű daganatok [200], germinalis eredetű tumorok [201], prosztata carcinomák [202], melanomák [203, 204], Ewing sarcoma [205], neuroblastomák [206], glioblastomák [89, 207] esetében; azonban ismereteink szerint meningeomákban szerepét még nem kutatták.

A p53 az egyik legfontosobban tumorsupressor fehérje, a humán tumorok mintegy felében írták le funkcióját. Számos tanulmány született a p53 markerről meningeomákban, de ezek kétséges eredményt adtak. Volt, amelyik negatív eredménnyel zárult [85, 133-135] és volt amely összefüggést mutatott ki a p53 státusz és a grádus vagy a recurrencia között [12, 91, 136-144].

Az első körben végzett vizsgálataink során megvizsgált 41 minta immun-pozitivitást eredményezett, mind PARP1, mind p53 antitestekkel. PARP1 esetében a pozitív sejtek aránya (Si1-3) a II. grádusban volt a legtöbb; p53 esetében az immuno-pozitivitás (Si2-3) fokozatos emelkedést mutatott, és a III. grádusú daganatokban bizonyult a legmagasabbnak. Összehasonlítva az alacsony grádusú (I. grádus) és magas grádusú (II. és III. grádus) meningeomákat, PARP1 vonatkozásában magasabb Si1-3 érték volt kimutatható, míg p53 esetében a Si2-3 értéket ítéltük magasabbnak. *Spearman's rank order* korreláció vizsgálattal és lineáris regressziós analízissel nem volt statisztikai korreláció a PARP1 és a p53 immunjelölődés között, igazolva, hogy ez a két marker nem függ egymástól.

Feltételezésünk szerint PARP1 aktiváció emelkedés a WHO II. grádusú daganatokban azért következhet be, mert a sejtek próbálnak megküzdeni a DNS hibákkal, míg a III. grádusú daganatokban a PARP1 aktivitás csökkenés az apoptoticus/necroticus sejthalál és a fehérje substratok hiánya miatt lehet. Eredményeink szerint a p53 fehérje szerepet játszik a meningeomák kialakulásában, és ez feltehetően a meningealis tumorok progressziójának kései történése lehet. Tapasztalataink alapján a p53 fehérje jelenléte folyamatos emelkedést mutatott és a legmagasabb értékeket a WHO III. grádusú csoportban érte el. Érdekesség, hogy PARP1

esetében a szignifikáns összefüggés a bármilyen jelölődést mutató sejtek arányában volt látható, míg a p53 esetében csak az intenzív 2+-es és 3+-es sejtek arányában. Ennek okaként azt feltételezzük, hogy míg a PARP1 esetében a fehérje gyakorlatilag nem detektálható ép durasejtekben, addig a p53-nak a vad típusa, mely ugyancsak jelölődik az antitesttel, gyenge reakciót (1+) tud produkálni. Ez szintén a hipotézisünket támasztja alá, hogy az intenzívebb jelölődésű mutáns p53 függ össze a tumor grádussal, és ezt a vad típusú fehérje esetleges fiziológiás felhalmozódása nem befolyásolja. Mivel mindkét fehérje magasabb jelölődést mutatott a 'high grade' (WHO II. és WHO III.) grádusú tumorok összesített vizsgálata során, mindkét fehérje szerepe feltételezhető a rosszabb prognózissal bíró esetek kialakulásában. Habár további vizsgálatok szükségesek, eddigi eredményeink szerint a PARP1 és a p53 segítséget nyújthat a meningeomák diagnózisa és grádusának meghatározása vonatkozásában.

Kutatásaink második felében egy egyszerűen használható immunhisztokémiai panelt kerestünk a mindennapi neuropathologiai gyakorlat számára, mely alapján a meningeoma relapsus/recurrencia valószínűsége jobban megítélhető. Ez nagy segítséget nyújthat problémás lokalizációjú, (mint pl. falx cerebri) meningeomák esetén.

Úgy véljük, hogy a Mib1 marker jelölődési indexe eltérő lehet az egyes laborokban [208], azonban standardizált metodika mellett segíthet az esetek összehasonlításában is, mind tudományos, mind rutin diagnosztikus vizsgálat esetén. Korábbi kutatások leírták, hogy magasabb kezdeti Mib1 index agresszívebb viselkedést, gyorsabb növekedést, megnövekedett recurrencia hajlamot, rosszabb prognózist jelez számos daganat típusban [185-188], köztük a meningeomákban is [84, 85, 91, 140], valamint fordítottan arányos a recurrencia mentes idővel [190]. Vizsgálataink során mi magunk is azt tapasztaltuk, hogy a Mib1 arány, illetve Histoscore a WHO grádussal összhangban növekszik. A recurrens esetekben magasabb Mib1 értékek tapasztalhatók. Ezen értékeket nem csak az összes WHO grádusba sorolt tumorok vizsgálata során tudtuk kimutatni, hanem a csak WHO I. grádusba sorolt esetek vizsgálata során is. Ennek értelmében azon WHO I. grádusba sorolt tumorok, melyek emelkedett Mib1 értékkel rendelkeznek, de nem merítik a WHO II. grádus kritériumait, nagyobb valószínűséggel mutathatnak kiújulást. Emellett feltártuk, hogy a recurrens esetek időbeli lefolyása során konzisztens Mib1 index emelkedés látható, ami összecseng a tumor progresszióval és a magasabb WHO grádusú tumorok megnövekedett proliferatios potenciáljával.

A p53 esetén ugyancsak magasabb értékek voltak megfigyelhetőek magasabb WHO grádusokban. Azonban érdekességként azt találtunk, hogy a p53 esetében magasabb arány volt kimutatható a nem recurrens esetekben. Ennek a korábban már említett oka feltehetően az, hogy a klinikai rutinban (és a mi vizsgálatainkban is) használt p53 antitest nem tesz különbséget a vad típus és a mutáns fehérje között. Azt feltételezzük, hogy a kiújulást nem mutató esetekben a megemelkedett normál p53 szint előnyösen hat a DNS károsodás kijavítására. Ezzel szemben a magasabb grádusú esetekben a mutáns p53 jelenlétét láttuk, ami nem effektív, hozzájárulva a tumor növekedéséhez. Erre a kérdésre mutáció analízis tudná megadni a választ, de jelen munkánkban a mindennapi klinikai gyakorlatban használható immunhisztokémiai markerekre azonosítására és nem a mechanizmus feltárására fókuszáltunk. A p53 fehérje intenzitása növekedett az ugyanabból a recurrens lefolyást mutató betegből származó minták időbeli lefolyása során, melynek oka a kiszelektálódó mutáns p53 fehérjével rendelkező tumorsejtek lehetnek.

A mi eredményeinkhez hasonlóan, korábbi kutatások is leírták, hogy meningeomákban a progeszteron receptor expresszió fordítottan arányos a grádussal [86, 168, 169], ami a grádus meghatározásában nyújthat segítséget. Eredményeinkkel szintén összhangban más kutatók is arra jutottak, hogy habár a PR immunfestődés arányos a grádussal, a relapsus/recurrencia valószínűségének meghatározásában nem nyújt segítséget [209, 210]. Jelen vizsgálatainkban nem volt szignifikáns összefüggés a PR esetében, a recurrencia vonatkozásában, és ugyancsak nem mutattak eltérést egyazon betegből származó különböző tumorok alkalmával sem. Ugyanakkor a progesteron receptor meghatározásnak therapias lehetősége is lehet. Az az ismert tény, hogy ezen tumorok hormon-receptorral rendelkeznek, felvetette a lehetőségét hormontherapianak. A közelmúltban le is írtak mifepristone-nal (RU486) sikeresen kezelt multiplex intracranialis meningeomás betegeket is [211]. Ezen betegek az utánkövetés kapcsán mind klinikailag mind radiologiailag jó terápiás választ mutattak.

Röviden összefoglalva:

- A vizsgált tumormarkerek (PARP1, p53, Mib1 és PR) kimutathatósága és a meningeomák viselkedés szerint csoportjai között szignifikáns összefüggés van.
- A PARP1 és a p53 jelenléte és változásai azonban egymástól függetlenek.
- A PARP1, a p53 és a Mib1 a WHO grádussal egyenesen arányosan nő.
- Ellenben a PR fordított arányban mutatható ki a WHO gradus növekedésével.

- A R/R és a non-R/R betegcsoportok szövettani anyagát összehasonlítva az összes WHO grádusú beteg anyagát vizsgálva: mind a Mib1 index, mind a p53 fehérje expressiója tekintetében meg tudtuk erősíteni azt a korábbi kutatási eredményt, miszerint a tumor agresszív viselkedését a fenti markerek jelzik és előre vetítik.
- A csak WHO I-es grádusú meningeomák viselkedését és markerjellemzőit vizsgálva: a Mib1 egyértelműen előrejelzi a relapsus/recurrencia nagyobb valószínűségét – míg a p53 esetében ez az összefüggés nem áll fenn, sőt fordított arányt mutat (ez a vad és mutáns fehérje változat funkcióbeli különbözőségével magyarázható).
- Recidiváló esetek ugyanabból a betegből származó mintáinak összehasonlítása során megállapítottuk, hogy a WHO grádus, a Mib1%, a Histoscore, és a p53% szignifikáns eltérést és növekedést mutat az idő előrehaladásával

Eredményeinket a közeli jövőben a digitális képanalízis és automatizálás tovább finomíthatja, mert ezekkel a módszerekkel standardizált eredmények kaphatóak [212, 213], melyet napjainkban már a kutatók rendszeresen használnak [214-216]. A közeli jövőben pedig a mindennapi rutin pathologiai munka részévé válhatnak.

Összességében egy egyszerű, a mindennapi munkában használható immunhisztokémiai panelt állítottunk össze, melynek segítségével a meningeomákat pontosabban tudjuk diagnosztizálni, gradálni, és nagyobb recurrencia valószínűsége esetén kiszűrni azon betegeket, akiknek szorosabb utánkövetésre van szükségük.

7. Összefoglalás

A meningeomák, mint az egyik leggyakoribb intracranialis daganatok, a neuropathologiai gyakorlatban jelentős számban előfordulnak. Általában jóindulatúak, de előfordulhatnak recidívák. A WHO kritériumok alapján 3 grádust különítünk el, melyek a tumor agresszivitását is jellemzik. Számos olyan eset van, ahol a grádus meghatározás nehézségekbe ütközik és szükséges lehet egy vagy több immunhisztokémiai markerre, mely segíthet ezen esetekben. Erre lehet alkalmas a DNS hibajavításban szerepet játszó PARP1, a „genom őrzőjének" is nevezett p53, az intranuclearis progesteron receptor, valamint a Mib1 (anti-Ki67 antitest) proliferatios marker.

Vizsgálatainkat két körben végeztük: először egy kisebb betegcsoporton (31 beteg 41 mintája), majd egy nagyobb beteganyagon (70 beteg 114 mintája). Az első körben a DE KK Pathologiai Intézetében a napi rutinban alkalmazott automatizált immunhisztokémiai reakciókat értékeltük ki. Második körben pedig szöveti multiblokkokat készítettünk és ezeken nagyobb esetszámot vizsgáltunk. Az elkészült immunfestéseket digitalizáltuk és megszámoltuk a festődő sejteket (%), az átlagos festődési intenzitást, valamint meghatároztuk az ezek szorzatából létrejött 'Histoscore'-t. A mintákat részben a WHO grádus, részben az 5 éves intervallumban bekövetkezett relapsus/recurrencia megléte vagy hiánya alapján csoportosítottuk, és matematikai elemzésnek vetettük alá (Kruskall-Wallis H, Mann-Whitney U, Wilcoxon signed rank teszt, Spearman's rank order korreláció).

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy szignifikáns összefüggés van a WHO grádus és a PARP1 festődés, a p53, a Mib1 és a PR jelölődés között. Azonban a PARP1 a WHO II. grádusban, míg a p53 a WHO III. grádusban mutatta a legmagasabb értéket. A két marker (PARP1 és p53) változása egymással nem függ össze. A PARP1, a p53, a Mib1 egyenes arányos, míg a PR fordított arányosságot mutat a WHO grádussal. Recurrencia tekintetében a Mib1 és a p53 mutat szignifikáns eltérést.

Eredményeink segíthetik a rutin neuropathologiai gyakorlatban a meningeomák leletezését és jelezhetik a klinikusoknak a relapsusra hajlamos betegeket, akik szoros utánkövetése indokolt.

8. Summary

The meningiomas as one of the most frequent intracranial tumours occur in high numbers in the neuropathological practice. Although these tumours are usually benign, recurrences may occur. According to the WHO criteria there are 3 grades, indicating increasing tumour aggressiveness. There are cases where the WHO grading is difficult, therefore we need immunohistochemical markers that help in such cases. The DNA damage repair protein PARP1, the p53 as 'guardian of the genom', the intranuclear progesterone receptor, and the proliferation marker Mib1 (anti-Ki67 antibody) are possible candidates.

Our experiments were carried out in two phases: first on a small group of patients' samples (41 samples of 31 patients) and later on more patients (114 samples of 70 patients). We applied automated immunohistochemical methods, which are routinely used at the Institute of Pathology, University of Debrecen Clinical Centre. In the second round we performed the study on samples built into a tissue microarray (TMA) paraffin block. The samples were digitalized and the staining percentage, average staining intensitiy, and Histoscore (multiplying the above two readouts) were calculated. The samples were grouped according to WHO grades, and the relapse/recurrence (presence or absence) within a five-year interval was calculated and analysed with statistical tests (Kruskall-Wallis H, Mann-Whitney U, Wilcoxon signed rank test, Spearman's rank order correlation).

Our results reveal correlation between WHO grade and PARP1, p53, Mib1 and PR expression, respectively. PARP1 has the highest value in WHO Grade II meningiomas, whereas p53 shows the highest value in WHO Grade III tumours. The expression of PARP1 and p53 are not related to each other. PARP1, p53 and Mib1 show direct proportion, while the PR shows inverse proportion to the WHO Grade. Regarding relapse/recurrence, only the Mib1 and p53 show differences.

Our findings could help the diagnostic neuropathological work-up of meningiomas, and provide information for clinicians regarding the chance of tumour relapse/recurrence.

9. Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönet témavezetőmnek, Dr. Hortobágyi Tibornak a szakmai tanácsokért, útmutatásért, a vizsgához és fokozatszerzéshez szükséges feltételek előteremtéséért.

Köszönöm Prof. Dr. Méhes Gábornak a DE AOK Pathologiai Intézet vezetőjének tudományos munkáim során nyújtott támogatását és türelmét.

Külön köszönet Murnyák Balázsnak a szakmai tanácsokért és Beke Líviának a laboratóriumi munkában nyújtott nagy segítségéért.

Köszönöm a szakértői segítséget az értekezés alapjául szolgáló közlemények társszerzőinek a munkák elvégzésében.

És végül, de nem utolsó sorban a DE AOK Pathologiai Intézet valamennyi dolgozójának köszönöm a kisebb nagyobb segítségét az eddigi szakmai életemben.

Hálás vagyok, hogy a munkám a Nemzeti Agykutatási Program (KTIA_13_NAP-A-II/7.; KTIA_13_NAP-A-V/3.) és a Gazdaságfejlesztési és Innovációs Operatív Program (GINOP-2.3.2-15-2016-00043) támogatásával valósult meg.

10. Tárgyszavak

Magyarul:

Meningeomák, PARP1, p53, Mib1, progesteron receptor, WHO Grádus, Relapsus/recurrencia, Immunhisztokémia

Angolul:

Meningiomas, PARP1, p53, Mib1, progesterone receptor, WHO Grade, Relapse/recurrence, Immunohistochemistry

11. Saját közlemények jegyzéke

DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR

Nyilvántartási szám: DEENK/6/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Csonka Tamás
Neptun kód: Q374RS
Doktori Iskola: Idegtudományi Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10036606

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Csonka, T.**, Murnyák, B., Szepesi, R., Bencze, J., Bognár, L., Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Assessment of candidate immunohistochemical prognostic markers of meningioma recurrence
Folia Neuropathol. 54 (2), 114-126, 2016.
IF: 1.233 (2015)

2. **Csonka, T.**, Murnyák, B., Szepesi, R., Kurucz, A., Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) and p53 labelling index correlates with tumour grade in meningiomas.
Folia Neuropathol. 52 (2), 111-120, 2014.
DOI: http://dx.doi.org/10.5114/fn.2014.43782
IF: 1.568

További közlemények

3. Murnyák, B., **Csonka, T.**, Hortobágyi, T.: A meningeomák molekuláris patológiája.
Ideggyogy. Szle. 68 (9-10), 292-300, 2015.
DOI: http://dx.doi.org/10.18071/isz.68.0292
IF: 0.376

4. Murnyák, B., Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Szepesi, R., Kurucz, A., Dankó, K., Hortobágyi, T.: Inclusion body myositis: pathomechanism and lessons from genetics.
Open Med. 10, 188-193, 2015.
IF: 0.19

Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. ▫ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. ▫ Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu ▫ Honlap: www.lib.unideb.hu

5. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Dankó, K., Hortobágyi, T.: Zárványtestes myositis.
Ideggyogy. Szle. 68 (1-2), 59-67, 2015.
IF: 0.376

6. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Murnyák, B., Kurucz, A., Dankó, K., Hortobágyi, T.: Inclusion body myositis - a case based clinicopathological update.
Cent. Eur. J. Med. 9 (1), 80-85, 2014.
IF: 0.153

7. Csiszkó, A., László, I., Palatka, K., Szabó, K., Kanyári, Z., Bidiga, L., **Csonka, T.**, Damjanovich, L., Szentkereszty, Z.: Primary angiosarcoma of the pancreas mimicking severe acute pancreatitis: case report.
Pancreatology. 15 (1), 84-87, 2014.
IF: 2.837

8. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Hortobágyi, T., Griger, Z., **Csonka, T.**, Dankó, K.: Szignálfelsimerőrészecske-ellenes autoantitest-pozitív myopathia.
Ideggyogy. Szle. 67 (9-10), 347-353, 2014.
IF: 0.386

9. Huttner, H. B., Bergmann, O., Salehpour, M., Rácz, A., Tatarishvili, J., Lindgren, E., **Csonka, T.**, Csiba, L., Hortobágyi, T., Méhes, G., Englund, E., Solnestam, B. W., Zdunek, S., Scharenberg, C., Ström, L., Ståhl, P., Sigurgeirsson, B., Dahl, A., Schwab, S., Possnert, G., Bernard, S., Kokaia, Z., Lindvall, O., Lundeberg, J., Frisén, J.: The age and genomic integrity of neurons after cortical stroke in humans.
Nat. Neurosci. 17 (6), 801-803, 2014.
DOI: http://dx.doi.org/10.1038/nn.3706
IF: 16.095

10. **Csonka, T.**, Szepesi, R., Bidiga, L., Péter, M., Klekner, Á., Hutóczki, G., Csiba, L., Méhes, G., Hortobágyi, T.: A herpesencephalitis diagnosztikájáról egy esetismertetés kapcsán.
Ideggyogy. Szle. 66 (9-10), 337-342, 2013.
IF: 0.343

11. Murnyák, B., **Csonka, T.**, Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Alacsony grádusú glialis daganatok előfordulása és molekuláris patológiája.
Ideggyogy. Szle. 66 (9-10), 305-311, 2013.
IF: 0.343

12. Murnyák, B., **Csonka, T.**, Hegyi, K., Méhes, G., Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Magas grádusú gliomák előfordulása és molekuláris patológiája.
Ideggyogy. Szle. 66 (9-10), 312-321, 2013.
IF: 0.343

13. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., **Csonka, T.**, Cseri, K., Hortobágyi, T., Dankó, K.: Rituximabkezelés idiopathiás inflammatorikus myopathiákban.
LAM. 23 (1), 16-21, 2013.

14. Méhes, G., Hegyi, K., **Csonka, T.**, Fazakas, F., Kocsis, Z., Radványi, G., Vadnay, I., Bagdi, E., Krenács, L.: Primary uterine NK-cell lymphoma, nasal-type: a unique malignancy of a prominent cell type of the endometrium.
Pathol. Oncol. Res. 18 (2), 519-522, 2012.
DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s12253-011-9360-4
IF: 1.555

15. Nagy, E., Eaton, J. W., Jeney, V., Soares, M. P., Varga, Z., Galajda, Z., Szentmiklósi, J. A., Méhes, G., **Csonka, T.**, Smith, A., Vercellotti, G. M., Balla, G., Balla, J.: Red cells, hemoglobin, heme, iron, and atherogenesis.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 30 (7), 1347-1353, 2010.
DOI: http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.206433
IF: 7.215

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 33,013
A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 2,801

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.01.19.

12. Függelék

1. tartály: 10% -os formalin	1 óra
2. tartály: kútvíz	1 óra
3. tartály: isopropil alkohol	1 óra
4. tartály: isopropil alkohol	1 óra
5. tartály: isopropil alkohol-aceton	50 perc
6. tartály: isopropil alkohol-aceton	1 óra
7. tartály: aceton	1 óra
8. tartály: aceton	1 óra
9. tartály: xylol	2 óra
10. tartály: xylol	2 óra
11. Paraffin	30 perc
12. Paraffin	30 perc
13. Paraffin	1 óra
14. Paraffin	1 óra

Shandon Pathcentre Tissue Processor víztelenítési protokoll lépései

1. Deparaffinálás: xylol	3 perc
2. Deparaffinálás: xylol	3 perc
3. Deparaffinálás: xylol	3 perc
4. 100% alkohol	
5. 90% alkohol	
6. 80% alkohol	
7. Öblítés desztillált víz	
8. Leszálló alkoholsor	
9. Desztillált víz	
10. Magfestés: Mayer hemalaun oldat	5 perc
11. Kékítés kútvízben	5 perc
12. Festés: Eosin Y oldat	1 perc
13. Öblítés desztillált vízben	
14. 80% alkohol	3 perc
15. 90%alkohol	3 perc
16. 100%alkohol	3 perc
17. Xylol	3 perc
18. Xylol	5 perc
19. fedés.	

Deparaffinálás, Rehidrálás és Hematoxilin-eosin festés *Leica ST 5020 automatán*

1. Deparaffinálás: Bond dewax oldatban	72 °C
2. Deparaffinálás: Bond dewax oldatban	72 °C
3. Deparaffinálás: Bond dewax oldatban	
4. 96% alkohol	3x
5. Mosás: Bond mosó pufferben	2x
6. Mosás: Bond mosó pufferben	5perc
7. Antigén feltárás: Bond antigén feltáró oldatban	2x
8. Antigén feltárás: Bond antigén feltáró oldatban	10 perc, 100 °C
9. Antigén feltárás: Bond antigén feltáró oldatban	12 perc
10. Mosás: Bond Mosó pufferben	3x, 35 °C
11. Mosás: Bond Mosó pufferben	3 perc
12. Endogén peroxidáz gátlás: Peroxidáz blokkoló oldatban /3–4% (v/v) Hidrogén peroxid/	5 perc
13. Mosás: Bond Mosó pufferben	3x
14. Primer antitest inkubálás	30 perc
15. Mosás: Bond Mosó pufferben	3x
16. Inkubálás a másodlagos antitesttel: rabbit anti- mouse IgG (<10 µg/ml) 10% (v/v) normál szérum TBS pufferben.	8 perc
17. Mosás: Bond Mosó pufferben	3x2 perc
18. Inkubálás a harmadlagos antitesttel: Anti-rabbit Poly-HRP-IgG (<25µg/mL) 10% (v/v) normál szérum TBS pufferben.	8 perc
19. Mosás: Bond Mosó pufferben	2x2 perc
20. Desztillált víz	
21. Előhívás, DAB+ Chromogen	
22. Előhívás, DAB+ Chromogen	10 perc
23. Mosás: desztillált víz	3x
24. Magfestés Gill hematoxilin oldatban	5 perc
25. Mosás: desztillált víz	
26. Mosás: Bond Mosó pufferben	
27. Mosás: desztillált víz	
A metszeteket kivesszük az automatából, majd víztelenítjük:	
28. 70% alkohol	
29. 80% alkohol	
30. 100% alkohol	
31. xylol	3 perc
32. xylol	3 perc

Leica Bond Max™ immunhisztokémiai protokoll lépései

Beteg No.	Metszet No.	WHO Grádus	Szöveti altípus	PARP1						p53					
				0	1+	2+	3+	Si1-3	Si2-3	0	1+	2+	3+	Si1-3	Si2-3
1	1	I	meningothelialis	5	85	9	1	0,95	0,1	49	34	14	3	0,51	0,17
2	2	I	meningothelialis	16	39	37	8	0,84	0,45	49	43	8	0	0,51	0,08
3	3	I	meningothelialis	22	74	4	0	0,78	0,04	70	27	3	0	0,3	0,03
4	4	I	transitionalis	10	65	25	0	0,9	0,25	46	50	4	0	0,54	0,04
5	5	I	meningothelialis	26	50	13	11	0,74	0,24	57	39	4	0	0,43	0,04
6	6	I	meningothelialis	8	83	9	0	0,92	0,09	76	24	0	0	0,24	0
7	7	I	transitionalis	32	66	2	0	0,68	0,02	75	24	1	0	0,25	0,01
8	8	I	meningothelialis	15	83	2	0	0,85	0,02	52	34	14	0	0,48	0,14
9	9	I	secretoros	22	75	3	0	0,78	0,03	75	17	7	1	0,25	0,08
10	10	I	meningothelialis	23	37	38	2	0,77	0,4	71	23	6	0	0,29	0,06
11	11	I	fibrosus	21	30	24	25	0,79	0,49	47	50	3	0	0,53	0,03
12	12	I	transitionalis	15	66	19	0	0,85	0,19	53	38	9	0	0,47	0,09
13	13	I	meningothelialis	7	93	0	0	0,93	0	86	12	2	0	0,14	0,02
14	14	I	meningothelialis	11	68	20	1	0,89	0,21	76	23	1	0	0,24	0,01
15	15	I	microcysticus	5	36	59	0	0,95	0,59	83	17	0	0	0,17	0
16	16	I	transitionalis	10	85	4	1	0,9	0,05	52	43	5	0	0,48	0,05
17	17	I	transitionalis	6	89	5	0	0,94	0,05	73	21	6	0	0,27	0,06
18	18	I	transitionalis	16	33	48	3	0,84	0,51	79	18	3	0	0,21	0,03
19	19	II	atypusos	10	77	11	2	0,9	0,13	60	30	10	0	0,4	0,1
20	20	II	atypusos	8	64	26	2	0,92	0,28	76	24	0	0	0,24	0
21	21	II	atypusos	1	67	32	0	0,99	0,32	85	13	2	0	0,15	0,02
22	22	II	világos sejtes	2	80	18	0	0,98	0,18	68	29	3	0	0,32	0,03
23	23	II	atypusos	14	71	10	5	0,86	0,15	78	18	4	0	0,22	0,04
23	24	I	transitionalis	9	72	16	3	0,91	0,19	69	31	0	0	0,31	0
24	25	II	atypusos	6	71	21	2	0,94	0,23	80	18	2	0	0,2	0,02
25	26	II	atypusos	1	84	15	0	0,99	0,15	72	23	5	0	0,28	0,05
25	27	II	világos sejtes	1	44	53	2	0,99	0,55	44	39	15	2	0,56	0,17
25	28	II	világos sejtes	0	27	49	24	1	0,73	38	32	27	3	0,62	0,3
25	29	I	meningothelialis	10	81	9	0	0,9	0,09	67	29	4	0	0,33	0,04
25	30	I	meningothelialis	4	77	16	3	0,96	0,19	71	21	6	2	0,29	0,08
25	31	I	transitionalis	9	82	9	0	0,91	0,09	67	27	6	0	0,33	0,06
26	32	II	atypusos	0	33	63	4	1	0,67	35	39	26	0	0,65	0,26
27	35	III	anaplasticus	10	81	9	0	0,9	0,09	59	29	10	2	0,41	0,12
27	34	III	anaplasticus	8	42	40	10	0,92	0,5	30	47	22	1	0,7	0,23
27	33	II	atypusos	4	83	10	3	0,96	0,13	71	21	7	1	0,29	0,08
28	36	III	anaplasticus	10	74	15	1	0,9	0,16	42	28	17	13	0,58	0,3
28	37	III	anaplasticus	20	66	14	0	0,8	0,14	49	20	17	14	0,51	0,31
28	38	III	anaplasticus	4	47	48	1	0,96	0,49	79	19	2	0	0,21	0,02
29	39	III	anaplasticus	14	71	14	1	0,86	0,15	68	22	7	3	0,32	0,1
30	40	III	anaplasticus	25	73	2	0	0,75	0,02	54	26	13	7	0,46	0,2
31	41	III	anaplasticus	28	62	10	0	0,72	0,1	76	15	9	0	0,24	0,09

Az első körben vizsgált esetek megoszlása WHO grádus, szöveti altípus alapján. Az egyes esetekben mért PARP és p53 intenzitás arányának megoszlása a megszámolt 100 tumoros sejtben.

13. Irodalomjegyzék

1. Goldsmith, B.J., et al., *Postoperative irradiation for subtotally resected meningiomas. A retrospective analysis of 140 patients treated from 1967 to 1990.* J Neurosurg, 1994. **80**(2): p. 195-201.

2. Custer, B., et al., *Hormonal exposures and the risk of intracranial meningioma in women: a population-based case-control study.* BMC Cancer, 2006. **6**: p. 152.

3. Longstreth, W.T., Jr., et al., *Dental X-rays and the risk of intracranial meningioma: a population-based case-control study.* Cancer, 2004. **100**(5): p. 1026-34.

4. Cordera, S., et al., *Epidemiology of primary intracranial tumours in NW Italy, a population based study: stable incidence in the last two decades.* J Neurol, 2002. **249**(3): p. 281-4.

5. Klaeboe, L., et al., *Incidence of intracranial meningiomas in Denmark, Finland, Norway and Sweden, 1968-1997.* Int J Cancer, 2005. **117**(6): p. 996-1001.

6. Rausing, A., W. Ybo, and J. Stenflo, *Intracranial meningioma--a population study of ten years.* Acta Neurol Scand, 1970. **46**(1): p. 102-10.

7. Osawa, T., et al., *Factors affecting peritumoral brain edema in meningioma: special histological subtypes with prominently extensive edema.* J Neurooncol, 2013. **111**(1): p. 49-57.

8. Chauveinc, L., et al., *Dosimetric and cytogenetic studies of multiple radiation-induced meningiomas for a single patient.* Radiother Oncol, 1997. **43**(3): p. 285-8.

9. Longstreth, W.T., Jr., et al., *Epidemiology of intracranial meningioma.* Cancer, 1993. **72**(3): p. 639-48.

10. Kleinschmidt-DeMasters, B.K. and K.O. Lillehei, *Radiation-induced meningioma with a 63-year latency period. Case report.* J Neurosurg, 1995. **82**(3): p. 487-8.

11. Harrison, M.J., et al., *Radiation-induced meningiomas: experience at the Mount Sinai Hospital and review of the literature.* J Neurosurg, 1991. **75**(4): p. 564-74.

12. Mack, E.E. and C.B. Wilson, *Meningiomas induced by high-dose cranial irradiation.* J Neurosurg, 1993. **79**(1): p. 28-31.

13. Musa, B.S., I.K. Pople, and B.H. Cummins, *Intracranial meningiomas following irradiation--a growing problem?* Br J Neurosurg, 1995. **9**(5): p. 629-37.

14. Xu, P., et al., *Exposure to ionizing radiation during dental X-rays is not associated with risk of developing meningioma: a meta-analysis based on seven case-control studies.* PLoS One, 2015. **10**(2): p. e0113210.

15. Repacholi, M.H., et al., *Systematic review of wireless phone use and brain cancer and other head tumors.* Bioelectromagnetics, 2012. **33**(3): p. 187-206.

16. Flint-Richter, P. and S. Sadetzki, *Genetic predisposition for the development of radiation-associated meningioma: an epidemiological study.* Lancet Oncol, 2007. **8**(5): p. 403-10.

17. Niedermaier, T., et al., *Body mass index, physical activity, and risk of adult meningioma and glioma: A meta-analysis.* Neurology, 2015. **85**(15): p. 1342-50.

18. Korhonen, K., et al., *Female predominance in meningiomas can not be explained by differences in progesterone, estrogen, or androgen receptor expression.* J Neurooncol, 2006. **80**(1): p. 1-7.

19. Jacoby, L.B., et al., *Clonal analysis of human meningiomas and schwannomas.* Cancer Res, 1990. **50**(21): p. 6783-6.

20. von Deimling, A., et al., *Clonal origin of recurrent meningiomas.* Brain Pathol, 1999. **9**(4): p. 645-50.

21. Larson, J.J., et al., *Evidence for clonal spread in the development of multiple meningiomas.* J Neurosurg, 1995. **83**(4): p. 705-9.

22. Stangl, A.P., et al., *Clonality of multiple meningiomas.* J Neurosurg, 1997. **86**(5): p. 853-8.

23. von Deimling, A., et al., *Evidence for subarachnoid spread in the development of multiple meningiomas.* Brain Pathol, 1995. **5**(1): p. 11-4.

24. Zang, K.D., *Meningioma: a cytogenetic model of a complex benign human tumor, including data on 394 karyotyped cases.* Cytogenet Cell Genet, 2001. **93**(3-4): p. 207-20.

25. Dumanski, J.P., et al., *Molecular genetic analysis of chromosome 22 in 81 cases of meningioma.* Cancer Res, 1990. **50**(18): p. 5863-7.

26. Lindblom, A., et al., *Chromosomal deletions in anaplastic meningiomas suggest multiple regions outside chromosome 22 as important in tumor progression.* Int J Cancer, 1994. **56**(3): p. 354-7.

27. Ruttledge, M.H., et al., *Deletions on chromosome 22 in sporadic meningioma.* Genes Chromosomes Cancer, 1994. **10**(2): p. 122-30.

28. Al-Mefty, O., et al., *Malignant progression in meningioma: documentation of a series and analysis of cytogenetic findings.* J Neurosurg, 2004. **101**(2): p. 210-8.

29. Perry, A., D.H. Gutmann, and G. Reifenberger, *Molecular pathogenesis of meningiomas.* J Neurooncol, 2004. **70**(2): p. 183-202.

30. Perry, A., et al., *Cytogenetic analysis of aggressive meningiomas: possible diagnostic and prognostic implications.* Cancer, 1996. **77**(12): p. 2567-73.

31. Menon, A.G., et al., *Frequent loss of chromosome 14 in atypical and malignant meningioma: identification of a putative 'tumor progression' locus.* Oncogene, 1997. **14**(5): p. 611-6.

32. Rempel, S.A., et al., *Loss of heterozygosity for loci on chromosome 10 is associated with morphologically malignant meningioma progression.* Cancer Res, 1993. **53**(10 Suppl): p. 2386-92.

33. Simon, M., et al., *Allelic losses on chromosomes 14, 10, and 1 in atypical and malignant meningiomas: a genetic model of meningioma progression.* Cancer Res, 1995. **55**(20): p. 4696-701.

34. Weber, R.G., et al., *Analysis of genomic alterations in benign, atypical, and anaplastic meningiomas: toward a genetic model of meningioma progression.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(26): p. 14719-24.

35. Lekanne Deprez, R.H., et al., *Frequent NF2 gene transcript mutations in sporadic meningiomas and vestibular schwannomas.* Am J Hum Genet, 1994. **54**(6): p. 1022-9.

36. Trofatter, J.A., et al., *A novel moesin-, ezrin-, radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor.* Cell, 1993. **72**(5): p. 791-800.

37. Wellenreuther, R., et al., *Analysis of the neurofibromatosis 2 gene reveals molecular variants of meningioma.* Am J Pathol, 1995. **146**(4): p. 827-32.

38. Louis, D.N., V. Ramesh, and J.F. Gusella, *Neuropathology and molecular genetics of neurofibromatosis 2 and related tumors.* Brain Pathol, 1995. **5**(2): p. 163-72.

39. Rajcan-Separovic, E., et al., *Loss of 1p and 7p in radiation-induced meningiomas identified by comparative genomic hybridization.* Cancer Genet Cytogenet, 2003. **144**(1): p. 6-11.

40. Shoshan, Y., et al., *Radiation-induced meningioma: a distinct molecular genetic pattern?* J Neuropathol Exp Neurol, 2000. **59**(7): p. 614-20.

41. Zattara-Cannoni, H., et al., *Cytogenetic study of six cases of radiation-induced meningiomas.* Cancer Genet Cytogenet, 2001. **126**(2): p. 81-4.

42. Murnyak, B., T. Csonka, and T. Hortobagyi, *[Molecular Pathology of Meningiomas]*. Ideggyogy Sz, 2015. **68**(9-10): p. 292-300.

43. Kijima, C., et al., *Two cases of nevoid basal cell carcinoma syndrome associated with meningioma caused by a PTCH1 or SUFU germline mutation.* Fam Cancer, 2012. **11**(4): p. 565-70.

44. Rushing, E.J., et al., *Central nervous system meningiomas in the first two decades of life: a clinicopathological analysis of 87 patients.* J Neurosurg, 2005. **103**(6 Suppl): p. 489-95.

45. Louis, D.N. and A. von Deimling, *Hereditary tumor syndromes of the nervous system: overview and rare syndromes.* Brain Pathol, 1995. **5**(2): p. 145-51.

46. Goto, M., et al., *Excess of rare cancers in Werner syndrome (adult progeria).* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1996. **5**(4): p. 239-46.

47. Hill, D.A., et al., *Meningioma and schwannoma risk in adults in relation to family history of cancer.* Neuro Oncol, 2004. **6**(4): p. 274-80.

48. Ragel, B.T. and R.L. Jensen, *Molecular genetics of meningiomas.* Neurosurg Focus, 2005. **19**(5): p. E9.

49. Rieske, P., et al., *Molecular heterogeneity of meningioma with INI1 mutation.* Mol Pathol, 2003. **56**(5): p. 299-301.

50. Schmitz, U., et al., *INI1 mutations in meningiomas at a potential hotspot in exon 9.* Br J Cancer, 2001. **84**(2): p. 199-201.

51. Clark, V.E., et al., *Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO.* Science, 2013. **339**(6123): p. 1077-80.

52. Bethke, L., et al., *Comprehensive analysis of DNA repair gene variants and risk of meningioma.* J Natl Cancer Inst, 2008. **100**(4): p. 270-6.

53. Kishida, Y., et al., *Epigenetic subclassification of meningiomas based on genome-wide DNA methylation analyses.* Carcinogenesis, 2012. **33**(2): p. 436-41.

54. Murnyak, B., et al., *Epigenetics of Meningiomas.* Biomed Res Int, 2015. **2015**: p. 532451.

55. Maier, H., et al., *Classic, atypical, and anaplastic meningioma: three histopathological subtypes of clinical relevance.* J Neurosurg, 1992. **77**(4): p. 616-23.

56. Enam, S.A., et al., *Metastasis in meningioma.* Acta Neurochir (Wien), 1996. **138**(10): p. 1172-7; discussion 1177-8.

57. Louis, D.N., et al., *The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system.* Acta Neuropathol, 2007. **114**(2): p. 97-109.

58. Konglund, A., et al., *Outcome following surgery for intracranial meningiomas in the aging.* Acta Neurol Scand, 2013. **127**(3): p. 161-9.

59. Paramanathan, N., et al., *Synchronous radiation-induced orbital meningioma and multiple cavernomas.* Clin Experiment Ophthalmol, 2010. **38**(4): p. 414-7.

60. Kros, J., et al., *NF2 status of meningiomas is associated with tumour localization and histology.* J Pathol, 2001. **194**(3): p. 367-72.

61. Hasselblatt, M., K.W. Nolte, and W. Paulus, *Angiomatous meningioma: a clinicopathologic study of 38 cases.* Am J Surg Pathol, 2004. **28**(3): p. 390-3.

62. Abedalthagafi, M.S., et al., *Angiomatous meningiomas have a distinct genetic profile with multiple chromosomal polysomies including polysomy of chromosome 5.* Oncotarget, 2014. **5**(21): p. 10596-606.

63. Bruno, M.C., et al., *Lymphoplasmacyte rich meningioma. A case report and review of the literature.* J Neurosurg Sci, 2004. **48**(3): p. 117-24; discussion 124.

64. Bodi, I., T. Hortobagyi, and S. Buk, *A 72-year-old woman with right frontal extra-axial mass.* Brain Pathol, 2008. **18**(2): p. 279-82.

65. Paek, S.H., et al., *Microcystic meningiomas: radiological characteristics of 16 cases.* Acta Neurochir (Wien), 2005. **147**(9): p. 965-72; discussion 972.

66. Louis, D.N., et al., *Pseudopsammomatous meningioma with elevated serum carcinoembryonic antigen: a true secretory meningioma. Case report.* J Neurosurg, 1991. **74**(1): p. 129-32.

67. Tirakotai, W., et al., *Secretory meningioma: immunohistochemical findings and evaluation of mast cell infiltration.* Neurosurg Rev, 2006. **29**(1): p. 41-8.

68. Kuratsu, J., Y. Matsukado, and H. Sonoda, *Pseudopsammoma bodies in meningotheliomatous meningioma. A histochemical and ultrastructural study.* Acta Neurochir (Wien), 1983. **68**(1-2): p. 55-62.

69. Reuss, D.E., et al., *Secretory meningiomas are defined by combined KLF4 K409Q and TRAF7 mutations.* Acta Neuropathol, 2013. **125**(3): p. 351-8.

70. Couce, M.E., F.V. Aker, and B.W. Scheithauer, *Chordoid meningioma: a clinicopathologic study of 42 cases.* Am J Surg Pathol, 2000. **24**(7): p. 899-905.

71. Zorludemir, S., et al., *Clear cell meningioma. A clinicopathologic study of a potentially aggressive variant of meningioma.* Am J Surg Pathol, 1995. **19**(5): p. 493-505.

72. Oviedo, A., et al., *Clear cell meningioma: case report and review of the literature.* Pediatr Dev Pathol, 2005. **8**(3): p. 386-90.

73. Smith, M.J., et al., *Germline SMARCE1 mutations predispose to both spinal and cranial clear cell meningiomas.* J Pathol, 2014. **234**(4): p. 436-40.

74. Perry, A., et al., *Meningioma grading: an analysis of histologic parameters.* Am J Surg Pathol, 1997. **21**(12): p. 1455-65.

75. Ludwin, S.K., L.J. Rubinstein, and D.S. Russell, *Papillary meningioma: a malignant variant of meningioma.* Cancer, 1975. **36**(4): p. 1363-73.

76. Kros, J.M., et al., *Papillary meningioma with pleural metastasis: case report and literature review.* Acta Neurol Scand, 2000. **102**(3): p. 200-2.

77. Pasquier, B., et al., *Papillary meningioma. Clinicopathologic study of seven cases and review of the literature.* Cancer, 1986. **58**(2): p. 299-305.

78. Kepes, J.J., et al., *Rhabdoid transformation of tumor cells in meningiomas: a histologic indication of increased proliferative activity: report of four cases.* Am J Surg Pathol, 1998. **22**(2): p. 231-8.

79. Perry, A., et al., *"Rhabdoid" meningioma: an aggressive variant.* Am J Surg Pathol, 1998. **22**(12): p. 1482-90.

80. Perry, A., et al., *"Malignancy" in meningiomas: a clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications.* Cancer, 1999. **85**(9): p. 2046-56.

81. Kane, A.J., et al., *Anatomic location is a risk factor for atypical and malignant meningiomas.* Cancer, 2011. **117**(6): p. 1272-8.

82. Louis, D.N., et al., *The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary.* Acta Neuropathol, 2016. **131**(6): p. 803-20.

83. Kallio, M., et al., *Factors affecting operative and excess long-term mortality in 935 patients with intracranial meningioma.* Neurosurgery, 1992. **31**(1): p. 2-12.

84. Abramovich, C.M. and R.A. Prayson, *Histopathologic features and MIB-1 labeling indices in recurrent and nonrecurrent meningiomas.* Arch Pathol Lab Med, 1999. **123**(9): p. 793-800.

85. Perry, A., et al., *The prognostic significance of MIB-1, p53, and DNA flow cytometry in completely resected primary meningiomas.* Cancer, 1998. **82**(11): p. 2262-9.

86. Perry, A., et al., *Merlin, DAL-1, and Progesterone Receptor Expression in Clinicopathologic Subsets of Meningioma: A Correlative Immunohistochemical Study of 175 Cases.* Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 2000. **59**(10): p. 872-879.

87. Roser, F., et al., *The prognostic value of progesterone receptor status in meningiomas.* J Clin Pathol, 2004. **57**(10): p. 1033-7.

88. Virga, J., et al., *Prognostic Role of the Expression of Invasion-Related Molecules in Glioblastoma.* J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg, 2017. **78**(1): p. 12-19.

89. Umansky, F., et al., *Radiation-induced meningioma.* Neurosurg Focus, 2008. **24**(5): p. E7.

90. Simpson, D., *The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1957. **20**(1): p. 22-39.

91. Amatya, V.J., et al., *Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21WAF1, and p27KIP1 expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas.* Hum Pathol, 2001. **32**(9): p. 970-5.

92. Chan, R.C. and G.B. Thompson, *Morbidity, mortality, and quality of life following surgery for intracranial meningiomas. A retrospective study in 257 cases.* J Neurosurg, 1984. **60**(1): p. 52-60.

93. Soffer, D., et al., *Intracranial meningiomas following low-dose irradiation to the head.* J Neurosurg, 1983. **59**(6): p. 1048-53.

94. Omulecka, A., et al., *Immunohistochemical expression of progesterone and estrogen receptors in meningiomas.* Folia Neuropathol, 2006. **44**(2): p. 111-5.

95. Joachim, T., et al., *Comparative analysis of the NF2, TP53, PTEN, KRAS, NRAS and HRAS genes in sporadic and radiation-induced human meningiomas.* Int J Cancer, 2001. **94**(2): p. 218-21.

96. Sonnenblick, A., et al., *An update on PARP inhibitors--moving to the adjuvant setting.* Nat Rev Clin Oncol, 2015. **12**(1): p. 27-41.

97. Doetsch, M., et al., *YY1-binding sites provide central switch functions in the PARP-1 gene expression network.* PLoS One, 2012. **7**(8): p. e44125.

98. Dawicki-McKenna, J.M., et al., *PARP-1 Activation Requires Local Unfolding of an Autoinhibitory Domain.* Mol Cell, 2015. **60**(5): p. 755-68.

99. Al-Mefty, O., et al., *Radiation-induced meningiomas: clinical, pathological, cytokinetic, and cytogenetic characteristics.* J Neurosurg, 2004. **100**(6): p. 1002-13.

100. Kauppinen, T.M., et al., *Direct phosphorylation and regulation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 by extracellular signal-regulated kinases 1/2.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(18): p. 7136-41.

101. Copeland, W.R. and M.J. Link, *A radiation-induced meningioma "cures" a complex dural arteriovenous fistula.* J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg, 2013. **74 Suppl 1**: p. e215-20.

102. Pedachenko, E.G. and R.A. Velibekov, *[Radiation-induced intracranial meningiomas]*. Lik Sprava, 1998(4): p. 118-20.

103. Isabelle, M., et al., *Investigation of PARP-1, PARP-2, and PARG interactomes by affinity-purification mass spectrometry.* Proteome Sci, 2010. **8**: p. 22.

104. Yu, S.W., et al., *Apoptosis-inducing factor mediates poly(ADP-ribose) (PAR) polymer-induced cell death.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(48): p. 18314-9.

105. Hoefnagel, D., et al., *The incidence of postoperative thromboembolic complications following surgical resection of intracranial meningioma. A retrospective study of a large single center patient cohort.* Clin Neurol Neurosurg, 2014. **123**: p. 150-4.

106. Andrabi, S.A., et al., *Poly(ADP-ribose) polymerase-dependent energy depletion occurs through inhibition of glycolysis.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2014. **111**(28): p. 10209-14.

107. Salvati, M., et al., *High-dose radiation-induced meningiomas. Report of five cases and critical review of the literature.* Tumori, 2003. **89**(4): p. 443-7.

108. McKissock, W. and J.C. Taylor, *A comparison of supratentorial intracranial meningiomas operated upon with and without induced hypothermia.* Br J Surg, 1960. **48**: p. 155-7.

109. Gordon, D.E. and C. Olson, *Meningiomas and fibroblastic neoplasia in calves induced with the bovine papilloma virus.* Cancer Res, 1968. **28**(12): p. 2423-31.

110. Grube, K. and A. Burkle, *Poly(ADP-ribose) polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlates with species-specific life span.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(24): p. 11759-63.

111. Beneke, S., R. Alvarez-Gonzalez, and A. Burkle, *Comparative characterisation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 from two mammalian species with different life span.* Exp Gerontol, 2000. **35**(8): p. 989-1002.

112. Bernstein, C.a.B., H, *Aging and sex, DNA repair in*, in *Encyclopedia of molecular cell biology and molecular medicine*. 2006, Weinheim: Wiley-VCH Verlag. p. 53–98.

113. Jubin, T., et al., *Poly ADP-ribose polymerase-1: Beyond transcription and towards differentiation.* Semin Cell Dev Biol, 2016.

114. Farmer, H., et al., *Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy.* Nature, 2005. **434**(7035): p. 917-21.

115. Hollstein, M., et al., *p53 mutations in human cancers.* Science, 1991. **253**(5015): p. 49-53.

116. Matlashewski, G., et al., *Isolation and characterization of a human p53 cDNA clone: expression of the human p53 gene.* EMBO J, 1984. **3**(13): p. 3257-62.

117. McBride, O.W., D. Merry, and D. Givol, *The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm (17p13).* Proc Natl Acad Sci U S A, 1986. **83**(1): p. 130-4.

118. Bourdon, J.C., et al., *p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity.* Genes Dev, 2005. **19**(18): p. 2122-37.

119. Isobe, M., et al., *Localization of gene for human p53 tumour antigen to band 17p13.* Nature, 1986. **320**(6057): p. 84-5.

120. Kern, S.E., et al., *Identification of p53 as a sequence-specific DNA-binding protein.* Science, 1991. **252**(5013): p. 1708-11.

121. Ziemer, M.A., A. Mason, and D.M. Carlson, *Cell-free translations of proline-rich protein mRNAs.* J Biol Chem, 1982. **257**(18): p. 11176-80.

122. Klug, S.J., et al., *TP53 codon 72 polymorphism and cervical cancer: a pooled analysis of individual data from 49 studies.* Lancet Oncol, 2009. **10**(8): p. 772-84.

123. Sonoyama, T., et al., *TP53 codon 72 polymorphism is associated with pancreatic cancer risk in males, smokers and drinkers.* Mol Med Rep, 2011. **4**(3): p. 489-95.

124. Alawadi, S., et al., *P53 gene polymorphisms and breast cancer risk in Arab women.* Med Oncol, 2011. **28**(3): p. 709-15.

125. Wang, J.J., et al., *TP53 codon 72 polymorphism and colorectal cancer susceptibility: a meta-analysis.* Mol Biol Rep, 2011. **38**(8): p. 4847-53.

126. Abegglen, L.M., et al., *Potential Mechanisms for Cancer Resistance in Elephants and Comparative Cellular Response to DNA Damage in Humans.* JAMA, 2015. **314**(17): p. 1850-60.

127. Kastan, M.B. and S.J. Kuerbitz, *Control of G1 arrest after DNA damage.* Environ Health Perspect, 1993. **101 Suppl 5**: p. 55-8.

128. el-Deiry, W.S., et al., *WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression.* Cell, 1993. **75**(4): p. 817-25.

129. Murnyak, B. and T. Hortobagyi, *Immunohistochemical correlates of TP53 somatic mutations in cancer*. Oncotarget, 2016.

130. Bates, S., et al., *p14ARF links the tumour suppressors RB and p53.* Nature, 1998. **395**(6698): p. 124-5.

131. Cui, R., et al., *Central role of p53 in the suntan response and pathologic hyperpigmentation.* Cell, 2007. **128**(5): p. 853-64.

132. Koshland, D.E., Jr., *Molecule of the year.* Science, 1993. **262**(5142): p. 1953.

133. Ohgaki, H., et al., *Mutations of the p53 tumor suppressor gene in neoplasms of the human nervous system.* Mol Carcinog, 1993. **8**(2): p. 74-80.

134. Prayson, R.A., *Malignant meningioma: a clinicopathologic study of 23 patients including MIB1 and p53 immunohistochemistry.* Am J Clin Pathol, 1996. **105**(6): p. 719-26.

135. Pykett, M.J., J. Landers, and D.L. George, *Expression patterns of the p53 tumor suppressor gene and the mdm2 proto-oncogene in human meningiomas.* J Neurooncol, 1997. **32**(1): p. 39-44.

136. Cho, H., et al., *Role of p53 gene mutation in tumor aggressiveness of intracranial meningiomas.* J Korean Med Sci, 1999. **14**(2): p. 199-205.

137. Chozick, B.S., et al., *Immunohistochemical evaluation of erbB-2 and p53 protein expression in benign and atypical human meningiomas.* J Neurooncol, 1996. **27**(2): p. 117-26.

138. Kamei, Y., et al., *Prognostic significance of p53 and p21WAF1/CIP1 immunoreactivity and tumor micronecrosis for recurrence of meningiomas.* J Neurooncol, 2000. **46**(3): p. 205-13.

139. Karamitopoulou, E., et al., *Prognostic significance of MIB-1, p53, and bcl-2 immunoreactivity in meningiomas.* Hum Pathol, 1998. **29**(2): p. 140-5.

140. Lanzafame, S., et al., *Correlation between histological grade, MIB-1, p53, and recurrence in 69 completely resected primary intracranial meningiomas with a 6 year mean follow-up.* Pathol Res Pract, 2000. **196**(7): p. 483-8.

141. Matsuno, A., et al., *Correlation between MIB-1 staining index and the immunoreactivity of p53 protein in recurrent and non-recurrent meningiomas.* Am J Clin Pathol, 1996. **106**(6): p. 776-81.

142. Nagashima, G., et al., *P53 overexpression and proliferative potential in malignant meningiomas.* Acta Neurochir (Wien), 1999. **141**(1): p. 53-61; discussion 60-1.

143. Ohkoudo, M., et al., *Expression of p53, MDM2 protein and Ki-67 antigen in recurrent meningiomas.* J Neurooncol, 1998. **38**(1): p. 41-9.

144. Terzi, A., et al., *The significance of immunohistochemical expression of Ki-67, p53, p21, and p16 in meningiomas tissue arrays.* Pathol Res Pract, 2008. **204**(5): p. 305-14.

145. Wieler, S., et al., *Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is a positive regulator of the p53-mediated G1 arrest response following ionizing radiation.* J Biol Chem, 2003. **278**(21): p. 18914-21.

146. Malanga, M., et al., *Poly(ADP-ribose) binds to specific domains of p53 and alters its DNA binding functions.* J Biol Chem, 1998. **273**(19): p. 11839-43.

147. Lee, M.H., et al., *Poly(ADP-ribosyl)ation of p53 induces gene-specific transcriptional repression of MTA1.* Oncogene, 2012. **31**(49): p. 5099-107.

148. Godoy, H., et al., *Expression of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase and p53 in epithelial ovarian cancer and their role in prognosis and disease outcome.* Int J Gynecol Pathol, 2011. **30**(2): p. 139-44.

149. Sabisz, M., J. Wesierska-Gadek, and A. Skladanowski, *Increased cytotoxicity of an unusual DNA topoisomerase II inhibitor compound C-1305 toward HeLa cells with downregulated PARP-1 activity results from re-activation of the p53 pathway and modulation of mitotic checkpoints.* Biochem Pharmacol, 2010. **79**(10): p. 1387-97.

150. Oei, S.L., C. Keil, and M. Ziegler, *Poly(ADP-ribosylation) and genomic stability.* Biochem Cell Biol, 2005. **83**(3): p. 263-9.

151. Mangelsdorf, D.J., et al., *The nuclear receptor superfamily: the second decade.* Cell, 1995. **83**(6): p. 835-9.

152. Misrahi, M., et al., *Complete amino acid sequence of the human progesterone receptor deduced from cloned cDNA.* Biochem Biophys Res Commun, 1987. **143**(2): p. 740-8.

153. Law, M.L., et al., *The progesterone receptor gene maps to human chromosome band 11q13, the site of the mammary oncogene int-2.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(9): p. 2877-81.

154. Gadkar-Sable, S., et al., *Progesterone receptors: various forms and functions in reproductive tissues.* Front Biosci, 2005. **10**: p. 2118-30.

155. Kastner, P., et al., *Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B.* EMBO J, 1990. **9**(5): p. 1603-14.

156. Feigelson, H.S., et al., *No association between the progesterone receptor gene +331G/A polymorphism and breast cancer.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004. **13**(6): p. 1084-5.

157. Dossus, L., et al., *No association between progesterone receptor gene +331G/A polymorphism and endometrial cancer.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006. **15**(7): p. 1415-6.

158. Roemer, S.C., et al., *Structure of the progesterone receptor-deoxyribonucleic acid complex: novel interactions required for binding to half-site response elements.* Mol Endocrinol, 2006. **20**(12): p. 3042-52.

159. Ellmann, S., et al., *Estrogen and progesterone receptors: from molecular structures to clinical targets.* Cell Mol Life Sci, 2009. **66**(15): p. 2405-26.

160. Kaya, H.S., et al., *Roles of progesterone receptor A and B isoforms during human endometrial decidualization.* Mol Endocrinol, 2015. **29**(6): p. 882-95.

161. Macias, H. and L. Hinck, *Mammary gland development.* Wiley Interdiscip Rev Dev Biol, 2012. **1**(4): p. 533-57.

162. Hilton, H.N., J.D. Graham, and C.L. Clarke, *Minireview: Progesterone Regulation of Proliferation in the Normal Human Breast and in Breast Cancer: A Tale of Two Scenarios?* Mol Endocrinol, 2015. **29**(9): p. 1230-42.

163. Chabbert-Buffet, N., et al., *Selective progesterone receptor modulators and progesterone antagonists: mechanisms of action and clinical applications.* Hum Reprod Update, 2005. **11**(3): p. 293-307.

164. Feinleib, M., *Breast cancer and artificial menopause: a cohort study.* J Natl Cancer Inst, 1968. **41**(2): p. 315-29.

165. Trichopoulos, D., B. MacMahon, and P. Cole, *Menopause and breast cancer risk.* J Natl Cancer Inst, 1972. **48**(3): p. 605-13.

166. Beral, V. and C. Million Women Study, *Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study.* Lancet, 2003. **362**(9382): p. 419-27.

167. Charlton, B.M., et al., *Oral contraceptive use and mortality after 36 years of follow-up in the Nurses' Health Study: prospective cohort study.* BMJ, 2014. **349**: p. g6356.

168. Kumar, S., et al., *Evaluation of 1p and 14q status, MIB-1 labeling index and progesterone receptor immunoexpression in meningiomas: Adjuncts to histopathological grading and predictors of aggressive behavior.* Neurol India, 2014. **62**(4): p. 376-82.

169. Shayanfar, N., M. Mashayekh, and M. Mohammadpour, *Expression of progestrone receptor and proliferative marker ki 67 in various grades of meningioma.* Acta Med Iran, 2010. **48**(3): p. 142-7.

170. Blankenstein, M.A., et al., *Presence of progesterone receptors and absence of oestrogen receptors in human intracranial meningioma cytosols.* Eur J Cancer Clin Oncol, 1983. **19**(3): p. 365-70.

171. Fakhrjou, A., A. Meshkini, and S. Shadrvan, *Status of Ki-67, estrogen and progesterone receptors in various subtypes of intracranial meningiomas.* Pak J Biol Sci, 2012. **15**(11): p. 530-5.

172. Gerdes, J., et al., *Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation.* Int J Cancer, 1983. **31**(1): p. 13-20.

173. Schonk, D.M., et al., *Assignment of the gene(s) involved in the expression of the proliferation-related Ki-67 antigen to human chromosome 10.* Hum Genet, 1989. **83**(3): p. 297-9.

174. Duchrow, M., et al., *Molecular characterization of the gene locus of the human cell proliferation-associated nuclear protein defined by monoclonal antibody Ki-67.* Cell Prolif, 1996. **29**(1): p. 1-12.

175. Scholzen, T. and J. Gerdes, *The Ki-67 protein: from the known and the unknown.* J Cell Physiol, 2000. **182**(3): p. 311-22.

176. Bullwinkel, J., et al., *Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells.* J Cell Physiol, 2006. **206**(3): p. 624-35.

177. Schluter, C., et al., *The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins.* J Cell Biol, 1993. **123**(3): p. 513-22.

178. Bridger, J.M., I.R. Kill, and P. Lichter, *Association of pKi-67 with satellite DNA of the human genome in early G1 cells.* Chromosome Res, 1998. **6**(1): p. 13-24.

179. MacCallum, D.E. and P.A. Hall, *The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle.* J Pathol, 2000. **190**(5): p. 537-44.

180. Verheijen, R., et al., *Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen. I. Intracellular localization during interphase.* J Cell Sci, 1989. **92 (Pt 1)**: p. 123-30.

181. Cattoretti, G., et al., *Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections.* J Pathol, 1992. **168**(4): p. 357-63.

182. Gerdes, J., et al., *Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67.* J Immunol, 1984. **133**(4): p. 1710-5.

183. Brown, D.C. and K.C. Gatter, *Ki67 protein: the immaculate deception?* Histopathology, 2002. **40**(1): p. 2-11.

184. Hall, P.A., et al., *The prognostic value of Ki67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma.* J Pathol, 1988. **154**(3): p. 223-35.

185. Inwald, E.C., et al., *Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry.* Breast Cancer Res Treat, 2013. **139**(2): p. 539-52.

186. Razavi, S.M., et al., *A comparative immunohistochemical study of Ki-67 and Bcl-2 expression in solid ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor.* Dent Res J (Isfahan), 2012. **9**(2): p. 192-7.

187. Bouzubar, N., et al., *Ki67 immunostaining in primary breast cancer: pathological and clinical associations.* Br J Cancer, 1989. **59**(6): p. 943-7.

188. Bubendorf, L., et al., *Ki67 labelling index: an independent predictor of progression in prostate cancer treated by radical prostatectomy.* J Pathol, 1996. **178**(4): p. 437-41.

189. Abdelzaher, E., et al., *Recurrence of benign meningiomas: predictive value of proliferative index, BCL2, p53, hormonal receptors and HER2 expression.* Br J Neurosurg, 2011. **25**(6): p. 707-13.

190. Mukherjee, S., et al., *Detection of progesterone receptor and the correlation with Ki-67 labeling index in meningiomas.* Neurol India, 2011. **59**(6): p. 817-22.

191. Csonka, T., et al., *Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) and p53 labelling index correlates with tumour grade in meningiomas.* Folia Neuropathol, 2014. **52**(2): p. 111-20.

192. Csonka, T., et al., *Assessment of candidate immunohistochemical prognostic markers of meningioma recurrence.* Folia Neuropathol, 2016. **54**(2): p. 114-26.

193. Gomori, J.M. and A. Shaked, *Radiation induced meningiomas.* Neuroradiology, 1982. **23**(4): p. 211-2.

194. Spallone, A., et al., *Radiation-induced anaplastic ependymoma mimicking a skull base meningioma: A case report.* Exp Ther Med, 2016. **11**(2): p. 455-457.

195. Li, D., et al., *Poly (ADP-ribose) polymerase 1 transcriptional regulation: a novel crosstalk between histone modification H3K9ac and ETS1 motif hypomethylation in BRCA1-mutated ovarian cancer.* Oncotarget, 2014. **5**(1): p. 291-7.

196. Bi, F.F., D. Li, and Q. Yang, *Promoter hypomethylation, especially around the E26 transformation-specific motif, and increased expression of poly (ADP-ribose) polymerase 1 in BRCA-mutated serous ovarian cancer.* BMC Cancer, 2013. **13**: p. 90.

197. Bi, F.F., D. Li, and Q. Yang, *Hypomethylation of ETS transcription factor binding sites and upregulation of PARP1 expression in endometrial cancer.* Biomed Res Int, 2013. **2013**: p. 946268.

198. Barboza Ede, S., et al., *[Radiation-induced meningioma]*. Arq Neuropsiquiatr, 2006. **64**(3B): p. 794-7.

199. Arnaudova, V. and K. Romansky, *Postoperative hematomas following 505 operations for intracranial meningiomas.* Zentralbl Neurochir, 1989. **50**(2): p. 99-100.

200. Dziaman, T., et al., *PARP-1 expression is increased in colon adenoma and carcinoma and correlates with OGG1.* PLoS One, 2014. **9**(12): p. e115558.

201. Mego, M., et al., *PARP expression in germ cell tumours.* J Clin Pathol, 2013. **66**(7): p. 607-12.

202. Munk, J., E. Peyser, and J. Gruszkiewicz, *Radiation induced intracranial meningiomas.* Clin Radiol, 1969. **20**(1): p. 90-4.

203. Dimou, J., et al., *Metastatic olfactory neuroblastoma invading a radiation-induced meningioma.* J Clin Neurosci, 2011. **18**(9): p. 1249-51.

204. Salvati, M., L. Cervoni, and M. Artico, *High-dose radiation-induced meningiomas following acute lymphoblastic leukemia in children.* Childs Nerv Syst, 1996. **12**(5): p. 266-9.

205. Newman, R.E., et al., *Poly(ADP-ribose) polymerase turnover alterations do not contribute to PARP overexpression in Ewing's sarcoma cells.* Oncol Rep, 2002. **9**(3): p. 529-32.

206. Newman, E.A., et al., *Alternative NHEJ Pathway Components Are Therapeutic Targets in High-Risk Neuroblastoma.* Mol Cancer Res, 2015. **13**(3): p. 470-82.

207. Kamoshima, Y., et al., *Radiation induced intraparenchymal meningioma occurring 6 years after CNS germinoma: case report.* Clin Neurol Neurosurg, 2012. **114**(7): p. 1077-80.

208. Polley, M.Y., et al., *An international Ki67 reproducibility study.* J Natl Cancer Inst, 2013. **105**(24): p. 1897-906.

209. Tao, Y., et al., *Clinical features and immunohistochemical expression levels of androgen, estrogen, progesterone and Ki-67 receptors in relationship with gross-total resected meningiomas relapse.* Br J Neurosurg, 2012. **26**(5): p. 700-4.

210. Iplikcioglu, A.C., et al., *Is progesteron receptor status really a prognostic factor for intracranial meningiomas?* Clin Neurol Neurosurg, 2014. **124**: p. 119-22.

211. Touat, M., et al., *Successful treatment of multiple intracranial meningiomas with the antiprogesterone receptor agent mifepristone (RU486).* Acta Neurochir (Wien), 2014. **156**(10): p. 1831-5.

212. Janowczyk, A. and A. Madabhushi, *Deep learning for digital pathology image analysis: A comprehensive tutorial with selected use cases.* J Pathol Inform, 2016. **7**: p. 29.

213. Shu, J., et al., *Statistical colour models: an automated digital image analysis method for quantification of histological biomarkers.* Biomed Eng Online, 2016. **15**: p. 46.

214. Aleskandarany, M., et al., *DNA damage response markers are differentially expressed in BRCA-mutated breast cancers.* Breast Cancer Res Treat, 2015. **150**(1): p. 81-90.

215. Zarei, N., et al., *Automated Region-based Prostate Cancer Cell Nuclei Localization. Part of a Prognostic Modality Tool for Prostate Cancer Patients.* Anal Quant Cytopathol Histpathol, 2016. **38**(2): p. 59-69.

216. Tsiambas, E., et al., *E-cadherin/alpha-catenin deregulated co-expression in thyroid carcinoma based on tissue microarray digital image analysis.* J BUON, 2016. **21**(2): p. 450-5.