

Aus dem Institut für Neuropathologie
der Universität des Saarlandes
Universitätsklinikum Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. W. Feiden

**Primär- und Rezidivtumore progressiver und rezidivierter
Meningeome: Untersuchungen mit der FISH (Fluoreszenz-in-situ-
Hybridisierung) zur Etablierung eines intraindividuellen
zytogenetischen Progressionsmodells**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2010

vorgelegt von Nora Bochem
geb. am 09.08.1982 in Saarburg

In großer Dankbarkeit für meine Familie.

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm (10^{-6})
µl	Mikroliter (10^{-6})
µm	Mikrometer (10^{-6})
-x	-fach
Abb.	Abbildung
ALPL	gewebeunspezifische Isoform der Alkalischen Phosphatase (liver/bone/kidney-type)
Aqua dest.	destilliertes Wasser
bp	Basenpaar
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
CCD	<i>Charge-Coupled-Device</i> (-Kamera); ladungsgekoppelter Bildsensor
CGH	<i>Comparative Genomic Hybridization</i> ; Vergleichende genomische Hybridisierung
Cy3	Cyanin 3
D1Z1	Sonde für 1qh
D1Z2	Sonde für 1p36
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol
del	Deletion
DNA	Desoxyribonukleinsäure
et al.	und andere
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FITC	Fluorescein-5-isothiocyanat
GTG	Giemsa-Trypsin-Giemsa (Chromosomenbänderung)
H&E	Hämatoxylin und Eosin Färbung
HPF	high-power field
ISH	In-situ-Hybridisierung
ISIS	<i>in situ imaging software</i> ; Bild-Analyse-System
kb	Kilobasenpaar
Ki-67	Proliferationsantigen
LI	<i>labeling index</i> ; Markierungsindex
LOH	<i>loss of heterozygosity</i> , Verlust der Heterozygotie
Max.	Maximum
MI	Mitoseindex
min	Minute
Min.	Minimum
mg	Milligramm (10^{-3})
ml	Milliliter (10^{-3})
mm	Millimeter (10^{-3})
mm ²	Quadratmillimeter (10^{-3})
nm	Nanometer
NP-40	Nonidet P-40 Lösung Vorbehandlungsdetergenz
p	kurzer Chromosomenarm
PBD	<i>Phosphate Buffered Detergenz</i> ; phosphatgepuffertes Detergenz
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> ; Polymerasekettenreaktion
pH	potentium hydrogenii (-log [H ₃ O ⁺])

q	langer Chromosomenarm
SD	<i>standard deviation</i> , Standardabweichung
sec	Sekunde
SDS	Sodiumdodecylsulfat
SSC	<i>Saline Sodium Citrate</i> ; Natriumchlorid-Zitrat-Puffer
RNA	Ribonukleinsäure
t	Translokation
Tab.	Tabelle
W	Watt
WHO	World Health Organization

Inhaltsverzeichnis

1.	Zusammenfassung	1
1.1	Summary	3
2.	Einleitung	5
3.	Material und Methoden	11
3.1	Material	11
3.1.1	Patienten und klinische Daten	11
3.1.2	Tumorproben	12
3.1.3	Kontrollgewebe für die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung	15
3.1.4	In Situ Kits	15
3.1.5	Puffer und Lösungen	16
3.1.6	DNA-Sonden	19
3.2	FISH an Paraffinschnitten von Meningeomen	20
3.2.1	Anfertigung der Paraffinschnitte	21
3.2.2	Vorbehandlung der Paraffinschnitte	21
3.2.3	Denaturierung und Hybridisierung	23
3.2.4	Posthybridisierungswaschung (Stringenzwaschung)	24
3.2.5	Eindecken mit DAPI/Antifade	25
3.2.6	Fluoreszenzmikroskopische Auswertung und Dokumentation	25
3.3	FISH am Kontrollgewebe zur Bestimmung der Cut-off Levels	27
3.3.1	Cut-off Level	27
3.3.2	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung des Kontrollgewebes	28
3.4	Statistische Verfahren	28
4.	Ergebnisse	30
4.1	Patienten	30
4.1.1	Klinische Daten	30
4.1.2	Histopathologie	38
4.1.3	Tumorlokalisation	44
4.2	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung	47
4.2.1	Kontrollgewebe	47
4.2.2	Aberration von Chromosom 1	51
4.2.3	Aberration von Chromosom 14	62

4.3	Zusammenfassung und Vergleich der FISH-Ergebnisse für 1p und 14q	69
4.4	Vergleich der FISH-Ergebnisse mit der klassischen Zytogenetik	73
4.5	Vergleich der FISH-Ergebnisse mit der Aktivität der ALPL	76
4.6	Vergleich der FISH-Ergebnisse mit der Ki-67 Kernmarkierungsrate.....	81
4.7	Invasives Verhalten von Meningeomen.....	86
5.	Diskussion.....	88
5.1	Methodik	88
5.2	Ergebnisse	92
5.2.1	Klinische und histomorphologische Daten, Ki-67 LI und ALPL	92
5.2.2	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung	101
6.	Literaturverzeichnis	112
7.	Anhang.....	127
7.1	Chemikalien und Geräte.....	127
7.2	Ergebnistabellen	129
8.	Danksagung.....	144
9.	Lebenslauf	147

1. Zusammenfassung

Meningeome sind Tumore mit einer geringen Progressionsrate von annähernd 0,5-2%. Die zugrunde liegenden Ursachen für die histologische Dedifferenzierung bei Meningeomen sind bis zum heutigen Zeitpunkt nicht eindeutig geklärt. Oftmals werden zytogenetische Veränderungen, insbesondere der Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1, im Zusammenhang mit der Progression von Meningeomen diskutiert. Der Verlust genetischen Materials auf 1p wird als ein sekundär auftretendes Ereignis im zeitlichen Entwicklungsverlauf der Meningeomprogression vermutet. Diese Schlussfolgerung stützt sich auf zytogenetische Daten von Meningeomen verschiedener Individuen. Derzeit existieren nur wenige Verlaufsdaten zu zytogenetischen Prozessen bei progressiven Meningeomen. Ziel dieser Arbeit war es daher, zum einen die Rolle der 1p Deletion während der Meningeomprogression zu prüfen und zum anderen anhand eines intraindividuellen Betrachtungsmodells eine repräsentative Aussage über das zeitliche Auftreten von Chromosomenaberrationen während der Tumorentwicklung und -progression zu ermöglichen. Als Vergleichsgruppe zu progressiven Meningeomen wurde eine Gruppe rezidivierender nicht-progressiver Meningeome herangezogen und ebenfalls im intraindividuellen Modell untersucht.

Zum Nachweis zytogenetischer Veränderungen wurde an 53 Meningeompäparaten von 12 progressiven und 15 nicht-progressiven Fällen eine Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) für den Verlust von Chromosom 1p durchgeführt. Der Verlust von Chromosom 14q, als weitere progressionsassoziierte Aberration in Meningeomen, wurde zusätzlich für 32 Meningeome von 7 progressiven und 11 nicht-progressiven Fällen mittels FISH untersucht. Eine Aufarbeitung der klinischen Daten sowie der bereits vorliegenden Daten zur gewebeunspezifischen Isoform der Alkalischen Phosphatase (ALPL) und des Ki-67 Markierungs-Index (LI) sollten weitere Aufschlüsse über progressive Meningeome geben.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Deletion 1p deutlich häufiger in progressiven Meningeomfällen als in nicht-progressiven Fällen auftrat. Demzufolge scheint der 1p Verlust bei progressiven Meningeomen eine entscheidende Rolle zu spielen. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass, sowohl in progressiven als auch in nicht-progressiven Meningeomen, der 1p Verlust bereits zum Zeitpunkt des Ausgangstumors vorlag, weshalb bei der 1p Deletion von einer früh auftretenden Aberration bei progressiven bzw. rezidivierenden Meningeomen auszugehen ist. Tetraploide Zellklone mit 1p Deletion scheinen hingegen in der Meningeomentwicklung erst frühestens zum Zeitpunkt des Tumorrezidivs in Erscheinung

zu treten. Die bereits aus der Literatur bekannte Korrelation einer 1p Deletion mit dem Aktivitätsverlust der ALPL konnte hier für die Gruppe der progressiven und rezidivierenden nicht-progressiven Meningeome durch eine mindestens partiell ausgefallene Enzymaktivität der ALPL bei vorliegender Deletion 1p bestätigt werden. Die 14q Deletion war sowohl bei progressiven als auch nicht-progressiven Meningeomen annähernd gleich häufig und tendenziell im späteren Verlauf der Meningeomentwicklung nachweisbar. Es konnte gezeigt werden, dass der 14q Verlust im zeitlichen Entwicklungsprozess von Meningeomen erst nach dem Auftreten einer Deletion 1p einzuordnen ist. Anhand der Daten zum Proliferationsmarker Ki-67 konnte gezeigt werden, dass es sowohl bei progressiven als auch bei nicht-progressiven Fällen im zeitlichen Verlauf zu einer Zunahme der Wachstumsfraktion des Tumors kommt. Die Aufarbeitung der klinischen Daten ergab für die progressiven Meningeomfälle ähnliche Alters-, Geschlechts- und Lokalisationsverteilungen, wie sie bereits für höhergradige und rezidivierende Meningeome bekannt sind: Patienten mit progressiven Meningeomen waren zum Zeitpunkt der Erstdiagnose im Mittel 50 Jahre alt und somit etwa 10 Jahre jünger als Patienten mit üblichen Meningeomen. Männer waren relativ gesehen häufiger und absolut gesehen genauso häufig betroffen wie Frauen. Dies zeigt eine deutliche Verschiebung der Geschlechtsverteilung innerhalb progressiver Meningeome zu Gunsten des männlichen Geschlechts. Progressive Meningeome waren am häufigsten supratentoriell lokalisiert. Die hier durch die intraindividuelle Betrachtungsweise gewonnenen Erkenntnisse über die zytogenetischen Vorgänge während der Meningeomprogression verdeutlichen die Rolle der 1p Deletion als frühe, möglicherweise determinierende Aberration. Diese Ergebnisse unterstreichen auch die prognostische Bedeutung der 1p Deletion als Risikofaktor für einen späteren Tumorprogress und aggressiveren Krankheitsverlauf.

1.1 Summary

Primary and successive tumors in progressive and recurrent meningiomas: FISH analysis in the establishment of an intraindividual cytogenetic progression model

Meningiomas are tumors with a low progression rate of approximately 0.5-2%. The underlying mechanisms of histological dedifferentiation in meningiomas are still to be cleared. Cytogenetic abnormalities, in particular the loss of genetic material on the short arm of chromosome 1 (1p-), are discussed to be associated with progression in meningiomas. 1p- is regarded as secondary event during progression in meningiomas. This assumption relies on cytogenetic data from tumor tissues derived from different individuals. At present, there are only few data on cytogenetic processes in meningioma progression. Therefore, the presented study aims in the examination of the role of 1p- during tumor progression as well as a documentation of chronological sequence of aberrations during progression by means of an intraindividual approach. Recurrent meningiomas without tumor progression served as control group for progressive meningiomas and they too were investigated in an intraindividual manner.

For the detection of 1p-, FISH was performed in 53 meningioma specimens derived from 12 progressive and 15 non-progressive cases. Loss of chromosome 14q as another progression associated aberration in meningiomas FISH was also performed for 32 meningiomas, consisting of 7 progressive and 11 non-progressive cases. Based on reviews of clinical data, histochemical expression of alkaline phosphatase as well as the Ki-67 proliferation index further information about progressive meningiomas was attended.

The results indicate that deletion 1p is considerably more frequent in progressive meningiomas than in non-progressive meningiomas. Thus, 1p- seems to be a major genetic event in progressive meningiomas. Furthermore, it could be shown, that 1p- is already present at time of the primary tumors in progressive as well as in non-progressive meningiomas. Therefore 1p- is postulated as an early aberration during tumor evolution in meningiomas. During meningioma development tetraploid cell clones with 1p- seem to appear not until tumor recurrence. The correlation of 1p- with loss of activity of alkaline phosphatase, already described in the literature, could be confirmed. Recurrent progressive, but also non-progressive meningiomas exhibited an at least partial loss of enzyme activity of alkaline phosphatase in combination with 1p-. Deletion of 14q was approximately similar among progressive or non-progressive meningiomas and tended to occur in the later course of

meningioma development. It could be shown, that in the chronological sequence of developing process the loss of 14q appears after the deletion of 1p.

Using data of the proliferation marker Ki-67, it could be shown, that the proliferating fraction in progressive as well as in non-progressive cases increases over time. The examination of clinical data revealed similar distributions of age, gender, and localization for progressive meningiomas as compared to higher-grade or recurrent meningiomas. Patients with progressive meningiomas were 50 years old at the time of primary diagnosis of meningioma and thus, about 10 years younger than patients with common meningiomas. Male patients were more frequent and in the sex ratio equal as women, thus, demonstrating the shift in the sex distribution in progressive meningiomas towards the male. Progressive meningiomas were mostly located supratentorial.

The here intraindividually attained perceptions of cytogenetic processes during meningioma progression point up on the role of 1p deletion as an early and possibly determining aberration. These results underline also the prognostic impact of 1p deletion as risk factor for a later tumor progress and more aggressive course of disease.

2. Einleitung

Meningeome sind Tumore des zentralen Nervensystems, die ihren Ursprung in meningotheelialen Deckzellen der Arachnoidea haben und einen Anteil von 30% der primären intrakraniellen Neoplasien ausmachen (CBTRUS [<http://www.cbtrus.org/reports/reports.html>]). Obwohl sie als generell gut umschriebene, benigne und langsam wachsende Tumore gelten, rezidivieren 10%-25% der Meningeome trotz vorausgegangener kompletter Tumoresektion (Perry et al. 1997, Fewings et al. 2000, Ketter et al. 2001, Mihaila et al. 2003, Espinosa et al. 2006). Die Mehrheit der Meningeome ist histologisch gutartig, jedoch weisen Meningeome in bis zu 19% der Fälle histologisch atypische oder maligne Merkmale auf und sind Ursache signifikant erhöhter Morbidität und Mortalität (Perry et al. 1997, Perry et al. 1999).

Zur Beurteilung der Dignität werden Meningeome laut der WHO-Klassifikation in drei histologische Grade eingeteilt, die mit einem ansteigenden Rezidivrisiko verbunden sind (Louis et al. 2000). Benigne oder übliche Tumore weisen eine niedrige Rezidivrate (7%-20%) auf und werden als Grad I Meningeome klassifiziert. Grad II Meningeome umfassen sowohl die atypischen Meningeome als auch die selteneren chordoiden oder klarzelligen Meningeome. Sie weisen insgesamt ein höheres Rezidivrisiko auf (29%-40%). Bei den Grad III Meningeomen handelt es sich um anaplastische Meningeome mit hoher mitotischer Aktivität (20 oder mehr Mitosen pro 10 HPFs) und/oder offensichtlich malignem Zell- bzw. Gewebsbild sowie den seltenen Varianten der papillären und rhabdoiden Meningeome. Ihre Rezidivrate wird mit 50%-78% angegeben (Louis et al. 2000).

Progressives Verhalten von Tumoren kann einerseits im Sinne einer zunehmenden biologischen Aggressivität verstanden werden, die sich durch ein gesteigertes Wachstum und einer konsekutiv erhöhten Rezidivrate, ein steigendes Risiko für invasives Wachstum oder durch eine verstärkte Proliferation äußert. Als Maß für die Zellproliferation kann die immunhistochemische Expression des proliferationsassoziierten Antigens Ki-67 herangezogen werden. In zahlreichen Studien wurde eine Korrelation des Ki-67 Kernmarkierungs-Index (LI) mit dem Tumorgrad und mit dem Auftreten von Rezidiven gezeigt sowie die Rolle als prognostischer Faktor nachgewiesen (Kolles et al. 1995, Böstrom et al. 1997, Weber et al. 1997, Maier et al. 1997, Perry et al. 1998, Amatya et al. 2001, Ho et al. 2002, Kim et al. 2006a, Pfisterer et al. 2008).

Zum anderen ist die Tumorprogression histomorphologisch charakterisiert durch eine kontinuierliche Entdifferenzierung mit histologischem Upgrading vom niedriggradigen zum höhergradigen Tumor. Im Gegensatz beispielsweise zu diffusen Gliomen stellt bei Meningeomen die sukzessive Transformation zu maligneren Formen ein seltenes Ereignis dar (Lamszus et al. 1999, Al-Mefty et al. 2004). Für diffuse Gliome ist bekannt, dass das Kontinuum der Dedifferenzierung eng verknüpft ist mit dem Auftreten chromosomaler Aberrationen. So zeigen hochgradige Gliome zytogenetische Veränderungen, die in niedriggradigen Gliomen nicht zu finden sind (von Deimling et al. 1992, Weber et al. 1996, Hulsebos et al. 1998, Maruno et al. 1999, Ware et al. 2003, Arslantas et al. 2007). Die im Gegensatz zu diffusen Gliomen zahlenmäßig eingeschränkte Verfügbarkeit progressiver Meningeomfälle trägt dazu bei, dass die intraindividuellen zytogenetischen Prozesse der Meningeomprogression bis dato weitgehend unerforscht sind. Bei Medline-Recherchen zu diesem Thema fanden sich acht Arbeiten (Younis et al. 1995, Ishino et al. 1998, Lamszus et al. 1999, von Deimling et al. 1999, Lopez-Gines et al. 2001, Lopez-Gines et al. 2004, Al-Mefty et al. 2004, Espinosa et al. 2006) mit intraindividuellen Tumormodellen zu Meningeomrezidiven oder progressiven Meningeomen, darunter fünf Arbeiten, die Meningeome auf chromosomale Veränderungen hin untersuchten. Insgesamt stellen Meningeome jedoch eine der zytogenetisch am besten untersuchten Tumore dar, wobei sich aufgrund der Seltenheit des Tumorprogresses bei Meningeomen das zytogenetische Wissen zum jetzigen Zeitpunkt aus mehr als 1000 Meningeomen unterschiedlicher Individuen zusammensetzt (Zang 2001). Meningeome sind auch die ersten soliden Tumore, bei denen von einer typischen chromosomalen Aberration berichtet wurde. Der Verlust eines G-Gruppe Chromosoms wurde 1967 als ein typisches Ereignis bei Meningeomen gefunden (Zang et al. 1967). Später konnte diese Deletion als Monosomie des akrozentrischen Chromosoms 22 identifiziert werden (Zankl et al. 1972). Dabei finden sich der Verlust von Chromosom 22 oder Mutationen am NF2-Gen auf Chromosom 22 sowohl bei gutartigen als auch bei höhergradigen Meningeomen (Wellenreuther et al. 1995, Louis et al. 2000). Die zytogenetische Datenlage zu Meningeomen weist darauf hin, dass übliche WHO-Grad I Meningeome typischerweise einen mikroskopisch normalen Karyotyp oder eine Monosomie 22 als einzige Aberration aufweisen (Zang 1982). Neuere Übersichten kommen übereinstimmend zu dem Schluss, dass es bei der Progression von üblichen Meningeomen hin zu atypischen oder anaplastischen Meningeomen zu charakteristischen somatischen Chromosomenverlusten kommt, beginnend mit einer Monosomie 22, die von progressionsassoziierten sekundären Verlusten anderer Autosomen gefolgt wird (Zang 2001, Perry et al.

2004a, Lusic et al. 2004, Lamszus et al. 2004). Diese schließen 1) den sekundären Verlust von bis zu elf weiteren Chromosomen mit ein, dabei meist dem Schema der klonalen Evolution folgend. In diesem Zusammenhang werden von den Autoren Deletionen von Chromosom 3, 6, 7, 9, 10, 14, 17, 18 und 19, aber auch Aberrationen der Geschlechtschromosomen X und Y beschrieben (Zang 1982, Lekanne Deprez et al. 1995, Perry et al. 1996, Zang 2001).

Zum anderen werden 2) der partielle oder komplette Verlust des distalen Anteils des kurzen Arms von Chromosom 1 (Bello et al. 1994, Henn et al. 1995, Kolles et al. 1995, Niedermayer et al. 1997, Lamszus et al. 1999, Ketter et al. 2001, Kim et al. 2006a) oder strukturelle Veränderungen von Chromosom 1p (Perry et al. 1996) aufgeführt. Der Verlust des Chromosomenabschnittes 1p wurde in Zusammenhang mit der Meningeomprogression bereits von anderen Autoren beschrieben (Lindblom et al. 1994, Ishino et al. 1998).

Außer bei Meningeomen ist die Deletion 1p auch bei weiteren Tumoren häufig vertreten. So finden sich 1p Verluste bei Neuroblastomen (Schwab et al. 1996), oligodendroglialen Tumoren (Reifenberger et al. 1994), malignen Melanomen (Dracopoli et al. 1989) sowie hämatologischen Erkrankungen und epithelialen Tumoren (Schwab et al. 1996, Weith et al. 1996). Aufgrund der Vielzahl unterschiedlicher Malignome geht man davon aus, dass in dieser chromosomalen Region Tumorsuppressorgene lokalisiert sind (Bello et al. 1994, Lamszus et al. 1999), denen eine Rolle in der Tumorigenese zuzuschreiben ist (Schwab et al. 1996). Als mögliches Tumorsuppressorgen gilt dabei auch das für die gewebeunspezifische Form der Alkalischen Phosphatase (ALPL) kodierende Gen auf 1p36.1-p34. Die ALPL ist ein gut untersuchter Enzymmarker, der mit dem zytogenetischen Status von 1p und dem histologischen Grad assoziiert ist (Niedermayer et al. 1997, Bouvier et al. 2005, Kim et al. 2006a). Henn et al. (1995) konnten in FDG-PET Untersuchungen an Meningeomen zeigen, dass die Deletion 1p mit einer erhöhten metabolischen Aktivität und biologischen Aggressivität korreliert. Bis vor ein paar Jahren war und teilweise noch heute ist die Annahme weit verbreitet, dass der Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 im Prozess der Tumorprogression in Korrelation mit ansteigender histomorphologischer Malignität vermehrt auftritt (Weber et al. 1997). So ist bezogen auf den histologischen Grad in zahlreichen zytogenetischen Studien eine ansteigende Häufigkeit einer 1p Deletion bei Grad I über Grad II hin zu Grad III Meningeomen festzustellen (Bello et al. 1994, Simon et al. 1995, Kolles et al. 1995, Boström et al. 1997). In der Übersicht im WHO-Band über die genetischen Aberrationen bei der Meningeomprogression ist der 1p Verlust innerhalb der Progression von Grad I zu Grad II Meningeomen (Louis et al. 2000) aufgeführt. 1p Verluste zeigen sich jedoch nicht nur als Aberrationen höhergradiger Meningeome, sondern auch in histologisch

gutartigen Meningeomen. Diese Fälle verhalten sich trotz benignem histomorphologischem Bild ähnlich wie atypische Meningeome und weisen ein erhöhtes Rezidivrisiko auf (Ketter et al. 2001, Kim et al. 2006a). Dies weist darauf hin, dass der 1p Verlust möglicherweise ein frühes Ereignis während der Tumorprogression darstellt und bereits vor der histologischen Ausprägung der Atypie ein höheres biologisches Potenzial indiziert. Hierzu passen die Ergebnisse von Al-Mefty et al. (2004), die die gleichen genetischen Aberrationen der malignen Meningeomrezidive für Chromosom 1p, 14q und 22 bereits zum Zeitpunkt des frühen, gutartigen Stadiums der Tumore finden konnten. Bei diesen Untersuchungen wurden jeweils die frühen niedriggradigeren Meningeome und die korrespondierenden nachfolgenden höhergradigen Meningeome in vier Fällen als Paare mittels FISH untersucht. Diese intraindividuelle Herangehensweise ermöglicht, ähnlich wie bei den diffusen Gliomen, die Einsicht in die zytogenetischen Vorgänge der jeweiligen zeitlichen Progressionsstadien, gestaltet sich bei Meningeomen jedoch schwierig, da Tumorrezidive und -progression vergleichsweise selten sind. In der vorliegenden Arbeit wurden rückblickend Daten von 1289 Patienten mit Erstdiagnose eines Meningeoms evaluiert. Es handelte sich dabei um Patienten, die sich in fortlaufender Behandlung innerhalb der Klinik für Neurochirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes befanden. Innerhalb einer Zeitspanne von annähernd zwei Dekaden konnten 12 Fälle rezidivierender Meningeome, die im intraindividuellen Verlauf eine histologische Progression aufwiesen sowie 15 rezidivierende nicht-progressive Meningeome, zu denen paraffineingebettetes Archivmaterial verfügbar war, erfasst werden. Die nicht-progressiven Meningeome sollten ebenfalls im intraindividuellen Modell untersucht werden, um Abgrenzungen oder Gemeinsamkeiten zu den progressiven Fällen beurteilen zu können. Bei den zytogenetischen Veränderungen beider Gruppen lag der Betrachtungsschwerpunkt auf Aberrationen des kurzen Arms von Chromosom 1. Neben dem Verlust von 1p werden auch Aberrationen anderer Chromosomen, vor allem Allelverluste von 14q und 10q zu den progressionsassoziierten Veränderungen bei Meningeomen gezählt (Rempel et al. 1993, Simon et al. 1995, Cai et al. 2001, Zang 2001). In einigen der hier betrachteten Fälle, bei denen eine FISH-Untersuchung mit der Sonde für 14q am Archivmaterial möglich war, wurde daher zusätzlich das Auftreten einer Deletion 14q untersucht.

Als zytogenetische Untersuchungsmethodik wurde das Verfahren der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) an Interphasezellkernen in paraffineingebetteten Gewebeschnitten angewandt, wobei direkt markierte Sonden verwendet wurden. Die Technik der In-situ-Hybridisierung (ISH) fand ihre Anfänge im Jahre 1969 unter Gall & Pardue und John et al.

(1969). Es handelt sich dabei um eine effektive und schnelle Verfahrensweise, um Deletionen einzelner Sequenzen, regionärer Abschnitte oder den kompletten Verlust von Chromosomen nachzuweisen (Lakatosova et al. 2007). Die Interphase-FISH an Paraffinschnitten (Müller et al. 1999, Cai et al. 2001, Perry et al. 2002, Yilmaz et al. 2005) oder Zellsuspensionen (Ishino et al. 1998, Murakami et al. 2003) fand bei Meningeomen in einigen Studien Anwendung und gilt als zuverlässige Methode zum Nachweis von Deletionen. Im Vergleich zur LOH, CGH und klassischen Zytogenetik gilt die FISH nach Meinung von Lopez-Gines et al. (2001) und Murakami et al. (2003) als geeigneter und sensitiver, da sie weniger zeitintensiv und unabhängig von Referenz-Leukozyten-DNA des Patienten (notwendig bei der Prüfung auf Verlust der Heterozygotie) oder anwachsender Tumor-DNA, wie bei der klassischen Zytogenetik, ist.

Ziele der Arbeit

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, die Gruppe der progressiven Meningeome mittels FISH am paraffineingebetteten Material hinsichtlich ihrer zytogenetischen Veränderungen und diese auf ihre Bedeutung bezüglich des Progressionsprozesses hin zu untersuchen. Dabei war die durch die Betrachtungsweise gegebene „Intraindividualität“ für die nachfolgende Interpretation ausschlaggebend. Im Mittelpunkt der Untersuchung stand der Verlust von Chromosom 1p und die Frage nach der Rolle einer 1p Deletion als Einflussnehmender Faktor in Meningeomen mit histomorphologisch erfassbarem Progress. Als weitere progressionsassoziierte Aberration in Meningeomen wurde die Deletion 14q für einige Fälle zusätzlich untersucht. Im Vergleich sollte die Gruppe der rezidierten nicht-progressiven Meningeome betrachtet werden. Es wurde eine sukzessive intraindividuelle Betrachtungsweise gewählt, die bislang aufgrund der geringen Fallzahlen an progressiven Meningeomen nur in wenigen Studien Anwendung fand. Dieser intraindividuelle Ansatz sollte eine Aussage über das zeitliche Auftreten der chromosomalen Veränderungen sowie den Entwicklungsprozess progressiver Meningeome ermöglichen. Die gewonnenen Ergebnisse wurden mit den zur Verfügung gestellten Daten der Karyotypenanalyse verglichen. Zusätzlich sollten anhand der vorliegenden Patientendaten die klinisch-pathologischen Merkmale herausgearbeitet und analysiert werden. Vorliegende Daten zum Ki-67 Markierungs-Index sowie zum Status für die ALPL-Reaktion sollten ebenfalls im intraindividuellen Modell und bezogen auf die gewonnenen zytogenetischen Ergebnisse ausgewertet werden.

Einen Beitrag auf die Frage nach der Bedeutung zytogenetischer Untersuchungen innerhalb der Diagnostik von Meningeomen, vor allem im Hinblick auf Prognose, Therapie und Nachsorge des Patienten, sollte in dieser Arbeit ebenfalls zu leisten versucht werden.

3. Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Patienten und klinische Daten

Die Daten aller Patienten mit der Erstdiagnose eines Meningeoms, die im Zeitraum von August 1988 bis Juli 2006 in der Klinik für Neurochirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes, operiert worden sind, wurden bezüglich ihres weiteren klinischen Verlaufes und der histologischen Begutachtung überprüft. Von diesen 1289 Patienten wurden nur diejenigen in die Studie eingeschlossen, bei denen paraffineingebettetes Archivmaterial sowohl vom Primärtumor als auch von einem oder mehreren nachfolgenden Rezidiven vorlag. Falls kein Material vom Primärtumor zur Verfügung stand, wurde für die Fälle progressiver Meningeome das Material vom zeitlich frühestmöglich verfügbaren Tumor vor dem Progressionsschritt verwendet. Ein weiteres Einschlusskriterium war die makroskopisch vollständige Tumorentfernung (Resektionsausmaß von Simpson Grad I bis Grad II (Simpson et al. 1957)). Hierzu wurden Operationsprotokolle, postoperative bildgebende Kontrollen und Arztbriefe aus dem Archiv begutachtet.

Anhand oben genannter Einschlusskriterien wurden 31 Fälle ermittelt, darunter 12 progressive und 19 nicht-progressive Fälle. In der letztgenannten Gruppe war aufgrund des schlechten Erhaltungszustandes und/oder des unzureichenden paraffineingebetteten Gewebes in vier Fällen keine Hybridisierung mit der FISH möglich. Die endgültige intraindividuell betrachtete Population setzte sich aus 27 Fällen wie folgt zusammen.

Tab. 3.1 Gesamtpopulation (n = 27)

Progressive Meningeome	n = 12	(7)
I → II	= 6	(4)
I → III	= 2	(1)
II → III	= 4	(2)
Nicht-Progressive Meningeome	n = 15	(11)
I	= 3	(2)
II	= 7	(5)
III	= 5	(4)

Innerhalb der 27 Fälle wurden 57 Präparate auf eine Deletion 1p hin untersucht. In 53 Präparaten konnte für den Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 ein auswertbares Hybridisierungsergebnis erzielt werden.

Die Betrachtung der Deletion 14q (Angaben in Klammern) beschränkte sich innerhalb der Gesamtpopulation auf 18 Fälle, darunter 7 progressive und 11 nicht-progressive Fälle. Es wurden 32 Präparate erfolgreich mit der 14q-Sonde hybridisiert. Insgesamt wurden 85 erfolgreiche Hybridisierungen durchgeführt und ausgewertet.

3.1.2 Tumorproben

3.1.2.1 Intraindividuelle Betrachtung

Für jeden Fall wurde eine Paarung aus mindestens zwei intraindividuell zeitlich aufeinander folgenden Meningeomen gebildet. Dies schloss meist zwei Präparate pro Fall ein. In zwei Fällen (Fall-Nr. 2 und Nr. 25) wurden drei aufeinander folgende Präparate intraindividuell untersucht.

Bei vier Präparaten kam es nächstliegend aufgrund des mäßigen Erhaltungszustandes des zu untersuchenden Gewebes zu keiner erfolgreichen Hybridisierung. Mit Ende der Untersuchungen lagen daher nicht zu allen 27 Meningeomfällen Ergebnisse beider fallspezifischen Präparate vor (Fall Nr. 11, 19, 21, 31).

3.1.2.2 Tumorrepräsentatives Gewebe für Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Die Repräsentativität des zu untersuchenden Tumorgewebes und -areals wurde durch Begutachtung aller Hämatoxylin und Eosin (H&E) gefärbten Schnittpräparate der Meningeome auf das Vorhandensein, die Lokalisation und die Qualität des Tumormaterials gewährleistet. Dies erfolgte unter simultaner mikroskopischer Begutachtung mit Dr. Y.-J. Kim. Bereiche gut erhaltenen Tumorgewebes wurden aus dem entsprechenden ursprünglichen Paraffinblock neu in Paraffin eingebettet und 6µm dicke Schnittpräparate zur Durchführung einer FISH angefertigt (s. 3.2.1). Zur Gewährleistung der Repräsentativität des Tumormaterials gingen z.B. Nagasaka et al. (2007) bei ihren Untersuchungen an Glioblastomen in entsprechender Weise vor.

3.1.2.3 Histomorphologie und Grading

Alle untersuchten Meningeome wurden durch Begutachtung der jeweiligen verfügbaren H&E-Schnitte in ihrer Klassifikation und ihrem Grading zum Diagnosezeitpunkt überprüft und bei Bedarf der WHO-Klassifikation (Louis et al. 2000) entsprechend angepasst. Die

Leitlinien beruhen sowohl auf histomorphologischen Parametern als auch auf dem Mitose-Index (MI). Die histomorphologische Beurteilung erfolgte unter simultaner mikroskopischer Begutachtung mit Dr. Y.-J. Kim. Für jedes Präparat wurden die histologischen Kriterien der deskriptiven Gewebemorphologie und der MI in tabellarischer Form dokumentiert (s.Tab. 7.2.4 im Anhang).

Der bei jedem Tumor bestimmte MI gilt als Summe gezählter Mitosefiguren in 10 zusammenhängenden Gesichtsfeldern (high-power fields [HPF], 1HPF=0,16 mm²) im Areal der höchsten Mitoserate. Das übliche WHO Grad I Meningeom ist definiert als ein Meningeom mit üblichem architektonischen Gewebsbild aus entweder läppchenartigem Aufbau und sog. Zwiebschalenfiguren (arachnothelial), länglichen, häufig ineinander verwobenen Zellzügen mit reichlich interzellulären kollagenen Fasern („fibroblastisch“) oder eine Kombination aus den beiden genannten Gewebsbildern (transitional), sowie fehlenden zellulären Atypien und geringer mitotischer Aktivität (MI<4). Daneben werden weitere Subtypen mit charakteristischen morphologischen Ausprägungen (mikrozystisch, angiomatös, metaplastisch, psammomatös, sekretorisch) zu den benignen WHO Grad I Meningeomen gezählt. Atypische (WHO Grad II) Meningeome weisen mindestens drei der folgenden Merkmale auf: strukturarmes oder flächenhaftes Wachstumsmuster mit Architekturverlust, prominente Kernkörperchen, erhöhte Zelldichte, kleinzellige Formationen mit erhöhter Kern-Zytoplasma-Relation, kleinherdige oder geografische Nekrosen. Diese Kriterien wurden als komplett fehlend (0), fokal oder partiell vorhanden (1) oder als vorherrschend bzw. stark ausgeprägt (2) dokumentiert. Unabhängig von den genannten histomorphologischen Kriterien einer geweblichen oder zellulären Atypie, werden auch Meningeome mit einem MI von ≥ 4 bis 19 als atypisch klassifiziert. Daneben werden die seltenen Varianten der klarzelligigen und chordoiden Meningeome ebenfalls als WHO Grad II Meningeome eingestuft. Meningeome mit histomorphologischen Merkmalen eindeutiger Malignität mit Abnormalitäten, die über jene bei atypischen Meningeomen hinausgehen und/oder einen Mitose-Index von ≥ 20 zeigen, werden als anaplastische Meningeome (WHO Grad III) bezeichnet. Die histologischen Merkmale der Malignität äußern sich in einem karzinom-, sarkom- oder melanomähnlichen Erscheinungsbild. Ferner sind als WHO Grad III Meningeome die seltenen rhabdoiden und papillären Varianten zu erwähnen, die jedoch in dieser Serie nicht vorhanden sind.

3.1.2.4 Ki-67 Markierungs-Index

Bis auf eine Ausnahme lagen zu allen zytogenetisch untersuchten Gewebeschnitten immunhistochemische Präparate bezüglich Ki-67 sowie Ergebnisse deren Auswertung vor. Im

fehlenden Fall war das zur Verfügung stehende histologische Gewebe mengenmäßig so stark begrenzt, dass kein Gewebe zur Anfertigung einer immunhistochemischen Färbung mit Ki-67 zur Verfügung stand. Die immunhistochemische Färbung erfolgte durch Mitarbeiter des neuropathologischen Labors der Universität des Saarlandes. Die Auswertung der Ki-67 Immunhistochemie wurde in einheitlicher Form von Dr. Y.-J. Kim durchgeführt. Der Prozentsatz an immunreaktiv positiven Zellen wurde anhand digitaler Bilder in 5 HPF in den Bereichen höchster Markierungsrate ausgewertet. Dies erfolgte mit dem von Kim et al. (2006b) beschriebenen Computer-gestützten Bildanalyseverfahren.

3.1.2.5 Alkalische Phosphatase Reaktion

Die histochemische Ausprägung der ALPL wurde in den Fällen betrachtet, bei denen Kryostatschnitte oder Ausstrich-/Tupfpräparate nativen Tumormaterials zur Verfügung standen. Die histochemische Detektion der Enzymaktivität erfolgte in der von Niedermayer et al. (1997) beschriebenen Vorgehensweise durch Mitarbeiter des neuropathologischen Labors. Die Auswertung wurde von Dr. Y.-J. Kim vorgenommen. Drei Anfärbemuster der Tumorzellen wurden unterschieden: eine durchgehend positive Expression der Alkalischen Phosphatase in allen Tumorzellen (positiv), einen teilweisen Ausfall der Alkalischen Phosphatase (partiell-negativ) in mehr als 50% der Tumorzellen in eindeutig identifiziertem Tumorgewebe (Bouvier et al. 2005) und ein totaler Verlust der Alkalischen Phosphatase Aktivität (negativ) in den Tumorzellen bei gleichzeitig erhaltener Aktivität in den Blutgefäßendothelien.

3.1.2.6 Karyotypenanalyse

Für 43 Präparate lagen Daten aus der zytogenetischen Datenbank für Meningeome vor. Diese wurden zusammen mit zytogenetischen Angaben zum verwendeten Kontrollgewebe freundlicherweise vom Institut für Humangenetik der Universität des Saarlandes zur Verfügung gestellt. Die Daten stammen aus Chromosomenanalysen von Zellkulturen der hier untersuchten Meningeome. Die Karyotypisierung erfolgte nach bekannter Methodik (Limon et al. 1986). Die Chromosomenpräparation aus der Primärkultur, die Giemsa-Trypsin-G (GTG)-Bänderung und die Karyotypisierung wurden nach Standardprotokollen durchgeführt.

3.1.3 Kontrollgewebe für die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Als Kontrollen dienten in Paraffin eingebettetes leptomeningeales Gewebe sowie durch CGH nachgewiesen zytogenetisch unauffällige Meningeome des WHO-Grades I. Das Kontrollgewebe stammte von Personen des weiblichen und männlichen Geschlechts. Für jede Untersuchungsreihe eines zu untersuchenden Chromosoms wurden an 8 Kontrollgeweben Hybridisierungen durchgeführt.

3.1.4 In Situ Kits

In der vorliegenden Arbeit wurden zur Durchführung der In-situ-Hybridisierungen die im Folgenden aufgeführten Kits (Cat#RIST1343, Cat# RIST1337) von MP Biomedicals, Irvine, CA (www.mpbio.com) verwendet. Die Untersuchungen wurden nach den empfohlenen Protokollen des Herstellers durchgeführt.

3.1.4.1 Chromosom In Situ Hybridisierungskit

Dieses Kit ist sowohl für die Anwendung bei Metaphase-FISH als auch bei Interphase-FISH mit Fluoreszenzfarbstoffen markierten Sonden geeignet.

Tab. 3.2 Materialien

Substanz	Beschreibung	Volumen
20x SSC	<i>Natriumzitrattpuffer; Inkubationpuffer zur Vorbehandlung</i>	500 ml
NP-40	<i>Detergenz zur Vorbehandlung</i>	2x4ml
10x PBD	<i>Phosphatgepuffertes Detergenz; In-situ Waschluffer</i>	500ml
10x Waschluffer	<i>Post-Hybridisierungs-Waschluffer</i>	150ml
DAPI / Antifade (0,1ug/ml)	<i>4',6-Diamidin-2-phenylindol Gegenfärbungsdetergenz</i>	1,5ml
Antifade	<i>Dilutionslösung für DAPI</i>	1,5ml

3.1.4.2 Vorbehandlungskit für paraffineingebettetes Gewebe

Die enthaltenen Materialien ermöglichen in der sich anschließenden Hybridisierung einen besseren Zugang der fluoreszenzmarkierten Sonden zur Ziel-DNA. Dies gilt insbesondere für das formalinfixierte und in Paraffin eingebettete Gewebe. Laut Herstellerangaben sollen die Vorbehandlungsschritte nach der Deparaffinierung erfolgen und bei der Hybridisierung eine Co-Denaturierung bevorzugt werden. Dies wurde beides berücksichtigt.

Tab. 3.3 Materialien

Substanz	Beschreibung	Volumen
Pretreatment Powder	<i>Auftrennung von Proteinbrücken</i>	120g
Proteine Digesting Enzyme	<i>Enzym zum Proteinverdau</i>	100mg
20x SSC	<i>Inkubationspuffer zur Vorbehandlung</i>	500ml
10x PBD	<i>In-situ Waschpuffer</i>	500ml
10x In situ Waschpuffer	<i>Post-Hybridisierungs-Waschpuffer</i>	150ml
Propidium Iodid/Antifade (0,6µg/ml)	<i>Gegenfärbedetergenz, rot; Kontrolle der Andauung</i>	1,0ml
DAPI / Antifade	<i>Gegenfärbedetergenz</i>	1,0ml
Antifade	<i>Dilutionslösung für DAPI</i>	1,0ml

Anwendungsfertige Lösungen und Puffer wurden wie unter 3.1.8 beschrieben hergestellt.

3.1.5 Puffer und Lösungen

a) 2x SSC-Lösung (2x Saline Sodium Citrate Buffer)

Der 2x Natriumchloridzitat-Puffer wurde aus 900ml destilliertem Wasser und 100ml 20x SSC (Cat#RIST2050, MP Biomedicals, QBiogene) hergestellt und durch leichtes Schütteln vermischt. Er konnte über längere Zeit bei 4°C aufgehoben werden und wurde zur Herstellung von Vorbehandlungs- und NP-40-Lösung verwendet sowie zur Spülung der Gewebeschnitte während der Vorbehandlung eingesetzt.

b) Nonidet P-40-Lösung

NP-40 ist ein nicht-ionisiertes Detergenz, welches Schmutz oder Ablagerungen von den Objektträgern entfernt und somit zur Reduktion von Hintergrundfärbung und unspezifischer Bindungen beiträgt. Es wird in der Vorbehandlung von Hybridisierungen mit direkt-markierten Sonden verwendet. Zur Herstellung von 100ml NP-40-Lösung (2x SSC/0,5% NP-40) wurden 0,5ml NP-40 (Cat#RIST1315, MP Biomedicals, QBiogene) in 100ml 2x SSC-Lösung gegeben und mit Hilfe eines Magnetrührgerätes vermischt. Anschließend wurde mit einer pH-Sonde der pH-Wert von 7,0 kontrolliert.

c) Vorbehandlungslösung

Die Vorbehandlungslösung enthält in Wasser gelöstes Natriumbisulfit (NaHSO_3 , Natriumhydrogensulfit). Dieses hilft die durch Formalinfixation zwischen Proteinen

bestehenden Querverbindungen zu lösen und einen besseren Zugang der Sonden zum Zellgenom zu ermöglichen. Zusätzlich verringert es die Konzentration an benötigtem Enzym. 30-prozentige Pretreatment-Lösung erhielt man durch Mischen von 9mg Vorbehandlungspulver (Cat#RIST1372, MP Biomedicals, QBiogene) mit 30ml 2x SSC-Lösung. Das Pulver wurde zunächst mit 20ml 2x SSC-Lösung einige Zeit im Polypropylenröhrchen gelöst und dann mit den restlichen 10ml 2x SSC aufgefüllt. Zu jeder Vorbehandlung war die Lösung frisch anzusetzen.

d) Enzym-Stammlösung

Das Protein Digesting Enzyme ist speziell ausgewählte Proteinase K, welche besonders für das Arbeiten mit formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe geeignet ist. Durch gute Gewebeaufschließung mit besonderer Effizienz an nativen Proteinen soll sie später ein möglichst optimales Angreifen und Binden der DNA-Sonden bewirken. Sie ist dabei über einen weiten pH-Wert Bereich (4-12,5) hinweg stabil und erhält ihre Wirkung über mehrere Stunden bei pH-Werten von 6,5-9,5. In diesem Fall wurde die im Protokoll als optimal angegebene Temperatur höchster Enzymaktivität von 45°C gewählt.

Aus dem gelieferten lyophilisierten Protein Digesting Enzyme (Cat#RIST1373, MP Biomedicals, QBiogene) wurde zunächst eine Stammlösung angesetzt, die als Aliquots bei -20°C gelagert wurde und auf die bei Gebrauch zurückgegriffen werden konnte.

Zur Herstellung der Stammlösung (25mg/ml) von Proteinase K wurde zum lyophilisierten Protein Digesting Enzyme (100mg) 4ml steriles destilliertes Wasser hinzugegeben. Nach dem Auflösen des Enzyms wurden Aliquots zu jeweils 250µl (16 Proben) in Eppendorfgefäßen bei -20°C eingefroren.

e) Arbeitslösung aus proteinaufschließendem Enzym

Zur Herstellung der in der Vorbehandlung benötigten Proteinase K-Lösung wurde am Tag der Anwendung ein Aliquot mit Stammlösung bei Raumtemperatur aufgetaut. Die Stammlösung wurde zu 25ml 45°C warmer 2x SSC-Lösung gegeben. Es wurde darauf geachtet die Temperatur von 45°C \pm 2°C einzuhalten. Ferner sollten keine Enzymreste im Eppendorfgefäß hinterlassen werden, um eine Konzentrationsminderung der Enzymlösung zu verhindern. Nach kurzem Mischen wurde die gebrauchsfertige Arbeitslösung (0,25 mg/ml in 2x SSC, pH 7,0) in eine 45°C temperierte Glasküvette gefüllt und in den Wärmeschrank (45°C) zurückgestellt.

Die Arbeitslösung an proteinaufschließendem Enzym konnte nur an dem Tag der Herstellung und Erwärmens verwendet werden.

f) 1x PBD-Lösung

Es handelt sich hierbei um ein Phosphat-gepuffertes Detergenz (pH 7,0), welches bei der FISH als Pufferlösung dient. Es entfernt unspezifisch gebundene oder überschüssige Sonde und stoppt nach der Posthybridisierungswaschung den Waschprozess.

Durch Mischen von 10ml 10x PBD-Lösung (Cat#RIST1370, MP Biomedicals, QBiogene) und 90ml destilliertem Wasser wurden 100ml der zehnfach verdünnten PBD-Lösung hergestellt. Zu je 50ml konnte sie in Polypropylenröhrchen gefüllt entweder direkt genutzt oder für einige Zeit bei 4°C aufgehoben werden.

g) 1x In-situ-Waschpuffer

Der In-situ-Waschpuffer ist ein Bestandteil der Posthybridisierungswaschung und ermöglicht es aufgrund seiner Zusammensetzung auf den Einsatz von Formamid zu verzichten. In einer 1x Verdünnung liegt die Endkonzentration bei 0,5x SSC und 0,1% SDS (Sodiumdodecylsulfat).

Um 1x In-situ-Waschpuffer herzustellen musste zunächst die 10x In-situ-Waschpuffer Lösung (Cat#RIST2001, MP Biomedicals, QBiogene) kurz in der Mikrowelle erwärmt werden, da diese bei geringeren Temperaturen leicht in zwei Phasen ausfällt. Zur Herstellung von 100ml Gebrauchslösung wurden 90ml destilliertes Wasser zu 10ml 10x In-situ-Waschpuffer hinzugegeben. Zu 50ml konnte sie in Polypropylenröhrchen bei 4°C kurze Zeit aufbewahrt werden.

h) DAPI/Antifade

Bei der Substanz 4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) handelt es sich um einen Fluoreszenzfarbstoff, welcher hier in einem auf Glycerol basierenden Trägermedium gelöst vorlag. Er wird zur Gegenfärbung von Zellen und Geweben verwendet, die mit FITC, Rhodamin oder ähnlich markierten Sonden hybridisiert sind. Dabei interkaliert DAPI bevorzugt bei AT-reichen Regionen doppelsträngiger DNA und erzeugt durch Anregung mit ultraviolettem Licht eine blau fluoreszierende Anfärbung der Zellkerne. Die enthaltene Antifadelösung verhindert ein frühzeitiges Ausbleichen der Sondersignale.

DAPI/Antifade (1ml, Cat#RIST1374, MP Biomedicals, QBiogene) lag in einer Konzentration von 0,1 µg/ml vor und wurde bei -20°C gelagert.

3.1.6 DNA-Sonden

Bei den DNA-Sonden unterscheidet man in Abhängigkeit von der Größe der Zielsequenz verschiedene Sondentypen. Bei den chromosomalen Sonden unterscheidet man solche, die einen armspezifischen Bereich und andere, die ein ganzes Chromosom markieren. Innerhalb der Gruppe der Satellitensonden unterscheidet man die klassischen von den alpha-Satellitensonden. Des Weiteren stehen Telomersonden und Subtelomersonden zur Verfügung oder Sonden einzelner Sequenzen oder Gene. Im Folgenden sind die hier verwendeten Sonden aufgeführt.

3.1.6.1 Zur Bestimmung eines Verlustes des kurzen Arms von Chromosom 1

Tab. 3.4 Sonde für Chromosom 1p36

Sonde:	D1Z2
Chromosom 1p36	Einsequenzsonde (MP Biomedicals, QBiogene)
PONC0136	
Sondengröße:	~ 200kb
direkt mit Fluorescein	(grün) markierte Einfarbensonde

Die Anzahl der Sondensignale in einem normalen Interphasezellkern betrug zwei grüne Signale (oder zwei Paare in G2). Bei einer del 1(p36) lag im Interphasezellkern nur ein Signal vor. Da bei tetraploiden Zellen mit 1p Verlust ebenfalls 2 Signale vorlagen, war die Anzahl der Sondensignale immer im Zusammenhang mit den Signalen für die 1qh Sonde zu betrachten.

Tab. 3.5 Sonde für Chromosom 1qh

Sonde:	D1Z1
Chromosom 1qh	klassische Satellitensonde, Chromosomenanzahl Sonde (MP Biomedicals, QBiogene)
PSAT0001	
direkt mit Rhodamin	(rot) markierte Einfarbensonde

Die Anzahl der Sondensignale in einem normalen Interphasezellkern betrug zwei rote Signale. Monosomien zeigten sich in Zellkernen mit dem Verlust von einem Signal, Trisomien mit dem Zugewinn eines Signals.

3.1.6.2 Zur Bestimmung eines Verlustes von 14q

Tab. 3.6 Sonde für Chromosom 14q

Sonde:	D14S1419
Chromosom 14q	Telomer-spezifische DNA-Sonde (MP Biomedicals, QBiogene)
PTEL14Q	
Sondengröße	170kb
direkt mit Fluorescein	(grün) markierte Sonde

Die Anzahl der Sondensignale in einem normalen Interphasezellkern betrug zwei grüne Signale (oder zwei Paare in G2). Eine Deletion 14q zeigte sich im Fehlen eines Signals, eine Trisomie in einem zusätzlichen Signal.

3.2 FISH an Paraffinschnitten von Meningeomen

Das Prinzip der ISH beruht auf der Hybridisierung bekannter Gensequenzen eingesetzter RNA- bzw. DNA-Sonden mit komplementärer genomischer DNA in Form einzelner Chromosomen, Zellkernen oder im Gewebeverband. Die doppelsträngige Hybrid-DNA kann anschließend durch den Einsatz unterschiedlicher Detektionssysteme im biologischen Präparat selbst (*in situ*) sichtbar gemacht werden. Somit ermöglicht das Verfahren den gezielten Nachweis spezifischer Nukleinsäuresequenzen im Untersuchungsmaterial.

Die DNA-Sonden können entweder indirekt an Haptene (z.B. Biotin (Langer et al. 1981), Digoxigenin (Heiles et al. 1988)) gebunden und anschließend mit nicht-isotopen Stoffen (Fluorochromen, Enzymen u.a.) detektiert (Raap et al. 1986, Hopman et al. 1988) werden oder sie werden direkt mit fluoreszierenden Molekülen verknüpft (FITC, Cy3). Diese Technik wird als Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) bezeichnet und wurde erstmals von Pinkel et al. (1986) und Lichter et al. (1988) an menschlichen Chromosomen beschrieben. Durch Anregung der Fluochrome mit kurzwelligem monochromatischem Licht kommt es zur Emission langwelliger blauer, grüner, gelber oder roter Fluoreszenzstrahlung. Dies ermöglicht die gleichzeitige Verwendung mehrerer verschieden markierter DNA-Sonden und somit die Darstellung unterschiedlicher chromosomaler Abschnitte im selben Präparat. Die in dieser Arbeit verwendeten Sonden waren direkt markiert, d.h. der Fluoreszenzfarbstoff war bereits am Markermolekül der Sonde gebunden. Eine Detektion war daher nach der Hybridisierung nicht notwendig.

In der hier durchgeführten Untersuchung wurde für den Verlust von Chromosom 1p die Methode der Zwei-Farben-FISH an Paraffinschnitten von Meningeomen angewandt. Für den Nachweis einer 14q Deletion wurde an entsprechendem Material eine Interphase FISH mit einer Sonde durchgeführt.

3.2.1 Anfertigung der Paraffinschnitte

Von dem zu untersuchenden in Formalin fixierten und Paraffin eingebetteten Tumormaterial wurden am Mikrotom 6µm (Hopman et al. 1991) dicke Schnittpräparate hergestellt und auf silanisierte (Van Prooijen-Knegt et al. 1982, Tourtelotte et al. 1987, Burns et al. 1987) Objektträger aufgezogen. Die Silanisierung der Objektträger erfolgte durch eine 1:10 mit Aceton verdünnte 3-(Triethoxysilyl)-propylamin-Lösung (C₉H₂₃NO₃Si, M 221,37 g/mol). Die Herstellung der Schnittpräparate erfolgte in Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern des neuropathologischen Labors. Im Anschluss wurden die Präparate über Nacht bei 37°C im Wärmeschrank getrocknet und dann lichtgeschützt, staubfrei und trocken aufbewahrt.

Da zwei Aberrationslokalisationen geprüft werden sollten, wurden von jedem Präparat zwei Schnitte angefertigt. Die Kennzeichnung erfolgte mit N-Nummern, fortlaufenden Nummern, dem zu untersuchenden Chromosom und dem Kürzel ISH.

3.2.2 Vorbehandlung der Paraffinschnitte

Prinzip:

Um der Sonde einen möglichst guten Zugang und das Durchdringen des Gewebes zu ermöglichen, ist es insbesondere an Paraffinschnitten wichtig, die Präparate mit speziellen Chemikalien und/oder Enzymen vorzubehandeln (Höfler 1990). Für die Vorbehandlung kommen verschiedene proteolytische Enzyme wie Pepsin, Pronase (Protease) und Proteinase K (Van Prooijen-Knegt et al. 1982, Burns et al. 1986, Raap et al. 1986, Hopman et al. 1987, Naoumov et al. 1988) in Frage. In einer Interphase-FISH Studie an Paraffinschnitten von Meningeomen wählten Schneider et al. (1995) Proteinase K (0,25 mg/ml in 2x SSC) als bevorzugtes Enzym.

Hier wurde das Vorbehandlungskit RIST1337 (MP Biomedicals, QBiogene, Illkirch) für Paraffinmaterial mit Protein Digesting Enzyme (Proteinase K), Nonidet P40-Lösung und Pretreatment Powder verwendet.

Die Vorbehandlung der Paraffinschnitte gliedert sich in vier verschiedene Abschnitte:

1. Entparaffinieren der Gewebeschnitte
2. Inkubation in Nonidet P-40 Lösung

3. Inkubation in Pretreatment-Lösung
4. Enzymverdau bei 45°C

Durchführung:

Entparaffinieren der Gewebeschnitte:

- Schnitte mehrmals einige Sekunden in Xylol (75°C) schwenken bis sie durch leichtes Anpusten weißlich werden.
- Durch Xylolreihe führen und anschließend in Alkoholreihe dehydrieren, dabei jeweils mehrmals spülen.
- Präparate an der Luft trocknen lassen.

Inkubation in Nonidet P-40-Lösung:

- Anzahl an benötigten Küvetten einige Stunden oder über Nacht im 38°C Wärmeschrank vorwärmen.
- Entparaffinierte Gewebeschnitte für 30min in die vorgewärmten Küvetten mit NP-40-Lösung (2x SSC/0,5% NP-40, pH-Wert = 7,0) in den Wärmeschrank stellen.
- Küvetten nach der Hälfte der Zeit leicht schwenken, um den Spüleffekt zu unterstützen.
- Nach 30min Präparate durch Alkoholreihe führen und anschließend für 2min im frischen Alkohol (absolut) dehydrieren.
- Lufttrocknen der Präparate bei Raumtemperatur.

Inkubation in Pretreatment-Lösung:

- Anzahl an benötigten Küvetten frühzeitig einige Stunden oder über Nacht im 45°C Wärmeschrank vorwärmen.
- Objektträger des Tumormaterials für 25min in Pretreatment-Lösung (Gewebevorbehandlungslösung 30%) inkubieren.
- Küvette nach der Hälfte der Zeit vorsichtig schütteln.
- Nach Ablauf der vorgegebenen Zeit Schnitte entnehmen und kurz in 2x SSC spülen.

Enzymverdau:

- Präparate in vortemperierte Küvetten mit einer Arbeitslösung aus proteinaufschließendem Enzym (250µl Stammlösung (25 mg/ml) in 25ml 2x SSC-Lösung, Zielkonzentration 0,25 mg/ml) stellen.

- Inkubation in Proteinase K bei 45°C für 75min, dabei alle 20min Küvetten durch leichtes Schütteln durchmischen.
- Nach der Andauzeit Objektträger aus den Küvetten entnehmen und 5-10sec in 2x SSC spülen, dabei leicht schwenken. Dazu zwei Behälter mit 2x SSC-Lösung benutzen, wobei der jeweils letzte Behälter absolut frische Lösung enthalten sollte um eine möglichst effektive Entfernung von Enzymresten zu erreichen.
- Präparate ein weiteres Mal durch die Alkoholreihe führen, im frischen Alkohol (absolut) für 2min dehydrieren und lufttrocknen.

Die Enzymverdauzeiten während der Vorbehandlung wurden bedarfsweise variiert, um sie an die Gewebeschaffenheit anzupassen. Die ausschließlich verwendete Zeitdauer von 75min führte oft zu einer guten Gewebsaufschließung. In den Fällen, in denen kollagene Bindegewebszüge oder Tumorstroma stark vertreten waren, wurden längere Andauzeiten von 90min bis 120min gewählt bzw. wurden die Präparate ein- bis mehrmals nachgedaut. Einige wenige Präparate benötigten kürzere enzymatische Behandlungszeiten und zeigten nach 45min bis 60min eine ausreichende Aufschließung.

Alle Präparate wurden zur Kontrolle unter dem Lichtmikroskop untersucht und der morphologische Zustand des Gewebes dokumentiert. Nicht optimal angedaute Präparate wurden je nach definierter Nachdauzeit behandelt und erneut beurteilt. Dabei wurde neben dem noch vorhandenen Bindegewebsgehalt auch auf kollagene interzelluläre Matrix, Gewebemuster und freiliegende Tumorzellkerne geachtet.

3.2.3 Denaturierung und Hybridisierung

Prinzip:

Während der Denaturierung werden die doppelsträngigen Sonden- und Ziel-DNA durch Erhitzen in Einzelstränge aufgetrennt. Hierdurch können sich während des Vorgangs der Hybridisierung die komplementären einzelsträngigen Nukleinsäuresequenzen aneinanderlagern und erneut eine Doppelstrang-DNA, sogenannte Hybride, ausbilden. Es können neben diesen Hybridmolekülen aus Sonden- und Target-DNA auch Renaturierungen innerhalb der ursprünglichen Tumor-DNA stattfinden. Erfolgt das Erhitzen von Sondenmix und Präparat gemeinsam, spricht man von einer Co-Denaturierung. Findet es separat statt, bezeichnet man es als eine getrennte Denaturierung. In vorliegender Arbeit wurde nach erstgenanntem Verfahren vorgegangen.

Durchführung:

- Hybridisierung mit 1p-Sonde und 1q-Sonde: pro Schnitt eine Menge von 5µl Sondenmix, bestehend aus 4µl 1p-Sonde und 1µl 1q-Sonde, auf das Präparat auftragen.
- Hybridisierung mit der 14q-Sonde: pro Schnitt 5µl Sondenmix, bestehend aus 1,5µl 14q-Sonde und 3,5µl Hybridisierungspuffer 40% (MP Biomedicals, QBiogene), auf das Präparat auftragen.
- Ein etwa 8x8mm großes, zugeschnittenes Deckglas auflegen und durch Fixogum abdichten.
- Fixogum trocknen lassen und anschließend Schnitte auf einer Heizplatte bei 80°C für 10min denaturieren; Objektträger während dieser Prozedur lichtgeschützt abdecken, um übermäßige Lichteinwirkung zu verhindern.
- Präparate in einer vor Licht geschützten feuchten Kammer über Nacht bei 38°C im Wärmeschrank hybridisieren.

3.2.4 Posthybridisierungswaschung (Stringenzwaschung)

Prinzip:

Bei der Hybridisierung liegt neben homolog mit Ziel-DNA des Tumorgenoms gebundener Sonden-DNA in Form von komplementären DNA-Hybriden, auch heterolog, als mismatch mit anderen Sequenzen als die der Ziel-DNA gebundene Sonden-DNA vor. Diese ist unspezifisch und soll gemeinsam mit ungebundener Sonde durch Waschschrte unter definierten Stringenzbedingungen entfernt werden. Angesprochene Fehlpaarungen können während der Stringenzwaschung ihre Stabilität, im Gegensatz zu den komplementären DNA-Hybriden, nicht aufrechterhalten. Die Beeinflussung der Stringenz, als Maß für die Spezifität der Hybridisierung, erfolgt über eine Änderung der Salzkonzentration und durch Temperaturregulation. Erniedrigt man den Salzgehalt und erhöht die Temperatur so steigert man den Homologiegrad vorliegender Hybride. Beim Abweichen der Homologie der Hybride um 1% verringert sich nach Bonner et al. (1973) bei über 150bp die Schmelztemperatur von Doppelstrang-DNA um 1°C-1,5°C. Eine Stringenzsteigerung kann auch durch die Zugabe von Formamid bewirkt werden.

Durchführung:

- Schnitte am Tag nach der Hybridisierung aus der feuchten Kammer nehmen und Fixogum mit einer Pinzette vorsichtig entfernen.
- Präparate bei Raumtemperatur kurz in Küvette mit 1x PBD-Lösung stellen, um Deckgläser abzulösen.

- Schnitte in 65°C warmen 1x In-situ Waschpuffer tauchen, um Sondenmix grob zu entfernen.
- Im frischen 1x In-situ Waschpuffer (0,5x SSC/0,1% SDS) bei 65°C im Wärmeofen für 5 min inkubieren.
- Präparate entnehmen und kurz durch 1x PBD-Lösung führen.
- Für 5 min in frischer 1x PBD-Lösung bei Raumtemperatur inkubieren.
- Objektträger einmal in Aqua dest. tauchen, um Auskristallisieren von PBD-Lösung nach dem Trocken zu verhindern.
- Das restliche Wasser abschütteln.

Die Arbeitsschritte ab der Posthybridisierungswaschung erfolgten bis auf die Inkubation im 65°C Ofen in einer Dunkelkammer, um ein vorzeitiges Ausbleichen der Fluochrome weitestgehend zu verhindern. Die verwendeten Glasküvetten waren zum Schutz vor Lichteinfall mit Alufolie umwickelt.

3.2.5 Eindecken mit DAPI/Antifade

Prinzip:

Mit Hilfe des blauen Fluoreszenzfarbstoffes DAPI (4',6 Diamidino-2-phenylindol) lässt sich die Gesamt-DNA bzw. der Zellkern anfärben. Dabei liegt DAPI in Antifade gelöst vor, welches ein frühzeitiges Ausbleichen von Fluoreszenzfarbstoffen verhindern soll. Das Kernchromatin erscheint nach der Gegenfärbung im Fluoreszenzmikroskop gut abgrenzbar und ermöglicht eine Zuordnung der sondenmarkierten Genomabschnitte pro Zellkern.

Durchführung:

- Pro Objektträger je 8µl DAPI/Antifade (0,1 µg/ml) auftragen.
- Deckglas (18x18mm) luftblasenfrei auflegen und leicht andrücken, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen.
- Versiegeln durch Umranden der Deckgläser mit Fixogum.

3.2.6 Fluoreszenzmikroskopische Auswertung und Dokumentation

3.2.6.1 Fluoreszenzmikroskopische Auswertung

Die Auswertung der Paraffinschnitte wurde an einem Auflichtfluoreszenzmikroskop AX70 (Olympus, Tokyo, Japan) mit selektiven Einfachbandpassfiltern für FITC (MWIBA Anregungsfilter 460-490nm), Rhodamin (MWIG Anregungsfilter 520-550nm) und DAPI (NU Anregungsfilter 360-370nm) durchgeführt. Dabei erfolgte die Beleuchtung mit einer

100W Quecksilberlampe (U-ULS 100HG, Japan). Zur Fotodokumentation diente eine s/w Charge-Coupled-Device (CCD)-Kamera.

Die Präparate wurden zunächst mit dem 100x Immersionsobjektiv auf ihre Qualität und den Hybridisierungserfolg hin überprüft. Signalform, Signalintensität und das Vorhandensein einer Hintergrundfärbung wurde beurteilt. Waren keine eindeutigen Sondersignale oder eine zu starke Hintergrundfärbung vorhanden, wurde keine Auswertung vorgenommen. In diesen Fällen wurde ein weiteres Schnittpräparat angefertigt und die FISH wiederholt. Das bei Präparaten auch nach mehrmaligen Versuchen kein Hybridisierungserfolg zu verzeichnen war, wurde auf unterschiedliche Materialqualitäten sowie eventuelle Lagerungsmodalitäten des Paraffinmaterials zurückgeführt.

Pro Objektträger wurde ein Minimum von 200 Zellkernen (Arnoldus et al. 1992, Müller et al. 1999, Pelz et al. 2002, Maillo et al. 2003, Sayagues et al. 2004) bezüglich ihrer Sondersignale beurteilt. Dabei wurde das komplette Präparat mäanderförmig mikroskopisch untersucht. Die Sondersignale stellten sich als scharf begrenzte, je nach Sondenlänge, in ihrer Größe variabel große helle Signale dar. Bei der Zwei-Farben FISH zur Beurteilung einer 1p Deletion waren dies grüne FITC-Signale und rote Rhodamin-Signale, bei der Überprüfung eines 14q Verlustes grüne FITC-Signale. Bei der Auswertung wurden die von Hopman et al. (1988) beschriebenen Kriterien angewendet. Es wurden dabei nur Zellkerne ausgewertet, die sich nicht überlappten. Zusätzlich sollten die Zellgrenzen deutlich erkennbar und nicht asymmetrisch von Zytoplasma bedeckt sein. Die Sondersignale sollten eine ungefähr gleichmäßige Intensität aufweisen und punktförmig erscheinen. Kleinere, schwächere Fluoreszenzsignale wurden nicht mitgezählt. Traten Doppelsignale (sog. „split spots“) auf, so wurden sie unter der Prämisse, dass ihr Abstand geringer war als der Durchmesser eines Signals, als nur ein Signal gewertet. Die Sondersignale mussten eindeutig einem Zellkern zugeordnet werden können. Es wurden nur Signale berücksichtigt, die im Zellkern lagen. Da es sich bei Zellkernen um räumliche Gebilde handelt, wurden alle Fokussierungsebenen auf Signale hin überprüft.

Für die verwendeten Fluochrome von QBiogene einschließlich der DAPI-Gegenfärbung sind die geeigneten Absorptions- und Emissionsspektren in nachfolgender Tabelle aufgeführt.

Tab. 3.7 Absorptions- und Emissionsspektren der Fluochrome (modifiziert nach MP Biomedicals, QBiogene, USA)

Fluochrom	Absorptions- spektrum	Emissions- Spektrum	Farbe des Fluochroms	Farbe des Anregungslicht
Fluorescein	495 ± 20nm	525 ± 30nm	grün	blau
Rhodamin	546 ± 12nm	580 ± 30nm	rot	grün
DAPI	Absorptions- maximum: 358 nm	Emissions- maximum: 461nm	blau	ultraviolett

Bei der Fotodokumentation war darauf zu achten, dass DAPI als letzter Farbstoff angeregt wurde, da auch andere Fluoreszenzfarbstoffe wie z.B. Fluorescein durch die Anregung mit ultraviolettem Licht gebleicht werden und dies zu einer Signalabschwächung führen kann.

3.2.6.2 Dokumentation

Für die gemeinsame Hybridisierung der 1p- und 1q-Sonde wurden für jedes Präparat die Sondensignale für jeden Zellkern als Signalkombinationen tabellarisch festgehalten. Für die Auswertung der 14q Sonde wurde die Anzahl ihrer Signale pro Zellkern dokumentiert. In beiden Fällen wurden die Ergebnisse sowohl in manueller Form als auch digital erfasst und als prozentuale Anteile der Gesamtzahl beurteilter Zellkerne je Präparat wiedergegeben. Die digitale Datenerfassung erfolgte mit Hilfe von Microsoft Excel (Redmond, WA, USA).

Als Software zur ergänzenden fotografischen Dokumentation der Hybridisierungsergebnisse wurde das Bildverarbeitungsprogramm ISIS 4.4 (MetaSystems, Altussheim, Deutschland) eingesetzt. So konnte durch additive Farbmischung von Einzelaufnahmen in den jeweiligen Filtern ein Gesamtbild erstellt werden. Es wurden für ein Präparat 1-4 Aufnahmen angefertigt, die den Hybridisierungserfolg und ggf. die Darstellung aberranter Tumorzellen dokumentierten.

3.3 FISH am Kontrollgewebe zur Bestimmung der Cut-off Levels

3.3.1 Cut-off Level

Bei der FISH stellt die Bestimmung der Cut-off Levels für die verwendeten Sonden einen der kritischsten Faktoren dar, der die richtige Interpretation der gefundenen FISH-Signale beeinflusst (Ventura et al. 2006). Es gilt als weithin akzeptiert eine Cut-off Schwelle als Mittelwert der falsch positiven Zellen von mindestens fünf Kontrollen plus der dreifachen Standardabweichung zu errechnen (Ventura et al. 2006). In der vorgelegten Arbeit wurden als Kontrollgewebe (s. Kap. 3.1.3) sowohl nachweislich genetisch unauffällige Grad I

Meningeome, als auch nicht-neoplastisches arachnotheliales Gewebe verwendet, um eine möglichst adäquate Vergleichbarkeit zu erzielen. Pfisterer et al. (2004) und Cai et al. (2001) verwendeten in ihren FISH-Studien an Paraffinmaterial von Meningeomen zur Erhebung von Cut-off Werten ebenfalls leptomeningeeales Gewebe, zusätzlich zu nicht-neoplastischem Hirngewebe.

In dieser Arbeit wurde als Abweichung vom Mittelwert der Cut-off Schwelle ebenfalls die dreifache Standardabweichung gewählt. Eine Anzahl von 8 ausgewerteten Präparaten pro Sonde passt in den Rahmen einiger Literaturangaben für Interphase-FISH, deren Anzahl an Kontrollen zwischen 5 (Mancini et al. 2000, Parrens et al. 2006) und 11 (Müller et al. 1999) lag.

Um Cut-off Werte für die Detektion von Chromosomenaberrationen bezüglich 1p und 14q im Untersuchungsgewebe zu ermitteln, wurde unter gleichen Bedingungen wie zuvor eine FISH für das beschriebenen Kontrollgewebe durchgeführt.

3.3.2 Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung des Kontrollgewebes

Die Durchführung der FISH an den Kontrollen erfolgte analog zur FISH des zu untersuchenden Gewebes. Die einzelnen Arbeitsschritte und die Auswertung entsprachen dem im Kapitel 3.2 beschriebenen Protokoll.

In Bezug auf die Überprüfung einer 1p Deletion galt für die normale diploide Zelle, dass sie sowohl für die D1Z1-Sonde (1qh), als auch für die D1Z2-Sonde (1p36) jeweils zwei Signale besaß (2 D1Z2/2 D1Z1). Eine Deletion 1p zeigte sich in Zellen mit einer Signalkombination von 1 x D1Z2 und 2 x D1Z1 (1 D1Z2/2 D1Z1). Bei tetraploiden Zellen stellte sich ein Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 durch zwei Sondensignale für 1p36 (D1Z2) und vier Sondensignale für 1qh (D1Z1) dar (2 D1Z2/4 D1Z1). Eine Monosomie 1 führte bei beiden Sonden zu nur einem Signal (1 D1Z2/1 D1Z1).

Für die 14q Sonde hatte die normale diploide Zelle pro Zellkern zwei Signale (2 D14S149). Ein Verlust von 14q lag vor, wenn im Zellkern nur ein Signal vorkam (1 D14S149).

3.4 Statistische Verfahren

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte anhand des Statistikprogramms SPSS (Superior Performance Software System, Version 14.0, Chicago, IL, USA)

Metrische Merkmale wurden zum einen deskriptiv durch die Angabe von Lagemaßen (Mittelwert, Spannweite) und Streumaß (Standardabweichung) beschrieben. Zum anderen erfolgte der Vergleich von Gruppen durch rangorientierte Testverfahren wie dem Mann-Whitney U-Test und dem H-Test nach Kruskal and Wallis. Der Mann-Whitney U-Test stellt einen nicht-parametrischen Test für zwei unverbundene Stichproben mit stetiger Merkmalsausprägung dar. Der Kruskal-Wallis Test ist ein dem U-Test analoges Verfahren, das die Verteilung der zu prüfenden Variablen in k-unabhängigen Merkmalen testet.

Bei Parametern von nominaler oder ordinaler Skalierung erfolgte die deskriptive Analyse in Form von absoluten und relativen Häufigkeiten. Zusätzlich wurden verteilungsfreie Tests wie der Chi-Quadrat Test oder der exakte Test nach Fisher angewandt.

Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha=0,05$ festgelegt. Von statistischer Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $p<0,05$ ausgegangen.

4. Ergebnisse

4.1 Patienten

4.1.1 Klinische Daten

4.1.1.1 Altersverteilung

In dem betrachteten Krankengut progressiver und nicht-progressiver Meningeome ergab sich in der Gesamtpopulation zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ein mittleres Alter von 49,7 Jahren (SD 13,6; 15-71). Die Patienten mit progressiven Meningeomen waren bei Diagnosestellung im Mittel 46,2 Jahre (SD 11,7; 26-67) alt und diejenigen mit nicht-progressiven Meningeomen 51,9 Jahre (SD 14,6; 15-71). Die ausführliche Altersverteilung der jeweiligen Gruppen ist im nachfolgenden Diagramm (Abb. 4.1) aufgeführt:

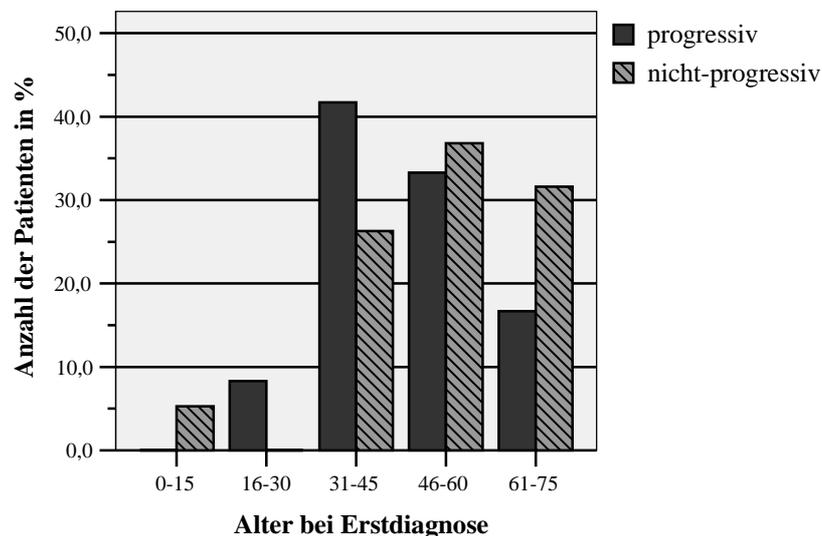


Abb. 4.1 Altersverteilung in Abhängigkeit vom Verlauf

Es zeigte sich, dass der Häufigkeitsgipfel in Bezug auf das Lebensalter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bei progressiven Meningeomen früher auftrat als bei Meningeomen mit nicht-progressivem Verlauf. Er lag bei den progressiven Meningeomen bei einem Alter zwischen dem 31. und 45. Lebensjahr, wohingegen sich die nicht-progressiven Meningeome am häufigsten zwischen dem 46.-60. Lebensjahr manifestierten. Im Mann-Whitney U-Test war dieser Unterschied jedoch nicht nachweislich statistisch signifikant ($p=0,215$).

Im Hinblick auf das Geschlecht fand sich in der Gesamtpopulation ein mittleres Alter bei Erstdiagnose von 48,6 Jahren (SD 11,3; 34-67) für Männer und ein mittleres Alter von 50,4 Jahren (SD 15,4; 15-71) für Frauen. Die folgende Abbildung (Abb. 4.2) gibt Aufschluss über die geschlechtsabhängige Altersverteilung:

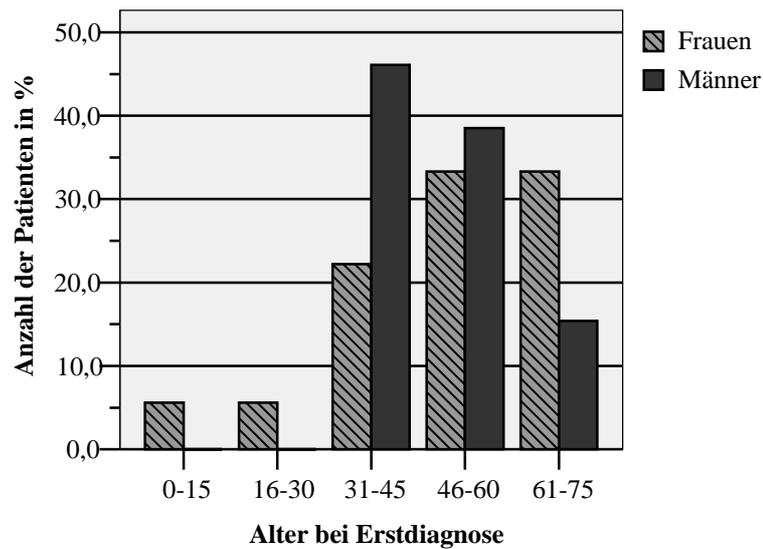


Abb. 4.2 Altersverteilung in Abhängigkeit vom Geschlecht

Das Balkendiagramm verdeutlicht, dass bei Männern die Altersmaxima für die Erstdiagnose zwischen dem 31.-60.Lebensjahr lagen, während beim weiblichen Geschlecht Meningeome häufiger erst zwischen dem 46.-75.Lebensjahr auftraten. Frauen waren somit zum Zeitpunkt der Erstdiagnose tendenziell älter als Männer. Dieser Unterschied war im U-Test nach Mann-Whitney statistisch nicht signifikant ($p=0,482$).

Die Altersverteilung in Bezug auf den histologischen Grad des primär untersuchten Tumors stellte sich wie in der folgenden Tabelle (Tab. 4.1) aufgeführt dar.

Tab. 4.1 Alter bei Erstdiagnose in Abhängigkeit des histologischen Grades innerhalb der verschiedenen Populationen (Altersangaben in Jahren)

Gruppe	Grad I	Grad II	Grad III
Gesamtpopulation	45,5 (SD 11,1; 26-67)	51,3 (SD 15,3; 15-71)	56,4 (SD 14,1; 37-69)
nicht-progressive Meningeome	45,4 (SD 6,7; 38-56)	53 (SD 17,7; 15-71)	56,4 (SD 14,1; 37-69)
progressive Meningeome	45,5 (SD 13,6; 26-67)	47,5 (SD 8,2; 40-58)	

Sowohl bei Meningeomen ohne als auch mit Progression konnte man einen Altersanstieg zum Zeitpunkt der Diagnosestellung in Abhängigkeit vom ansteigenden histologischen Grad erkennen. Im H-Test nach Kruskal-Wallis war dieser jedoch in den beiden Gruppen sowie für die Gesamtpopulation nicht signifikant ($p=0,281$; $p=0,734$; $p=0,191$). Dennoch zeigte der Vergleich zwischen progressiven und nicht-progressiven Meningeomen, dass progressive

Grad II Meningeome sich durchschnittlich 5,5 Jahre früher manifestierten als nicht-progressive Grad II Meningeome (Abb. 4.3).

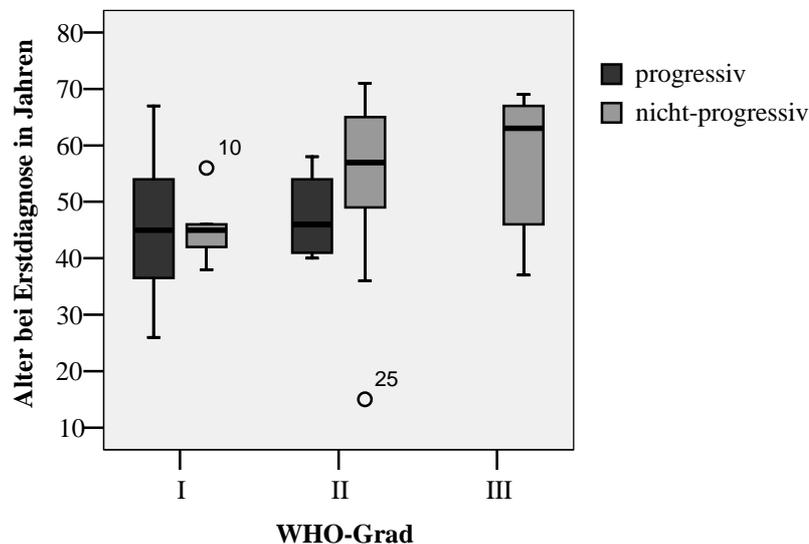


Abb. 4.3 Altersverteilung progressiver und nicht-progressiver Meningeome in Abhängigkeit vom histologischen Grad

4.1.1.2 Geschlechtsverteilung

Unter den 31 Fällen progressiver und rezidivierender nicht-progressiver Meningeome waren 13 Männer (41,9%) und 18 Frauen (58,9%) (1:1,4). Innerhalb der 12 progressiven Fälle war die Geschlechtsverteilung mit 6 Frauen und 6 Männer ausgeglichen. Bei den nicht-progressiven Meningeomen lag das Verhältnis in den 19 Fällen mit 12 Frauen und 7 Männern bei 1:1,7.

Die Daten zeigten, dass der Frauenanteil in den Fällen nicht-progressiver Meningeome höher war als bei progressiven Meningeomen. Im Chi-Quadrat-Test nach Pearson war der Zusammenhang von Geschlecht und progressiven bzw. nicht-progressiven Verlauf jedoch statistisch nicht signifikant ($p=0,47$).

4.1.1.3 Anzahl der Rezidive

Insgesamt fand sich eine mittlere Rezidivrate von 1,9 (SD 1,3; 1-7) Rezidiven pro Fall. Progressive Fälle entwickelten durchschnittlich 2,7 (2,67; SD 1,7; 1-7) Rezidive und nicht-progressive Fälle 1,4 (1,37; SD 0,6; 1-3) Rezidive.

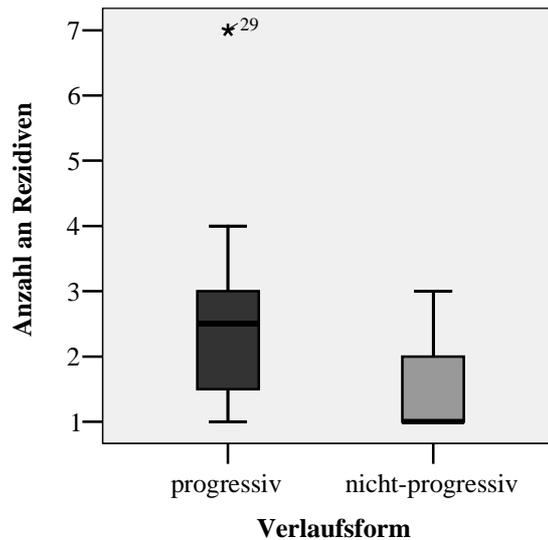


Abb. 4.4 Anzahl an Rezidiven in Abhängigkeit vom Verlauf

Die grafische Darstellung (Abb. 4.4) zeigt, dass progressive Meningeome eine deutlich höhere Anzahl an Rezidiven aufwiesen, als Meningeome mit nicht-progressivem Verlauf. Dieser Unterschied war im Mann-Whitney U-Test statistisch signifikant ($p=0,005$).

4.1.1.4 Latenz bis zum 1. Rezidiv

Der zeitliche Abstand zwischen Primärtumor und dem Auftreten des 1. Rezidivs lag in der Gesamtpopulation im Mittel bei 63,4 Monaten (SD 49,8; 3-192). Bei nicht-progressiven Meningeomen entwickelte sich das erste Rezidiv durchschnittlich nach 49,0 Monaten (SD 48,8; 3-192), während bei progressiven Meningeomen das 1. Rezidiv im Mittel nach 86,2 Monaten (SD 44,0; 25-162) auftrat. Grafisch stellte sich die Beziehung zwischen progressiven und nicht-progressiven Meningeomen wie folgt dar (Abb. 4.5).

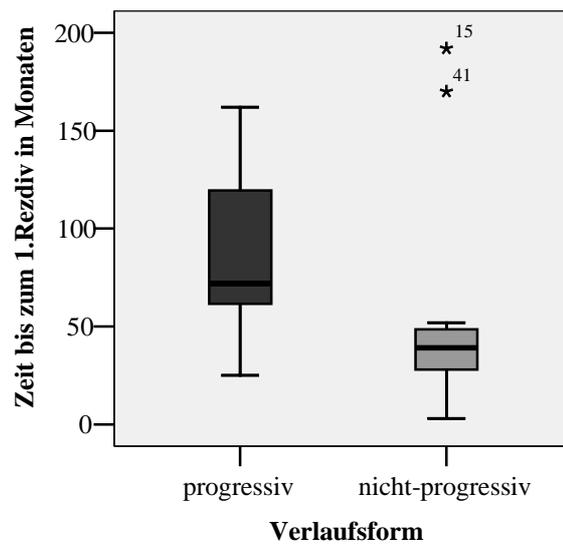


Abb. 4.5 Zeit bis zum 1. Rezidiv in Abhängigkeit vom Verlauf

Die Abbildung verdeutlicht, dass das 1. Rezidiv bei nicht-progressiven Meningeomen deutlich früher auftrat als bei progressiven Meningeomen. Nicht-progressive Meningeome bildeten durchschnittlich 37,2 Monate früher als progressive Meningeome das 1. Rezidiv aus. Dieser Unterschied zeigte sich im U-Test nach Mann-Whitney als statistisch signifikant ($p=0,002$).

Bei den Frauen betrug die mittlere Latenz bis zum 1. Rezidiv 70,8 Monate (SD 56,3; 3-192) und bei den Männern 53 Monate (SD 38,8; 11-162). Ein signifikanter Zusammenhang konnte trotz deutlich kürzerem Zeitintervall im Mann-Whitney U-Test nicht nachgewiesen werden ($p=0,547$).

4.1.1.5 Zeitintervall bis zur Progression

Bei den progressiven Fällen betrug die Zeitdauer vom Auftreten des Primärtumors bis zum Progress im Mittel 109,9 Monate (SD 59,6; 25-225). Im Folgenden sollte der Zusammenhang zwischen der Zeitdauer bis zum Eintreten des Progresses in Beziehung zu der Anzahl an Rezidiven betrachtet werden. Dabei wurde zwischen progressiven Meningeomen mit bis zu zwei Rezidiven im Verlauf und Fällen mit mehr als zwei Rezidiven pro Fall unterschieden. Die Zeit bis ein Meningeom in Progress ging korrelierte mit der Anzahl an ausgebildeten Rezidiven, wie in der Abbildung (Abb. 4.6) grafisch dargestellt. Das heißt, dass bei den Fällen die insgesamt bis zu zwei Rezidive ausbildeten, die Zeit bis zum Progress deutlich kürzer war, als bei Meningeomen, die mehr als zwei Rezidive aufwiesen. Dies war statistisch signifikant ($p=0,041$; U-Test).

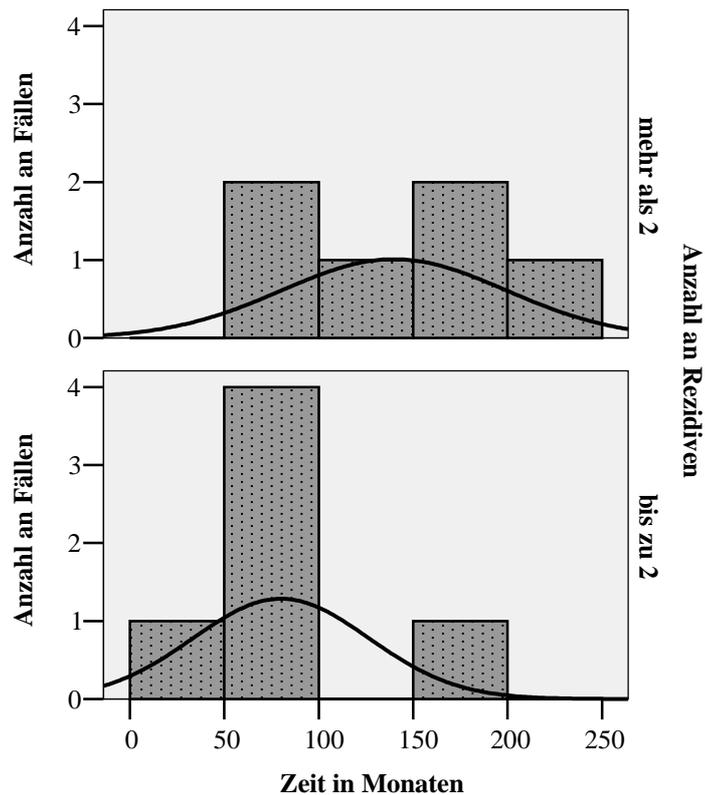


Abb. 4.6 Zeit bis zur Progression in Abhängigkeit von der Rezidivanzahl

Ob das Meningeom, von dem der Progress ausging, histologisch ein WHO-Grad I oder -Grad II Meningeom war, schien in Bezug auf die Latenz bis zur Progression statistisch keinen signifikanten Einfluss zu haben ($p=0,214$, exakte Sig. U-Test). Dennoch besaßen Grad I Meningeome mit 7,5 im Vergleich zu 4,5 bei den Grad II Meningeomen einen höheren mittleren Rang, was zumindest tendenziell auf eine etwas längere Zeitspanne bis zur Progression schließen lässt. Dass progressive Grad I Meningeome zu 62,5% mehr als zwei Rezidive bildeten und dies wie oben gezeigt werden konnte mit einer längeren Zeitspanne bis zum Progress korrelierte, unterstützt diese Vermutung. Grad II Meningeome bildeten hingegen lediglich in 25,0% der Fälle mehr als zwei Rezidive aus, was mit einer Tendenz zu kürzeren Zeitintervallen bis zum progredienten Rezidiv einherging.

4.1.1.6 Anzahl an Folgeoperationen

Die Zahl der Folgeoperationen lag im Schnitt bei 2 (2,2; SD 1,5; 1-7) Eingriffen pro Patient. Bei den progressiven Fällen waren es durchschnittlich 3 (3,3; SD 1,9; 1-7) Operationen, während bei den nicht-progressiven Fällen 1,5 (SD 0,7, 1-3) Eingriffe erfolgten.

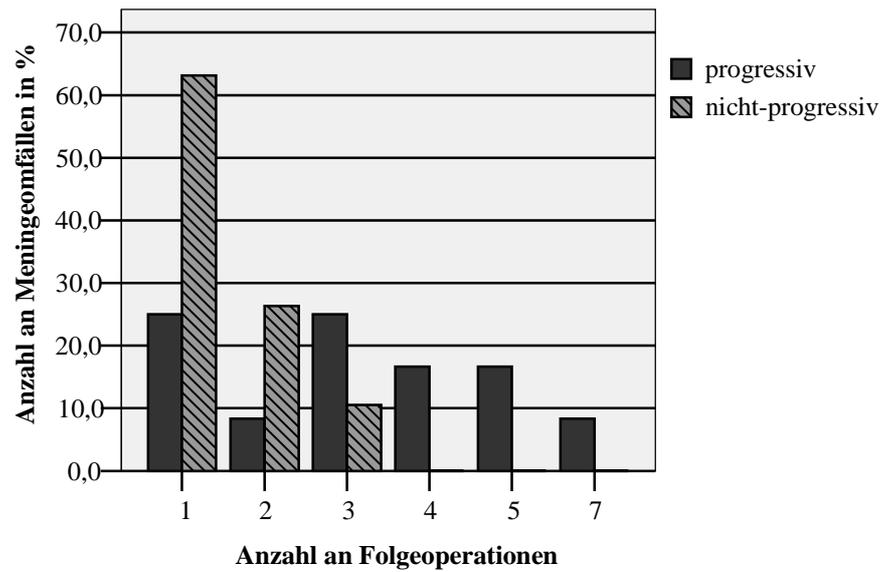


Abb. 4.7 Anzahl an Folgeoperationen in Abhängigkeit vom Verlauf

Die Abbildung (Abb. 4.7) zeigt, dass bei den hier betrachteten progressiven Meningeomen mehr Folgeoperationen durchgeführt wurden als bei den nicht-progressiven Meningeomen. Im U-Test stellte sich dieser Zusammenhang als statistisch signifikant dar ($p=0,003$).

Die Daten des klinischen Verlaufs sind zusammengefasst aufgeführt in der sich anschließenden Tabelle (Tab. 4.2).

Tab. 4.2 Übersicht über die Verlaufsdaten im intraindividuellen Modell progressiver und nicht-progressiver Meningeome

Fall Nr.	Geschlecht	Primärtumor		1.Rezidiv		2.Rezidiv		3.Rezidiv		4.Rezidiv		7.Rezidiv	Progression	Anzahl		
		Alter ED	WHO-Grad	Mon.	WHO-Grad	Mon.	WHO-Grad	Mon.	WHO-Grad	Mon.	WHO-Grad	Mon.	WHO-Grad	Intervall	Rezidive	Op
1	Mann	60	II	38	II	78	II							2	2	
2	Frau	46	I	154	I	26	II	22	II				180	3	5	
3	Frau	42	II	25	III	96	III						25	2	3	
4	Frau	26	I	71	I	19	I	19	II				109	3	3	
5	Frau	56	I	49	I									1	1	
6	Mann	63	III	14	III	14	III							2	2	
7	Frau	46	III	192	III	19	III							2	3	
8	Mann	34	I	162	II	36	II						162	2	5	
9	Mann	45	I	48	I	24	I	69	I					3	3	
10	Frau	71	II	36	II									1	1	
11	Frau	68	II	40	II									1	1	
12	Frau	15	II	43	II									1	1	
13	Frau	62	I	96	I	68	II	22	II				164	3	3	
14	Mann	50	II	43	II	31	II	14	III	19	III	66	III	88	7	7
15	Mann	39	I	73	II	40	II	48	II	74	II		73	4	4	
16	Mann	58	II	72	II	26	III						98	2	2	
17	Frau	65	II	15	II	14	II							2	2	
18	Mann	57	II	41	II									1	1	
19	Frau	46	I	52	I									1	1	
20	Frau	56	II	170	II	47	II							2	2	
21	Frau	67	I	64	II								64	1	1	
22	Frau	42	I	51	I									1	1	
23	Frau	69	III	3	III									1	1	
24	Mann	40	II	72	III								72	1	1	
25	Frau	44	I	143	I	82	III	3	III				225	3	4	
26	Mann	67	III	29	III									1	1	
27	Frau	49	II	39	II									1	2	
28	Frau	38	I	32	I									1	1	
29	Mann	37	III	11	III									1	1	
30	Mann	36	II	27	II									1	1	
31	Mann	46	I	59	III								59	1	1	

Verlaufsdaten. Fettschrift = progressive Meningeomefälle; Intervall, in Monaten; Mon. = Monate

4.1.2 Histopathologie

4.1.2.1 Gesamtpopulation

Das Studienkollektiv setzte sich von den ursprünglich 31 Meningeomfällen aus einer Gruppe von 27 fluoreszenzmikroskopisch untersuchten Fällen zusammen. Die übrigen vier Meningeomfälle [Fall Nr. 5 (N 119/90, N 389/94), 10 (N 45/99; N 561/02), 20 (H1613/81, N 138/99) und 22 (N 1041/89, N 248/94)] konnten aufgrund unzureichenden oder mangelhaften Materials nicht untersucht werden. Innerhalb der untersuchten Gruppe waren es 12 (44,4%) progressive und 15 (55,6%) nicht-progressive Fälle. Nach geltender WHO-Klassifikation (Louis et al. 2000) stammten die progressiven Fälle von 8 Grad I und 4 Grad II Meningeomen, die nicht-progressiven Fälle von 3 Grad I, 7 Grad II und Grad 5 III Meningeomen. Da pro Fall mehr als ein Meningeom untersucht wurde, ergaben sich insgesamt 57 untersuchte Präparate, die sich in 14 Grad I, 25 Grad II und 18 Grad III Meningeome unterteilen ließen. Die prozentuale Verteilung stellte sich wie folgt dar (Abb. 4.8):

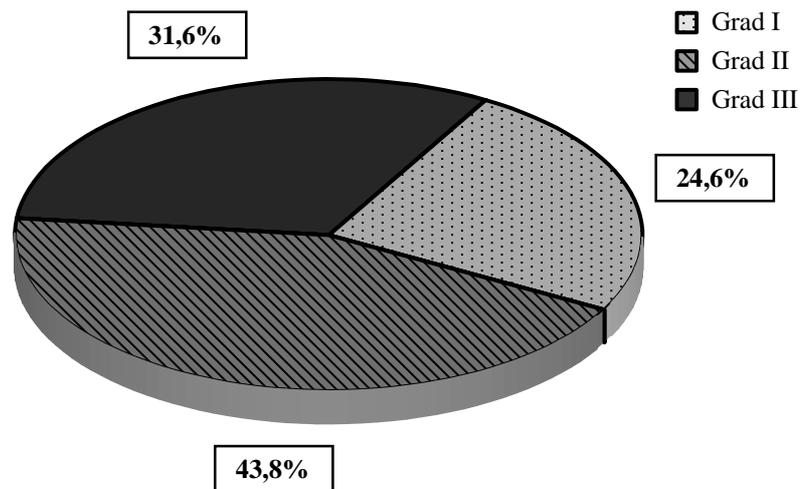


Abb. 4.8 Prozentuale Verteilung der histologischen Grade bei den Meningeompräparaten

Auf diejenigen 53 Präparate, bei denen die FISH am Archivmaterial erfolgreich durchführbar war, wird im Weiteren Bezug genommen: Sie teilten sich in 11 Grad I (20,8%), 24 Grad II (45,3%) und 18 Grad III (33,9%) Meningeome auf.

Aus dieser Population stammten auch die Meningeome, die bezüglich einer 14q Deletion überprüft wurden. Sie beinhalteten 7 (38,9%) progressive und 11 (61,1%) nicht-progressive Meningeomfälle. Die progressiven Meningeomfälle stammten von 5 Grad I und 2 Grad II Meningeomen, die nicht-progressiven Meningeomfälle von 2 Grad I, 5 Grad II und 4 Grad III

Meningeomen. Insgesamt wurden 32 Präparate, die sich aus 6 Grad I (18,8%), 13 Grad II (40,6%) und 13 Grad III (40,6%) Meningeomen zusammensetzten, erfolgreich auf einen 14q Verlust hin überprüft. Die nachfolgende Tabelle (Tab. 4.3) gibt eine Übersicht über die allgemeine und histologische Klassifizierung des hier untersuchten Meningeomgewebes. Die Fälle 5, 10, 20 und 22 wurden nicht untersucht und wurden deshalb an dieser Stelle nicht mehr aufgeführt.

Tab. 4.3 Übersicht über das Grading und Durchführung einer FISH-Untersuchung der untersuchten Meningeompopulation

Ld. Nr.	Fall Nr.	Rezidiv Nr.	N-Nummer	Geschlecht	WHO Grad	WHO Typ	FISH 1p	FISH 14q
1	1	1	39/92 III11	m	II		X	-
2		2	858/98	m	II		X	-
3	2	0	830/89, 118/90 II	w	I	mzyst.	X	-
4		2	957/05	w	II		X	-
4'		3	897/06	w	II		X	X
5	3	0	652/94	w	II		X	X
6		1	566/01	w	III		X	X
7	4	1	530/01	w	I	arach.	X	X
8		3	780/04 II	w	II		X	X
11	6	0	40/91 IIB	m	III		X	X
12		1	180/92 II	m	III		X	X
13		2	684/93 IV	m	III		X	X
14	7	1	715/03 I1	w	III		X	X
15		2	167/04	w	III		X	X
16	8	0	87/88	m	I	trans.	X	-
17		2	102/05 1	m	II		X	-
18	9	1	41/95 3	m	I	arach.	X	X
19		3	1464/02 I	m	I	arach.	X	X
22	11	0	85/92	w	II		X	-
23		1	635/95	w	II		*	-
24	12	0	58/02 2	w	II	chord.	X	-
25		1	1049/05	w	II	chord.	X	X
26	13	1	223/89 a II 2	w	I	trans.	X	-
27		3	931/96 I 1	w	II		X	X
28	14	2	162/93 III	m	II		X	-
29		7	854/01 VIII 1	m	III		X	-
30	15	0	9234/86	m	I	trans.	X	-
31		4	840/05	m	II		X	X
32	16	0	460/93 I	m	II		X	-
33		2	1565/01	m	III		X	-
34	17	0	1061/98 I 1	w	II		X	X
35		2	99/02 IIa2	w	II		X	X
36	18	0	226/98 1	m	II		X	X
37		1	1076/01 1	m	II		X	X
38	19	0	863/97 Xb	w	I	arach.	*	-
39		1	1652/01	w	I	arach.	X	-
42	21	0	284/91	w	I	trans.	*	-
43		1	1157/96 I	w	II		X	-
46	23	0	216/03	w	III		X	X
47		1	676/03 2	w	III		X	X
48	24	0	25/96 II 1	m	II		X	-
49		1	115/02	m	III		X	X
50	25	1	218/95 II	w	I	fibr.	X	X
51		2	1818/01 V 2	w	III		X	X
52		3	380/02	w	III		X	X
53	26	0	1560/95 III 1	m	III		X	-
54		1	506/98 IV	m	III		X	-
55	27	0	433/96 I	w	II		X	X
56		1	1424/01	w	II		X	X
57	28	0	815/02	w	I	arach.	X	X
58		1	54/05	w	I	arach.	X	X
59	29	0	211/96 V 3	m	III		X	X
60		1	84/97 IV	m	III		X	X
61	30	0	804/95 V 2	m	II		X	X
62		1	1237/97 I 3	m	II		X	-
63	31	0	410/88	m	I	trans.	*	-
64		1	1015/93	m	III		X	-

Histologisches Grading. WHO-Grad: arach. = arachnothelial, fibr. = fibrös, trans. = transitional, mzyst. = mikrozystisch, chord. = cordoid; X = FISH- Ergebnis liegt vor, * = FISH nicht auswertbar, - = keine FISH durchgeführt, **Fettschrift** = progressive Meningeomfälle

Jedes Meningeompräparat wurde bezüglich der deskriptiven Gewebs- und Zellmorphologie sowie des Mitose-Index ausgewertet (s. 3.1.2.3) und die Ergebnisse in tabellarischer Form erfasst. Aus Gründen der Übersichtlichkeit finden sich diese gemeinsam aufgeführt im Anhang (Tab. 7.2.4).

4.1.2.2 Nicht-progressive Meningeome

Bei den 15 Fällen nicht-progressiver Meningeome wurden 29 Präparate, die sich aus 5 Grad I, 13 Grad II und 11 Grad III Meningeomen zusammensetzten, auf einen Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 hin untersucht.

Die bezüglich einer Deletion 14q betrachteten 21 Präparate beinhalteten 4 Grad I, 8 Grad II und 9 Grad III Meningeome.

4.1.2.3 Progressive Meningeome

Die in der FISH auf eine 1p Deletion untersuchten 12 progressiven Fälle setzten sich aus 24 untersuchten Präparaten zusammen. Diese teilten sich in 6 Grad I, 11 Grad II und 7 Grad III Meningeome auf.

Für die 14q Deletion wurden 11 Präparate von 7 progressiven Fällen untersucht, wobei sich darunter 2 Grad I, 5 Grad II und 4 Grad III Meningeome befanden. Nachfolgendes Balkendiagramm (Abb. 4.9) zeigt die prozentuale Verteilung der histologischen Grade innerhalb der untersuchten nicht-progressiven und progressiven Meningeome.

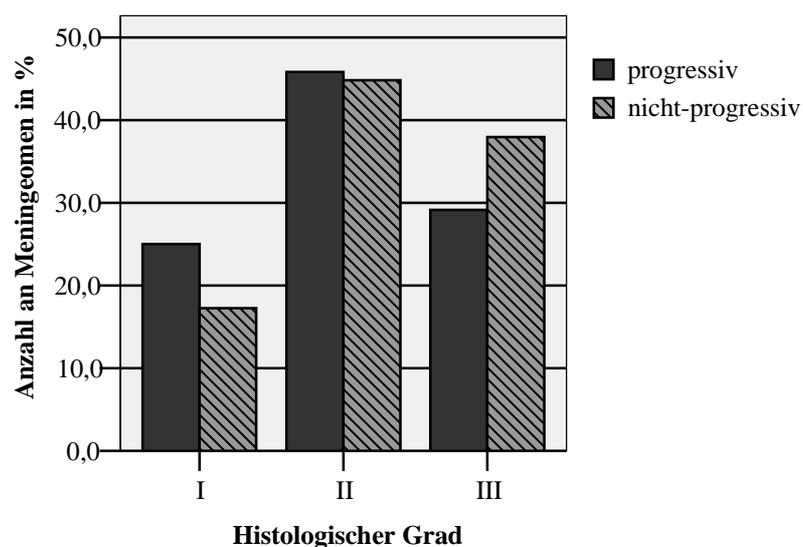


Abb. 4.9 Prozentuale Verteilung der histologischen Grade bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen

In der Abbildung erkennt man, dass in dem betrachteten Kollektiv die nicht-progressiven Meningeome im Vergleich zu den progressiven Meningeomen einen höheren Anteil an WHO-Grad III Meningeomen und einen geringeren Anteil an WHO-Grad I Meningeomen aufwiesen. Den größten, annähernd gleich großen Anteil beider Gruppen machten Meningeome des WHO-Grades II aus.

4.1.2.4 Histologische Klassifizierung der Ausgangsmeningeome

Insgesamt gingen die Rezidive bei progressiven und nicht-progressiven Fällen ursprünglich von 11 Grad I (40,7%), 11 Grad II (40,7%) und 5 Grad III Meningeomen (18,6%) aus.

Innerhalb der progressiven Fälle waren es 8 Grad I (66,7%) und 4 Grad II (33,3%) Meningeome, die rezidierten. Darunter zeigte sich ein Progress bei 6 Grad I zu Grad II, 2 Grad I zu Grad III und 4 Grad II zu Grad III Meningeomen. Bei den nicht-progressiven Fällen rezidierten 3 Grad I (20,0%), 7 Grad II (46,7%) und 5 Grad III (33,3%) Meningeome.

Es zeigte sich, dass in der Gruppe der progressiven Meningeome der Anteil an rezidierten Grad I Meningeomen signifikant größer war als bei den nicht-progressiven Meningeomen ($p=0,024$; Chi-Quadrat Test).

Beispielhaft zeigt die nachfolgende Abbildung (Abb. 4.10) die histomorphologischen Veränderungen im Prozess der malignen Transformation bei einem progressiven Grad I Meningeom mit Progress zu einem anaplastischen Meningeom.

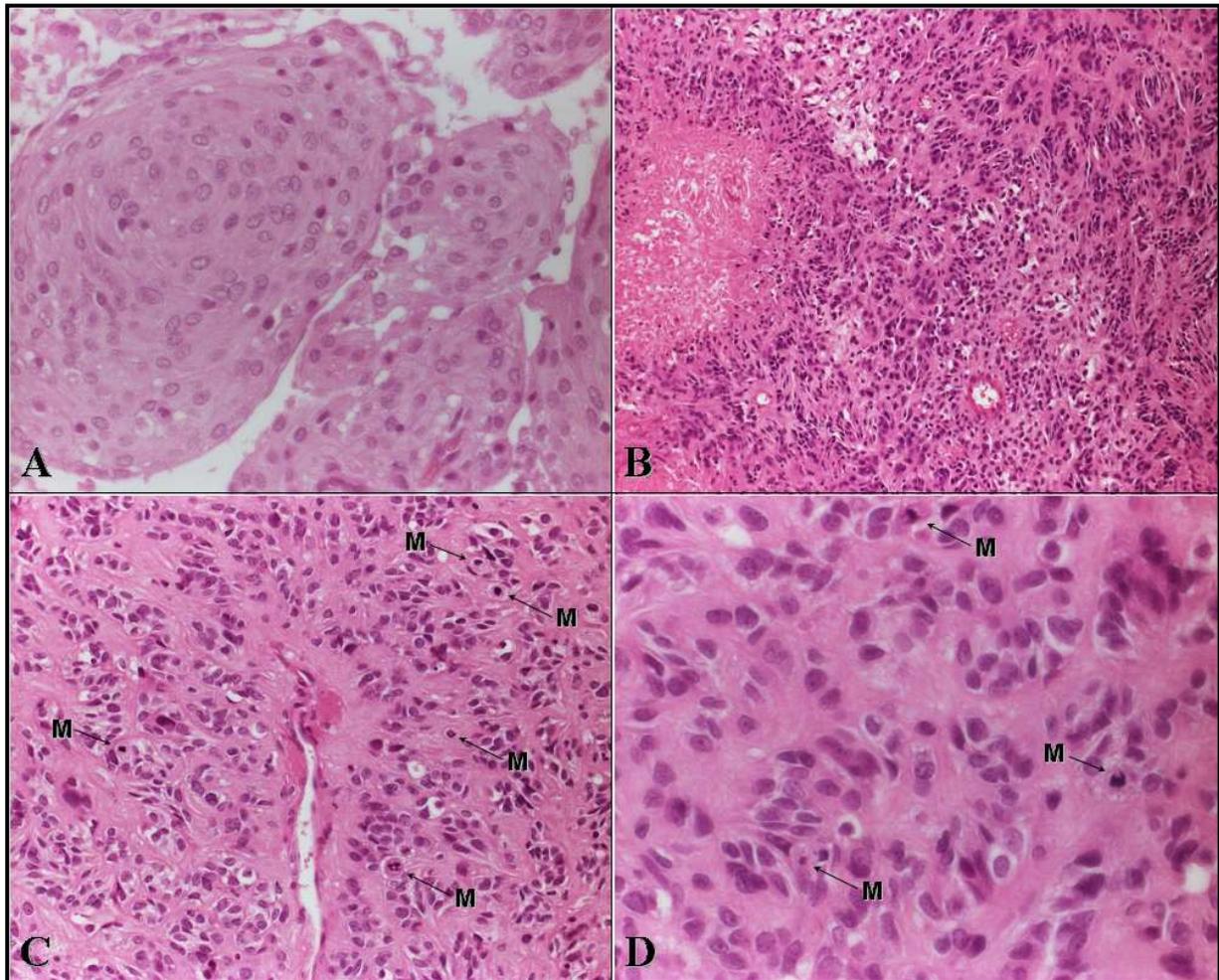


Abb. 4.10: Histomorphologische Veränderungen im Prozess der malignen Transformation progressiver Meningeome am Beispiel von Fall-Nr. 25. **A:** WHO-Grad I Primärtumor. Die Tumorzellen zeigen in sich recht einheitliche rundlich-ovale und teils zentral aufgehellte Zellkerne ohne Zeichen einer zytologischen Atypie. Die Tumorzellen sind in ballenartigen und angedeutet konzentrischen Schichtungsfiguren angeordnet. Hämatoxylin & Eosin – Färbung, x40-Objektiv. **B:** Lokales Rezidiv desselben Patienten mit Progress zu einem anaplastischen Meningeom. Der Rezidivtumor zeigt den Verlust von Differenzierungsmerkmalen für Meningeome. Die Tumorzellen weisen kleine entrundete Zellkerne mit wenig Zytoplasma auf und sind in kleinen ungeordneten Gruppen angeordnet. Die zahlreichen Nekrosen sind oft gesäumt von peripheren, pseudopalisadenartig angeordneten Tumorzellen (linke Bildhälfte), x10-Objektiv. **C,D:** Zytologische Zeichen der Malignität des Tumorrezidivs. Das anaplastische Meningeom ist nun aufgebaut aus kleinen, undifferenzierten Tumorzellen. Die Zellkerne sind pleomorph und chromatindicht. Man erkennt bereits bei x20-facher Vergrößerung (C) zahlreiche Mitosefiguren (siehe Pfeile M), wobei in einem high-power field (HPF) multiple derartige Mitosen ausgezählt werden können (D). Der Mitose-Index beträgt für diesen Fall 33 pro 10 HPF (siehe Tab. 7.2.4).

4.1.3 Tumorlokalisation

4.1.3.1 Lokalisation in der Gesamtpopulation

Von den 27 Fällen, zu denen FISH-Ergebnisse zur Verfügung standen, waren bei 51 der 57 Meningeome Angaben zur Lokalisation vorhanden. Darunter befanden sich 22 progressive und 29 nicht-progressive Meningeome.

Sie umfassten insgesamt 30 supratentorielle Meningeome (58,8%), 15 Schädelbasismeningeome (29,4%), 2 infratentorielle (3,9%) und 4 spinale (7,8%) Meningeome. Folgendes Balkendiagramm (Abb. 4.11) gibt eine Übersicht über die Lokalisation der Meningeome in der Gesamtpopulation:

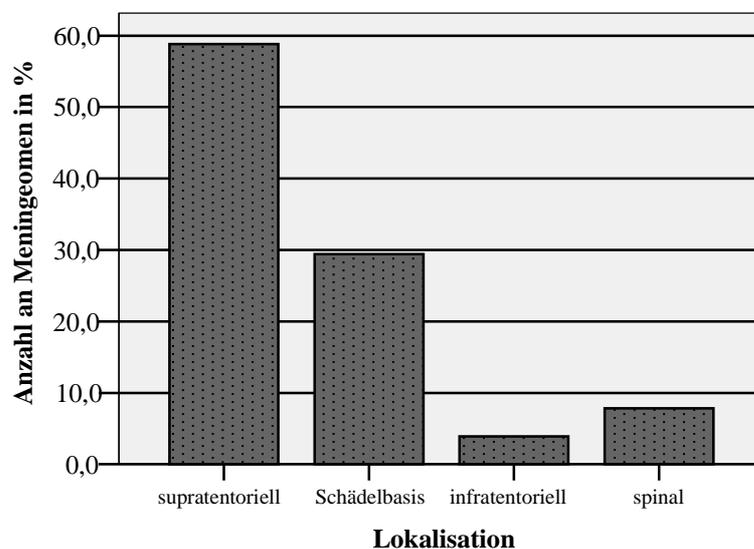


Abb. 4.11 Lokalisation der Meningeome innerhalb der Gesamtpopulation

4.1.3.2 Lokalisation bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen

Unter den progressiven Meningeomen waren 14 supratentorielle Meningeome (63,6%), 6 (27,3%) Meningeome der Schädelbasis, kein infratentorielles und 2 (9,1%) spinale Meningeome. Unter den nicht-progressiven Meningeomen befanden sich 16 supratentorielle Meningeome (55,2%), 9 Meningeome der Schädelbasis (31,0%), 2 infratentorielle (6,2%) und 2 (6,2%) spinale Meningeome.

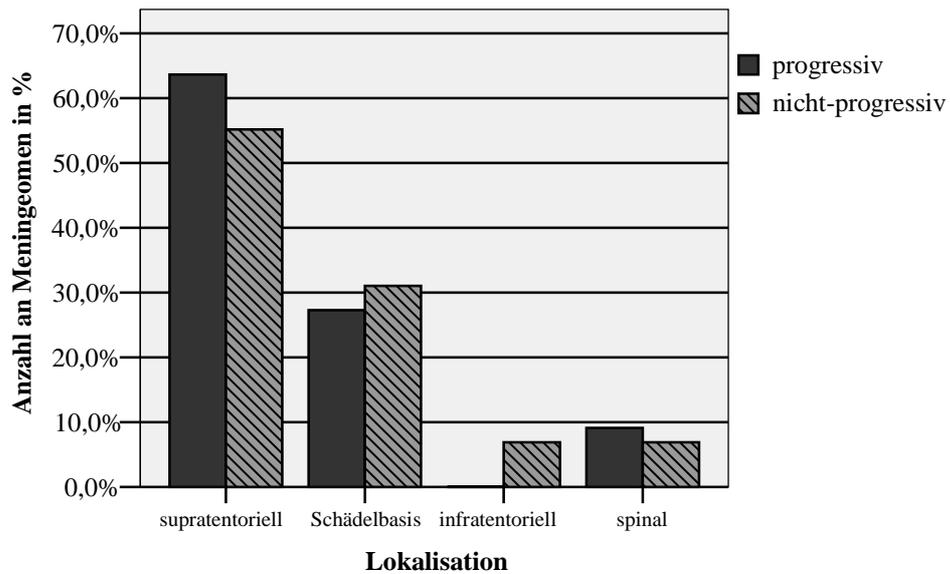


Abb. 4.12 Lokalisation von progressiven und nicht-progressiven Meningeomen innerhalb der Gesamtpopulation

Die Abbildung (Abb. 4.12) zeigt, dass in diesem Kollektiv progressive Meningeome häufiger supratentoriell lokalisiert waren während infratentoriell lediglich nicht-progressive Meningeome auftraten. Der Chi-Quadrat Test zeigte jedoch keinen nachweislich signifikanten Unterschied in der Lokalisationsverteilung ($p=0,692$).

4.1.3.3 Lokalisation und Histologie

Innerhalb der Grad I Meningeome fanden sich 6 supratentorielle Meningeome (50,0%), 5 Meningeome der Schädelbasis (41,7%), kein infratentorielles und 1 spinales Meningeom (8,3%). Innerhalb der Grad II Meningeome fanden sich 14 supratentorielle Meningeome (60,9%), 6 (26,1%) Meningeome der Schädelbasis, kein infratentorielles und 3 (13,0%) spinale Meningeome. Innerhalb der Grad III Meningeome fanden sich 10 supratentorielle Meningeome (62,5%), 4 Meningeome der Schädelbasis (25,0%), 2 infratentorielle (12,5%) und kein spinales Meningeom. Abbildung 4.13 verdeutlicht die Verteilung innerhalb der histologischen Grade in Abhängigkeit ihrer Lokalisation:

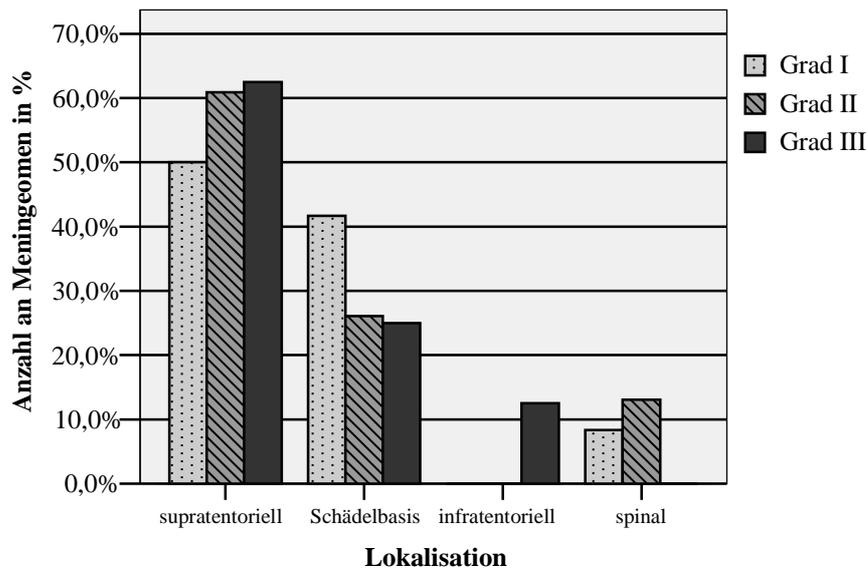


Abb. 4.13 Lokalisation der Meningeome in Abhängigkeit vom histologischen Grad

Die Abbildung zeigt, dass bei den supratentoriellen Meningeomen Grad II und Grad III Meningeome tendenziell häufiger vertreten waren als Grad I Meningeome. Bei den Meningeomen an der Schädelbasis machten Grad I Meningeome den größten Anteil aus. Der Chi-Quadrat Test zeigte zwischen den Gruppen keinen nachweisbar signifikanten Unterschied in der Lokalisationsverteilung ($p=0,285$).

4.1.3.4 Lokalisation und Geschlecht

Bei den männlichen Patienten fanden sich 20 supratentorielle Meningeome (80,0%), 5 Meningeome der Schädelbasis (20,0%) sowie keine infratentoriellen und keine spinalen Meningeome. Bei den weiblichen Patienten fanden sich 10 supratentorielle Meningeome (38,5%), 10 Meningeome der Schädelbasis (38,5%), 2 infratentorielle (7,7%) und 4 (15,4%) spinale Meningeome.

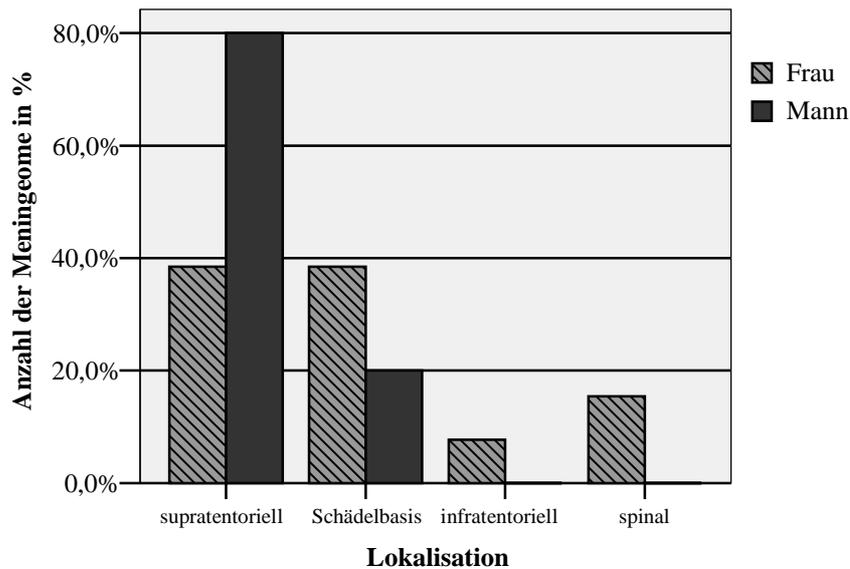


Abb. 4.14 Lokalisation der Meningeome in Abhängigkeit vom Geschlecht

Der Chi-Quadrat Test zeigte zwischen beiden Gruppen einen signifikanten Unterschied in der Lokalisationsverteilung ($p=0,005$). Das Diagramm (Abb. 4.14) zeigt deutlich, dass bei männlichen Patienten der größte Anteil an Meningeomen supratentoriell lokalisiert war.

4.2 Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

4.2.1 Kontrollgewebe

4.2.1.1 Cut-off Level für Aberrationen von Chromosom 1

Um Kriterien einer möglichst hohen Signifikanz für den Nachweis einer Aberration von Chromosom 1 festzulegen, wurde an acht Kontrollgeweben in gleicher Weise wie am Tumorgewebe eine FISH durchgeführt (s. 3.3.2). Die Ergebnisse für die wesentlichen Signalkombinationen sind in folgender Tabelle (Tab. 4.4) zusammengefasst:

Tab. 4.4 Ergebnisse der FISH am Kontrollgewebe für Chromosom 1

Nr.	N-Nr.	Bezeichnung	Gesamtzahl der Kerne	1D1Z2/2D1Z1	2D1Z2/2D1Z1
1	N1169/05	Meningeom Grad I	205	10,7	52,2
2	N1355/04	Meningeom Grad I	220	5,0	54,5
3	N629/05	Meningeom Grad I	215	12,1	69,3
4	N197/05	Meningeom Grad I	214	9,3	70,1
5	N957/04	Meningeom Grad I	218	11,9	72,0
6	N1398/01	Leptomeningen	212	12,7	68,4
7	F3	Leptomeningen	210	6,2	69,0
8	F5	Leptomeningen	209	6,2	59,8

(Angaben der Klongröße in %; F: frisches leptomeningales Gewebe, formalin-fixiert und in Paraffin eingebettet)

Die Cut-off Level ergaben sich aus dem arithmetischen Mittelwert der jeweiligen Signalkombination der acht Kontrollgewebe und der dreifachen Standardabweichung (+3SD) als Spannbreite.

Für die Sondenkombination 1D1Z2/2D1Z1 ergab sich ein Cut-off Wert von 9,3%+9,2%. Für den Verlust von 1p in einer tetraploiden Zelle, welcher sich in der Sondenkombination 2D1Z2/4D1Z1 äußert, wurde aufgrund kleiner Werte und der daraus resultierenden geringen Streuweite um den Mittelwert ein Cut-off Level in Höhe von 10% festgelegt. Für unauffällige diploide Zellen (2D1Z2/2D1Z1) lag der Cut-off Wert bei 64,4%+23,2%.

Für alle weiteren möglichen Signalkombinationen findet sich eine vollständige Aufführung der Ergebnisse im Anhang (siehe Tab. 7.2.5).

4.2.1.2 Cut-off Level für Aberrationen von Chromosom 14

Für die Cut-off Level der 14q Sonde erfolgte die Berechnung analog zum Vorgehen bei Chromosom 1 anhand der Mittelwerte des Kontrollgewebes und der dreifachen Standardabweichung. Die Ergebnisse der FISH am Kontrollgewebe sind in Tabelle 4.5 zusammengefasst.

Tab. 4.5 Ergebnisse der FISH am Kontrollgewebe für Chromosom 14

Nr.	N-Nr.	Bezeichnung	Gesamtzahl der Kerne	1 D14S1419	2 D14S1419
1	N1398/01	Leptomeningen	206	8,7	89,8
2	N458/05	Leptomeningen	211	6,2	90,5
3	N310/96	Leptomeningen	201	11,4	85,1
4	N1520/02	arachnoidale Deckzellen	203	6,4	88,7
5	N386/05	arachnoidale Deckzellen	218	9,6	87,2
6	S101/06	Leptomeningen	210	8,6	88,6
7	S129/06	Leptomeningen	203	9,9	86,7
8	S9/07	Leptomeningen	201	6,0	90,0

(Angaben der Klongröße in %; S: Sektionsmaterial, in Paraffin eingebettet)

Für eine Deletion 14q ergab sich ein Cut-off Wert von 8,4%+5,3%. Bei einer bezüglich Chromosom 14 diploiden Zelle lag der Cut-off Wert bei 88,3%+5,6%.

Auch hier finden sich die Ergebnisse für die übrigen Signalkombinationen im Anhang (siehe Tab. 7.2.7).

Beispielhaft sei an dieser Stelle die nachfolgende Abbildung (Abb. 4.15) einer Hybridisierung mit der D1Z2- und D1Z1-Sonde, bei einem für die Deletion 1p zytogenetisch unauffälligen Meningeom, angeführt. Der prozentuale Anteil der Sondenkombination 1D1Z2/2D1Z1 lag dabei unter dem errechneten relevanten Cut-off Wert einer Deletion 1p.

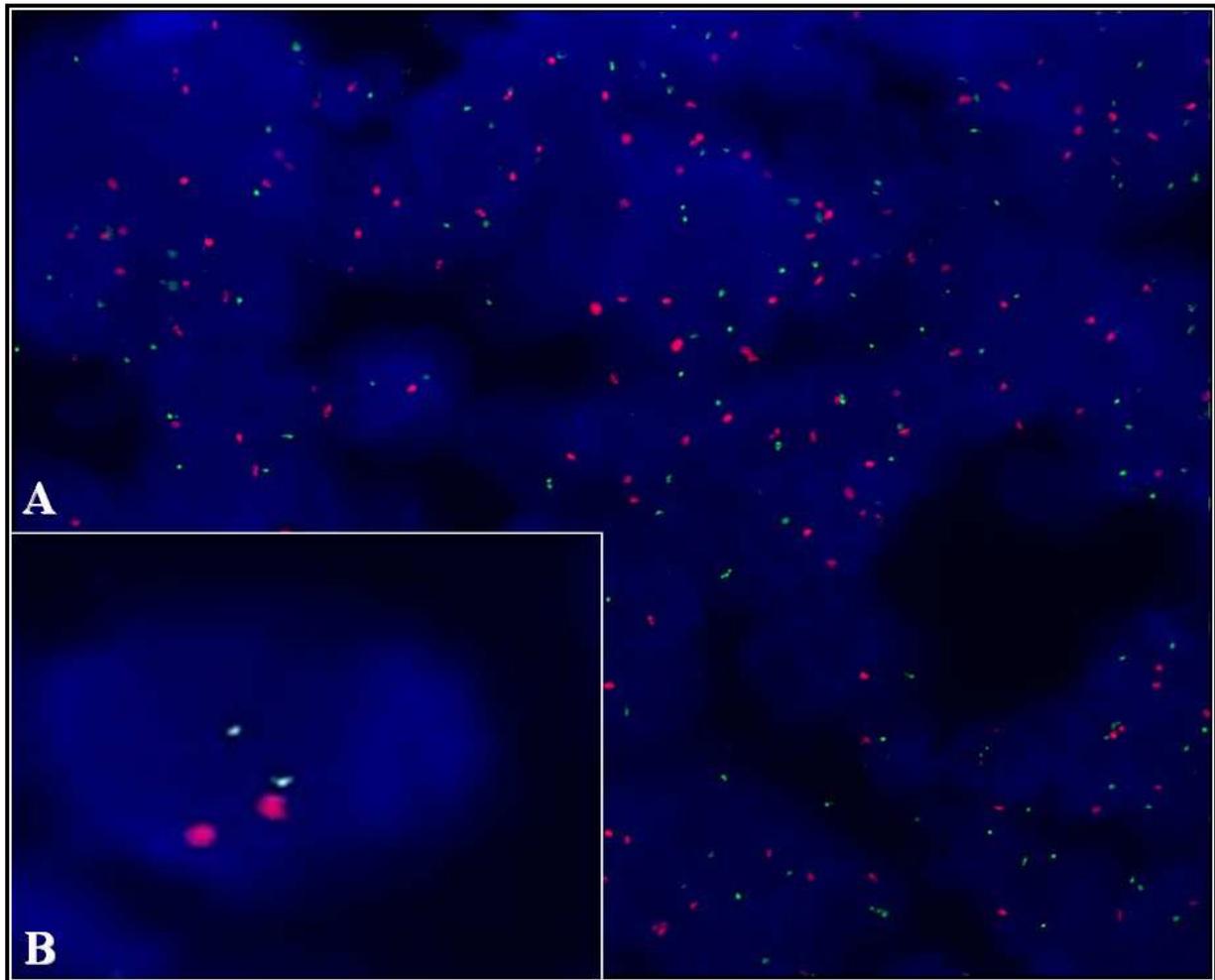


Abb. 4.15: Übersicht einer erfolgreichen Hybridisierung mit der D1Z1(1qh)- und D1Z2-Sonde (1p36) (A). Die Meningeomzellkerne zeigen eine blaue Fluoreszenz durch die DAPI-Anfärbung. Grün stellen sich Signale für die 1p36 Region und rot die Signale für 1q dar. (B) Vergrößerung einer bezüglich 1p und 1q diploiden Zelle (zwei grüne und zwei rote Signale). Beide Bilder stammen von dem 1. Rezidiv eines nicht-progressiven Meningeomfalles, WHO-Grad II (Ifd. Nr. 56).

4.2.2 Aberration von Chromosom 1

4.2.2.1 Deletion 1p in der Gesamtpopulation

In den untersuchten 27 Fällen rezidivierter und progressiver Meningeome war in den meisten Fällen eine intraindividuelle Betrachtung mehrerer Meningeome pro Fall über den Verlauf hinweg möglich. Die Meningeomfälle, die nicht intraindividuell bezüglich einer vorliegenden Deletion 1p betrachtet werden konnten, waren der Tatsache geschuldet, dass bei vier (7,0%) von 57 Meningeomen (lfd. Nr. 23, 38, 42 und 63), teilweise auch nach wiederholten Versuchen, keine Hybridisierung oder Auswertung erfolgreich durchführbar war. Für diese Fälle lagen lediglich Ergebnisse für eines der Meningeome des Falles vor.

Insgesamt zeigten 21 der 27 (77,8%) untersuchten Meningeomfälle zu irgendeinem beliebigen Zeitpunkt der intraindividuellen Betrachtung mindestens bei einem seiner Meningeome einen Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1. Von allen insgesamt untersuchten Meningeompräparaten entsprach dies einer Anzahl von 36 der 53 (67,9%) erfolgreich untersuchten Meningeome, bei denen eine Aberration 1p nachgewiesen werden konnte.

Bezogen auf die histologischen Grade traten in 8 von 11 (72,7%) der Grad I Meningeome, 13 von 24 (54,2%) der Grad II und in 15 von 18 (83,3%) der Grad III Meningeome eine Deletion 1p auf. Darunter fanden sich ein Grad I und ein Grad II Meningeom, die den Verlust von 1p in einem tetraploiden Zellklon trugen.

Bezogen auf alle 36 Präparate mit 1p Deletion stellt sich die Verteilung über die histologischen Grade wie folgt dar: 8 Grad I (22,2%), 13 Grad II (36,1%) und 15 Grad III (41,7%) Meningeome trugen eine solche Aberration. Im Bezug auf alle 53 untersuchten Präparate kam es in 8 Grad I (15,1%), 13 Grad II (24,5%) und 15 Grad III (28,3%) Meningeomen zu einer Deletion 1p.

4.2.2.2 Deletion 1p in nicht-progressiven Meningeomen

Bei 10 der insgesamt 15 Fälle (66,7%) trat ein Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 mindestens bei einem Meningeom im intraindividuellen Verlauf auf.

Von den 29 erfolgreich untersuchten Präparaten konnte bei 17 (58,6%) ein 1p Verlust nachgewiesen werden. Darunter waren 3 von 5 (60%) der Grad I, 6 von 13 (46,2%) der Grad II und 8 von 11 (72,7%) der Grad III Meningeome von der Aberration betroffen.

4.2.2.3 Deletion 1p in progressiven Meningeomen

Bei den 12 Fällen trat in 11 (91,7%) der Fälle zu einem beliebigen Zeitpunkt im intraindividuellen Verlauf eine Deletion 1p auf. Bezüglich der betrachteten Präparate waren 19 von 24 (79,16%) der progressiven Meningeome von einer Deletion 1p betroffen, wobei dies bei zwei Meningeomen eine Deletion von 1p bei Tetraploidie darstellte. Es wiesen 5 von 6 der Grad I (83,3%), 7 von 11 der Grad II (63,6%) und 7 von 7 (100%) der Grad III Meningeome eine 1p Deletion auf.

Einen Vergleich der Häufigkeiten eines 1p Verlustes bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen zeigt Abb. 4.16:

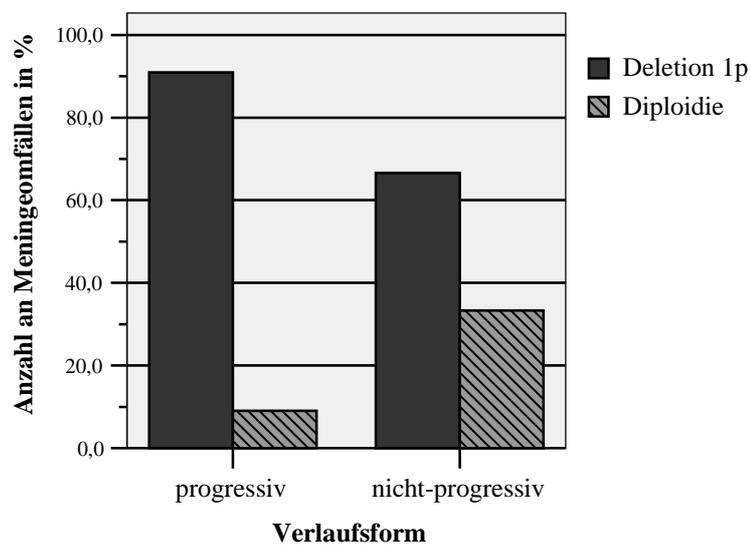


Abb. 4.16 Häufigkeit der Deletion 1p innerhalb progressiver und nicht-progressiver Meningeome

Die Abbildung verdeutlicht, dass in Fällen progressiver Meningeome der Anteil an Tumoren mit 1p Deletion wesentlich größer war als bei den Fällen ohne Progression, auch wenn dies im exakten Test nach Fisher nicht statistisch signifikant war ($p=0,182$).

Über die Verteilung der 1p Deletion innerhalb der unterschiedlichen histologischen Grade, sowohl bei nicht-progressiven als auch bei progressiven Meningeomen gibt nachfolgende Abbildung (Abb. 4.17) Aufschluss:

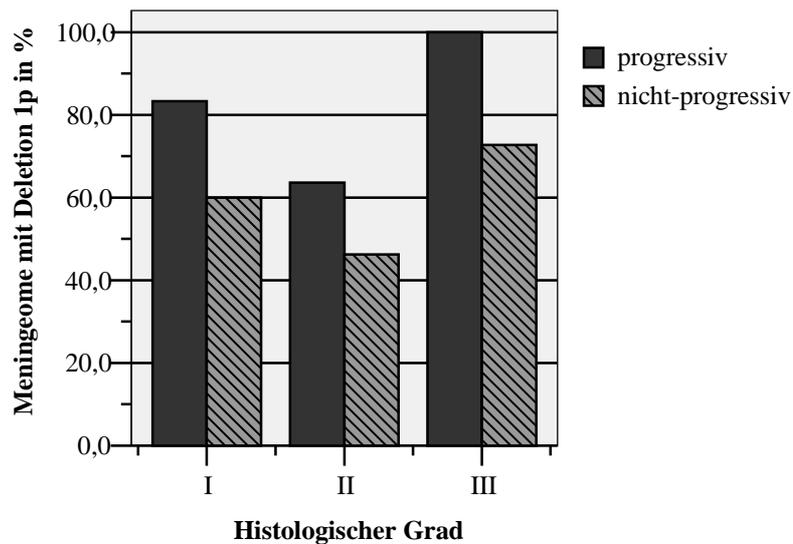


Abb. 4.17 Häufigkeit der Deletion 1p innerhalb der histologischen Grade in Abhängigkeit von der Verlaufsform

Es zeigte sich, dass wie bereits beschrieben, bei progressiven Fällen eine 1p Deletion wesentlich häufiger auftrat als bei nicht-progressiven Meningeomen. Dies setzte sich konstant über alle histologischen Grade fort. Der Anteil an Grad I Meningeomen mit 1p Deletion war, sowohl innerhalb der Gruppe der progressiven als auch der nicht-progressiven Meningeome, größer als bei Grad II Meningeomen.

Bei den Fällen mit maligner Transformation in Grad III Meningeomen war in allen Fällen ein 1p Verlust nachweisbar, wohingegen die primär anaplastischen Grad III Meningeome zum Teil bezüglich 1p zytogenetisch unauffällig blieben.

Insgesamt zeigte sich ein 1p Verlust deutlich häufiger in progressiven Meningeomen als in nicht progressiven Meningeomen, wobei dies über alle histologischen Grade hinweg zutraf.

4.2.2.4 Deletion 1p im Primärtumor und Rezidiv im intraindividuellen Verlauf

Von den hier vorliegenden Fällen wurden insgesamt 23 der 27 Fälle in einer Paarung von mindestens zwei einem Individuum zugehöriger zeitlich aufeinander folgenden Meningeomen intraindividuell untersucht. In den restlichen vier Fällen lagen nur zu einem Meningeom pro Patient Ergebnisse der FISH-Untersuchung vor. Der intraindividuell zeitlich zuerst aufgetretene Tumor stellte in 16 Fällen den Primärtumor und in 7 Fällen das frühestens möglich zur Verfügung stehende - bei den progressiven Fällen das jeweils ursprünglich niedrig-gradigere - Meningeom dar.

In den betrachteten 23 Fällen kam es in 17 (73,9%) zu einer Deletion 1p. Betrachtete man den Zeitpunkt des Auftretens der vorliegenden 1p Deletion, so zeigte sich für progressive und nicht-progressive Meningeome folgende Verteilung (Tab. 4.6):

Tab. 4.6 Vorkommen der Deletion 1p beim Ausgangstumor und Rezidiv im intraindividuellen Progressionsmodell progressiver Meningeome

		Rezidivtumor FISH Ergebnis	
		1p -	diploid
Ausgangstumor FISH Ergebnis	1p -	9	0
	diploid	0	1

Man erkennt, dass bei den progressiven Fällen mit Verlust von 1p die Deletion ausnahmslos in 9 von 9 Fällen bereits ab dem Primärtumor bzw. zu einem sehr frühen Zeitpunkt der Untersuchung auftrat. In einem Fall der progressiven Meningeome war weder im Primärtumor noch im Rezidiv eine 1p Deletion zu detektieren. Dabei handelte es sich um ein transitionales Falxmeningeom bei einem männlichen Patienten, das nach 73 Monaten in ein Grad II Meningeom übergang. Dieses zeigte im weiteren Verlauf ein hirminvasives Wachstum. Im Fisher's Exakttest konnte aufgrund des kleinen Stichprobenumfangs diese Verteilung nicht als nachweislich statistisch signifikant gelten ($p=0,100$). In der bivariaten Korrelation zeigte jedoch der Spearmannsche Korrelationskoeffizient eine eindeutig positive lineare Korrelation an ($r=1,00$).

Tab. 4.7 Deletion 1p beim Ausgangstumor und Rezidiv im intraindividuellen Progressionsmodell nicht-progressiver Meningeome

		Rezidivtumor FISH Ergebnis	
		1p -	diploid
Ausgangstumor FISH Ergebnis	1p -	7	0
	diploid	1	5

Bei den nicht-progressiven Fällen (Tab. 4.7) war in 7 von 8 Fällen (87,5%) die Deletion 1p ebenfalls bereits ab dem Primärtumor zu beobachten. Bei 5 von 6 (83,3%) der Fälle, die im

Primärtumor keinen Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 aufwiesen, lag auch im späteren Rezidiv kein 1p Verlust vor. Dass auch hier beim Vorliegen einer 1p Deletion diese bereits zum Zeitpunkt des Primärtumors bzw. zu einem sehr frühen Zeitpunkt vorlag, war im exakten Test nach Fisher statistisch signifikant ($p=0,005$).

In dem einen nicht-progressiven Fall (Nr. 18), in dem der Verlust von 1p nicht bereits im Primärtumor gezeigt werden konnte, sondern erst zu einem späteren Zeitpunkt nachweisbar war, ergab die klassische Zytogenetik jedoch eine del 1p auch für den Primärtumor. Unabhängig davon, ob man diesen Fall mit einbezieht oder nicht, zeigte sich die Deletion 1p als ein sehr frühes Ereignis innerhalb des intraindividuellen Verlaufs, sowohl für progressive, als auch für nicht-progressive Meningeome.

Betrachtete man die Fälle, die laut Nomenklatur exakt ab dem Primärtumor untersucht wurden, so trat in 5 der 5 Meningeomfälle (100%) der progressiven und 5 der 6 Meningeomfälle der nicht-progressiven Meningeome (83%) ein Verlust von 1p bereits ab dem Primärtumor auf.

Insgesamt zeigte sich hier, dass ein 1p Verlust bereits zum Zeitpunkt der Primärtumore bzw. zu einem frühen Zeitpunkt des Tumorstadiums nachweisbar war. Dies galt hierbei unabhängig von progressiver oder nicht-progressiver Verlaufsform der Meningeome.

Im Bezug auf die Fortsetzung einer 1p Deletion im zeitlichen Verlauf eines Falles ergaben sich in vier der 23 Fälle folgende Abweichungen: Im Fall Nr. 2 war die im Primärtumor aufgetretene 1p Deletion im 2. Rezidiv nicht mehr nachweisbar, jedoch erneut im 3. Rezidiv. Bei den Fällen Nr. 4 und Nr. 13 konnte im 1. Rezidiv ein Verlust von 1p gefunden werden, dieser war aber im 3. Rezidiv nicht mehr zu zeigen. Im Fall Nr. 21 war eine Deletion im 2. Rezidiv nicht mehr detektierbar, nachdem sie im 1. Rezidiv nachgewiesen wurde. Für alle übrigen Fälle galt, dass der zu Beginn aufgezeigte Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 intraindividuell konstant nachgewiesen werden konnte.

Betrachtete man die Fälle ohne nachgewiesenen 1p Verlust so zeigte sich, dass in dem einen progressiven Fall (Fall Nr.15) auch in der klassischen Zytogenetik keine Deletion 1p, sondern lediglich ein Verlust des Chromosoms 22 nachweisbar war. Es handelte sich dabei, wie bereits zuvor erwähnt, histologisch um ein transitionales Grad I Meningeom der Falx, das zu einem Grad II Meningeom progredierte und im Verlauf insgesamt vier Rezidive ausbildete.

Bei den 5 nicht-progressiven Fällen (Fälle Nr. 1, 23, 27, 28, 30) ohne 1p Deletion lagen zu 4 von ihnen zytogenetische Untersuchungsergebnisse vor. Diese zeigten zweimal einen diploiden Chromosomensatz, einmal einen Verlust von Chromosom 22 und einmal eine Deletion 14q mit zusätzlicher Deletion 22. Eine Deletion 1p konnte auch dort nicht gezeigt werden.

Die nachfolgenden Abbildungen (Abb. 4.18, Abb. 4.19) zeigen fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von Hybridisierungen an Meningeomen unter Einsatz der D1Z1-Sonde und D1Z2-Sonde zum Nachweis einer Deletion des kurzen Arms von Chromosom 1. In Abbildung 4.19 sind zudem tetraploide Zellklone von Meningeomzellen mit 1p Verlust dargestellt.

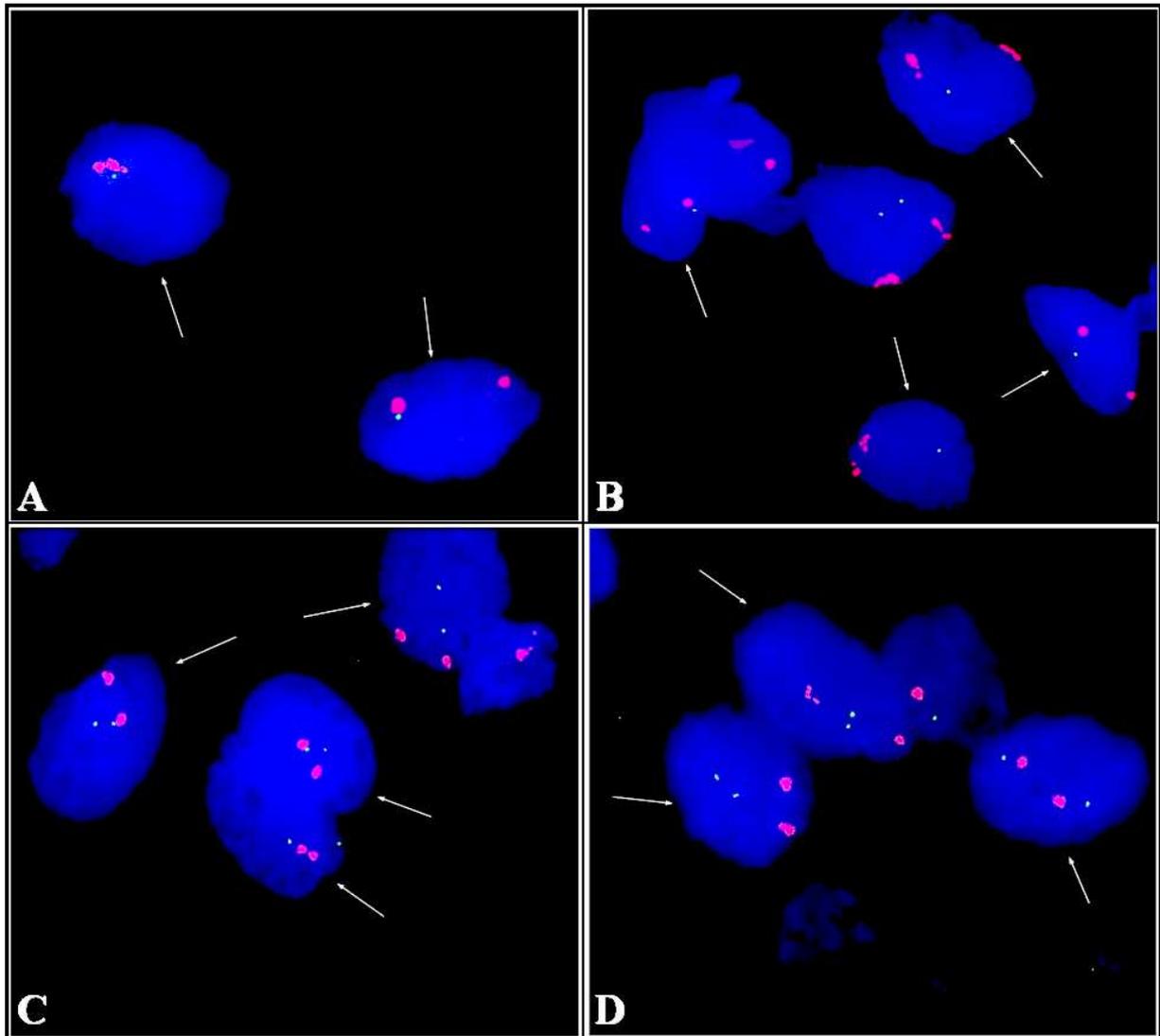


Abb. 4.18: Intraindividuelle Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) am Beispiel eines progressiven und eines nicht-progressiven Meningeom-Falles mit D1Z1-Sonde (rot) zum Nachweis von 1q und D1Z2-Sonde (grün) zur Detektion von 1p. **A,B:** Fall-Nr. 2, Primärtumor eines progressiven Meningeoms, WHO-Grad I (**A**) mit bereits bestehendem Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 (1 grünes Signal und 2 rote Signale). 3. Rezidiv (**B**) desselben Patienten, WHO Grad II mit Deletion 1p (1 grünes Signal und 2 rote Signale). **C,D:** Fall-Nr. 27, nicht-progressiver Meningeom-Fall, sowohl Primärtumor (**C**) als auch 1. Rezidiv (**D**) histologisch ein atypisches Meningeom (WHO-Grad II). Beide zeigen in der FISH einen für 1p unauffälligen diploiden Chromosomensatz (2 rote und 2 grüne Signale). Die für beide Meningeome zur Verfügung stehende klassische Zytogenetik zeigte ebenfalls in beiden Tumoren eine Diploidie bezüglich 1p und eine Monosomie 22 als einzige Aberration.

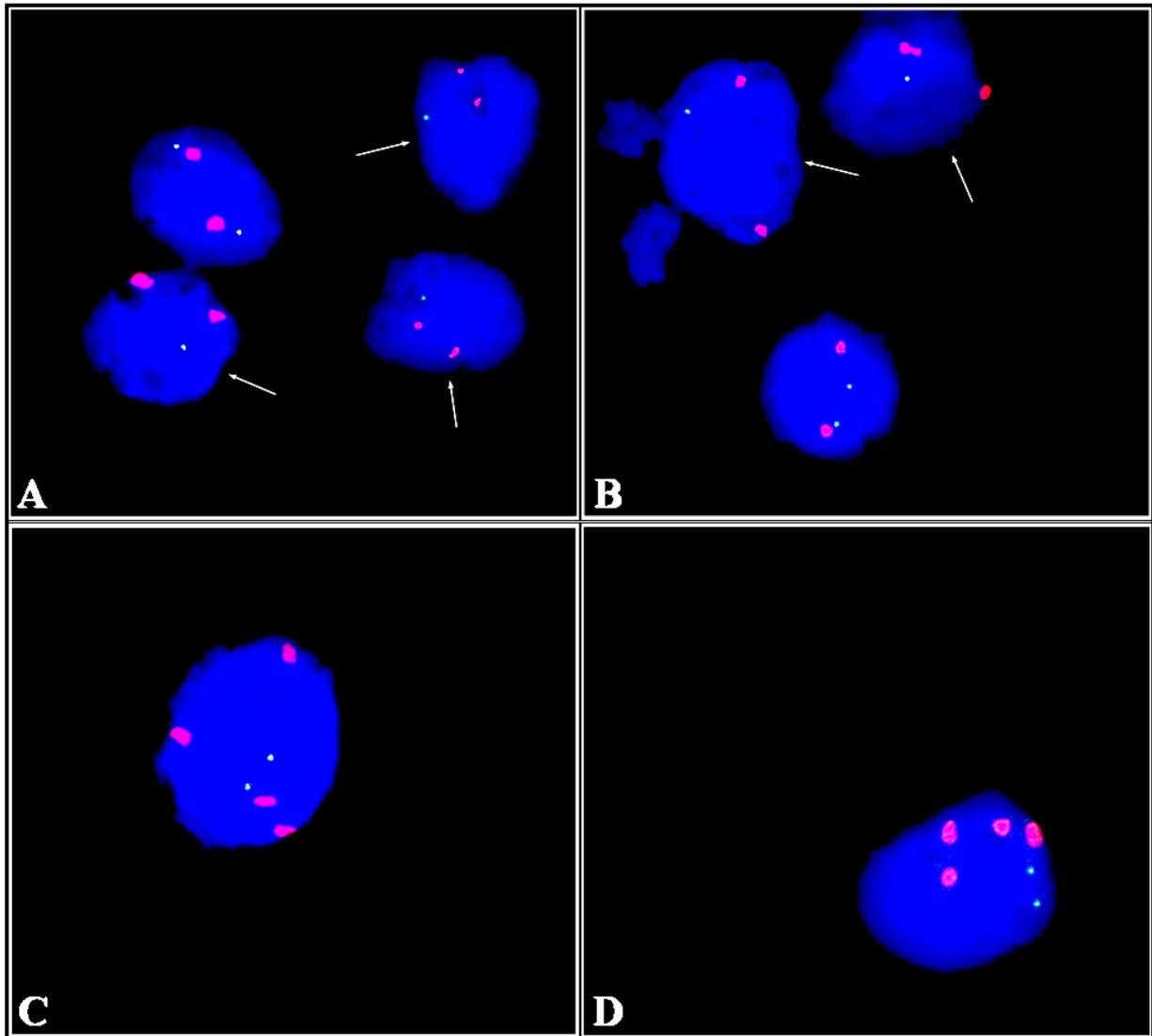


Abb. 4.19: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) mit der D1Z1- und D1Z2-Sonde. Rot stellt sich die Sonde für die Region 1q und grün die Sonde für den chromosomalen Bereich von 1p36 dar. **A,B,C:** Intraindividueller Meningeom-Fall (Fall-Nr. 3) eines progressiven Meningeoms mit Primärtumor (WHO-Grad II) (**A**) und 1. Rezidiv (WHO-Grad III) (**B**). Beide zeigen einen Verlust von 1p (ein grünes Signal und zwei rote Signale; s. Pfeil). (**C**) Meningeomzelle des 1. Rezidivs desselben Falles mit tetraploidem Chromosomensatz bei zusätzlicher Deletion 1p. (**D**) Tetraploide Zelle mit einem Verlust von 1p, 3. Rezidiv (WHO-Grad III) eines progressiven ursprünglich Grad I Meningeoms (Fall Nr. 25).

4.2.2.5 Klonstärke mit Deletion 1p im intraindividuellen Verlauf

Die Entwicklung der Klonstärke mit nachgewiesener 1p Deletion im untersuchten Meningeomgewebe wurde über den intraindividuellen Verlauf hinweg betrachtet. Dazu wurde der prozentuale Anteil des Zellklons mit 1p Deletion zu Beginn mit dem zu einem späteren Zeitpunkt des gleichen Individuums verglichen. Bei Meningeomen mit nachgewiesenem signifikantem tetraploidem Zellklon mit 1p Deletion wurde dieser Anteil im jeweiligen Tumorgewebe mitberücksichtigt.

In 10 von 13 Fällen (76,9%) war ein Anstieg des prozentualen Anteils an Meningeomzellen mit 1p Deletion zu beobachten. Darunter waren 6 progressive und 4 nicht-progressive Fälle. Die 3 Meningeomfälle ohne nachweislichen Zugewinn des aberranten Zellklons teilten sich in einen progressiven und zwei nicht-progressive Fälle auf. Innerhalb der Fälle mit Zuwachs des aberranten Zellklons zeigte sich für den Primärtumor und die sich anschließenden Rezidive folgende Verteilung (Abb. 4.20):

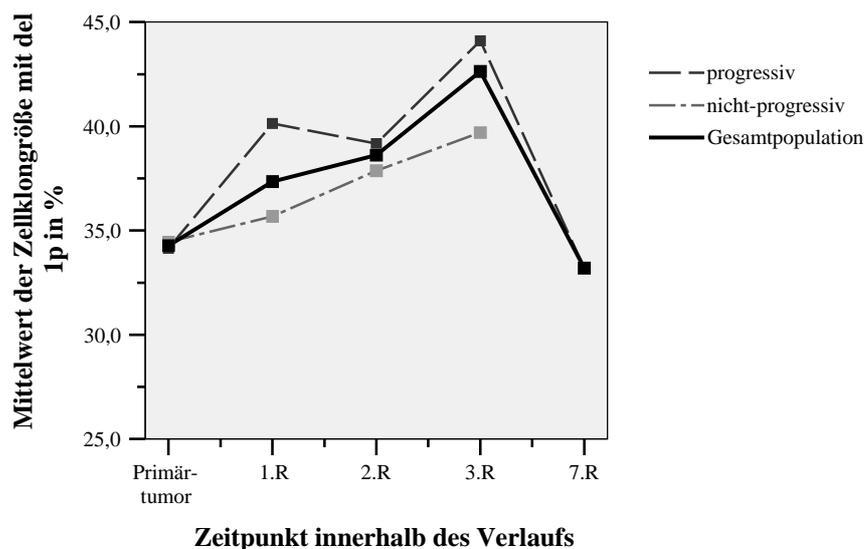


Abb. 4.20 Zellklongröße mit Deletion 1p im zeitlichen Verlauf

Es zeigte sich, dass es tendenziell zu einem kontinuierlichen Anstieg der Zellklongröße mit 1p Verlust im Krankheitsverlauf kam (Pr. 34,3%, 1. R 36,4%, 2. R 38,6%, 3.R 42,6%). Die Klongröße der progressiven Meningeome (Pr. 34,1%, 1. R 40,1%, 2. R 39,2%, 3.R 44,1%) war dabei über den Verlauf hinweg zu allen Zeitpunkten höher als die nicht-progressiver Meningeome (Pr. 34,5%, 1. R 35,7%, 2. R 37,9%, 3. R 39,7%).

Der hier aufgeführte Messpunkt für das 7. Rezidiv beruht lediglich auf einem einzelnen Wert eines einzigen intraindividuellen Falles und kann daher nicht als repräsentativ gelten.

Sowohl progressive als auch nicht-progressive Meningeome zeigten hier größtenteils, über den intraindividuellen Verlauf hinweg, einen erkennbaren Anstieg der Klonstärke mit 1p Deletion. Progressive Meningeome zeigten zudem eine durchweg höhere Klönstärke mit 1p Deletion als nicht-progressive Meningeome.

4.2.2.6 Klongrößen mit Deletion 1p bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen

Für progressive und nicht-progressive Meningeome wurden jeweils die mittleren Klongrößen von Zellen mit 1p Verlust bestimmt. Dabei ergab sich für progressive Meningeome ein mittlerer prozentualer Anteil von 37,2% (SD 7,0) und bei den nicht-progressiven Meningeomen von 35,7% (SD 6,9).

4.2.2.7 Deletion 1p in hypotetraploiden Zellklonen von Meningeomen

In den 53 auf eine Deletion 1p untersuchten Präparaten kam es in 6 (11,3%) Meningeomen (Ifd. Nr. 6, 7, 15, 39, 42, 52) zu einem Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 in einem tetraploidem bzw. hypotetraploidem Zellklon. Der Anteil aberranter Klone mit einer Signalkombination von zwei Signalen für 1p36 und vier Signalen für 1qh, lag dabei über 10% und damit im vorher festgelegten signifikanten Bereich einer diesbezüglichen chromosomalen Auffälligkeit. In vier der sechs Fälle lag parallel dazu ein 1p Verlust in einem diploiden Zellklon vor. Von den sechs Präparaten gehörten vier zu progressiven und zwei zu nicht-progressiven Fällen. Bezogen auf den Verlauf stellten vier der sechs Meningeome das 1. Rezidiv, eins das 2. Rezidiv und eins das 3. Rezidiv dar. Innerhalb der Primärtumore konnte in keinem Präparat eine 2p4q Aberration nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass im intraindividuellen Verlauf ein tetraploider Klon mit 1p Verlust in allen Fällen frühestens ab dem 1. Rezidiv auftrat. Diese setzten sich aus zwei Grad I (33,3%), einem Grad II (16,7%) und drei Grad III (50,0%) Meningeomen zusammen. Die beiden Grad I Meningeome, mit der für diesen Grad äußerst ungewöhnlichen komplexen Aberration, wurden genauer betrachtet. In einem Fall (Ifd. Nr. 7) handelte es sich um ein progressives, lumbales intraspinales Meningeom einer 26-jährigen Patientin, welches zu diesem Zeitpunkt noch solitär, sich jedoch im späteren Verlauf als multilokuläres Meningeom manifestierte. Anamnestisch fand sich in diesem Fall ein malignes Melanom in der vorangegangenen Krankengeschichte. Beim zweiten Grad I Meningeom (Ifd. Nr. 39) handelte es sich um ein partiell chordoides Keilbeinflügelmeningeom mit Orbitabeteiligung.

Zu zwei der Fälle bei denen ein tetraploider Zellklon nachgewiesen werden konnte, lagen Ergebnisse der klassischen Zytogenetik vor, wobei die Tetraploidie in einem Fall durch diese

bestätigt werden konnte (Ifd. Nr. 15). Die klassische Zytogenetik identifizierte einen weiteren Fall mit hypotetraploidem Chromosomensatz (Ifd. Nr. 51), welcher in der FISH-Untersuchung einen mit 5,9% zwar erhöhten prozentualen Anteil an tetraploiden Zellen mit 1p Deletion aufwies, jedoch unterhalb des hier relevanten Cut-off Wertes von 10% blieb. Dennoch wies der durch die FISH ermittelte erhöhte Wert auf ein mögliches Vorliegen eines tetraploiden Zellklons hin.

Insgesamt zeigte sich, dass tetraploide Zellklone mit 1p Verlust innerhalb der hier betrachteten Meningeompopulation sowie im Rahmen der intraindividuellen Tumorentwicklung zeitlich frühestens ab dem 1. Rezidiv auftraten. In Primärtumoren zeigte sich eine solche Aberration nicht.

4.2.2.8 Deletion 1p und Tumorlokalisierung

Unter den Meningeomen mit 1p Deletion fanden sich 22 supratentorielle Meningeome (66,7%), 10 (30,3%) Meningeome der Schädelbasis, kein infratentorielles und 1 (3,0%) spinales Meningeom. Unter den diploiden Meningeomen fanden sich 7 supratentorielle Meningeome (43,8%), 4 Meningeome der Schädelbasis (25,0%), 2 infratentorielle (12,5%) und 3 spinale Meningeome (18,7%). Über die Häufigkeitsverteilung von Meningeomen mit und ohne Deletion 1p in Abhängigkeit von der Tumorlokalisierung gibt Abbildung 4.21 Aufschluss.

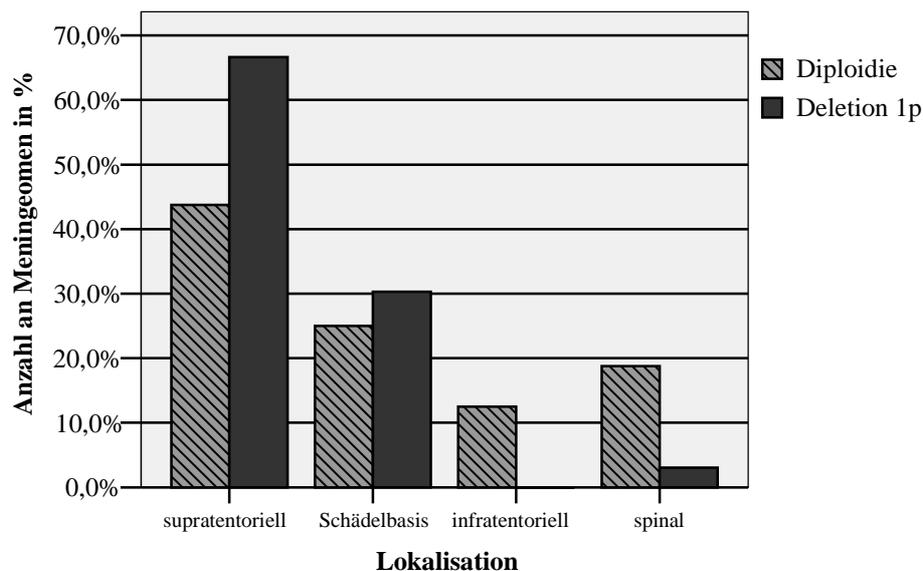


Abb. 4.21 Häufigkeit der Deletion 1p in Abhängigkeit von der Tumorlokalisierung

Der Chi-Quadrat Test zeigte zwischen beiden Gruppen einen signifikanten Unterschied in der Lokalisationsverteilung ($p=0,031$). Das Balkendiagramm verdeutlicht, dass Meningeome mit 1p Deletion häufiger supratentoriell auftraten, während spinale Meningeome zu einem größeren Anteil für 1p diploid waren.

4.2.2.9 Deletion 1p und Latenz bis zum ersten Rezidiv

Die Latenz bis zum ersten Tumorrezidiv betrug bei den Meningeomfällen mit 1p Deletion im Mittel 70,3 Monate (SD 52,9; 11-192) und war damit länger als bei den Meningeomfällen mit Disomie von Chromosom 1p (35,3 Monate; SD 22,7; 3-73). Bei den neun Grad I Meningeomen mit 1p Verlust trat das 1. Rezidiv im Mittel nach 94,3 Monaten (SD 46,3; 48-162) auf und bei den zwei Grad I Meningeomen mit Disomie 1p dauerte es im Durchschnitt 52,5 Monate (SD 29,0; 32-73) bis das 1. Rezidiv auftrat (U-Test; $p = 0,436$).

Der Unterschied bei Meningeomen mit 1p Verlust und Meningeomen mit Disomie 1p betrug 35 Monate (2 Jahre, 11 Monate), ließ sich im Mann-Whitney-U-Test jedoch nicht als statistisch signifikant nachweisen ($p=0,119$).

4.2.2.10 Deletion 1p und Geschlecht

Auf einen Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 sind 14 Frauen und 13 Männer untersucht worden. Beim weiblichen Geschlecht wiesen 11 (78,6%) eine Deletion 1p auf. Bei den Männern waren es 10 Fälle (76,9%), die bezüglich eines 1p Verlustes auffällig waren. Es zeigte sich in keinem Geschlecht ein bevorzugtes Auftreten einer 1p Deletion. Dies bestätigte auch der Chi-Quadrat Test ($p=0,918$).

4.2.3 Aberration von Chromosom 14

4.2.3.1 Deletion 14q in der Gesamtpopulation

Bei den 18 untersuchten Fällen mit und ohne Progression wurde das Auftreten der Aberration über den intraindividuellen zeitlichen Verlauf hinweg untersucht. Bis auf fünf Fälle lagen in den übrigen Untersuchungen mindestens für zwei zeitlich aufeinander folgende Meningeome eines Patienten Ergebnisse der FISH-Untersuchung vor. Zu einer Deletion 14q kam es in 8 der 18 Fälle (44,4%). Dies galt zunächst unabhängig vom Zeitpunkt des Auftretens. Von den ausgewerteten Präparaten waren dies 11 der 32 Meningeome (34,37%), die bezüglich einer 14q Deletion auffällig waren. Diese 11 Meningeome verteilten sich innerhalb der 32 Präparate auf 2 von 6 (33,3%) der Grad I Meningeome, 4 von 13 (30,8%) der Grad II und 5 von 13 (38,5%) der Grad III Meningeome. Betrachtete man die Aufteilung über die

jeweiligen histologischen Grade innerhalb der 11 für 14q aberranten Meningeome, so waren es 2 Grad I (18,2%), 4 Grad II (36,4%) und 5 Grad III (45,5%) Meningeome. Bezogen auf alle 32 untersuchten Präparate, trat ein Verlust von 14q in 2 Grad I (6,3%), 4 Grad II (12,5%) und 5 Grad III (15,6%) der 32 Meningeome auf.

4.2.3.2 Deletion 14q in nicht-progressiven Meningeomen

Von den 11 Fällen nicht-progressiver Meningeome trat in 5 Fällen (45,5%) eine Deletion 14q auf. Dabei sind 21 Präparate untersucht worden, von denen 8 (38,1%) einen Verlust von 14q aufwiesen. Diese verteilten sich auf 2 von 4 (50,0%) der Grad I, 3 von 8 der Grad II (37,5%) und 3 von 9 (33,3%) der Grad III Meningeome.

4.2.3.3 Deletion 14q in progressiven Meningeomen

Bei den Fällen progressiver Meningeome trat in 3 der 7 Fälle (42,9%) ein Verlust von 14q auf. Von den 11 untersuchten Präparaten konnte bei 3 (27,3%) von ihnen eine 14q Deletion festgestellt werden. Sie teilten sich auf in 0 von 2 der Grad I, 1 von 5 (20,0%) der Grad II und 2 von 4 (50%) der Grad III Meningeome.

Einen Überblick über das Auftreten einer 14q Deletion bei progressiven im Vergleich zu nicht-progressiven Meningeomen zeigt Abb. 4.22:

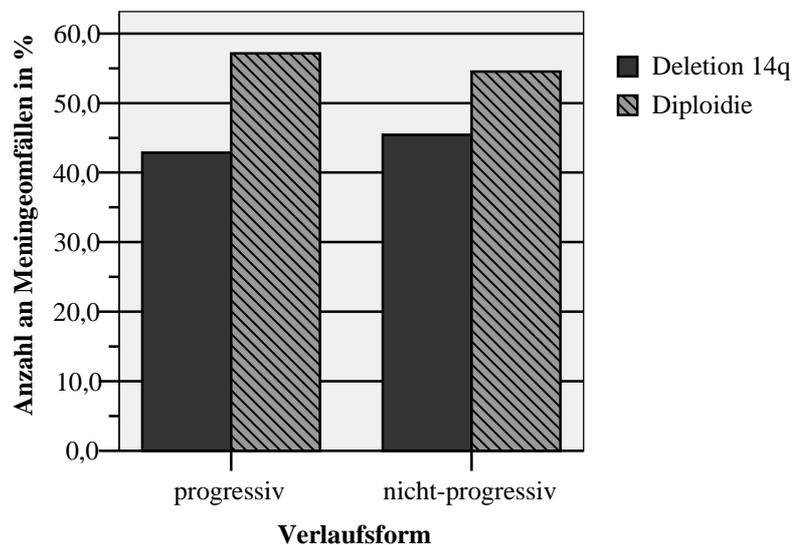


Abb. 4.22 Häufigkeit der Deletion 14q innerhalb progressiver und nicht-progressiver Meningeome

In der Abbildung erkennt man, dass ein Verlust von 14q sowohl in progressiven als auch in nicht-progressiven Meningeomen etwa zu gleichen Anteilen vorkam, d.h. ein Auftreten im Gegensatz zur 1p Deletion nicht bevorzugt bei progressiven Meningeomen auftrat.

Das Vorkommen von 14q Deletionen in Grad I, Grad II und Grad III Meningeomen im Vergleich progressiver und nicht-progressiver Meningeome zeigt zusammenfassend folgendes Diagramm (Abb. 4.23):

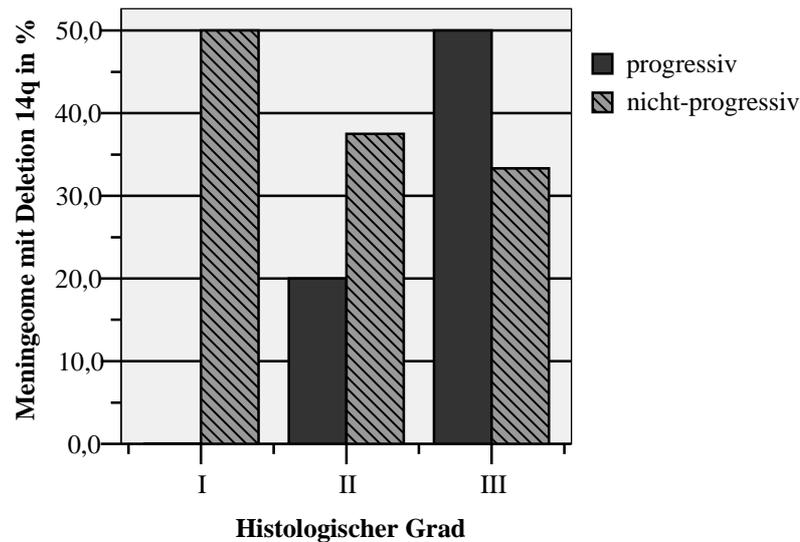


Abb. 4.23 Häufigkeit der Deletion 14q innerhalb der histologischen Grade in Abhängigkeit von der Verlaufsform

Aufgrund der hier vorliegenden geringen Fallzahlen innerhalb der Subpopulationen konnte keine allgemeingültige Aussage getroffen werden. Die Abbildung zeigt jedoch, dass bei nicht-progressiven Meningeomen eine 14q Deletion eher in niedriggradigen Tumoren auftrat, während bei progressiven Meningeomen eher höhergradige Tumore eine Deletion 14q aufwiesen.

Insgesamt zeigte die 14q Deletion in den hier untersuchten Meningeomen kein präferenzielles Auftreten innerhalb progressiver oder nicht-progressiver Meningeome. Vielmehr war sie in annähernd gleichen prozentualen Anteilen bei beiden Verlaufsformen vertreten.

4.2.3.4 Deletion 14q im Primärtumor und Rezidiv im intraindividuellen Verlauf

In insgesamt 12 der 18 hier vorliegenden Fälle sind Paarungen von mindestens zwei einem Individuum zugehörige, zeitlich aufeinander folgende Meningeome intraindividuell

untersucht worden. In den übrigen sechs Fällen lagen nur zu einem Meningeom pro Patient Ergebnisse der FISH-Untersuchung vor.

Von den 12 intraindividuell untersuchten Fällen lag zu 8 Fällen eine Untersuchung ab dem Primärtumor vor. Aufgrund der hier entstandenen geringen Größen der Subpopulationen, sollte im Weiteren die Gesamtpopulation progressiver und nicht-progressiver Meningeome betrachtet werden.

Es traten innerhalb der 8 Meningeomfälle in 5 (62,5%) eine Deletion 14q auf. In Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens der Aberration zeigte sich für die Gesamtpopulation folgende Verteilung (Tab. 4.8):

Tab. 4.8 Vorkommen der Deletion 14q beim Ausgangstumor und Rezidiv im intraindividuellen Progressionsmodell progressiver und nicht-progressiver Meningeome

		Rezidivtumor FISH Ergebnis	
		14q -	diploid
Ausgangstumor FISH Ergebnis	14q -	1	1
	diploid	3	3

In der Tabelle erkennt man, dass in 2 der 5 Fälle (40%) mit vorliegender 14q Deletion, die Primärtumoren bereits diese Aberration aufwiesen. Diese beiden Fälle zeigten keinen progressiven Verlauf. In einem Fall davon konnte der Verlust von 14q in dem sich anschließenden Rezidiv nicht mehr nachgewiesen werden. Dies bedeutet, dass in nur einem intraindividuellen Fall (20%) der 14q Verlust sowohl im Primärtumor als auch in dem nachfolgenden Rezidiv nachgewiesen werden konnte.

In 3 der 5 Fälle (60%) war der Primärtumor bezüglich eines 14q Verlustes unauffällig und erst die Rezidive wiesen eine Deletion 14q auf (1x 1. Rezidiv, 1x 1. u. 2. Rezidiv, 1x 2. Rezidiv). Bei weiteren 3 Fällen war weder im Primärtumor noch im Rezidiv eine 14q Deletion zu finden. Diese Fälle blieben auch in den verfügbaren Befunden der klassischen Zytogenetik für eine Deletion 14q unauffällig.

In den übrigen 4 intraindividuell betrachteten Fällen, bei denen kein Material des Primärtumors, sondern der früheste Ausgangstumor zur Verfügung stand, zeigte sich in einem Fall ebenfalls ein Verlust von 14q. Dieser trat zum Zeitpunkt des 1. Rezidivs auf und setzte sich auch im 2. Rezidiv fort. Unter den hier intraindividuell betrachteten Fällen mit 14q Deletion war ein Fall mit Progression, wobei zu erwähnen ist, dass dort der Verlust des

Chromosomenabschnittes erst nach dem Progressionsvorgang auftrat. In zwei weiteren progressiven Fällen, in denen pro Fall lediglich ein 14qFISH-Ergebnis (jeweils für den Rezidivtumor) vorlag, zeigten die Meningeomrezidive einen Verlust von 14q.

In einem Fall (Fall Nr. 17) zeigten die FISH-Untersuchung und die klassische Zytogenetik bezüglich 14q divergierende Ergebnisse. Dort konnte die FISH den 14q Verlust bei unauffälligem Primärtumor erst im 2. Rezidiv zeigen. Hingegen konnte die klassische Zytogenetik bereits für den Primärtumor eine Deletion 14q nachweisen, während das 1. und 2. Rezidiv diploid bezüglich Chromosom 14 waren.

Der Verlust von Chromosom 14q trat insgesamt tendenziell eher zu späteren Zeitpunkten des Tumorverlaufs auf. Der Vergleich zum Auftreten der Deletion 1p (siehe 4.2.2.4) zeigte, dass die Deletion 14q bei deutlich weniger Primärtumoren und vermehrt erst in den Tumorrezidiven zu finden war.

Nachfolgende Abbildung (Abb. 4.24) zeigt exemplarisch die fluoreszenzmikroskopische Verlaufsdarstellung bei zwei Meningeomfällen mit 14q Verlust.

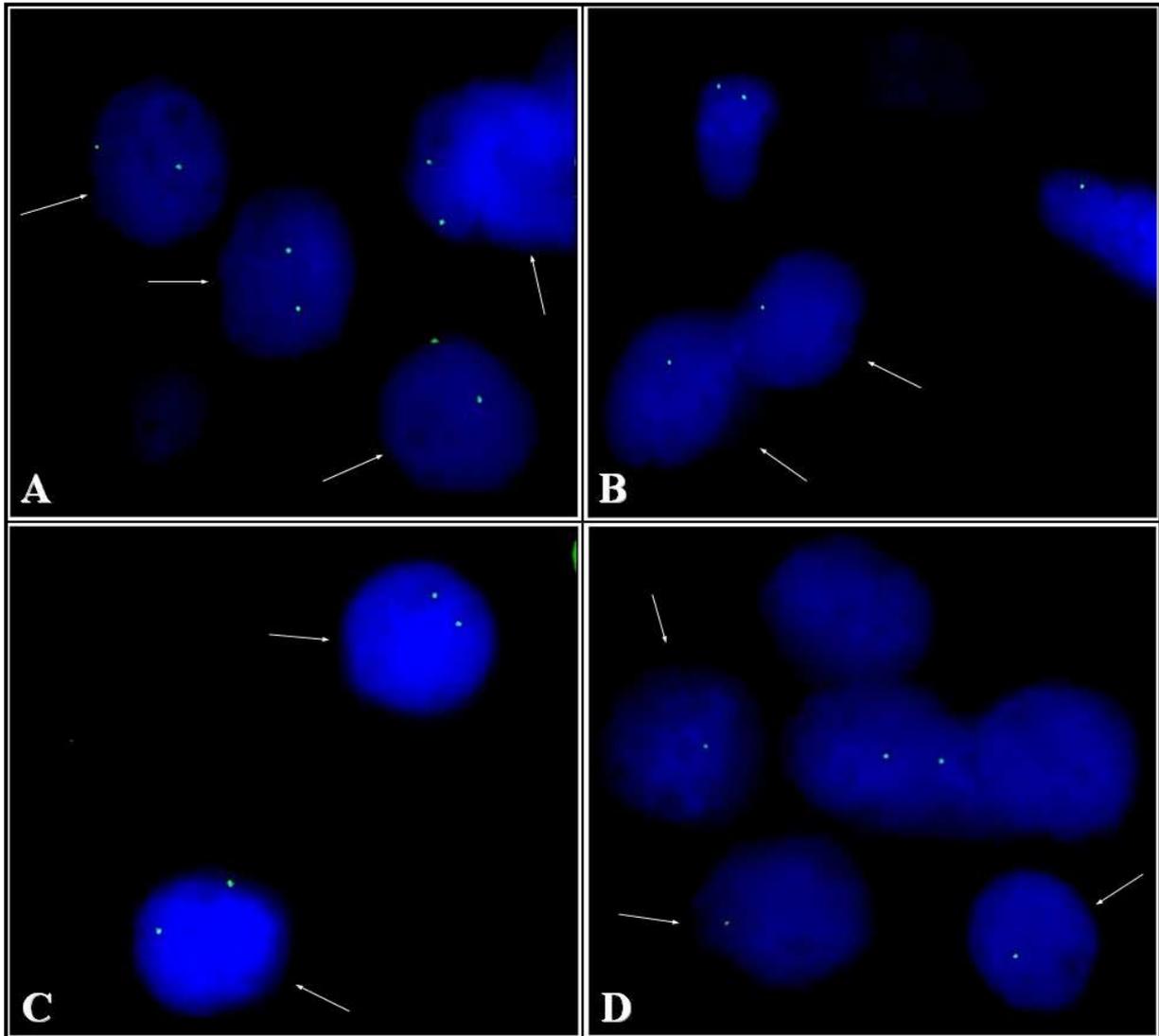


Abb. 4.24: Intraindividuelle 14q Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) mit D14S1419-Sonde zum Nachweis einer 14q Deletion (grüne Signale). **A,B:** Nicht-progressiver Meningeom-Fall (Fall-Nr. 17) mit Primärtumor (**A**) und 2. Rezidiv (**B**). Der Primärtumor ist für 14q diploid (zwei grüne Signale pro Zelle) während das Rezidiv Meningeomzellen mit nur einem Signal für die 14q-Sonde und somit eine Deletion 14q aufweist. **C,D:** Fall-Nr. 6 eines nicht-progressiven Meningeoms, FISH-Signale Primärtumor (**C**) und 1. Rezidiv (**D**). Auch hier zeigt erst das Rezidiv mit einem grünen Signal pro Meningeomzelle (**D**, s. Pfeil) einen Verlust von 14q, während der Primärtumor für 14q diploid ist (**C**, zwei grüne Signale). **D:** Umgeben von Meningeomzellen mit 14q Deletion zeigt sich hier auch noch eine bezüglich 14q diploide Zelle sowie zwei Zellen die aufgrund der Fokuseinstellung keine Signale aufweisen.

4.2.3.5 Klonstärke mit Deletion 14q im intraindividuellen Verlauf

Das Verhalten des im Meningeomgewebe nachgewiesenen Klons mit 14q Deletion wurde im intraindividuellen Verlauf betrachtet. Es sollte beurteilt werden, ob der aberrante Klon im Laufe der Zeit größtmäßig zunahm. Dazu mussten mindestens zwei zeitlich aufeinander folgende Meningeome eines Individuums diese Deletion tragen. Aufgrund der Tatsache, dass die Aberration teilweise erst zu einem späteren Zeitpunkt im intraindividuellen Verlauf auftrat, standen lediglich zu drei Fällen entsprechende Daten zur Verfügung. Dabei waren in zwei Fällen (Nr. 6 u. 18) die aberranten Zellklone nicht stärker vertreten als im Primärtumor (44,8% vs. 25% u. 43,1% vs. 35,6%) und in einem weiteren Fall (Nr. 9) lediglich minimal erhöht (22,1% vs. 22,3%). Es handelte sich bei all diesen Fällen um nicht-progressive Meningeome.

4.2.3.6 Deletion 14q bei Meningeomen mit hypotetraploidem Zellklon und 1p Deletion

Die unter 4.2.2.7 näher beschriebenen Meningeome mit hypotetraploidem Zellklon wurden ebenfalls bezüglich einer Aberration des Chromosoms 14 betrachtet. Zu zwei der Präparate war keine Aussage möglich, da keine FISH-Ergebnisse der entsprechenden Meningeome vorlagen. Von den übrigen vier Meningeomen (Ifd. Nr. 6, 7, 15, 52) waren drei in Bezug auf 14q unauffällig. Lediglich ein Präparat (Ifd. Nr. 6) wies eine Aberration von Chromosom 14 im diploiden Zellklon auf. Dabei handelte es sich um das 1. Rezidiv eines progressiven Falles, wobei es sich histologisch um ein sehr zellreiches Grad III Meningeom mit Hirninvasion handelte. Der Primärtumor des gleichen Falles wies weder einen hypotetraploiden Zellklon noch eine 14q Deletion auf.

Aufgrund der hier vorliegenden geringen Fallzahlen in Bezug auf einen 14q Verlust in tetraploiden Meningeomzellen, konnte keine eindeutige Aussage über dessen Bedeutung getroffen werden. Es scheint jedoch eine eher untergeordnete Rolle zu spielen.

4.2.3.7 Deletion 14q und die Lokalisation von Meningeomen

Alle 9 (100%) Meningeome mit 14q Deletion waren supratentoriell lokalisiert. Unter den bezüglich 14q diploiden Meningeomen fanden sich 6 supratentorielle Meningeome (30,0%), 8 Meningeome der Schädelbasis (40,0%), 2 infratentorielle (10,0%) und 4 (20,0%) spinale Meningeome. Abbildung 4.25 zeigt die Häufigkeitsverteilung von Meningeomen mit und ohne Deletion 14q in Abhängigkeit ihrer Lokalisation.

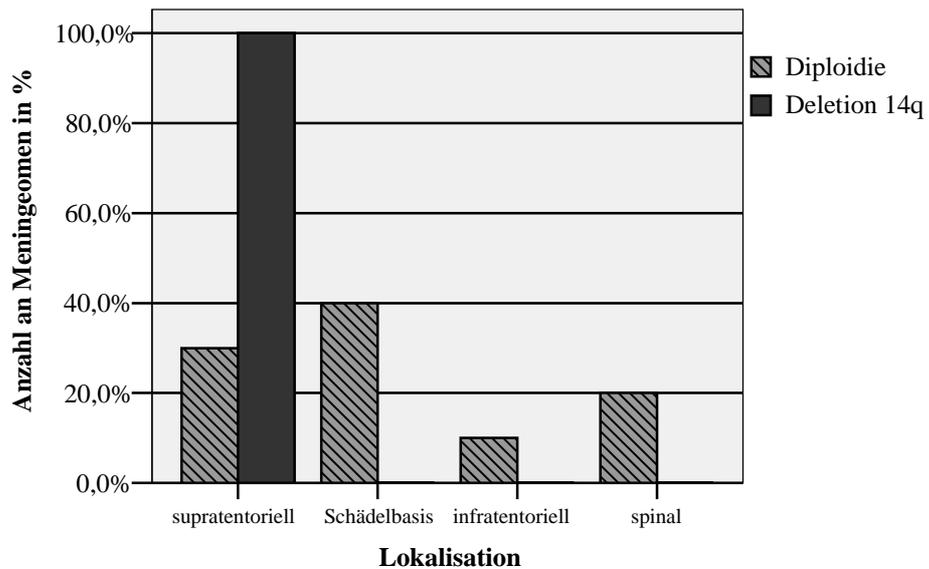


Abb. 4.25 Häufigkeit der Deletion 14q in Abhängigkeit vom Manifestationsort

Der Chi-Quadrat Test zeigte zwischen beiden Gruppen einen hoch signifikanten Unterschied in der Lokalisationsverteilung ($p=0,003$).

4.2.3.8 Deletion 14q und Geschlecht

Es wurden 11 Frauen und 7 Männer auf eine Deletion 14q hin untersucht. Bei 3 (27,3%) der Frauen und bei 5 (71,4%) der Männer zeigte sich ein Verlust des Chromosomenabschnitts 14q. Durch den exakten Test nach Fisher konnte kein signifikant häufigeres Auftreten einer 14q Deletion nachgewiesen werden ($p=0,145$).

4.3 Zusammenfassung und Vergleich der FISH-Ergebnisse für 1p und 14q

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der FISH bezüglich eines 1p Verlustes und einer Deletion 14q für alle untersuchten Präparate zusammengefasst. Dabei ist die Größe der ermittelten Klone als prozentualer Anteil in Bezug auf die Gesamtzahl an untersuchten Zellen pro Präparat aufgeführt (Tab. 4.9).

Die Deletion 1p (77,7%) trat deutlich häufiger auf als die Deletion 14q (44,4%). Der Verlust von 1p kam dabei wiederum in der Gruppe der progressiven Meningeome (91,7%) häufiger vor, als bei den rezidivierenden nicht-progressiven Meningeomen (66,7%). 14q Verluste waren ähnlich häufig sowohl in progressiven als auch in nicht-progressiven Meningeomen zu verzeichnen.

Insgesamt waren in der Gruppe der progressiven Meningeome 1p Deletionen (91,7%) deutlich häufiger anzutreffen als der Verlust von Chromosom 14q (42,9%).

Der Vergleich von Deletion 1p und 14q im intraindividuellen Verlauf zeigte, dass ein 1p Verlust bereits zum Zeitpunkt des Primärtumors bzw. zu einem sehr frühen Zeitpunkt vorlag, wohingegen die 14q Deletion größtenteils erst zu einem intraindividuell späteren Zeitpunkt auftrat.

In Bezug auf die Klonegröße von deletierten Meningeomzellen zeigte sich bei den für 1p aberranten Zellen ein Anstieg des Zellklons mit fortschreitender Tumorentwicklung. Dies galt sowohl für progressive als auch nicht-progressive Meningeome, wobei bei den progressiven Meningeomen der Anteil des aberranten Zellklons insgesamt höher war.

Der intraindividuelle quantitative Vergleich der Klonegrößen bei Meningeomen mit 14q Verlust war aufgrund der geringen Fallzahl nicht möglich.

Tab. 4.9 Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Ld. Nr.	Fall Nr.	Rezidiv Nr.	WHO Grad	FISH 1p	Klonggröße del 1p	Tetraploidie mit del 1p	FISH 14q	Klonggröße del 14q
1	1	1	II	disom	16,3	1,9	n.a.	n.a.
2		2	II	disom	11,8	0,4	n.a.	n.a.
3	2	0	I	del	38,0	1,9	n.a.	n.a.
4		2	II	disom	15,2	1,5	n.a.	n.a.
4'		3	II	del	48,3	1,5	disom	11,3
5	3	0	II	del	37,5	7,1	disom	12,1
6		1	III	del	30,7	15,1	del	26,5
7	4	1	I	del	4,8	14,5	disom	6,5
8		3	II	disom	8,1	3,0	disom	13,5
11	6	0	III	del	39,8	1,0	disom	6,2
12		1	III	del	35,2	0,5	del	44,8*
13		2	III	del	52,0	0,9	del	25
14	7	1	III	del	30,5	4,9	disom	12,6
15		2	III	del	20,2	11,9	disom	10,5
16	8	0	I	del	36,9	1,7	n.a.	n.a.
17		2	II	del	38,2	4,3	n.a.	n.a.
18	9	1	I	del	36,9	1,0	del	22,1
19		3	I	del	39,7	3,2	del	22,3
22	11	0	II	del	30,1	2,8	n.a.	n.a.
23		1	II	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
24	12	0	II	del	45,9	4,5	n.a.	n.a.
25		1	II	del	33,0	4,8	disom	12,8
26	13	1	I	del	38,5	3,0	n.a.	n.a.
27		3	II	disom	14,3	0,9	del	26,4
28	14	2	II	del	34,1	4,5	n.a.	n.a.
29		7	III	del	33,2	4,3	n.a.	n.a.
30	15	0	I	disom	8,5	0	n.a.	n.a.
31		4	II	disom	9,8	0,5	disom	9,4
32	16	0	II	del	23,7	1,9	n.a.	n.a.
33		2	III	del	29,5	6,0	n.a.	n.a.
34	17	0	II	del	25,6	1,4	disom	8,3
35		2	II	del	29,5	3,4	del	34,5
36	18	0	II	disom	16,7	0,9	del	43,1
37		1	II	del	34,2	6,9	del	34,5
38	19	0	I	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
39		1	I	del	21,3	15,0	n.a.	n.a.
42	21	0	I	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
43		1	II	del	10,6	12,0	n.a.	n.a.
46	23	0	III	disom	15,6	3,7	disom	9,3
47		1	III	disom	11,7	0	disom	9,0
48	24	0	II	del	27,5	1,4	n.a.	n.a.
49		1	III	del	30,0	5,5	del	26,4
50	25	1	I	del	39,8	4,8	disom	10,9
51		2	III	del	49,0	5,9	disom	10,8
52		3	III	del	22,7	17,2	disom	11,7
53	26	0	III	del	26,5	1,3	n.a.	n.a.
54		1	III	del	37,9	4,6	n.a.	n.a.
55	27	0	II	disom	14,6	0,9	disom	11,1
56		1	II	disom	11,0	0,9	disom	10,6
57	28	0	I	disom	11,4	0,9	disom	9,7
58		1	I	disom	6,9	0	disom	12,4
59	29	0	III	del	41,8	2,5	del	30,5
60		1	III	disom	8,5	2,8	disom	12,9
61	30	0	II	disom	10,2	0,9	disom	12,4
62		1	II	disom	13,3	1,9	n.a.	n.a.
63	31	0	I	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
64		1	III	del	42,2	4,0	n.a.	n.a.

FISH: disom=Diploidie, del=Deletion, 0=Primärtumor, 1=1. Rez., 2=2. Rez., usw., **Fettschrift** =progr. Fälle, n.a.=keine Ergebnisse vorhanden

Betrachtete man die Beziehung beider Aberrationen in ihrem Auftreten bei Meningeomen zueinander, so stellte sich der Zusammenhang wie folgt dar (Tab. 4.10):

Tab. 4.10 Vorkommen der Deletion 14q in Meningeomen mit Deletion 1p

		Meningeom FISH Ergebnis	
		14q -	diploid
Meningeom FISH Ergebnis	1p -	9	11
	diploid	2	10

Man erkennt, dass in 9 von 11 Meningeomen (81,8%), die eine 14q Deletion aufwiesen, gleichzeitig auch ein Verlust von 1p vorlag und lediglich zwei Präparate mit 14q Verlust für 1p unauffällig blieben. Im exakten Test nach Fisher konnte der Zusammenhang einer 14q Deletion bei vorliegendem 1p Verlust jedoch nicht als statistisch signifikant nachgewiesen werden ($p=0,139$).

Betrachtete man den Zusammenhang beider Aberrationen nicht bezogen auf das einzelne betroffene Meningeom, sondern auf das generelle Auftreten in einem intraindividuellen Patientenfall, so zeigte sich folgendes Vorkommen (Tab. 4.11):

Tab. 4.11 Vorkommen der Deletion 14q im intraindividuellen Meningeomfall in Kombination mit Deletion 1p

		Meningeomfall FISH Ergebnis	
		14q -	diploid
Meningeomfall FISH Ergebnis	1p -	8	5
	diploid	0	5

Es zeigte sich, dass alle Fälle die einen Verlust von 14q aufwiesen, im gleichen Fall auch einen Verlust von 1p zeigten. Bei keinem Fall kam es zu einer Deletion 14q, ohne dass für den Fall auch zu irgendeinem Zeitpunkt ein Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 detektierbar war. Somit war das Auftreten eines 14q Verlustes innerhalb eines Falles bei der hier untersuchten Population zu 100 % (8 der 8 Fälle) an eine del 1p gebunden. Dieser Zusammenhang war im exakten Test nach Fisher statistisch signifikant ($p=0,036$).

Auf die 9 Meningeome (Ifd. Nr. 6, 12, 13, 18, 19, 35, 37, 49, 59), welche beide Aberrationen im selben Präparat aufwiesen, sollte an dieser Stelle näher eingegangen werden. Die Gruppe setzte sich zusammen aus zwei Grad I, zwei Grad II und fünf Grad III Meningeomen. Dies entsprach, in Bezug auf alle der hier untersuchten Meningeompräparate, einem prozentualen Anteil von 33,3% der benignen, 15,4% der atypischen und 38,5% der anaplastischen Meningeome. Die anaplastischen Meningeome machten damit den größten Anteil an Meningeomen mit einem kombinierten Auftreten beider Aberrationen aus.

In nur einem Fall (Ifd. Nr.59) war ein Primärtumor gleichzeitig von beiden Aberrationen betroffen. Bei allen übrigen Meningeomen traten die Deletionen von 1p und Chromosom 14q erst zu einem späteren Zeitpunkt im intraindividuellen Verlauf auf (5x 1. Rezidiv, 2x 2. Rezidiv, 1x 3. Rezidiv).

Zu 8 von ihnen lagen Angaben ihrer Lokalisation vor, wobei alle diese Meningeome supratentoriell lokalisiert waren. Drei der neun Meningeome wiesen eine Beteiligung des Sinus sagittalis auf (Ifd. Nr. 6, 35, 49).

4.4 Vergleich der FISH-Ergebnisse mit der klassischen Zytogenetik

Insgesamt standen 43 zytogenetische Untersuchungsbefunde zum Vergleich mit den hier gefundenen Ergebnissen der FISH zur Verfügung. Bei der FISH bezüglich eines 1p Verlustes waren es 32 Präparate, zu denen sowohl für die Zytogenetik als auch für die FISH Befunde vorlagen. Bei der Überprüfung auf einen 14q Verlust waren es 22 Präparate.

In der folgenden Tabelle (Tab. 4.12) wurden die Ergebnisse bezüglich Auffälligkeiten der untersuchten Chromosomen 1 und 14 gegenübergestellt. Aus den Daten der klassischen Zytogenetik wurden zusätzlich die Befunde zu Chromosom 22 mit aufgeführt. Einen Gesamtüberblick über die einzelnen zusätzlich vorliegenden zytogenetischen Aberrationen liefert Tabelle 7.2.1 im Anhang.

Tab. 4.12 Übersicht der zytogenetischen Befunde bezüglich 1p und 14q und der Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Fall Nr.	Primärtumor			1.Rezidiv			2.Rezidiv			3.Rezidiv			4.Rezidiv			7.Rezidiv		
	klass. Zytogen.	ISH 1p	ISH 14q	klass. Zytogen.	ISH 1p	ISH 14q	klass. Zytogen.	ISH 1p	ISH 14q	klass. Zytogen.	ISH 1p	ISH 14q	klass. Zytogen.	ISH 1p	ISH 14q	klass. Zytogen.	ISH 1p	ISH 14q
1				n.a.	dipl		-14,-22	dipl										
2	n.a.	-1p		-1p,-22	dipl		-1p			n.a.	-1p	dipl						
3	diploid ¹⁾	-1p	dipl	-1p,-14,-22	-1p	-14q	-1p											
4				n.a.	-1p	dipl				n.a.	dipl	dipl						
6	n.a.	-1p	dipl	-22	-1p	-14q	-1p,-14,-22	-1p	-14q									
7	n.a.			n.a.	-1p	dipl	-1p	-1p	dipl									
8	n.a.	-1p		diploid ¹⁾			-1p	-1p										
9	n.a.			n.a.	-1p	-14q	n.a.			-1p,-14,-22	-1p	-14q						
11	n.a.	-1p		n.a.														
12	-1p,-22	-1p		-1p,-22	-1p	dipl												
13	n.a.			n.a.	-1p		-1p,-14,-22			-1p,-14,-22	dipl	-14q						
14	n.a.			n.a.			-1p,-14,-22	-1p		n.a.			dipliod ¹⁾			-14,-22	-1p	
15	n.a.	dipl		-22			-22			diploid ¹⁾			-22	dipl	dipl			
16	diploid	-1p		-1p			diploid ¹⁾	-1p										
17	-1p,-14,-22	-1p	dipl	-1p			-1p,-22	-1p	-14q									
18	-1p,-14,-22	-1p	-14q	n.a.	-1p	-14q												
19	n.a.			n.a.	-1p													
21	n.a.			n.a.	-1p													
23	diploid	dipl	dipl	diploid[-1p ⁴⁾]	dipl	dipl												
24	-1p,-14,-22	-1p		-1p,-14,-22	-1p	-14q												
25	n.a.			-1p ²⁾	-1p	dipl	-1p,-22	-1p	dipl	n.a.	-1p	dipl						
26	n.a.	-1p		³⁾	-1p													
27	-22	dipl	dipl	-22	dipl	dipl												
28	diploid	dipl	dipl	diploid	dipl	dipl												
29	-1p,-14,-22	-1p	-14q	-1p	dipl	dipl												
30	n.a.	dipl	dipl	n.a.	dipl													
31	n.a.			n.a.	-1p													

Klassische Zytogenetik, ¹⁾ Probleme bei Anzüchtung, schlechte Gewebeprobe oder angewachsenes Normalgewebe, ²⁾ fraglich auswertbare Mitose/ nicht genau auswertbar, ³⁾ hochgradig aberrant, jedoch bzgl. 1p und 14q unauffällig, ⁴⁾ überwiegend zytogenetisch unauffällig; **FISH,** dipl = diploider Chromosomensatz bzgl. des Chromosoms, -1p = Deletion 1p, -14q = Deletion 14q.

Der Tabelle ist zu entnehmen, dass bei den Meningeomen, die auf einen 1p Verlust hin überprüft wurden, in 75% (bei 24 von 32 Präparaten) die Ergebnisse der FISH mit den Ergebnissen der klassischen Zytogenetik übereinstimmten. Bezogen auf den Nachweis einer Deletion 1p konnte im exakten Test nach Fisher ein statistisch signifikantes Übereinstimmen beider Methoden festgestellt werden ($p=0,021$).

Bei den Untersuchungen bezüglich eines 14q Verlustes kam es in 86,4% (bei 19 von 22 Präparaten) zu übereinstimmenden Ergebnissen der FISH und der klassischen Zytogenetik. Im exakten Test nach Fisher stimmten beide Methoden im Nachweis eines 14q Verlustes signifikant miteinander überein ($p=0,002$).

In einigen Fällen, in denen es zu Abweichungen kam, ist in den Befunden der Humangenetik darauf hingewiesen worden, dass die angezüchteten Zellen entweder schlecht angewachsen waren oder davon ausgegangen werden musste, dass es sich um Normalgewebe handelte. Diese sind in der Tabelle gesondert gekennzeichnet worden.

Bei der FISH musste speziell im Fall Nr. 29 bei vorliegender Invasion des respiratorischen Epithels und dem für beide Aberrationen vorliegenden unauffälligen Ergebnis von einem falsch negativen Befund für den Rezidivtumor in der FISH-Untersuchung ausgegangen werden. Es kann vermutet werden, dass vermehrt gesunde Epithelzellen anstelle von Tumorzellen untersucht wurden. Im Primärtumor des gleichen Falles war zuvor durch die FISH eine Deletion 1p und 14q nachgewiesen worden.

In Bezug auf die Sensitivität der FISH als Untersuchungsmethode für Chromosomenaberrationen zeigte sich folgende Datenlage. Beim Nachweis eines 1p Verlustes konnte die FISH eine Deletion in 5 Fällen zeigen, die in der klassischen Zytogenetik unauffällig waren. Umgekehrt zeigte die Zytogenetik in 3 Fällen eine Deletion 1p, welche in der FISH nicht detektierbar war. In Bezug auf eine 14q Deletion wies die FISH in zwei Fällen eine solche auf, wobei die Befunde der klassischen Zytogenetik für diese beiden Fälle unauffällig waren. Umgekehrt gab es einen Fall, der in der klassischen Zytogenetik einen 14q Verlust zeigte, jedoch in der FISH unauffällig blieb.

Anhand der zusätzlich vorliegenden Daten der klassischen Zytogenetik konnte das Auftreten einer Deletion 1p bzw. 14q auf eine Korrelation mit anderen Chromosomenaberrationen hin überprüft werden.

So fand sich in 75% der Meningeome mit einer Deletion 22 und in 80% der Meningeome mit einer Deletion 18 ebenfalls ein gleichzeitig vorliegender Verlust von Chromosom 1p. Bei

Aberrationen von Chromosom 6 (del6/-6q) waren es sogar 81,8% der Meningeome. Trotz prozentual hoher Anteile war dies im Fisher Exakttest statistisch nicht nachweislich signifikant ($p=0,250$; $p=0,425$, $p=0,248$).

Für den Verlust von 14q fand sich hingegen in Bezug auf ein gleichzeitiges Auftretens einer Monosomie 22 ein statistisch signifikanter Zusammenhang ($p=0,006$). Für das gemeinsame Vorliegen von 14q Verlust und Deletion 18 ergab sich eine zumindest statistische Tendenz ($p=0,052$). Für Chromosom 6 war kein statistisch signifikanter Zusammenhang nachweisbar ($p=0,343$).

4.5 Vergleich der FISH-Ergebnisse mit der Aktivität der ALPL

Von den insgesamt 53 hier berücksichtigten Tumoren lagen zu 25 Tumoren Präparate mit histochemischer Untersuchung der Gewebeunspezifischen Isoform der Alkalischen Phosphatase (ALPL) vor. Bei 8 Meningeomen (32,0%) war die ALPL komplett und in 15 Meningeomen (60,0%) partiell ausgefallen. In zwei Meningeomen (8%) war die Aktivität der alkalischen Phosphatase vollständig erhalten.

Die sich anschließenden Tabellen (Tab. 4.13; Tab. 4.14) stellen die Datenlage zur Aktivität der ALPL in Bezug auf einen Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 und zum Anderen bezüglich eines progressiven oder nicht-progressiven Verlaufs dar.

Tab. 4.13 ALPL-Reaktionsmuster bei Meningeomen mit Deletion 1p und bezüglich Chromosom 1p diploiden Meningeomen

		Meningeome FISH Ergebnis	
		1p -	diploid
ALPL-Aktivität	negativ	7	1
	partiell-negativ	8	7
	positiv	0	2

Tab. 4.14 ALPL-Reaktionsmuster bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen

		Meningeome Verlaufsform	
		progressiv	nicht-progressiv
ALPL-Aktivität	negativ	7	1
	partiell-negativ	5	10
	positiv	0	2

Der Zusammenhang zwischen der Aktivität der Alkalischen Phosphatase und der Deletion 1p präsentierte sich in der Häufigkeitsverteilung (Abb. 4.26) wie folgt:

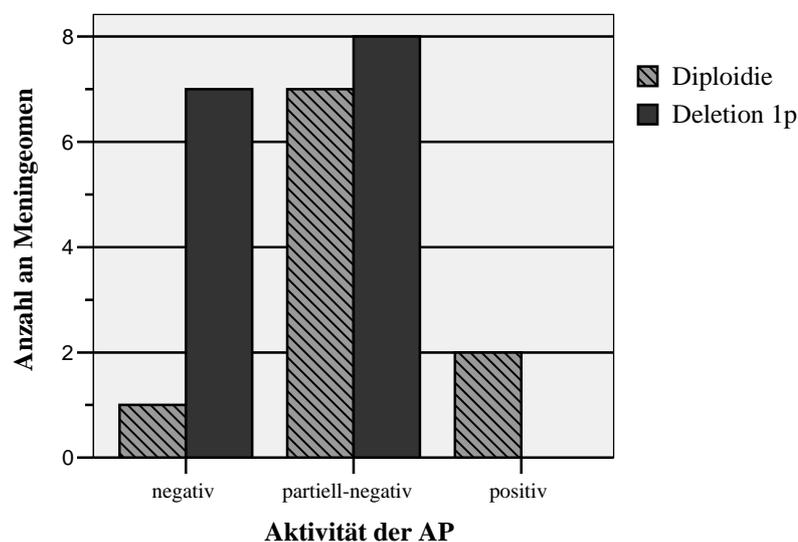


Abb. 4.26 Aktivität der Alkalischen Phosphatase in Abhängigkeit vom chromosomalen Status für 1p

Es zeigte sich, dass der komplette Ausfall der ALPL sehr viel häufiger mit einem gleichzeitigen Verlust von 1p gekoppelt war als mit einer Diploidie bezüglich 1p. Auf der anderen Seite zeigte sich der vollständige Erhalt der Enzymaktivität ausnahmslos bei Meningeomen mit Diploidie von 1p.

Im Mann-Whitney U-Test war der Zusammenhang von Deletion 1p und dem Verlust der Alkalischen Phosphatase statistisch signifikant ($p=0,034$).

Die ALPL-Reaktionsmuster für jeweils progressive und nicht-progressive Meningeome waren wie folgt (Abb. 4.27) verteilt:

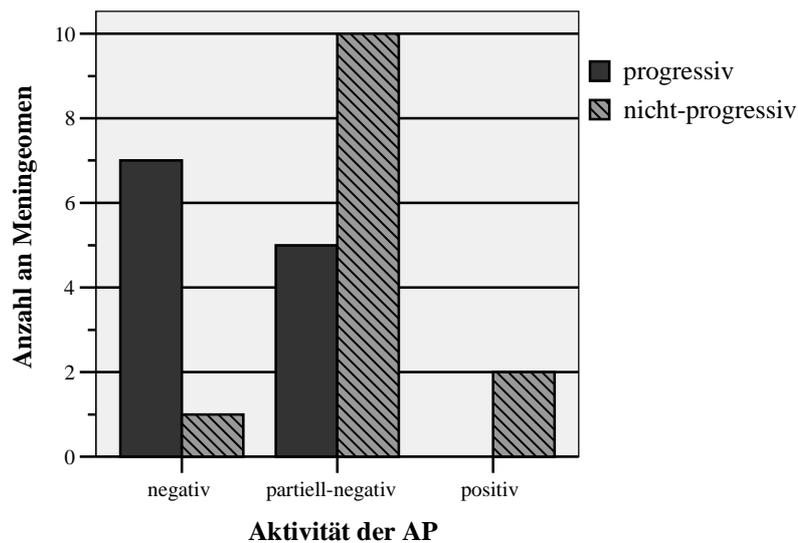


Abb. 4.27 Aktivität der Alkalischen Phosphatase in Abhängigkeit vom Verlauf

Die Abbildung zeigt, dass bei progressiven Meningeomen die Aktivität der Alkalischen Phosphatase deutlich häufiger komplett (58,3% vs. 7,7%) ausgefallen war als bei nicht-progressiven Meningeomen. Dieser Zusammenhang war im Mann-Whitney U-Test statistisch signifikant ($p=0,006$).

Zusätzlich erkennt man, dass die nicht-progressiven Fälle im Gegensatz zu den progressiven, auch Meningeome mit komplett erhaltener ALPL Aktivität aufwiesen (15,4% vs. 0%). Der größte Teil der nicht-progressiven Meningeome wies jedoch einen partiellen Ausfall der Enzymaktivität auf.

Der komplette ALPL Aktivitätsverlust zeigte eine deutliche Assoziation mit der Anzahl ausgebildeter Rezidive ($p=0,068$; Kruskal-Wallis Test). Insgesamt zeigten 71,4 % (5 von 7) der Meningeome mit drei Rezidiven einen kompletten Ausfall der Alkalischen Phosphatase, während Meningeome mit nur einem Rezidiv einen kompletten Verlust der Enzymaktivität nur in 9,1% (1 von 11) der Tumore zeigten. Für Meningeome mit vollständigem Erhalt der ALPL-Aktivität zeigte sich bei beiden Meningeomen lediglich 1 Rezidiv, bei einem partiellen Verlust zeigten sich im Mittel 1,5 Rezidive (SD 1,9; 1-7) und bei einem kompletten Ausfall der Alkalischen Phosphatase lag der Mittelwert an ausgebildeten Rezidiven bei 2,1 (SD 1,1; 0-3).

Für eine Deletion von Chromosom 14q ($p=1,0$), den histologischen Grad ($p=0,161$) oder für das Geschlecht ($p=0,580$) war im Chi-Quadrat Test kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Aktivität der Alkalischen Phosphatase aufzeigbar.

Innerhalb des intraindividuellen Modells lagen zu sechs Meningeomfällen (2x nicht-progressiv, 4x progressiv) Daten zur intraindividuellen Aktivität der Alkalischen Phosphatase

bei zwei im Verlauf nacheinander aufgetretenen Meningeomen eines Individuums vor. Dabei zeigte sich in zwei Fällen (Fall-Nr. 2, 25) eine Abnahme der Enzymaktivität vom Ausgangs- zum Rezidivtumor. Die ALPL war zu Beginn partiell und im weiteren Verlauf komplett ausgefallen. In drei Meningeomfällen war die Aktivität der ALPL gleich bleibend (Fall-Nr. 4, 12, 30) und in einem Fall (Fall-Nr. 24) zeigte sich eine Zunahme der Enzymaktivität von komplett ausgefallener Aktivität zu einem Ausfall in über 50% der Meningeomzellen. Einzelheiten können der sich anschließenden Tab. 4.15 entnommen werden.

Tab. 4.15 Übersicht über das ALPL-Reaktionsmuster im intraindividuellen Verlauf bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen

Fall Nr.	Primärtumor			1.Rezidiv			2.Rezidiv			3.Rezidiv			4.Rezidiv			7.Rezidiv		
	Histol. Grad	Status 1p	AL PL	Histol. Grad	Status 1p	AL PL	Histol. Grad	Status 1p	AL PL	Histol. Grad	Status 1p	AL PL	Histol. Grad	Status 1p	AL PL	Histol. Grad	Status 1p	AL PL
1				II		n.a.	II	disom	+/-									
2	I		n.a.				II	del*	+/-	II	del	-						
3	II		n.a.	III		n.a.												
4				I	del	-				II	disom	-						
6	III		n.a.	III		n.a.	III		n.a.									
7				III		n.a.	III	del	+/-									
8	I		n.a.				II	del	-									
9				I		n.a.				I	del	-						
11	II		n.a.	II		n.a.												
12	II	del	+/-	II	del	+/-												
13				I		n.a.				II		n.a.						
14							II		n.a.							III	del	+/-
15	I		n.a.										II	disom	+/-			
16	II		n.a.				III	del	-									
17	II	del	+/-				II		n.a.									
18	II	del	+/-	II		n.a.												
19	I		n.a.	I		n.a.												
21	I		n.a.	II		n.a.												
23	III	disom	+/-	III		n.a.												
24	II	del	-	III	del	+/-												
25				I		n.a.	III	del	+/-	III	del	-						
26	III		n.a.	III	del	+/-												
27	II		n.a.	II	disom	+												
28	I		n.a.	I	disom	+												
29	III		n.a.	III		n.a.												
30	II	disom	+/-	II	disom	+/-												
31	I		n.a.	III		n.a.												

ALPL, Enzymaktivität der Gewebeunspezifischen Isoform der Alkalischen Phosphatase, + = positive Enzymaktivität, +/- = partieller Verlust der Enzymaktivität, - = kompletter Verlust der Enzymaktivität; n.a. = nicht bestimmt (not available); **Fettschrift** = progressive Meningeomfälle; * = 1p Deletion in klass. Zytogenetik, FISH disom für Chromosom 1p.

4.6 Vergleich der FISH-Ergebnisse mit der Ki-67 Kernmarkierungsrate

Von 27 Fällen lagen zu insgesamt 56 der 57 Präparate die Ki-67 Kernmarkierungsraten vor. Darunter fielen 30 von 31 der Präparate nicht-progressiver Meningeome und alle der 26 Präparate progressiver Meningeome.

Insgesamt wurde für die Gesamtpopulation eine Kernmarkierungsrate von 12,5% (SD 15,1; 0-77,2) erreicht. Der Vergleich der Mittelwerte der jeweiligen Gruppen ergab für die Meningeomfälle ohne Progression einen Wert von 13% (SD 14,4; 0-50,5) und für die progressiven Fälle einen Mittelwert von 12% (SD 16,0; 0,4-77,2). Im Mann-Whitney U-Test zeigte sich kein Unterschied beider Populationen hinsichtlich der Ki-67 Markierungsraten ($p=0,906$).

Meningeome, die eine Deletion 1p aufwiesen, hatten durchschnittlich einen Ki-67 LI von 13,5% (SD 16,3; 0,4-77,2) während die Meningeome ohne 1p Verlust einen Wert von 12,1% (SD 14,6; 0-50,2) zeigten. Ein Unterschied für 1p deletierte und diploide Meningeome in Bezug auf den Ki-67 LI war nicht nachzuweisen ($p=0,996$; U-Test).

Abb. 4.28 zeigt die Größenverteilung im Hinblick auf eine vorliegende Deletion 1p und die Verlaufsform.

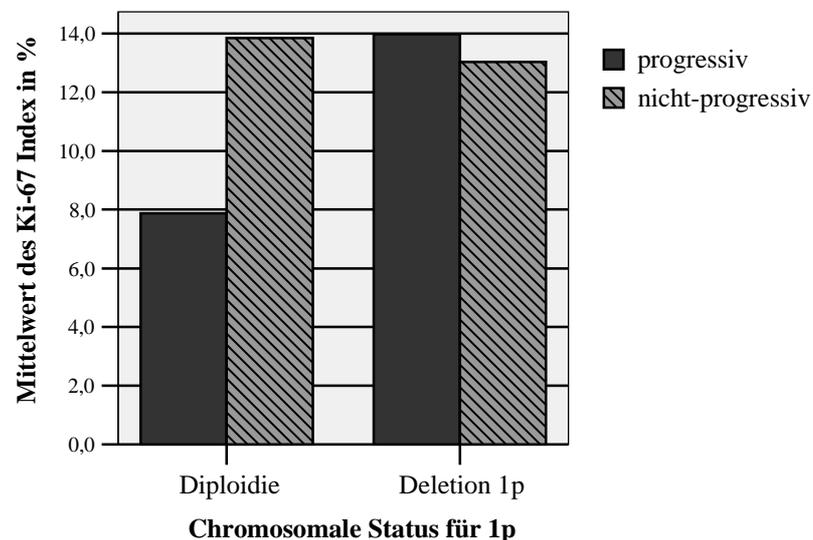


Abb. 4.28 Ki-67 Index in Abhängigkeit einer Deletion 1p bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen

Die Abbildung zeigt, dass innerhalb der progressiven Fälle Unterschiede bei den Ki-67 Werten zwischen Meningeomen mit und ohne 1p Verlust existierten (Deletion 1p 14,0%; Diploidie 7,9%). Hingegen wiesen nicht-progressive Meningeome keine wesentlichen

Unterschiede der Ki-67 Werte für Deletion 1p (13,0%) oder Diploidie 1p (13,8%) auf. Ein tendenzieller Zusammenhang zwischen höheren Ki-67 Werten und einer Aberration 1p bei progressiven Meningeomen konnte vermutet werden. Im U-Test nach Mann-Whitney konnte jedoch weder für progressive noch für nicht-progressive Fälle ein signifikanter Unterschied innerhalb der Gruppen gezeigt werden ($p=0,822$; $p=0,819$).

Meningeome die eine Deletion 14q aufwiesen besaßen einen durchschnittlichen Ki-67 Wert von 13,5% (SD 14,0; 2,0-50,5), bei fehlender Aberration zeigten sie einen mittleren Wert von 14,1% (SD 14,6; 0-50,2). Es konnte weder in der Gesamtpopulation ($p=0,876$), noch bei progressiven oder nicht-progressiven Meningeomen ein signifikanter Zusammenhang zwischen Größenzunahme des Ki-67 Wertes und Deletion 14q aufgezeigt werden ($p=0,279$; $p=0,916$; U-Test).

Der Ki-67 LI in Abhängigkeit des WHO-Grades zeigte folgende Verteilung (Abb. 4.29):

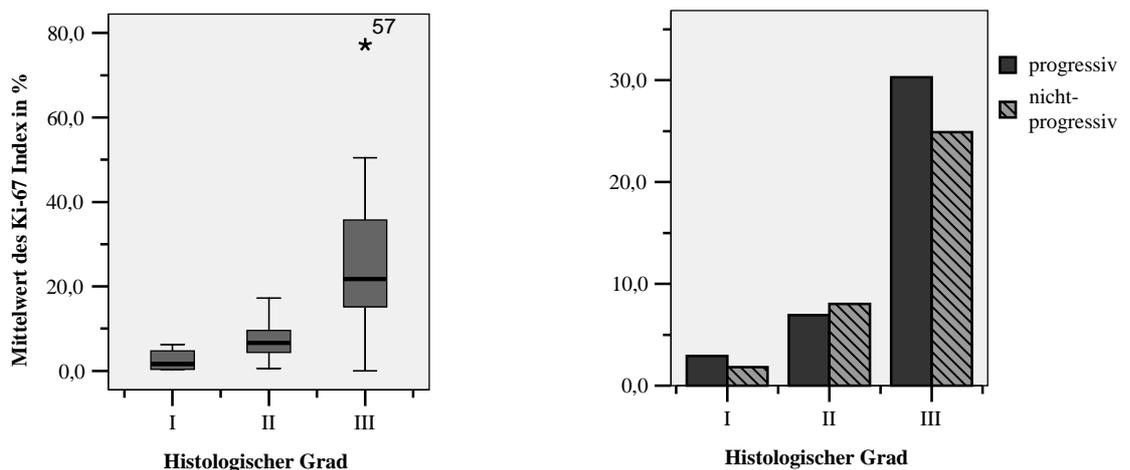


Abb. 4.29 Ki-67 Index innerhalb der Gesamtpopulation und über die histologischen Grade progressiver und nicht-progressiver Meningeome verteilt

In der hier betrachteten Population kam es zu einem Anstieg des Ki-67 LI mit ansteigendem WHO-Grad. Dies galt sowohl für die Gesamtpopulation [Grad I 2,5% (SD 2,2; 0,4-6,3), Grad II 7,5% (SD 6,4; 0,6-17,2), Grad III 27,0% (SD 19,1; 0-77,2)] als auch für die einzelnen Gruppen progressiver [Grad I 2,9% (SD 2,5; 0,4-6,3), Grad II 6,9% (SD 2,3; 3,6-10,4), Grad III 30,3% (SD 22,5; 10,5-77,2)] und nicht-progressiver Meningeome [Grad I 1,8% (SD 1,7; 0,4-5,0), Grad II 8,0% (SD 5,7; 0,6-17,2), Grad III 24,9% (SD 17,3; 0-50,5)]. Im Kruskal-Wallis Test war der Zusammenhang höherer Ki-67 Werte in Verbindung mit höheren

histologischen Graden für beide Verlaufsformen ($p=0,00092$; $p=0,0021$) und der Gesamtpopulation ($p=0,00048$) hochsignifikant.

Intraindividuell betrachtet, zeigte sich bei 26 von 27 zu Verfügung stehender Fälle, dass in 19 Fällen (73,1%) ein Anstieg des Ki-67 Wertes zwischen den Meningeomen eines Individuums über den Verlauf hinweg vorlag. In 4 Fällen (15,4%) hingegen kam es nicht zu einer Zunahme des Ki-67 Index und bei 3 weiteren Fällen (11,5%) stieg der Ki-67 Index zunächst an, um im späteren Verlauf wieder zu sinken. Der Zusammenhang ansteigender Ki-67 Werte im intraindividuellen Verlauf war im Chi-Quadrat Test hochsignifikant ($p=0,00084$).

Die Geschlechter unterschieden sich in den Ki-67 LI statistisch nicht signifikant ($p=0,314$) voneinander, jedoch wiesen Männer mit 14,1% (SD 16,9; 0-77,2) durchschnittlich etwas höhere Ki-67 Werte auf als Frauen mit 11,1 % (SD 13,2; 0,4-50,2).

Die nachfolgende Tabelle (Tab. 4.16) gibt einen Überblick über die hier beobachteten Ki-67 Markierungsraten im intraindividuellen Verlauf der betrachteten progressiven und nicht-progressiven Meningeome. In Abbildung 4.30 sind Beispiele der Ki-67 Immunreaktion sowie des Färbeverhaltens der ALPL bei progressiven Meningeomfällen aufgezeigt.

Tab. 4.16 Übersicht über den Ki-67-Markierungs-Index im intraindividuellen Verlauf bei progressiven und nicht-progressiven Meningeomen

Fall Nr.	Primärtumor			1.Rezidiv			2.Rezidiv			3.Rezidiv			4.Rezidiv			7.Rezidiv		
	Histol. Grad	Status 1p	Ki-67 LI	Histol. Grad	Status 1p	Ki-67 LI	Histol. Grad	Status 1p	Ki-67 LI	Histol. Grad	Status 1p	Ki-67 LI	Histol. Grad	1p	Ki-67 LI	Histol. Grad	Status 1p	Ki-67 LI
1				II	disom	14,2	II	disom	15,8									
2	I	del	0,4				II	del*	10,4	II	del	8,3						
3	II	del	5,2	III	del	10,5												
4				I	del	5,6				II	disom	10,0						
6	III	del	17,2	III	del	50,5	III	del	15,2									
7				III	del	30,5	III	del	35,7									
8	I	del	0,4				II	del	6,1									
9				I	del	2,0				I	del	5,0						
11	II	del	2,5	II		n.a.												
12	II	del	5,0	II	del	1,3												
13				I	del	1,7				II	del*	8,6						
14							II	del	3,6							III	del	35,0
15	I	disom	3,9										II	disom	6,5			
16	II	del	6,1				III	del	15,6									
17	II	del	9,1				II	del	3,7									
18	II	del	5,5	II	del	6,8												
19	I	n.a.	1,6	I	del	0,4												
21	I	n.a.	0,4	II	del	3,6												
23	III	disom	38,0	III	disom	50,2												
24	II	del	7,8	III	del	25,0												
25				I	del	4,7	III	del	31,8	III	del	17,0						
26	III	del	3,0	III	del	18,5												
27	II	disom	9,0	II	disom	13,7												
28	I	disom	0,9	I	disom	1,0												
29	III	del	15,1	III	del*	0**												
30	II	disom	0,6	II	disom	17,2												
31	I	n.a.	6,3	III	del	77,2												

Ki-67 LI, Ki-67 Markierungsindex = Prozentsatz immunhistochemisch markierter Zellkerne, ermittelt in 5 high-power fields (HPF) im Bereich der höchsten Markierungsrate, Angaben in %; * = 1p Deletion in klass. Zytogenetik, in der FISH disom für Chromosom 1p; ** = evtl. falsch niedriger Wert, da nicht ausgeschlossen werden kann, daß Ethmoidalzellen im Präparat vorlagen; **Fettschrift** = progressive Meningeomfälle; n.a. = kein FISH-Ergebnis vorhanden.

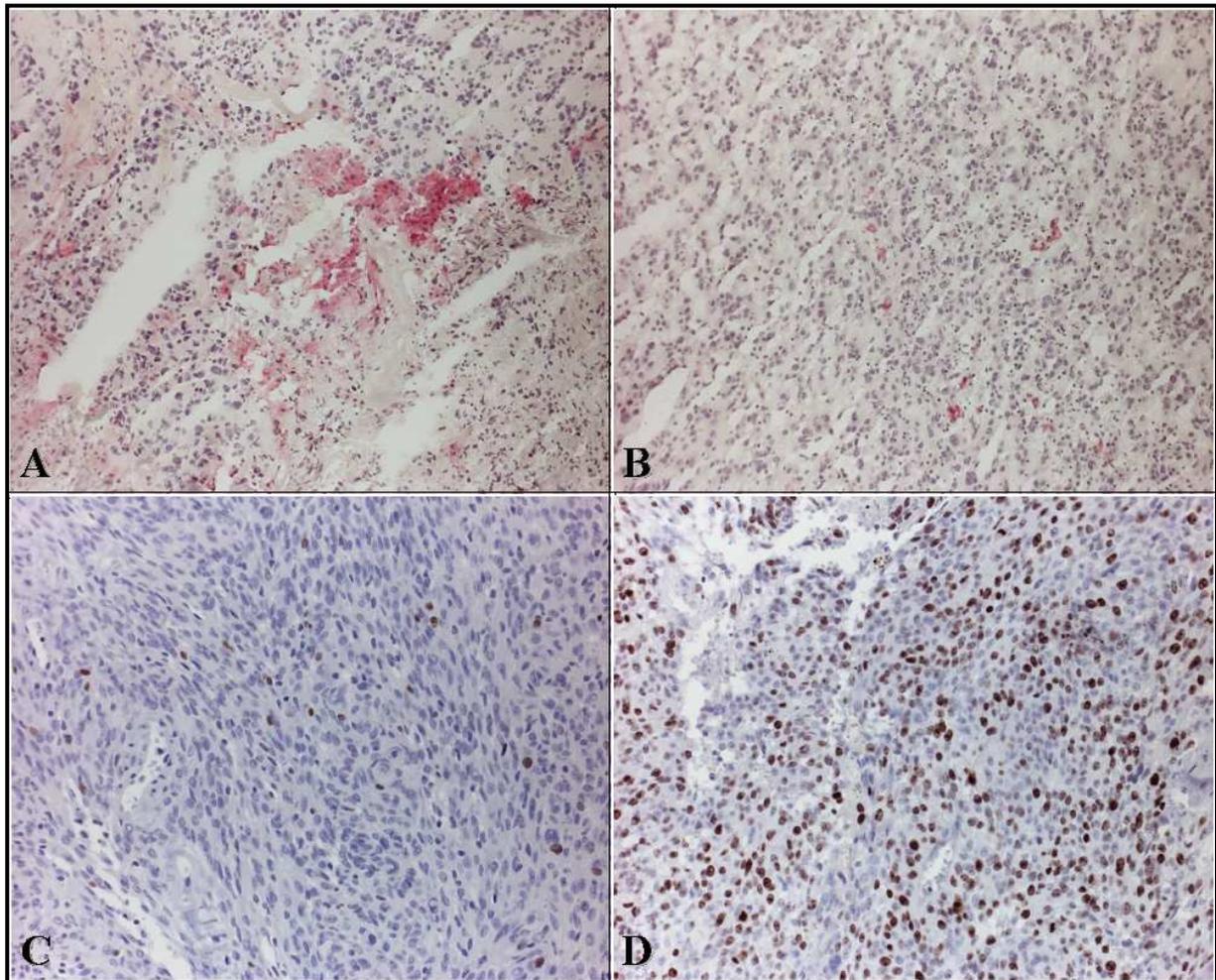


Abb. 4.30: Aktivität der alkalischen Phosphatase (ALPL) und Ki-67 Immunreaktion bei progressiven Meningeomen. **A:** ALPL Aktivität eines progressiven Meningeoms (Fall-Nr. 25, 2. Rezidiv). Die Enzymaktivität ist stellenweise in kleinen Tumoranteilen noch erhalten. **B:** ALPL Aktivität im 3. Rezidiv desselben Patienten. Die Enzymaktivität ist nun komplett ausgefallen, lediglich die Blutgefäßendothelien als interne Positivkontrolle weisen eine erhaltene Aktivität auf. **C:** Mäßiggradiger Ki-67 Markierungs-Index im Primärtumor (Fall-Nr. 31, übliches Grad I Meningeom). **D:** Hoher Ki-67 Markierungs-Index im darauf folgenden 1. Rezidiv (anaplastisches Meningeom) desselben Falles. Die Ki-67-Expression ist deutlich höher als im Primärtumor.

4.7 Invasives Verhalten von Meningeomen

In 13 der 57 Tumore (22,8%) konnte in den untersuchten Schnittpräparaten eine Hirninvasion nachgewiesen werden und bei 23 Präparaten (40,4%) eine Invasion der Dura, wobei diese in einigen Meningeomen mit einer zusätzlichen Knocheninvasion einherging.

Folgende Tabelle (Tab. 4.17) zeigt das Auftreten von hirninvasivem und durainvasivem Wachstum bezogen auf die Verlaufsform und den mittels FISH geprüften Aberrationen del 1p und del 14q.

Tab. 4.17 Invasives Verhalten von Meningeomen in Abhängigkeit von Verlaufsform und Chromosomenaberrationen

Variable	Untergruppe	Hirninvasion	Durainfiltration
Verlaufsform	progressiv	26,9 % (7 von 26)	38,5% (10 von 26)
	nicht-progressiv	19,4% (6 von 31)	41,9% (13 von 31)
FISH 1p	1p-	16,7% (6 von 36)	47,2% (17 von 36)
	diploid	41,2% (7 von 17)	23,5% (4 von 17)
FISH 14q	14q-	9,1% (1 von 11)	45,5% (5 von 11)
	diploid	28,6% (6 von 21)	38,1% (8 von 21)

Anhand der Daten zeigte sich eine leicht stärkere Tendenz einer Hirninvasion bei progressiven im Gegensatz zu nicht-progressiven Meningeomen, jedoch im X^2 -Test ohne statistisch signifikanten Zusammenhang ($p=0,541$). Bezüglich einer Durainfiltration gab es zwischen progressiven und nicht-progressiven Meningeomen keine Unterschiede ($p=1,0$; Chi-Quadrat Test).

In den Fällen mit Hirninvasion machte der Anteil an Meningeomen, die keine Aberrationen für 1p bzw. 14q aufwiesen, den größeren Anteil aus. Für Meningeome ohne 1p Deletion war dabei eine deutliche Tendenz nachweisbar ($p=0,086$), wenn auch, wie für den Verlust von 14q ($p=0,374$), kein signifikanter Zusammenhang gezeigt werden konnte. Bei den Meningeomen mit Durainvasion tendierten die Meningeome mit Verlust von 1p bzw. 14q eher dazu invasiv zu wachsen, als diejenigen mit diploidem Chromosomensatz. Im Chi-Quadrat Test war dies jedoch ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p=0,137$; $p=0,721$).

Betrachtete man das invasive Verhalten von Meningeomen innerhalb der WHO-Grade, so zeigte sich eine Hirninvasion in keinen der 14 Grad I, in 4 von 25 Grad II (16,0%) und 9 von 18 Grad III (50,0%) Meningeomen. Im Chi-Quadrat Test stellte sich der Zusammenhang zwischen Hirninvasion und höherem histologischen Grad als statistisch signifikant dar ($p=0,002$).

Eine Durainfiltration trat bei 5 von 14 Grad I (35,7%), 8 von 25 Grad II (32,0%) und 10 von 18 Grad III (55,6%) Meningeomen auf. Der Zusammenhang war im Chi-Quadrat Test statistisch nicht signifikant ($p=0,332$).

In Bezug auf das Auftreten von Invasivität im zeitlichen Verlauf rezidivierender Meningeome zeigte sich für die Hirninvasion bzw. Durainvasion folgende Verteilung:

Tab. 4.18 Invasives Verhalten von Meningeomen in Abhängigkeit des Zeitpunktes der Tumorentwicklung

Zeitpunkt der Untersuchung	Hirninvasion	Durainfiltration
Primärtumor	5% (1 von 20)	50% (10 von 20)
1. Rezidiv	28,6% (6 von 21)	38,1% (8 von 21)
2. Rezidiv	33,3% (3 von 9)	33,3% (3 von 9)
3. Rezidiv	20% (1 von 5)	20% (1 von 5)
4. Rezidiv	100% (1 von 1)	0% (0 von 1)
7. Rezidiv	100% (1 von 1)	100% (1 von 1)

Aufgrund der geringen Größe der Subpopulationen wurde die Gruppe der Rezidive zusammengefasst und mit der Gruppe der Primärtumore verglichen. Für die Hirninvasion zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer Hirninvasion und dem Auftreten zu einem späteren Zeitpunkt als dem Primärtumor innerhalb der Tumorentwicklung ($p=0,022$). Für die Durainfiltration ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang nachweisen ($p=0,397$).

5. Diskussion

5.1 Methodik

In der hier präsentierten Arbeit sollte der chromosomale Status für die Chromosomenabschnitte 1p und 14q an Archivtumorgewebe rezidivierter Meningeome erhoben werden. Vorhandene Verluste sollten erfasst und reproduzierbar nachgewiesen werden. Für den Nachweis einer Deletion des kurzen Arms von Chromosom 1 wurde eine „double-target“ FISH durchgeführt. Dies bedeutet, dass für das Chromosom 1 zwei Sonden eingesetzt wurden, wobei die eine telomerständig (1p36; D1Z2-Sonde) auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 und die andere am zentromernahen Heterochromatin (1qh; D1Z1-Sonde) bindet. Durch die zusätzliche Anwendung der 1qh-Sonde konnte auf die insgesamt vorliegende Anzahl an Chromosomen 1 geschlossen werden. Dies wiederum ermöglichte in Bezug auf den Chromosomenabschnitt 1p nicht nur eine Aussage über absolute Verluste, sondern auch über relative Deletionen im Kontext des Gesamtchromosomensatzes. Von Bedeutung ist dies, außer bei diploiden Meningeomen, vor allem in Fällen mit tetraploidem oder hypotetraploidem Chromosomensatz (Lichter et al. 1991), deren Vorkommen bei Meningeomen bereits mehrfach beschrieben wurde (Zang et al. 1967, Zang 1982, Zorludemir et al. 1995, Müller et al. 1999, Sayagues et al. 2004, Espinosa et al. 2006, Pelz et al. 2007). Die Methode der „double-target“ FISH für das Chromosom 1 gilt als etablierte Methode und wurde bereits mehrfach in FISH-Studien an Paraffinmaterial (Müller et al. 1999, Espinosa et al. 2006) oder an Zellsuspensionen (Ishino et al. 1998) von Meningeomen sowie auch an anderen Hirntumoren, wie oligodendroglialen Tumoren (Hashimoto et al. 1995) oder Astrozytomen (Wernicke et al. 1997) durchgeführt.

In Kombination mit anderen chromosomalen Markern wurde die hier verwendete Sonde D1Z2 (QBiogene) auch in zahlreichen weiteren zytogenetischen Arbeiten an Meningeomen angewandt (Maillo et al. 2003, Sayagues et al. 2004, Lopez-Gines et al. 2004, Yilmaz et al. 2005, Espinosa et al. 2006). In den meisten Fällen wurde ebenfalls die mit Fluorescein direkt markierte Sonde benutzt. Im Vergleich zu indirekt markierten Sonden ist dies weniger aufwendig und bietet darüber hinaus den Vorteil eines „saubereren“ Hintergrundes (Fuller et al. 2002). Für den Nachweis eines 14q Verlustes wurde die telomerspezifische DNA-Sonde (D14S1419) eingesetzt. Beim Chromosom 14 handelt es sich um ein Chromosom, das zur Gruppe der mittelgroßen akrozentrischen Chromosomen gehört und dessen Zentromer nah am Ende des Chromosoms zu finden ist. Der Abschnitt des kurzen Arms (p) ist somit relativ kurz. In der hier durchgeführten Untersuchung war aus Gründen der fehlenden Verfügbarkeit einer

entsprechenden Gensonde für den Chromosomenabschnitt 14p, der parallele Einsatz einer Sonde für den langen und eine für den kurzen Arm des Chromosoms 14 nicht möglich.

Die gleiche direkt mit Fluorescein markierte Sonde von QBiogene fand auch in der Studie von Lopez-Gines et al. 2004 an Paraffinmaterial von Meningeomen zum Nachweis eines 14q Verlustes Verwendung. Insgesamt fanden sich in den letzten Jahren einige Arbeiten, die den chromosomalen Status für 14q in Meningeomen untersuchten (Tse et al. 1997, Cai et al. 2001, Pfisterer et al. 2004, Rajaram et al. 2004, Taberero et al. 2005, Espinosa et al. 2006).

Studien an Meningeomen, die wie an dieser Stelle sowohl eine Deletion 14q als auch den Verlust von 1p untersuchten, finden sich beispielsweise bei Cai et al. 2001 sowie in einigen weiteren Studien (Leone et al. 1999, Lamszus et al. 1999, Maillo et al. 2003, Lopez-Gines et al. 2004, Rajaram et al. 2004, Espinosa et al. 2006).

Intraindividuelle zytogenetische Studien an Meningeomen finden sich hingegen lediglich in einem begrenzten Umfang (Ishino et al. 1998, Lamszus et al. 1999, Lopez-Gines et al. 2001, Lopez-Gines et al. 2004, Al-Mefty et al. 2004, Espinosa et al. 2006). Nach bestem Wissen, sowie im Rahmen der durchgeführten Literaturrecherche, handelt es sich bei dieser Arbeit bis zum jetzigen Zeitpunkt um die umfangreichste zytogenetisch und intraindividuell untersuchte Population progressiver Meningeome. Vergleichbare intraindividuelle Studien, wie die von Al-Mefty et al. (2004), umfassen lediglich vier progressive Meningeomfälle oder Lamszus et al. (1999), Lopez-Gines et al. (2001) und Ishino et al. (1998) jeweils drei progressive Meningeomfälle.

Espinosa et al. (2006) konnten insgesamt 19 intraindividuell betrachtete rezidivierende Meningeome zusammenstellen, davon 16 ab dem Primärtumor. In der hier vorgelegten Arbeit waren es 23 intraindividuell erfolgreich untersuchte Meningeomfälle, darunter ebenfalls 16 Meningeomfälle, die ab dem Primärtumor betrachtet werden konnten. Bei den von Espinosa et al. (2006) untersuchten Meningeomen handelte es sich jedoch um rezidivierende nicht-progressive Meningeomfälle ohne Einbeziehung progressiv verlaufender Meningeome.

Der hier gewählte zeitliche Rahmen von 18 Jahren umfasst eine Population von 1289 retrospektiv betrachteten Meningeomen. Insgesamt konnten 31 rezidivierende Meningeomfälle mit verfügbarem paraffineingebetteten Tumorgewebe und vorausgegangener vollständiger Tumorsektion identifiziert werden, wobei 15 nicht-progressive und 12 progressive Meningeomfälle intraindividuell zytogenetisch untersucht wurden. Im Vergleich dazu umfasst die intraindividuelle Studie von Lamszus et al. (1999) einen Betrachtungszeitraum von 17 Jahren mit einer Gesamtpopulation von 923 Meningeomen. In der intraindividuellen Studie von Al-Mefty et al. (2004) wurde eine Population von 175

rezidivierenden Meningeomen betrachtet. Bei Espinosa et al. (2006) wurden innerhalb von 157 Meningeompatienten 25 rezidivierende Meningeomfälle, davon 19 Fälle intraindividuell untersucht. In den übrigen intraindividuellen Studien war die Zeitspanne, in der sich der Untersuchungsrahmen erstreckte, aus der Datenlage nicht eindeutig ersichtlich.

Zum Nachweis zytogenetischer Aberrationen in Meningeomgewebe wurde in dieser Arbeit die Methode der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung an Paraffinschnitten gewählt. In der Literatur finden sich vergleichbare Arbeiten der Zweifarben-Interphase-FISH an Paraffinschnitten von Meningeomen bei Müller et al. (1999), Cai et al. (2001), Perry et al. (2002), Yilmaz et al. (2005) und Espinosa et al. (2006).

Ebenso wie Hashimoto et al. (1995) postulierten bereits Schneider et al. (1995) anhand ihrer Ergebnisse an Paraffinmaterial, dass die FISH-Methodik ein zuverlässiges Verfahren sei, um chromosomale Verluste nachzuweisen. Sie schätzen sie als sensitiver ein, als die üblichen zytogenetischen Standardmethoden. Zusätzlich postulieren sie, dass durch die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung in Zelllinien chromosomale Aberrationen detektiert werden konnten, welche in der klassischen Zytogenetik nicht nachweisbar gewesen waren. Zum gleichen Ergebnis kamen in ihren Arbeiten an Meningeomen Lopez-Gines et al. (2001) und Al-Mefty et al. (2004), die der FISH eine höhere Präzision und Sensitivität als den konventionellen zytogenetischen Analysen zuschreiben. Auch Arnoldus et al. (1992) beschreiben die Interphase-FISH als effektives und schnelles Verfahren, um zytogenetische Veränderungen in Hirntumoren ausfindig zu machen.

Durch Verwendung des speziell für Paraffinmaterial entwickelten „Tissue Converting Kit“ von QBiogene waren gute Resultate bezüglich der Gewebepreparation sowie ein hoher Hybridisierungserfolg zu erzielen. Küsters et al. 2006 arbeiteten in ihrer onkologischen Studie ebenfalls erfolgreich mit gleichem Vorbehandlungskit (QBiogene) sowie mit dem auch hier angewandten Enzym Proteinase K zur weiteren Gewebeaufschlüsselung.

An nachweisbaren Aberrationen umfasst die FISH Deletionen, Imbalancen, Polysomien, Translokationen und Genamplifikationen (Nagasaka et al. 2007). Neben einer Reihe von Vorteilen, welche die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung an Interphasekernen bietet, stellt die Möglichkeit der Anwendbarkeit bei einem umfangreichen Spektrum an archiviertem formalinfixiertem und in Paraffin eingebetteten Patientenmaterial einen der bedeutendsten Vorzüge dar (Nagasaka et al. 2007). Bei anderen Arten von Gewebeproben, wie beispielsweise Ausstrichpräparaten oder Kryostatschnitten, ist die Verfügbarkeit an Proben oftmals quantitativ eingeschränkt und die intraindividuelle Krankheitsgeschichte betreffend lückenhaft. Paraffinmaterial hingegen erlaubt eine zeitlich weitreichende Betrachtung

gewünschter Populationen. Ein weiterer Vorteil, den Hopman et al. 1988 sowie Fuller und Perry (Fuller et al. 2002) beschreiben, ist die im Vergleich zur klassischen Zytogenetik nicht notwendige Zellkultur, womit die Selektionsgefahr oder der Verlust einzelner Tumorzellklone umgangen werden kann. Auch die Gefahr von anwachsendem Normalgewebe wird vermieden. Zwar stellt die klassische Zytogenetik den Goldstandard zum Nachweis chromosomaler Abberationen in soliden Tumoren dar, dies bleibt jedoch begrenzt auf die Fälle, in denen frische Gewebeproben zur Verfügung stehen (Schneider et al. 1995). Die FISH ist zudem ein Verfahren, in dem keine mitotisch aktiven Zellen benötigt werden, was im Rahmen der Anzuchtung niedrigmaligner Tumore mit Problemen verbunden sein kann. Im Vergleich zur GTG-Bänderung ermöglicht die Methode der FISH die Auswertung einer größeren Zahl an Meningeomzellen, als dies bei einer geringen Anzahl auswertbarer Mitosen der Fall ist. Im Gegensatz zur PCR, die im Nachweis kleiner Aberrationen oder Translokationen der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung deutlich überlegen ist, benötigt die FISH bei größeren Aberrationen in heterogenem Gewebe lediglich 5%-30% an Tumorgewebe, um Verluste oder Zugewinne sensitiv und spezifisch nachzuweisen. Bei der PCR hingegen muss dabei mindestens ein Anteil von 70% an Tumorgewebe vorliegen (Fuller et al. 2002). Der Vorteil der FISH im Vergleich zu Untersuchungen auf Verlust von Heterozygotie („loss of heterozygosity“ (LOH)) besteht darin, dass die Interphase-FISH kein zusätzliches Normalgewebe des Patienten benötigt.

Die bedeutsamsten Nachteile der Methodik ergeben sich aus der Tatsache, dass verfahrensbedingt ein Teil der betrachteten Kerne in angeschnittener Form vorliegen und es so zu Fehlinterpretationen, die Signalanzahl betreffend, kommen kann. Umso wichtiger ist die Durchführung von Hybridisierungen an Kontrollgewebe gleicher Schnittdicke (Fuller et al. 2002). Der Vergleich der Ergebnisse mit denen des analog behandelten Kontrollgewebes führt zu einem Ausgleich der durch den Anschnitt von Zellkernen provozierten Änderungen (Schneider et al. 1995). Das Erstellen von Cut-off Werten hilft somit aussagekräftige Rückschlüsse bezüglich vorliegender Aberrationen ziehen zu können. Die hier gewählte Schnittdicke von 6µm wurde erfolgreich auch bei anderen FISH Studien angewendet (Pfisterer et al. 2008).

Ebenfalls nachteilig kann sich das Auftreten von Artefakten, Autofluoreszenz und partieller Hybridisierung auswirken. Zudem wird die Qualität der Hybridisierung von dem Gewebezustand beeinflusst. Dass es im Laufe der Zeit zur Abblassung der Sondensignale kommt, stellt eine weitere Schwäche der Methodik dar. Bilderfassungs- und

Bildbearbeitungsprogramme ermöglichen jedoch eine dauerhafte Dokumentation der Untersuchungsergebnisse.

Bei Fuller und Perry (Fuller et al. 2002) findet die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung bereits Anwendung in der Routinediagnostik oligodendroglialer Tumore.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Klinische und histomorphologische Daten, Ki-67 LI und ALPL

5.2.1.1 Verlaufsdaten

Die hier erhobene Arbeit umfasst eine ursprüngliche Gesamtpopulation von 1289 retrospektiv betrachteten Meningeomen. Es ließen sich 19 nicht-progressive und 12 progressive Meningeome eruieren, die die vorgegebenen Einschlusskriterien erfüllten. Bezogen auf das intraindividuell vollzogene histologische Upgrading ergibt sich demnach eine Progressionsrate von 0,8% innerhalb eines Zeitraums von 18 Jahren. Vergleicht man diese Zahl mit Angaben aus der vergleichbaren Literatur, so ermittelten Lamszus et al. (1999) mit 3 progressiven von 923 Meningeomen innerhalb von 17 Jahren eine Progressionsrate von 0,33%, Jääskeläinen et al. 1985 innerhalb eines Zeitraums von 27 Jahren und 8 progressiven von 936 Meningeomen eine Progressionsrate von 0,85% und Yang et al. (2008) mit 20 progressiven Meningeomen aus einer Population von 1089 Meningeomen innerhalb eines Zeitraums von 18 Jahren eine Progressionsrate von 1,8%. In verschiedenen anderen Studien wird von einem Bereich von 0,16%-2% gesprochen (Jellinger et al. 1975, Rohringer et al. 1989). Der hier ermittelte Wert entspricht demnach der bisher bekannten Häufigkeit progressiv verlaufender Meningeome.

In Bezug auf die Geschlechtsverteilung lag das Verhältnis zwischen Männern und Frauen bei den progressiven Meningeomen bei 1:1 und bei den nicht-progressiven Meningeomen bei 1:1,7. In der Studie von Schiffer et al. (2005), die 76 rezidivierende Meningeome betrachteten, ergab sich ein geschlechtsgebundenes Verhältnis von Männern zu Frauen von ebenfalls 1:1,7 (Mann:Frau). Dahingegen ist die allgemeine geschätzte Inzidenz von Meningeomen bei Frauen mit einem Verhältnis von etwa 1:2-1:3 mehr als doppelt so hoch wie bei Männern (Zankl 1980, Zang 1982, Lamszus et al. 2004). Mit ansteigender Malignität sind zunehmend männliche Patienten betroffen, was zu einer geschlechtsbezogenen Angleichung innerhalb der Häufigkeitsverteilung von Meningeomen führt (Rohringer et al. 1989, Louis et al. 2000, Zang 2001, Mihaila et al. 2003). Auch Ketter et al. (2001) sehen einen solchen „sex-shift“ in Verbindung mit dem Auftreten progressionsassoziiierter chromosomaler Aberrationen von Meningeomen, insbesondere den Verlust von Chromosom

1p betreffend. Sie beschreiben eine Angleichung der Inzidenzen des weiblichen und männlichen Geschlechts bei Meningeomen mit 1p Deletion mit einem ausgeglichenen Verhältnis von 1:1,1 (Mann:Frau). Über eine gleiche, ausgeglichene Geschlechtsverteilung berichten auch Espinosa et al. 2006. Lopez-Gines et al. (2004) ermitteln bei Meningeomen mit 1p Deletion sogar ein Verhältnis von 1,5:1 (Mann:Frau) und in den Fällen eines kombinierten 1p und 14q Verlustes ein Verhältnis von 1:1. Dies entspricht dem Verhältnis der hier betrachteten Population progressiver Meningeome, deren progressiver Verlauf gehäuft mit einer Kombination aus Deletion 1p und 14q Verlust einherging. Auch Zang (1982) beschreibt das Phänomen der Häufigkeitsangleichung zwischen den Geschlechtern für Meningeome mit hypodiploidem Chromosomensatz. In übereinstimmender Weise beschreiben Taberner et al. (2007), dass Männer häufiger als Frauen chromosomale Aberrationen, die nicht der einfachen Monosomie 22 entsprechen, aufweisen. Frauen hingegen zeigen häufiger chromosomale Zugewinne oder oftmals den alleinigen Verlust von Chromosom 22. Da das männliche Geschlecht auch häufiger mit einem malignen Verlauf von Meningeomen assoziiert ist (Thomas et al. 1981, Mahmood et al. 1993, Perry et al. 1997, Louis et al. 2000), stellt sich die Frage nach den mit dem malignen Verlauf einhergehenden chromosomalen Aberrationen.

Ein Erklärungsversuch wäre, dass der Progesteronrezeptor in niedrig-gradigen Meningeomen stark und in höher-gradigen Meningeomen bzw. Rezidiven vermindert ausgebildet ist oder komplett fehlt (Zang 2001). Auch Simon et al. (2007) beschreiben die Abnahme an Progesteronrezeptoren in Verbindung mit der malignen Progression von Meningeomen. Da Frauen mehr Progesteron produzieren, scheint laut Zang (2001) eine mögliche Ursache des häufigeren Auftretens von benignen Meningeomen beim weiblichen Geschlecht und eine Erklärung für eine Angleichung im Verhältnis von Männern zu Frauen bei malignen Meningeomen gefunden zu sein. Auch Mahmood et al. (1993) sehen den Verlust der weiblichen Prädominanz in malignen Meningeomen dadurch bedingt, dass ein endokrinologischer Faktor, der für die Genese von benignen Meningeomen von Bedeutung ist, bei malignen Meningeomen nicht aktiv ist. So konnten Whittle et al. (1984) eine negative Korrelation der Aktivität von Progesteron mit ansteigendem histologischen Grad zeigen.

Das mittlere Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose lag in dieser Arbeit für die Gesamtpopulation bei 49,7 Jahren, bei den progressiven Meningeomen bei 46,2 Jahren und bei den nicht-progressiven Meningeomen bei 51,9 Jahren. Zang (2001) spricht von einem generellen mittleren Manifestationsalter für Meningeome in der sechsten Lebensdekade. Marks et al. (1986) fanden in ihrer Arbeit über rezidivierende Meningeome ein mittleres

Erstmanifestationsalter von 50 Jahren. Diese Population war im Vergleich zu ihrer betrachteten Gesamtpopulation (59,9 Jahre) circa 10 Jahre jünger. Jääskeläinen et al. (1985), Ishino et al. (1998) und Espinosa et al. (2006) fanden in ihren Arbeiten über rezidivierende Meningeome ein mittleres Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, welches von 46 Jahre bis 50 Jahre reichte. Ayerbe et al. (1999) fanden bei ihren 44 rezidivierenden (4 progressive und 40 nicht-progressive) Meningeomen ein zu dieser Arbeit exakt gleiches Erstmanifestationsalter mit 49,7 Jahren. Der Fallbericht eines rezidivierenden, extrakraniell metastasierenden Grad I Meningeoms von Mori et al. (1988) zeigte bei der Patientin ein Alter bei Erstdiagnose von 51 Jahren. In der intraindividuellen Studie von Al-Mefty et al. (2004) ergab sich für 11 progressive Meningeome ein mittleres Alter zum Diagnosezeitpunkt von 49,9 Jahren. Die zeitliche Latenz bis zum ausgebildeten 1. Rezidiv betrug in dieser Arbeit für die Gesamtpopulation 63,4 Monate. In der Studie von Ayerbe et al. (1999) betrug bei 44 rezidivierenden progressiven und nicht-progressiven Meningeomen die Zeit bis zum 1. Rezidiv ca. 55 Monate. Stärker abweichend präsentieren sich die Daten über rezidivierende Meningeome in der intraindividuellen Studie von Espinosa et al. (2006), die einen Zeitraum bis zum Auftreten des 1. Rezidivs von durchschnittlich 91 Monaten fanden. Dennoch passt der hier dargestellte Zeitraum bis zum 1. Rezidiv progressiver und nicht-progressiver Meningeome, zu den nach oben und unten divergierenden Angaben der Literatur. Bei den 12 progressiven Meningeomfällen dieser Arbeit betrug die Latenz bis zum 1. Rezidiv 86,2 Monate. Vergleichbare Latenzen bei 11 progressiven Meningeomfällen fanden auch Al-Mefty et al. (2004) mit einer mittleren Latenz von 71,3 Monaten. Betrachtete man die Latenz bis zum 1. Rezidiv in Bezug auf eine vorliegende 1p Deletion, so zeigte sich, dass bei Meningeomfällen, die einen 1p Verlust aufwiesen, im Mittel 35 Monate später als bei Meningeomfällen mit Disomie 1p ein Rezidiv auftrat. Auch Grad I Meningeome mit Deletion 1p unterschieden sich von Grad I Meningeomen ohne 1p Verlust in ihrer Latenz bis zum 1. Rezidiv und bildeten durchschnittlich 41,8 Monate später als letztgenannte das erste Rezidiv aus.

Die Zeit bis zur Progression des Primärtumors betrug hier im Mittel 109,9 Monate. Bei Al-Mefty et al. (2004) waren es 113,7 Monate. Yamazaki et al. (1994) und Palma et al. (1997) zeigten beide für jeweils einen einzelnen progressiven Meningeomfall eine mittlere Progressionszeit von 96 Monaten. Der hier ermittelte Zeitrahmen scheint demnach repräsentativ für die Gruppe der progressiven Meningeome zu sein. Die von Yang et al. (2008) ermittelte Progressionszeit lag bei 70,0-89,7 Monaten bei Grad I zu Grad II und Grad I

zu Grad III Progressionen, bei einem Progress von Grad II zu Grad III im Mittel jedoch nur bei 39,8 Monaten.

Insgesamt fand sich bei der in dieser Arbeit betrachteten Meningeompopulation eine mittlere Rezidivrate von 1,9 Rezidiven pro Fall. Progressive Meningeomfälle bildeten im Mittel 2,7 Rezidive (1-7) und nicht-progressive Meningeomfälle 1,4 Rezidive (1-3) aus. Eine der wenigen Studien, die sich über diesen Zusammenhang bei rezidivierenden Meningeomen äußert, ist die Arbeit von Palma et al. (1997). Diese fanden innerhalb einer Gruppe von 23 rezidivierenden Grad II Meningeomen eine Rezidivanzahl im Mittel von 2 Rezidiven (1 bis 6 Rezidive) pro Meningeomfall. Bei Schiffer et al. (2005) waren es in einer Studie über 76 rezidivierende Meningeome ein bis maximal fünf Meningeome pro Fall. Yang et al. (2008) halten in ihrer Studie fest, dass die Rezidivhäufigkeit in progressiven Meningeomen nachweislich signifikant größer ist als in nicht-progressiven Meningeomen.

5.2.1.2 Lokalisation

In dieser Arbeit war mit 58,8% der Anteil an supratentoriellen Meningeomen innerhalb der Gesamtpopulation am stärksten vertreten. Bei den progressiven Meningeomen war der Anteil mit 63,6% noch ein wenig größer. Am zweithäufigsten waren die Schädelbasismeningeome vertreten, anteilmäßig vor den infratentoriellen und spinalen Meningeomen. Dass höhergradige Meningeome vermehrt an der Konvexität zu finden sind, beschreiben bereits Wong et al. (1984), Rohringer et al. (1989) und Maier et al. (1992). In der Literatur verweisen weitere Autoren auf eine erhöhte Rezidivrate bei Konvexitäts-, Falx- oder parasagittalen Meningeomen im Vergleich zu Schädelbasis- oder spinalen Meningeomen (Skullered et al. 1974, Jellinger et al. 1975, Christensen et al. 1983, Beks et al. 1988, Ketter et al. 2008), was ebenfalls zu den hier gefundenen Ergebnissen passt. Auch ein Fallbericht von Mori et al. (1988) über ein maligne verlaufendes rezidivierendes und metastasierendes Meningeom zeigte einen parasagittal lokalisierten Primärtumor. Adegbite et al. (1983) und Marks et al. (1986) hingegen fanden keinen Zusammenhang zwischen Lokalisation und Rezidivhäufigkeit. Grad II und Grad III Meningeome fanden sich hier gehäuft supratentoriell (60,9%, 62,5%), wohingegen bei den Grad I Meningeomen der Anteil der Schädelbasismeningeome am höchsten war (41,7%). Auch Sade et al. (2007) sahen mehr Grad II und Grad III Meningeome bei den supratentoriellen Tumoren als dies bei den Schädelbasismeningeomen oder spinalen Meningeomen der Fall war. Sie machten dafür eine unterschiedliche Tumorigenese verantwortlich. Niedermayer et al. (1998), Lekanne Deprez et al. (1995), Louis et al. (2000)

und Ketter et al. (2008) beschreiben ebenfalls häufiger höhergradige Meningeome, die an der Konvexität lokalisiert sind.

Männliche Patienten bildeten hier zu 4/5 der Fälle supratentorielle Meningeome aus, während es bei den weiblichen Patienten nur knapp 2/5 der Fälle waren. Ketter et al. (2008) sehen höhergradige Meningeome häufiger bei Männern, jedoch unabhängig von ihrer Lokalisation. Sie konnten jedoch zeigen, dass das männliche Geschlecht bei Meningeomen mit chromosomalen Aberrationen stärker vertreten und diese wiederum vor allem an der Konvexität lokalisiert waren. Dazu beschreiben Ketter et al. (2008), ähnlich wie Müller et al. (1999) ein signifikant häufigeres Auftreten von Meningeomen mit 1p Deletion an der Konvexität. Einen entsprechenden Zusammenhang konnten sie auch für den Verlust von Chromosom 14q und der Lokalisation nachweisen. Der Anteil an Meningeomen mit unauffälligem Karyotyp war in ihrer Studie bei den Schädelbasismeningeomen am größten. Auch Zankl et Zang (1980), Zang (1982), Casalone et al. (1990) und Lekanne Deprez et al. (1995) sehen bei Schädelbasismeningeomen oftmals einen normalen Karyotyp und bei Konvexitätsmeningeomen eine vermehrte Hypoploidie bzw. einen abnormen Karyotyp. In der vorliegenden Studie unterschieden sich Meningeome mit 1p Deletion, die präferenziell supratentoriell auftraten, in ihrer Lokalisation statistisch signifikant von Meningeomen mit Diploidie 1p. Eine Deletion 14q lag hier ausnahmslos bei supratentoriell gelegenen Meningeomen vor. Beide gefundenen Ergebnisse bestätigen oben genannte Erkenntnisse aus der Literatur.

Eine spinale Manifestation trat in dieser Arbeit insgesamt in vier Meningeomen innerhalb zweier Meningeomfälle auf. In beiden Fällen handelte es sich um weibliche Patienten. Der erste Fall stellt einen lumbal lokalisierten progressiven Meningeomfall und der zweite einen zervikal lokalisierten nicht-progressiven Meningeomfall dar. Die Literatur beschreibt ein gehäuftes Auftreten spinaler Meningeome beim weiblichen Geschlecht (Levy et al. 1982, Roux et al. 1996, Gezen et al. 2000, Schaller 2005, Roser et al. 2006, Gelabert-Gonzalez et al. 2006, Simon et al. 2007), wie dies auch hier der Fall war. Dadurch, dass die Rezidivrate bei spinalen Meningeomen gering ist (Gelabert-Gonzalez et al. 2006, Espinosa et al. 2006), wird die hier mit 2 von 31 Fällen geringe Anzahl an gefundenen rezidivierenden spinalen Meningeomen erklärbar. Langzeitstudien sprechen von Rezidivraten von 3%-7,4% (Jellinger et al. 1975, Levy et al. 1982, Solero et al. 1989, Roux et al. 1996, Roser et al. 2004, Schaller 2005). Es finden sich dennoch regelmäßig Berichte über das Auftreten rezidivierender spinaler Meningeome (Roux et al. 1996, Gezen et al. 2000, Doita et al. 2001, Schaller 2005, Nadkarni et al. 2005, Barbanera et al. 2007). Bei den spinalen Meningeomen handelt es sich

in den meisten Fällen um benigne Meningeome (Zang 2001, Espinosa et al. 2006). Dass auch spinale Grad II Meningeome auftreten können, bestätigen Berichte von Niedermayer et al. (1998) und Arslantas et al. (2003). Ein Fall eines progressiven spinalen Meningeoms konnte während der Literaturrecherche nicht ausfindig gemacht werden, so dass der hier intraindividuell beschriebene Fall mutmaßlich den ersten seiner Art darstellt.

5.2.1.3 Histomorphologie und Ki-67 Kernmarkierungsrate

In dieser Arbeit fanden sich unter den Ausgangstumoren 11 Grad I (40,7%), 11 Grad II (40,7%) und 5 Grad III (18,6 %) Meningeome. Innerhalb rezidivierender progressiver Meningeome entwickelten sich aus 8 Grad I Meningeomen im Verlauf höhergradige Meningeome, darunter 6 Progressionen von Grad I zu Grad II und 2 Progressionen von Grad I zu Grad III. Zusätzlich progredierte 4 Grad II Meningeome zu Grad III Meningeomen. Bei den nicht-progressiven Meningeomen entwickelten während des Beobachtungszeitraumes 3 Grad I (20,0%), 7 Grad II (46,7%) und 5 Grad III (33,3%) Meningeome Rezidive.

Insgesamt kann davon ausgegangen werden, dass der biologische Progress in allen Graden deutlich häufiger auftritt, als er histologisch feststellbar ist. In einer Mehrzahl der Fälle (73,1%) konnte unabhängig von histologischen Ausprägungen einer Progression, eine Zunahme der morphometrisch ermittelten Ki-67 Markierungsrate im intraindividuellen Verlauf gezeigt werden. Auch zwei der drei nicht-progressiven Grad I Meningeome zeigten in gleicher Weise eine Zunahme der mittels Ki-67-Expression ermittelten proliferativen Aktivität vom Primär- zum Rezidivtumor. Von einem solchen sich signifikant zunehmenden Ki-67 Markierungs-Index zwischen Primär- und Rezidivtumor sprechen auch die Studien von Matsuno et al. (1996), Roser et al. (2004) und Schiffer et al. (2005). Entsprechendes konnte Al-Mefty et al. (2004) in seiner Studie zeigen. In geringem Umfang existieren Arbeiten, die keinen solchen Anstieg beschreiben konnten, wie beispielsweise bei Madsen et al. (1997), Abramovich et al. (1999) und Nakasu et al. (1999). Generell kann die Ki-67 Markierungsrate jedoch als Faktor angesehen werden, der wichtige Zusatzinformationen liefert. Des Weiteren konnte in dieser Arbeit bezüglich der Ki-67 Kernmarkierungsrate eine signifikante Größenzunahme in Korrelation mit den histologischen Graden festgestellt werden. Bestätigt werden diese Ergebnisse durch Befunde von Kolles et al. (1995), Matsuno et al. (1996), Boström et al. (1997), Maier et al. (1997), Weber et al. (1997), Abramovich et al. (1998), Perry et al. (1998), Hsu et al. (1998), Cerda-Nicolas et al. (2000), Amatya et al. (2001), Roser et al. (2004), Schiffer et al. (2005), Kim et al. (2006a), Kim et al. (2007) und Yang et al. (2008). Insgesamt erstreckten sich die hier ermittelten Ki-67 Markierungs-Indices von

weniger als 1% bis maximal 77,2%. Zwischen progressiven und nicht-progressiven Meningeomen konnte dabei kein signifikanter Unterschied in den Ki-67 Markierungs-Indices gezeigt werden, was Yang et al. (2008) in ihrer Arbeit ebenfalls nicht gelang. Ebenso fand sich kein statistischer Unterschied innerhalb der Ki-67 Markierungsrate im Zusammenhang mit vorliegender Diploidie oder Deletion von 1p. Boström et al. (1997) konnte diesbezüglich in der Gruppe von benignen und atypischen Meningeomen ebenfalls keinen Unterschied dokumentieren. Hingegen sprechen Striepecke et al. (1996), Boström et al. (1997) sowie Murakami et al. (2003) in ihren Arbeiten über eine deutliche Korrelation von erhöhten Ki-67 Werten und einer Deletion von Chromosom 1p bei Meningeomen. Die Ki-67 Werte von Meningeomen mit 1p Deletion waren hier unabhängig vom histologischen Grad mit 13,5% zwar überdurchschnittlich hoch, jedoch war der Ki-67 LI auch bei den rezidivierenden Meningeomen mit Diploidie 1p (12,1%) erhöht. Daher ist anzunehmen, dass höhere Ki-67 Werte mit einer erhöhten Rezidivneigung vergesellschaftet sind sowie nicht per se eine Deletion 1p bedingen, aber zumindest damit assoziiert sind. Otha et al. (1994), Kolles et al. (1995), Matsuno et al. (1996), Vankalakunti et al. (2007) und Pfisterer et al. (2008) sprechen über signifikante Unterschiede bei den Ki-67 Werten zwischen rezidivierenden und nicht-rezidivierenden Meningeomen. Kim et al. (2006a) sehen die Ki-67 Markierungsrate als Prognosefaktor für das Auftreten von Rezidiven in Meningeomen und beschreiben eine Grenze von >12%, bei der Meningeome mit einer Spezifität von 98% im Verlauf ein Rezidiv ausbilden. Der hier ermittelte Durchschnittswert bei progressiven und rezidivierenden nicht-progressiven Meningeomen lag bei 12,5% und bestätigt somit die von Kim et al. (2006a) erhobene These.

5.2.1.4 Alkalische Phosphatase

Die histochemische Detektion der ALPL-Enzymaktivität stellt ein einfaches, schnelles und kostengünstiges Verfahren dar (Niedermayer et al. 1997, Bouvier et al. 2005, Kim et al. 2006a). Innerhalb der hier betrachteten Meningeompopulation aus 25 zur Verfügung stehenden Meningeomen korrelierte der zytogenetisch nachweisbare 1p Verlust stets mit einem partiellen oder vollständigen Ausfall der ALPL. Eine Korrelation der ALPL-Reaktion mit dem chromosomalen Status von 1p wird durch vergleichbar beschriebene Befunde von Niedermayer et al. (1997), Müller et al. (1999), Bouvier et al. (2005) und Kim et al. (2006a) bestätigt. Bereits Zang (1982) beschrieb einen mit Hypoploidie einhergehenden ALPL-Aktivitätsverlust.

Eine vollständig erhaltene Enzymaktivität war in beiden hier auftretenden Fällen, darunter auch ein Grad I Meningeom, mit einem nicht-progressiven Verlauf sowie mit Disomie 1p verbunden. Auch Niedermayer et al. (1997) sahen keinen Fall mit komplett erhaltener ALPL-Aktivität und gleichzeitiger 1p Deletion. Bei einem weiteren Grad I Meningeom, bei dem die Aktivität der ALPL untersucht wurde, zeigte sich bei bereits initialem Verlust von 1p eine korrespondierend komplett ausgefallene ALPL-Reaktion. Es handelte sich dabei um ein multifokales und sich spinal manifestierendes, teils sekretorisches, teils mikrozystisches Meningeom einer 37-jährigen Frau.

Die Enzymreaktion der ALPL war bei progressiven Meningeomen ausnahmslos zumindest partiell (>50% der Tumorzellen) ausgefallen. Bereits Niedermayer et al. (1997) und Müller et al. (1999) beschrieben die Assoziation zwischen Aktivitätsverlust der ALPL und der Progression von Meningeomen.

Über den intraindividuellen Verlauf hinweg nahm die Enzymaktivität vom Primär- zum Rezidivtumor in zwei Fällen ab, in drei Fällen war sie gleich bleibend und in einem Fall zeigte sich eine Zunahme von komplett zu partiell ausgefallener ALPL-Aktivität. Vergleichsdaten aus intraindividuellen Studien liegen diesbezüglich nicht vor.

In der Arbeit von Bouvier et al. (2005) wird der signifikante Unterschied der ALPL-Aktivität bei Meningeomen der Schädelbasis, die eher eine erhaltene Aktivität aufwiesen, gegenüber Konvexitätsmeningeomen, deren Aktivität bezüglich der ALPL häufiger ausgefallen war, beschrieben. Zwar wurde die Betrachtung von Tumorlokalisierung und ALPL-Aktivität hier nicht explizit angestellt, jedoch zeigen die bereits oben aufgeführten Ergebnisse, dass an der Konvexität oder parasagittal lokalisierte Meningeome häufig mit einer Deletion 1p oder einem progressiven Verlauf assoziiert sind. Wie hier gezeigt werden konnte, korreliert sowohl der 1p Verlust als auch der progressive Verlauf mit einem Aktivitätsverlust der ALPL. Beides unterstützt die von Bouvier et al. (2005) sowie von Kim et al. (2006a) erlangten Erkenntnisse.

5.2.1.5 Invasivität von Meningeomen

Es ist bekannt, dass durch Meningeome benachbartes Hirngewebe oftmals komprimiert wird, jedoch nur in seltenen Fällen eine tatsächliche Hirninvasion vorliegt (Louis et al. 2000). Invasives Wachstumsverhalten von Meningeomen kann auch die angrenzende Dura und den Knochen (Louis et al. 2000) oder auch den venösen Sinus mit eventuellem Verschluss der Blutleiters betreffen (Burger et al. 2002, Zhen et al. 2008). Die Invasion von Tumorzellen ist definiert als eine aktive Translokation neoplastischer Zellen über anatomische Grenzen

hinweg bedingt durch die Komponenten Motilität, Verlust der zellulären Adhäsion und Proteolyse der Extrazellulärmatrix (Sanson et al. 2000).

Perry et al. (1997) fanden in ihrer Studie bei 581 untersuchten Meningeomen hirninvasives Wachstum mit einer Rate von 4%. Die in dieser Arbeit ermittelte Rate an Hirninvansion lag mit 22,8% deutlich über der bekannten Inzidenz für übliche Meningeome. Eine Durainvasion trat sogar in 40,4% der Meningeome auf. Beides zeigt die besondere Aggressivität im Verhalten rezidivierender und progressiver Meningeome. Sanson et al. (2000) sehen bei invasiv wachsenden Meningeomen eine deutlich höhere Rezidivrate. Dies heißt im Umkehrschluss, dass in rezidivierenden Meningeomen häufiger als in nicht-rezidivierenden ein invasives Wachstumsverhalten zu verzeichnen ist. Progressive Meningeome zeigten in der hier präsentierten Arbeit eher die Tendenz hirninvasiv zu wachsen als nicht-progressive Meningeome. Hingegen war bei einer Durainvasion kein Unterschied zwischen beiden Verlaufsformen zu erkennen. Dazu passt, dass Hirninvazität in der Literatur häufig in Verbindung mit deutlich aggressivem Verhalten von Meningeomen beschrieben wird (Jellinger et al. 1975, Chan et al. 1984, Jääskeläinen et al. 1985, Jääskeläinen et al. 1986, de la Monte et al. 1986, Perry et al. 1999, Perry et al. 2004a), Durainfiltration hingegen nicht (Sanson et al. 2000).

Betrachtet man invasives Verhalten von Meningeomen im Rahmen gleichzeitig vorliegender zytogenetischer Veränderungen, so zeigt sich bezüglich Aberrationen von Chromosom 1p und Chromosom 14q überraschender Weise bei diploiden Meningeomen häufiger ein hirninvasives Wachstumsverhalten. Eine Assoziation zytogenetischer Veränderungen mit dem Auftreten von Hirninvansion konnte in dieser Arbeit nicht gezeigt werden. Auch die Durainfiltration schien von chromosomalen Aberrationen nicht beeinflusst zu sein. In der Literatur konnten in ähnlicher Weise weder Rempel et al. (1993), Griffin et al. (1994), Weber et al. (1997) noch Cai et al. (2001) in ihren Arbeiten über hirninvasive Meningeome eine Einflussnahme durch chromosomale Veränderungen feststellen. Lediglich Simon et al. (1995) fand für acht anaplastischen Meningeome mit Hirninvansion einen Verlust der Heterozygotie (LOH) für 1p und bei vier von ihnen auch eine Deletion 14q. Zuvor hatte er für zwei hirninvasiv wachsende atypischen Meningeome keine chromosomalen Aberrationen nachweisen können. Fraglich bleibt jedoch, ob die bei ihm nachgewiesenen Aberrationen nicht eher mit der Anaplasie assoziiert sind, welche wiederum mit einer höheren Wahrscheinlichkeit einer Hirninvansion einhergeht. Müller et al. (1999) konnten hingegen in ihrer Arbeit eine signifikante Verknüpfung von 1p Deletion und auftretender Hirninvansion zeigen. Auch Pfisterer et al. (2008) und Zang (1982), sowie Korshunov et al. (2007) konnten

bei Meningeomen mit Hirninvansion statistisch signifikant mehr chromosomale Aberrationen nachweisen als bei nicht-hirninvasiven Meningeomen.

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen invasivem Wachstumsverhalten und Progress im histologischen Grad, konnte hier nur für die Hirninvansion gezeigt werden. Bei Jääskeläinen et al. (1986), Nakasu et al. (2005), Kim et al. (2006a) und Vankalakunti et al. (2007) kam es ebenfalls zu prozentual stärkeren Anteilen von Meningeomen mit Hirninvansion bei ansteigendem histologischen Grad, was durch die hier gefundenen Ergebnisse bestätigt wird.

Zusätzlich ließ sich in dieser Arbeit zeigen, dass die Hirninvansion bei rezidivierenden Meningeomen präferenziell und sogar statistisch signifikant häufiger zu einem späteren Zeitpunkt des intraindividuellen Verlaufs auftritt. Jellinger et al. stellten bereits im Jahre 1975 die Vermutung auf, dass in den Rezidivmeningeomen eine Hirninvansion häufiger auftritt als in primären Meningeomen. So kann vermutet werden, dass die Fähigkeit und Tendenz zur Hirninvansion mit der zeitlichen Weiterentwicklung von Meningeomen zunimmt.

5.2.2 Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

5.2.2.1 Cut-off Werte

Bei der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung wird bei der Ermittlung von chromosomalen Aberrationen die FISH in gleicher Weise auch an chromosomal unauffälligem Kontrollgewebe durchgeführt. Daraus ergeben sich für die überprüften Gensonden entsprechende Grenzbereiche (Cut-off Bereiche), die multifaktoriell bedingten, zufällig auftretenden, keiner vorliegenden Aberration entsprechenden Signalveränderungen gerecht werden sollen. Zum aktuellen Zeitpunkt liegen für die Interphasezytogenetik keine einheitlich bindenden Vorgaben zur Ermittlung oder Festlegung solcher Grenzbereiche vor. Es existieren zwar Empfehlungen, jedoch sind nach Kenntnisstand des Autors keine einheitlichen und bindenden Regelungen vorhanden. Diese Arbeit orientierte sich daher an den allgemein üblichen Protokollen vieler anderer erfolgreich durchgeführter FISH-Studien. Es wurde ein Vertrauensbereich von der dreifachen Standardabweichung (Müller et al. 1999, Mancini et al. 2000, Cai et al. 2001, Perry et al. 2002, Parrens et al. 2006, Ventura et al. 2006, Maat et al. 2007) sowie ein Umfang von 8 Kontrollgeweben gewählt, was dem Umfang in anderen Studien entspricht (Schneider et al. 1995, Müller et al. 1999, Mancini et al. 2000, Parrens et al. 2006, Ventura et al. 2006). Der Vergleich der ermittelten Cut-off Schwellen gestaltete sich dahingegen schwieriger, da oftmals keine veröffentlichten Angaben dazu existieren. Müller et al. (1999) beschreiben in ihrer Zweifarben FISH an Paraffinmaterial für die Deletion 1p

(Signalkombination 1D1Z2/2D1Z1) ein Cut-off Wert von 22%, was nahe an dem hier ermittelten Cut-off Wert von 18,5% liegt. Arnoldus et al. (1992) beschreiben innerhalb ihrer Interphase-FISH an Meningeomen, Gliomen und Medulloblastomen für eine Deletion allgemein einen Cut-off Wert von 20%. Zusätzlich geben sie für hypotetraploide und hyperdiploide Meningeome einen Grenzbereich von 7,5% an. Bei den hier betrachteten hypotetraploiden Meningeomen lag der gewählte Cut-off Wert bei 10%. Für den Verlust von Chromosom 14q lag, bezogen auf den Cut-off Wert, aus der Literatur lediglich die Angabe eines Cut-off Wertes von >10 % von Taberero et al. (2005) vor. Der hier ermittelte Cut-off Wert für eine Deletion 14q lag bei 13,7 %.

5.2.2.2 Deletion 1p

Es ist weithin bekannt, dass 1p Deletionen in histologisch höhergradigen Meningeomen häufiger auftreten als in benignen Meningeomen (Simon et al. 1995, Boström et al. 1997, Müller et al. 1999, Sanson et al. 2000, Cai et al. 2001, Lamszus et al. 2004, Kim et al. 2006a). Bei höhergradigen Meningeomen geht man zusätzlich davon aus, dass es häufiger zur Ausbildung von Rezidiven kommt (Mahmood et al. 1993, Kolles et al. 1995, Perry et al. 1997, Ayerbe et al. 1999, Sanson et al. 2000, Kleihues et al. 2002, Espinosa et al. 2006). Dennoch besteht die Möglichkeit, dass auch vollständig resezierte Grad I Meningeome rezidivieren (Zang 2001).

Andere Studien zeigen, dass die Rezidivwahrscheinlichkeit vom Auftreten einer 1p Deletion deutlich beeinflusst wird (Kolles et al. 1995, Steudel et al. 1996, Sulman et al. 1998, Lopez-Gines et al. 2001, Ketter et al. 2001, Murakami et al. 2003, Kim et al. 2006a). So rezidivieren Meningeome mit 1p Verlust in bis zu 42%-50% (Steudel et al. 1996, Sulman et al. 1998), während lediglich 15%-17% der für 1p diploiden Meningeome ein Rezidiv ausbilden. Murakami et al. (2003) konnten dies für benigne Meningeome zeigen, wobei 50% der Meningeome mit 1p Verlust ein Rezidiv ausbildeten und nur 4,7% der Grad I Meningeome ohne 1p Verlust. Murakami sieht es daher als sinnvoll an, vor allem bei benignen Meningeomen, die zusätzlich einen niedrigen Ki-67 Markierungs-Index aufweisen, eine FISH Untersuchung durchzuführen, da ein nachgewiesener 1p Verlust das Auftreten eines Rezidivs eher vorhersagt als ein hoher Ki-67 Markierungs-Index. Dass aufgrund der Histologie alleine nicht auf das biologische Verhalten von Meningeomen geschlossen werden kann und darf, darüber besteht in vielen Studien Einverständnis (Henn et al. 1995, Simon et al. 1995, Lopez-Gines et al. 1995, Ketter et al. 2001, Maillo et al. 2003, Al-Mefty et al. 2004, Espinosa et al. 2006).

In dieser Arbeit zeigten 67,9% der rezidivierten progressiven und nicht-progressiven Meningeome einen 1p Verlust. Auch Espinosa et al. (2006) zeigten bei ihrer Gruppe rezidivierender Meningeome mit 52% ähnlich hohe Raten an Meningeomen mit 1p Deletion. Zuvor hatten bereits mehrere Autoren davon gesprochen, dass der alleinige Verlust von Chromosom 22 keine prognostische Bedeutung für den klinischen Verlauf eines Meningeoms besitzt (Wellenreuther et al. 1995, Steudel et al. 1996, Tabernero et al. 2005, Espinosa et al. 2006, Simon et al. 2007), und somit eine andere Aberration mutmaßlich verantwortlich für den malignen Verlauf von Meningeomen ist (Ruttledge et al. 1994, Wellenreuther et al. 1995). Als potenziell in Frage kommenden Faktor sehen Lindblom et al. (1994) den kurzen Arm von Chromosom 1. Eine 1p Deletion wurde bereits mehrfach in Verbindung mit biologisch aggressivem Verhalten von Meningeomen gesehen (Bello et al. 1994, Kolles et al. 1995, Henn et al. 1995, Steudel et al. 1996, Kim et al. 2006a) und des Weiteren als progressionsassoziiertes Faktor beschrieben (Bello et al. 1994, Lopez-Gines et al. 1995, Simon et al. 1995, Müller et al. 1999). Zang (2001) stellte nach Recherchen der bis dato vorliegenden Literatur fest, dass die Deletion 1p als entscheidender Faktor für die Progression von Meningeomen gesehen werden kann und weniger eine Anhäufung von Aberrationen im Sinne zunehmender Hypoploidie zum Progressionsvorgang führt. Das Ziel dieser Arbeit war es, zu klären, ob und zu welchem Zeitpunkt der entscheidende 1p Verlust auftrat bzw. im Tumorgewebe nachweisbar war. Es zeigte sich, dass unabhängig davon, ob es sich um progressive oder um nicht-progressive rezidivierende Meningeome handelte, der 1p Verlust in beiden Populationen ab dem Ausgangstumor, d.h. bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt nachweisbar war. Dies bestätigt die Annahme von Zang (2001), der auf Grundlage der Forschungen von Müller et al. (1999), einen sehr frühen Ursprung der 1p Deletion in Meningeomen postuliert. Auch Boström (2007) beschrieb die Deletion 1p als frühe Veränderung in Meningeomen. Al-Mefty et al. (2004) konnte in einer kleinen Population intraindividuell betrachteter progressiver Meningeome zeigen, dass der von ihm für die Progression verantwortlich gemachte komplexe Karyotyp einschließlich 1p-, bereits im Primärtumor vorlag. Er schließt daraus, dass histologisch gutartige Meningeome bereits zu diesem Zeitpunkt durch die vorliegenden Chromosomenaberrationen zum Progress „programmiert“ sind und dass es sich beim Progressionsvorgang nicht um ein stufenweises Auftreten genetischer Aberrationen handelt, die sich parallel zur histologischen Transformation entwickeln. Seiner Meinung nach besitzen solche Meningeome bereits zu Beginn eine intrinsische Malignität, die histologisch jedoch bis zu einem gewissen Zeitpunkt noch nicht in Erscheinung tritt.

Espinosa et al. (2006) zeigten in 74% der Meningeomfälle die gleichen Aberrationen sowohl im Primärtumor als auch im Rezidiv. In den abweichenden Fällen kamen im Rezidiv zusätzlich zum gleich gebliebenen Primärklon des Ausgangstumors weitere Aberrationen hinzu. Aufgrund der Ergebnisse innerhalb ihrer intraindividuellen Betrachtungsweise kommen sie zu dem Schluss, dass der Rezidivtumor sich durch ein Nachwachsen des ursprünglichen Tumors ergibt. Auch X-chromosomale Inaktivierungsstudien verdeutlichen, dass bei rezidivierenden Meningeomen der ursprüngliche neoplastische Zellklon nachwächst (Jacoby et al. 1990). Beobachtungen, dass in der Mehrheit von Meningeomen mit NF2-Mutationen meist nur eine einzige Mutation auftritt, bestätigen die These eines monoklonalen Ursprungs von Meningeomen (Wellenreuther et al. 1995).

Aufgrund der eigenen Ergebnisse sowie der bisherigen Datenlage kann davon ausgegangen werden, dass ein 1p Verlust bereits frühzeitig in der Tumorigenese vorliegt und dieser innerhalb der Rezidive konstant beibehalten wird. Zusätzliche Aberrationen können im Verlauf hinzutreten. Dies kann sowohl für progressive als auch für nicht-progressive rezidivierende Meningeome vermutet werden. Eine deutliche Abgrenzung beider Verlaufsformen voneinander wird durch eine zweite Annahme, die sich auf weitere hier gefundene Ergebnisse stützt, möglich. Demnach ist ein 1p Verlust in progressiven rezidivierenden Meningeomen (91,7%) deutlich häufiger nachweisbar, als in nicht-progressiven rezidivierenden Meningeomen (66,7%). Al-Mefty et al. (2004) konnte sogar in 100% seiner progressiven Meningeomfälle einen 1p Verlust aufzeigen. Auch Lopez-Gines et al. (2001) und Ishino et al. (1998) zeigten jeweils in allen der intraindividuell untersuchten progressiven Meningeomfälle einen 1p Verlust. Erstgenannte konnten dies in 33,3% und Ishino et al. (1998) in 66,6% ab dem Primärtumor nachweisen. Es bleibt jedoch zu berücksichtigen, dass in der Arbeit von Lopez-Gines et al. (2001) Angaben zum Grad der Resektion fehlten und Ishino et al. (1998) in ihrer Studie Resektionsgrade von Simpson Grad I-IV einschlossen. Insgesamt kann vermutet werden, dass die Deletion 1p einen für progressive Meningeome determinierenden Faktor darstellt.

Ein weiterer Aspekt, der durch diese Arbeit gezeigt werden konnte, ist die Tatsache, dass innerhalb der Gesamtpopulation der für 1p aberrante Zellklon in seiner Klonstärke über den intraindividuellen zeitlichen Krankheitsverlauf hinweg kontinuierlich zunahm. Dadurch wurde hier im intraindividuellen Modell die Aussage von Zang (2001) bestätigt, der in Meningeomen die kontinuierliche Zunahme der Klongröße im Rahmen einer klonalen Expansion bereits beschrieben hat. Nach vorliegenden Ergebnissen unterschieden sich progressive und nicht-progressive rezidivierende Meningeome dahingehend voneinander,

dass progressive Meningeome zu jedem Zeitpunkt des Verlaufs eine prozentual größere Zellklonstärke aufwiesen als nicht-progressive Meningeome, jedoch beide Verlaufsformen auch getrennt voneinander einen Anstieg der Klongröße im intraindividuellen Verlauf zeigten.

Zusammengefasst kann angenommen werden, dass progressive Meningeome in bevorzugter Weise eine 1p Deletion aufweisen und dies bezogen auf ihre Klonstärke ebenfalls in stärkerem Maße tun als nicht-progressive Meningeome. Erstgenanntes ließ sich über alle histologischen Grade hinweg und Letztgenanntes für jeden Zeitpunkt des Krankheitsverlauf betreffend zeigen.

In dieser Arbeit kam es in 11,3 % der Meningeome zu einem Auftreten hypotetraploider Zellklone im Sinne einer bestehenden 1p Deletion in einem tetraploiden Zellklon. Das Vorkommen tetraploider bzw. hypotetraploider Zellklone in Meningeomen wurde bereits mehrfach in der Literatur beschrieben (Müller et al. 1999, Sayagues et al. 2004, Espinosa et al. 2006). Sayagues et al. (2004) sprechen von einer allgemeinen Häufigkeit tetraploider Zellklone innerhalb der Meningeompopulation von 5%-10%. Sie selbst konnten in 14% der Meningeome ihrer Studie einen tetraploiden Zellklon nachweisen. Der hier ermittelte prozentuale Anteil passt demnach zu der bereits bekannten Inzidenz solcher Fälle.

Die in dieser Arbeit gefundenen hypotetraploiden Klone waren in keinem Primärtumor und ausnahmslos frühestens ab dem 1. Rezidiv nachweisbar, so dass davon ausgegangen werden kann, dass solche Zellklone erst im Verlauf der Tumorentwicklung auftreten. Die Ergebnisse von Espinosa et al. (2006) stimmen damit überein. Sie fanden eine Reihe von Meningeomen mit tetraploidem Zellklon, wobei jedoch jene, die die progressionsassoziierten Deletionen 14q und 10q aufwiesen, den tetraploiden Zellklon nicht von Anfang an, sondern ebenfalls erst im Verlauf der Tumorentwicklung zeigten.

Müller et al. (1999) sahen das Auftreten tetraploider Zellklone mit 1p Deletion lediglich bei höhergradigen Meningeomen. Auch in dieser Arbeit stellten 66,6% der betroffenen Meningeome entsprechend Grad II und Grad III Meningeome dar. Die beiden hier vorliegenden betroffenen Grad I Meningeome zeigten einen biologisch besonders aggressiven Verlauf. Im ersten Fall zeigte sich dieser in einem progressiven spinalen, zum späteren Zeitpunkt multilokulären Meningeom. Beim zweiten Grad I Meningeom handelte es sich um ein partiell chordoides Keilbeinflügelmeningeom mit Orbitabeteiligung.

Es ist bekannt, dass auch Grad I Meningeome ohne weitere histologische Zeichen von Malignität, einen 1p Verlust aufweisen können (Lopez-Gines et al. 1993, Simon et al. 1995,

Carlson et al. 1997, Boström et al. 1997, Lamszus et al. 1999, Al-Mefty et al. 2004, Kim et al. 2006a, Woo et al. 2008). Lopez-Gines et al. (2004) ziehen aus dieser Tatsache den Schluss, dass der Verlust von Chromosom 1p eventuell nicht suffizient genug sein könnte, um einen malignen Verlauf bei Meningeomen zu bedingen. Dass jedoch die 1p Deletion mit einem malignen Verlauf in Meningeomen assoziiert ist und dabei einen entscheidenden Faktor für die Progression darstellt, wurde hingegen in der Vergangenheit von mehreren Autoren vermutet (Bello et al. 1994, Lopez-Gines et al. 1995, Simon et al. 1995, Müller et al. 1999, Zang 2001). Zuvor hatten Lopez-Gines et al. im Jahr 1993 noch eine ähnliche Assoziation angenommen und sich vorbehalten, bei einem von ihnen entdeckten Fall eines Grad I Meningeoms mit 1p Verlust, eine progressive Weiterentwicklung auszuschließen. Dass es histologisch benigne erscheinende Meningeome gibt, die einen progressiven Verlauf nehmen, ist bekannt und wurde mehrfach in einzelnen Fallbeschreibungen, berichtet (Jääskeläinen et al. 1985, Mori et al. 1988, Yamazaki et al. 1994, Lamszus et al. 1999, Cai et al. 2001, Shinataku et al. 2007). Lamszus et al. (1999) beschreiben dabei den seltenen Progress eines Grad I Meningeoms zu einem Grad III Meningeom. In den meisten dieser Fälle liegen jedoch keine zytogenetischen Untersuchungsergebnisse vor.

Dennoch sind es solche Fälle, die die Vermutung weiter unterstützen, dass eine 1p Deletion nicht erst im Verlauf hin zu einem höheren Grad auftritt, sondern sich bereits zum Zeitpunkt des histologisch benignen Meningeoms manifestiert und den weiteren Verlauf determiniert.

5.2.2.3 Deletion 14q

Das Auftreten zytogenetischer Veränderungen des Chromosom 14 wurde bereits 1986 von Katsuyama et al. und 1987 von Al Saadi et al. beschrieben.

Ingesamt schwanken die prozentualen Angaben über die Häufigkeit von Aberrationen des Chromosoms 14 zwischen 14,5% und 51% (Simon et al. 1995, Weber et al. 1997, Menon et al. 1997, Tse et al. 1997, Tabernerio et al. 2005). Dass zytogenetische Veränderungen von Chromosom 14 häufiger bei rezidivierenden als bei nicht-rezidivierenden Meningeomen zu beobachten sind, beschreiben Tse et al. (1997), Cai et al. (2001) und Espinosa et al. (2006). Innerhalb der hier betrachteten progressiven und nicht-progressiven rezidivierenden Meningeome lag die Häufigkeit einer Deletion 14q bei 34,4%. Espinosa et al. (2006) fanden in ihrer Arbeit über rezidivierende Meningeome einen ähnlichen prozentualen Anteil von 36%. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Verlaufsformen konnten in dieser Arbeit nicht gezeigt werden. Vergleichsdaten, die Auskunft sowohl über die Häufigkeit bei progressiven als auch bei nicht-progressiven rezidivierenden Meningeomen geben, liegen

nicht vor. Wurden progressive Meningeome betrachtet, dann waren in den meisten Studien die Fallzahlen sehr gering und oftmals wurde die Gruppe der rezidivierenden nicht-progressiven Meningeome nicht mitbetrachtet. Lamszus et al. (1999) konnten in 1 von 3 ihrer progressiven Meningeomfälle einen 14q Verlust zeigen, während Espinosa et al. (2006) in 36% ihrer nicht-progressiven Meningeomfälle eine Aberration von Chromosom 14 fanden. Die Unterschiede beider Verlaufsformen bezüglich des Auftretens einer Deletion 14q scheinen im Vergleich der von beiden Autoren gefundenen Ergebnisse ebenfalls nicht deutlich groß zu sein.

Es existieren zahlreiche Studien, die zytogenetische Veränderungen von Chromosom 14/14q in Zusammenhang mit einem höheren histologischen Grad von Meningeomen beschreiben (Simon et al. 1995, Schneider et al. 1995, Menon et al. 1997, Weber et al. 1997, Tse et al. 1997, Maillo et al. 2003, Tabernero et al. 2005, Pelz et al. 2007). Andere Autoren legen sich sogar soweit fest, dass sie die Deletion 14/14q als keinen initialen Faktor mit prädiktivem Wert sehen, sondern diese vielmehr als eine zytogenetische Aberration betrachten, die erst im Verlauf der Meningeomentwicklung auftritt (Menon et al. 1997, Lamszus et al. 1999, Espinosa et al. 2006). Lamszus et al. (1999) beschreiben in ihrer Arbeit den 14q Verlust in keinem der untersuchten Primärtumore, sondern erst ab dem 1. Rezidiv. Das Beschriebene passt zu den hier gefundenen Daten, die den Verlust von Chromosom 14q im größten Teil der Fälle ebenfalls erst im Verlauf nachweisen. Bei den progressiven Meningeomen war die Deletion 14q sogar erst nach dem histologischen Progress nachweisbar. Es liegen jedoch auch gegenteilige Daten vor, die den 14q Verlust bei rezidivierenden Meningeomen als frühes Ereignis bei der Meningeomentwicklung sehen (Cai et al. 2001, Al-Mefty et al. 2004). Die Ergebnisse von Cai et al. (2001) stützen sich dabei jedoch nicht auf Daten eines intraindividuellen Betrachtungsmodells und die Ergebnisse von Al-Mefty et al. (2004) stützen sich auf wenige Fälle.

Der prognostische Wert einer 14q Deletion, welcher Rückschlüsse auf die Rezidivrate (Maillo et al. 2003, Tabernero et al. 2005) und auch auf die Prognose des Patienten erlaubt, ist im Hinblick auf die damit verbundenen kürzeren Überlebenszeiten (Cai et al. 2001) in der Diagnostik von Meningeomen von besonderer Bedeutung. Auch Menon et al. (1997) in ihren Untersuchungen auf LOH und Weber et al. (1997) in ihrer CGH-Studie sehen Aberrationen von Chromosom 14 in Verbindung mit aggressivem Verhalten von Meningeomen.

Zwar lässt sich anhand der hier gewonnenen Daten die FISH-Untersuchung für Chromosom 14q nicht zur prognoseabhängigen Unterscheidung von progressiven und nicht-progressiven Meningeomen nutzen, dennoch lässt sich eine Aussage über die Rezidivwahrscheinlichkeit

und bei rezidivierenden Meningeomen tendenziell über das Entwicklungsstadium des untersuchten Meningeoms ableiten. Bei Meningeomen mit einer Aberration von Chromosom 14q lässt sich vermuten, dass es sich um rezidivierende Meningeome handelt, bei denen mit geringerer Wahrscheinlichkeit von Primärtumoren auszugehen ist. Auch wenn dies nicht mit letztendlicher Allgemeingültigkeit postuliert werden kann, so ermöglicht die FISH dem Untersucher wichtige zusätzliche Informationen über das untersuchte Meningeom zu gewinnen.

Die Ergebnisse der FISH in dieser Arbeit zeigen, dass in 81,8% der Fälle mit Deletion 14q parallel dazu ein Verlust des kurzen Arms von Chromosom 1 vorlag. Umgekehrt war bei 45% der Meningeome mit 1p Verlust auch eine Deletion 14q nachweisbar. Ein kombiniertes Auftreten von 14q Verlust und Deletion 1p wurde bereits von Müller et al. (1999), Cai et al. (2001) sowie Perry et al. (2004a) beschrieben und auch Ketter et al. (2001) fanden die Assoziation eines 14q Verlustes mit dem Auftreten einer Deletion 1p. Letztere fanden in ihrer Studie bei Meningeomen mit hypodiploidem Chromosomensatz und Deletion 1p in 45% der Fälle eine 14q Deletion. Sie gelangten zu der Erkenntnis, dass ein 1p Verlust ohne gleichzeitigen 14q Verlust deutlich häufiger auftritt als umgekehrt, d.h. die Bindung einer Deletion 14q an eine Deletion 1p sich maßgeblich stärker präsentierte. Dies kann durch die hier gefundenen Ergebnisse bestätigt werden.

Der größte Anteil an Meningeomen, die diese kombinierten Aberrationen zeigten, war mit 38,5% bei den anaplastischen Meningeomen zu beobachten. Ähnliche Ergebnisse mit dem Auftreten in höhergradigen Meningeomen zeigten die Studien von Müller et al. (1999), Cai et al. (2001), Murakami et al. (2003) und Lopez-Gines et al. (2004), wobei mit 63% der prozentuale Anteil bei Cai et al. (2001) ebenfalls bei den anaplastischen Meningeomen am größten war. Murakami et al. (2003) sehen den 1p Verlust im Hinblick auf eine Progression eher in Kombination mit einer Deletion 10q und die Kombination von 1p und 14q Deletion eher bei primär atypischen und primär anaplastischen Meningeomen. Was sich hier ebenfalls zeigte, war mit Ausnahme eines Falles, das kombinierte Auftreten beider Aberrationen erst zum Zeitpunkt der Tumorrezidive. Dies bestätigt indirekt die bereits oben beschriebenen Vermutungen eines frühen 1p Verlustes, zu dem im Verlauf ein 14q Verlust hinzutritt.

Dass alle diese Fälle mit Deletion 1p und Deletion 14q supratentoriell lokalisiert waren, passt zu dem Umstand, dass Meningeome in dieser Lokalisation oftmals vermehrt zytogenetische Aberrationen aufweisen (Zankl et Zang 1980, Zang 1982, Casalone et al. 1990, Lekanne Deprez et al. 1995, Müller et al. 1999, Ketter et al. 2008).

5.2.2.4 Vergleiche mit der Klassischen Zytogenetik

In dieser Arbeit stimmten 75% der FISH-Ergebnisse für die Deletion 1p und 86,4% der FISH-Ergebnisse für die Deletion 14q mit den Resultaten der Klassischen Zytogenetik überein. Die hier erzielte Vergleichbarkeit beider Methoden in Bezug auf die gezeigten Deletionen, war für beide chromosomalen Veränderungen statistisch signifikant. Es bestanden zwar für beide Methoden Aberrationen, die entweder durch die eine oder durch die andere Technik nicht ermittelt werden konnten, so war jedoch der Anteil an nicht entdeckten chromosomalen Veränderungen bei der klassischen zytogenetischen Untersuchung größer als bei der FISH. Ein ähnliches Bild zeigte sich auch bei Müller et al. (1999), die durch die FISH-Untersuchung Verluste von 1p zeigen konnten, welche durch die Klassische Zytogenetik nicht detektierbar waren. Eine fragliche Repräsentativität der in der Zellkultur gewachsenen Zellen, ein geringer prozentualer Anteil an Zellen mit 1p Deletion im Ausgangstumor und kleine 1p Deletionen sind für Kim et al. (2006a) Faktoren, die eine geringere Sensitivität der Klassischen Zytogenetik bedingen. Die klassische zytogenetische Untersuchung konnte hier jedoch wichtige Zusatzinformationen über weitere vorliegende Chromosomenaberrationen liefern. So zeigten sich in einigen Meningeomen auffallende Verluste von Chromosom 6 und Chromosom 18. Sowohl für die Deletion 1p, als auch für den Verlust von 14q konnte für ein gemeinsames Auftreten oben genannter Aberrationen eine deutliche Korrelation gezeigt werden, die jedoch lediglich für die Deletion 14q mit gemeinsamer Deletion 18 tendenziell statistisch von Bedeutung war. Dass Verluste von Chromosom 6 (Simon et al. 1995, Weber et al. 1997, Ozaki et al. 1999, Müller et al. 1999, Zang 2001, Perry et al. 2004a) und Chromosom 18 (Al Saadi et al. 1987, Lekanne Deprez et al. 1995, Weber et al. 1997, Müller et al. 1999, Zang 2001, Lopez-Gines et al. 2004, Perry et al. 2004a) in Meningeomen eine Rolle spielen, lässt sich bei mehreren Autoren nachlesen. Perry et al. (2004a) sieht beide Aberrationen als progressionsassoziiert an. Die Deletion von Chromosom 18 wird vereinzelt auch in Kombination mit einer Deletion 1p und Deletion 14q beschrieben (Müller et al. 1999, Lopez-Gines et al. 2004). Müller et al. (1999) sehen sogar nur bei gleichzeitig aufgetretener 1p Deletion eine Deletion von Chromosom 18. Lopez-Gines et al. (2004) sehen bei höhergradigen Meningeomen eine Deletion 18 mit gleichzeitiger Aberration von 1p und 14q, bei Grad I Meningeomen lediglich die Deletion 18 in Kombination mit einer Deletion 1p. Indirekt unterstützt dies wiederum die hier gefundenen Ergebnisse, die eine Deletion 1p als bereits früh auftretende Aberration sehen. Außer bei Meningeomen wird die Deletion 18 auch in anderen soliden Tumoren wie z.B. dem Kolonkarzinom gesehen, wo diese ebenfalls

gemeinsam mit nachgewiesenem Verlust der Heterozygotie für 1p zu finden war (Gerdes et al. 1995).

5.2.2.5 Ausblick

Betrachtet man den aktuellen Kenntnisstand über progressive und nicht-progressive rezidivierende Meningeome, so ist dieser bei den progressiven Meningeomen sicherlich noch um ein Deutliches geringer. Bis zum heutigen Zeitpunkt bleiben sowohl für rezidivierende als auch für progressive Meningeome viele Fragen offen. Aussagen über die Vorhersagbarkeit des biologischen Verhaltens von Meningeomen sind oftmals nur vage. Auch Cai et al. (2001) sehen bis dato keine objektive Labormethodik, die beispielsweise in gutartigen Grad I Meningeomen ein Rezidiv vorhersagen könnte. Einen Lösungsvorschlag liefern Steudel et al. (1996), die zytogenetische Untersuchungen als besonders hilfreich einschätzen, um maligne verlaufende Meningeome noch vor morphologischen Veränderungen im Sinne eines histologischen Upgradings zu detektieren. Befürwortet wird dies auch durch Simon et al. (1995), die in zytogenetischen Untersuchungen die Möglichkeit sehen, Meningeome mit hohem intrinsischen Risiko für einen Progress, frühzeitig zu identifizieren sowie entsprechende therapeutische Schlüsse daraus zu ziehen.

An Therapieoptionen stehen heutzutage nach dem operativen Eingriff und der radiotherapeutischen Behandlung nur wenige weitere Alternativen zur Verfügung. Umso wichtiger werden in Zukunft innerhalb der adjuvanten Therapie molekularbasierte Zielstrukturen sein, die pharmazeutisch oder auf eine andere Weise zu erreichen sind (Perry et al. 2004b). Um dies zu ermöglichen ist nach Meinung von Perry et al. (2004b) ein umfangreicheres Verstehen der Tumorbilogie von Meningeomen nötig.

Die Nachsorge ist aktuell nach der geltenden WHO-Klassifikation ausgerichtet, die eine Nachbestrahlung und intensive Nachbeobachtungsintervalle umfasst. Eine auf Umfragebögen gestützte Untersuchung zeigte (Simon et al. 2006), dass in den meisten Kliniken bei inkomplett oder vollständig resezierten anaplastischen Meningeomen die Indikation für eine radiotherapeutische Intervention gesehen wird. Auch der Verbleib eines Resttumors bei atypischen Meningeomen veranlasst einige Kliniken zur Anwendung einer Bestrahlungstherapie, wenn auch nicht ganz so häufig wie bei den anaplastischen Meningeomen. Bei inkomplett resezierten Grad I Meningeomen wird die Indikation einer adjuvanten Therapie insgesamt eher zurückhaltend gestellt, wenngleich vollständig resezierte, jedoch zytogenetisch auffällige Meningeome, wie beispielsweise ein histologisches Grad I Meningeom mit 1p Deletion, als rezidivgefährdet eingestuft werden sollten. Einen

zukunftsrelevanten Lösungsansatz sieht Boström (2007) in der Einbeziehung molekulargenetischer Veränderungen in die Tumorgraduierung. Auch Simon et al. (2007) sprechen von genetischen Markern als Unterstützung der Graduierung von Meningeomen. Sie schlagen als mögliche Vervollständigung des histologischen Gradings Untersuchungen bezüglich der Chromosomen 1p, 10q, 14q und eventuell 9p in Kombination mit der Telomeraseaktivität vor.

Zusammenfassend lässt sich aus den hier gewonnenen Daten ableiten, dass zytogenetische Untersuchungen bezüglich des chromosomalen Status für das Chromosom 1p und das Chromosom 14q unabhängig von der histologischen Entität eine richtungsweisende Aussage über die tatsächliche Malignität des Meningeoms bzw. über seinen Verlauf liefern. Der hier nachgewiesene, nahezu regelmäßige frühe Verlust von 1p im Rahmen der Tumorprogression legt eine determinierende Rolle von Tumorsuppressorgen auf Chromosom 1p für den weiteren Verlauf der Tumorentwicklung nahe.

Die zytogenetische Betrachtung von Meningeomen ermöglicht anhand der Feststellung einer Risikokonstellation in der Diagnostik von Meningeomen eine zuverlässigere Risikostratifizierung. Dies gilt insbesondere für das Auftreten progressiver Meningeome, welche zwar rar sind, deren Verhalten jedoch „untypischer“ bzw. aggressiver als das üblicher Meningeome ist.

6. Literaturverzeichnis

1. Abramovich CM, Prayson RA (1998) MIB-1 labeling indices in benign, aggressive, and malignant meningiomas: a study of 90 tumors. *Hum Pathol* 29:1420-1427
2. Abramovich CM, Prayson RA (1999) Histopathologic features and MIB-1 labeling indices in recurrent and nonrecurrent meningiomas. *Arch Pathol Lab Med* 123:793-800
3. Adegbite AB, Khan MI, Paine KW, Tan LK (1983) The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J Neurosurg* 58:51-56
4. Al Saadi A, Latimer F, Madercic M, Robbins T (1987) Cytogenetic studies of human brain tumors and their clinical significance. II. Meningioma. *Cancer Genet Cytogenet* 26:127-141
5. Al-Mefty O, Kadri PA, Pravdenkova S, Sawyer JR, Stangeby C, Husain M (2004) Malignant progression in meningioma: documentation of a series and analysis of cytogenetic findings. *J Neurosurg* 101:210-218
6. Amatya VJ, Takeshima Y, Sugiyama K, Kurisu K, Nishisaka T, Fukuhara T, Inai K (2001) Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21^{WAF}, and p27^{KIP1} expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas. *Hum Pathol* 32:970-975
7. Arnoldus EP, Wolters LB, Voormolen JH, van Duinen SG, Raap AK, van der Ploeg M, Peters AC (1992) Interphase cytogenetics: a new tool for the study of genetic changes in brain tumors. *J Neurosurg* 76:997-1003
8. Arslantas A, Artan S, Öner Ü, Durmaz R, Müslümanoğlu H, Atasoy MA, Basaran N, Tel E (2003) Detection of chromosomal imbalances in spinal meningiomas by comparative genomic hybridization. *Neurol Med Chir* 43:12-19
9. Arslantas A, Artan S, Öner Ü, Müslümanoğlu MH, Özdemir M, Durmaz R, Arslantas D, Vural M, Cosan E, Atasoy MA (2007) Genomic alterations in low-grade, anaplastic astrocytomas and glioblastomas. *Pathol Oncol Res* 13:39-46
10. Ayerbe J, Lobato RD, de la Cruz J, Alday R, Rivas JJ, Gomez PA, Cabrera A (1999) Risk factors predicting recurrence in patients operated on for intracranial meningioma. A multivariate analysis. *Acta Neurochir* 141:921-932
11. Barbanera A, Nina P, Serchi E, Ascanio F (2007) Aggressive recurrence of intra-extradural cervico-thoracic meningotheelial meningioma. *Acta Neurochir* 149:83-86
12. Beks JW, de Windt HL (1988) The recurrence of supratentorial meningiomas after surgery. *Acta Neurochir* 95:3-5

13. Bello MJ, de Campos JM, Kusak ME, Vaquero J, Sarasa JL, Pestana A, Rey JA (1994) Allelic loss at 1p is associated with tumor progression of meningiomas. *Genes Chromosomes Cancer* 9:296-298
14. Bonner TI, Brenner DJ, Neufeld BR, Britten RJ (1973) Reduction in the rate of DNA reassociation by sequence divergence. *J Mol Biol* 81:123-135
15. Boström J, Mühlbauer A, Reifenberger G (1997) Deletion mapping of the short arm of chromosome 1 identifies a common region of deletion distal to D1S496 in human meningiomas. *Acta Neuropathol* 94:479-485
16. Boström J (2007) Meningiomas – K.J. Zülch and the WHO classification – Influence on the aftercare of affected patients. *Med Welt* 58:493-498
17. Bouvier C, Liprandi A, Colin C, Giorgi R, Quilichini B, Metellus P, Figarella-Branger D (2005) Lack of alkaline phosphatase activity predicts meningioma recurrence. *Am J Clin Pathol* 124:252-258
18. Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS (2002) *Surgical pathology of the nervous system and its coverings*. Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Philadelphia, 49-71
19. Burns J, Redfern DR, Esiri MM, McGee JO (1986) Human and viral gene detection in routine paraffin embedded tissue by in situ hybridisation with biotinylated probes: viral localisation in herpes encephalitis. *J Clin Pathol* 39:1066-1073
20. Burns J, Graham AK, Frank C, Fleming KA, Evans MF, McGee JO (1987) Detection of low copy human papilloma virus DNA and mRNA in routine paraffin sections of cervix by non-isotopic in situ hybridisation. *J Clin Pathol* 40:858-864
21. Cai DX, Banerjee R, Scheithauer BW, Lohse CM, Kleinschmidt-DeMasters BK, Perry A (2001) Chromosome 1p and 14q FISH analysis in clinicopathologic subsets of meningioma: diagnostic and prognostic implications. *J Neuropathol Exp Neurol* 60:628-636
22. Carlson KM, Bruder C, Nordenskjöld M, Dumanski JP (1997) 1p and 3p deletions in meningiomas without detectable aberrations of chromosome 22 identified by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 20:419-424
23. Casalone R, Simi P, Granata P, Minelli E, Giudici A, Butti G, Solero CL (1990) Correlation between cytogenetic and histopathological findings in 65 human meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 45:237-243

24. CBTRUS [<http://www.cbtrus.org/reports/reports.html>]: Statistical report: primary brain tumors in the United States, 1998-2002. Chicago, IL, Central Brain Tumor Registry of the United States, 2005-2006
25. Cerda-Nicolas M, Lopez-Gines C, Perez-Bacete M, Barcia-Salorio JL, Llombart-Bosch A (2000) Histopathological and cytogenetic findings in benign, atypical and anaplastic human meningiomas: a study of 60 tumors. *J Neurooncol* 47:99-108
26. Chan RC, Thompson GB (1984) Morbidity, mortality, and quality of life following surgery for intracranial meningiomas. A retrospective study in 257 cases. *J Neurosurg* 60:52-60
27. Christensen D, Laursen H, Klinken L (1983) Prediction of recurrence in meningiomas after surgical treatment. A quantitative approach. *Acta Neuropathol* 61:130-134
28. de la Monte SM, Flickinger J, Linggood RM (1986) Histopathologic features predicting recurrence of meningiomas following subtotal resection. *Am J Surg Pathol* 10:836-843
29. Doita M, Harada T, Nishida K, Marui T, Kurosaka M, Yoshiya S (2001) Recurrent calcified spinal meningioma detected by plain radiograph. *Spine* 26:249-252
30. Dracopoli NC, Harnett P, Bale SJ, Stanger BZ, Tucker MA, Housman DE, Kefford RF (1989) Loss of alleles from the distal short arm of chromosome 1 occurs late in melanoma tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:4614-4618
31. Espinosa AB, Taberner MD, Maillo A, Sayagues JM, Ciudad J, Merino M, Alguero MC, Lubombo AM, Sousa P, Santos-Briz A, Orfao A (2006) The cytogenetic relationship between primary and recurrent meningiomas points to the need for new treatment strategies in cases at high risk of relapse. *Clin Cancer Res* 12:772-780
32. Fewings PE, Battersby RD, Timperley WR (2000) Long-term follow up of progesterone receptor status in benign meningioma: a prognostic indicator of recurrence? *J Neurosurg* 92:401-405
33. Fuller CE, Perry A (2002) Fluorescence in situ hybridization (FISH) in diagnostic and investigative neuropathology. *Brain Pathol* 12:67-86
34. Gall JG, Pardue ML (1969) Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 63:378-383
35. Gelabert-Gonzalez M, Garcia-Allut A, Martinez-Rumbo R (2006) Spinal meningiomas. *Neurocirugia* 17:125-131
36. Gerdes H, Chen Q, Elahi AH, Sircar A, Goldberg E, Winawer D, Urmacher C, Winawer SJ, Jhanwar SC (1995) Recurrent deletions involving chromosomes 1, 5, 17, and 18 in

- colorectal carcinoma: possible role in biological and clinical behaviour of tumors. *Anticancer Res* 15:13-24
37. Gezen F, Kahraman S, Canakci Z, Bedük A (2000) Review of 36 cases of spinal cord meningioma. *Spine* 25:727-731
 38. Griffin CA, Hruban RH, Long PP, Miller N, Volz P, Carson B, Brem H (1994) Chromosome abnormalities in meningeal neoplasms: do they correlate with histology? *Cancer Genet Cytogenet* 78:46-52
 39. Hashimoto N, Ichikawa D, Arakawa Y, Date K, Ueda S, Nakagawa Y, Horii A, Nakamura Y, Abe T, Inazawa J (1995) Frequent deletions of material from chromosome arm 1p in oligodendroglial tumors revealed by double-target fluorescence in situ hybridization and microsatellite analysis. *Genes Chromosomes Cancer* 14:295-300
 40. Heiles HB, Genersch E, Kessler C, Neumann R, Eggers HJ (1988) In situ hybridization with digoxigenin-labeled DNA of human papillomaviruses (HPV 16/18) in HeLa and SiHa cells. *Biotechniques* 6:978-981
 41. Henn W, Cremerius U, Heide G, Lippitz B, Schröder JM, Gilsbach JM, Büll U, Zang KD (1995) Monosomy 1p is correlated with enhanced in vivo glucose metabolism in meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 79:144-148
 42. Ho DM, Hsu CY, Ting LT, Chiang H (2002) Histopathology and MIB-1 labeling index predicted recurrence of meningiomas. A proposal of diagnostic criteria for patients with atypical meningiomas. *Cancer* 94:1538-1547
 43. Höfler H (1990) Principles of in situ hybridization. In: Polak JM, McGee JO (eds) *In situ hybridization: principles and practice*. Oxford university press, New York, pp 15-29
 44. Hopman AH, Wiegant J, van Duijn P (1987) Mercurated nucleic acid probes, a new principle for non-radioactive in situ hybridization. *Exp Cell Res* 169:357-368
 45. Hopman AH, Ramaekers FC, Raap AK, Beck JL, Devilee P, van der Ploeg M, Vooijs GP (1988) In situ hybridization as a tool to study numerical chromosome aberrations in solid bladder tumors. *Histochemistry* 89:307-316
 46. Hopman AH, van Hooren E, van de Kaa CA, Vooijs PG, Ramaekers FC (1991) Detection of numerical chromosome aberrations using in situ hybridization in paraffin sections of routinely processed bladder cancers. *Mod Pathol* 4:503-513
 47. Hsu DW, Efird JT, Hedley-Whyte ET (1998) MIB-1 (Ki-67) index and transforming growth factor-alpha (TGF alpha) immunoreactivity are significant prognostic predictors for meningiomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 24:441-452

48. Hulsebos TJ, Oskam NT, Troost D, Leenstra S, Bijleveld EH (1998) Dynamics of genetic alterations associated with glioma recurrence. *Genes Chromosomes Cancer* 23:153-158
49. Ishino S, Hashimoto N, Fushiki S, Date K, Mori T, Fujimoto M, Nakagawa Y, Ueda S, Abe T, Inazawa J (1998) Loss of material from chromosome arm 1p during malignant progression of meningioma revealed by fluorescent in situ hybridization. *Cancer* 83:360-366
50. Jääskeläinen J, Haltia M, Laasonen E, Wahlström T, Valtonen S (1985) The growth rate of intracranial meningiomas and its relation to histology. An analysis of 43 patients. *Surg Neurol* 24:165-172
51. Jääskeläinen J, Haltia M, Servo A (1986) Atypical and anaplastic meningiomas: radiology, surgery, radiotherapy, and outcome. *Surg Neurol* 25:233-242
52. Jacoby LB, Pulaski K, Rouleau GA, Martuza RL (1990) Clonal analysis of human meningiomas and schwannomas. *Cancer Res* 50:6783-6786
53. Jellinger K, Slowik F (1975) Histological subtypes and prognostic problems in meningiomas. *J Neurol* 208:279-298
54. John HA, Birnstiel ML, Jones KW (1969) RNA-DNA hybrids at the cytological level. *Nature* 223:582-587
55. Katsuyama J, Papenhausen PR, Herz F, Gazivoda P, Hirano A, Koss LG (1986) Chromosome abnormalities in meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 22:63-68
56. Ketter R, Henn W, Niedermayer I, Steilen-Gimbel H, König J, Zang KD, Steudel WI (2001) Predictive value of progression-associated chromosomal aberrations for the prognosis of meningiomas: a retrospective study of 198 cases. *J Neurosurg* 95:601-607
57. Ketter R, Rahnenführer J, Henn W, Kim YJ, Feiden W, Steudel WI, Zang KD, Urbschat S (2008) Correspondence of tumor localization with tumor recurrence and cytogenetic progression in meningiomas. *Neurosurgery* 62:61-69
58. Kim YJ, Ketter R, Henn W, Zang KD, Steudel WI, Feiden W (2006a) Histopathologic indicators of recurrence in meningiomas: correlation with clinical and genetic parameters. *Virchows Arch* 449:529-538
59. Kim YJ, Romeike BF, Uszkoreit J, Feiden W (2006b) Automated nuclear segmentation in the determination of the Ki-67 labeling index in meningiomas. *Clin Neuropathol* 25:67-73

60. Kim YJ, Ketter R, Steudel WI, Feiden W (2007) Prognostic significance of the mitotic index using the mitosis marker anti-phosphohistone H3 in meningiomas. *Am J Clin Pathol* 128:118-125
61. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC, Cavenee WK (2002) The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 61:215-225
62. Kolles H, Niedermayer I, Schmitt C, Henn W, Feld R, Steudel WI, Zang KD, Feiden W (1995) Triple approach for diagnosis and grading of meningiomas: histology, morphometry of Ki-67/Feulgen stainings, and cytogenetics. *Acta Neurochir* 137:174-181
63. Korshunov A, Cherekaev V, Bekyashev A, Sycheva R (2007) Recurrent cytogenetic aberrations in histologically benign, invasive meningiomas of the sphenoid region. *J Neurooncol* 81:131-137
64. Küsters S, Maurer M, Burger AM, Metz T, Fiebig HH (2006) Correlation of ErbB2 gene status, mRNA and protein expression in a panel of >100 human tumor xenografts of different origin. *Onkologie* 29:249-256
65. Lakatosova M, Holeckova B (2007) Fluorescence in situ hybridisation. *Biologia* 62:243-250
66. Lamszus K, Kluwe L, Matschke J, Meissner H, Laas R, Westphal M (1999) Allelic losses at 1p, 9q, 10q, 14q, and 22q in the progression of aggressive meningiomas and undifferentiated meningeal sarcomas. *Cancer Genet Cytogenet* 110:103-110
67. Lamszus K (2004) Meningioma pathology, genetics and biology. *J Neuropathol Exp Neurol* 63:275-286
68. Langer PR, Waldrop AA, Ward DC (1981) Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:6633-6637
69. Lekanne Deprez RH, Riegman PH, van Drunen E, Warringa UL, Groen NA, Stefanko SZ, Koper JW, Avezaat CJ, Mulder PG, Zwarthoff EC, Hagemeyer A (1995) Cytogenetic, molecular genetic and pathological analyses in 126 meningiomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 54:224-235
70. Leone PE, Bello MJ, de Campos JM, Vaquero J, Sarasa JL, Pestana A, Rey JA (1999) NF2 gene mutations and allelic status of 1p, 14q, and 22q in sporadic meningiomas. *Oncogene* 18:2231-2239
71. Levy WJ, Bay J, Dohn, D (1982) Spinal cord meningioma. *J Neurosurg* 57:804-812

72. Lichter P, Cremer T, Borden J, Manuelidis L, Ward DC (1988) Delineation of individual human chromosomes in metaphase and interphase cells by in situ suppression hybridization using recombinant DNA libraries. *Hum Genet* 80:224-234
73. Lichter P, Boyle AL, Cremer T, Ward DC (1991) Analysis of genes and chromosomes by nonisotopic in situ hybridization. *Genet Anal Tech Appl* 8:24-35
74. Limon J, Dal Cin P, Sandberg AA (1986) Application of long-term collagenase disaggregation for the cytogenetic analysis of human solid tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 23:305-313
75. Lindblom A, Ruttledge M, Collins VP, Nordenskjöld M, Dumanski JP (1994) Chromosomal deletions in anaplastic meningiomas suggest multiple regions outside chromosome 22 as important in tumor progression. *Int J Cancer* 56:354-357
76. Lopez-Gines C, Cerda-Nicolas M, Peydro-Olaya A, Llombart-Bosch A (1993) Case of meningioma with del(1)(p32) as sole anomaly. *Cancer Genet Cytogenet* 70:74-76
77. Lopez-Gines C, Cerda-Nicolas M, Barcia-Salorio JL, Llombart-Bosch A (1995) Cytogenetical findings of recurrent meningiomas. A study of 10 tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 85:113-117
78. Lopez-Gines C, Cerda-Nicolas M, Gil-Benso R, Barcia-Salorio JL, Llombart-Bosch A (2001) Loss of 1p in recurrent meningiomas. A comparative study in successive recurrences by cytogenetics and fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 125:119-124
79. Lopez-Gines C, Cerda-Nicolas M, Gil-Benso R, Callaghan R, Collado M, Roldan P, Llombart-Bosch A (2004) Association of loss of 1p and alterations of chromosome 14 in meningioma progression. *Cancer Genet Cytogenet* 148:123-128
80. Louis DN, Scheithauer BW, Budka H, von Deimling A, Kepes JJ (2000) Meningiomas. In: Kleihues P, Cavenee WK (eds) *Pathology and genetics: tumours of the nervous system. World health organization classification of tumours*. IARC Press, Lyon, pp 176-184
81. Lusi E, Gutmann DH (2004) Meningioma: an update. *Curr Opin Neurol* 17:687-692
82. Maat W, Jordanova ES, van Zelderen-Bhola SL, Barthen ER, Wessels HW, Schalijs-Delfos NE, Jager MJ (2007) The heterogeneous distribution of monosomy 3 in uveal melanomas: implications for prognostication based on fine-needle aspiration biopsies. *Arch Pathol Lab Med* 131:91-96

83. Madsen C, Schroder HD (1997) Ki-67 immunoreactivity in meningiomas - determination of the proliferative potential of meningiomas using the monoclonal antibody Ki-67. *Clin Neuropathol* 16:137-142
84. Mahmood A, Caccamo DV, Tomecek FJ, Malik GM (1993) Atypical and malignant meningiomas: a clinicopathological review. *Neurosurgery* 33:955-963
85. Maier H, Öfner D, Hittmair A, Kitz K, Budka H (1992) Classic, atypical, and anaplastic meningioma: three histopathological subtypes of clinical relevance. *J Neurosurg* 77:616-623
86. Maier H, Wanschitz J, Sedivy R, Rössler K, Öfner D, Budka H (1997) Proliferation and DNA fragmentation in meningioma subtypes. *Neuropathol Appl Neurobiol* 23:496-506
87. Maillo A, Orfao A, Sayagues JM, Diaz P, Caballero M, Morales F, Tabernero D (2003) New classification scheme for the prognostic stratification of meningioma on the basis of chromosome 14 abnormalities, patient age, and tumor histopathology. *J Clin Oncol* 21:3285-3295
88. Mancini M, Cedrone M, Diverio D, Emanuel B, Stul M, Vranckx H, Brama M, De Cuia MR, Nanni M, Fazi F, Mecucci C, Alimena G, Hagemeyer A (2000) Use of dual-color interphase FISH for the detection of inv(16) in acute myeloid leukemia at diagnosis, relapse and during follow-up: a study of 23 patients. *Leukemia* 14:364-368
89. Marks SM, Whitwell HL, Lye RH (1986) Recurrence of meningiomas after operation. *Surg Neurol* 25:436-440
90. Maruno M, Yoshimine T, Muhammad AK, Ninomiya H, Kato A, Hayakawa T (1999) Chromosomal aberrations detected by comparative genomic hybridization (CGH) in human astrocytic tumors. *Cancer Lett* 135:61-66
91. Matsuno A, Fujimaki T, Sasaki T, Nagashima T, Ide T, Asai A, Matsuura R, Utsunomiya H, Kirino T (1996) Clinical and histopathological analysis of proliferative potentials of recurrent and non-recurrent meningiomas. *Acta Neuropathol* 91:504-510
92. Menon AG, Rutter JL, von Sattel JP, Synder H, Murdoch C, Blumenfeld A, Martuza RL, von Deimling A, Gusella JF, Houseal TW (1997): Frequent loss of chromosome 14 in atypical and malignant meningioma: identification of a putative tumor progression locus. *Oncogene* 14:611-616
93. Mihaila D, Jankowski M, Gutierrez JA, Rosenblum ML, Newsham IF, Böglér O, Rempel SA; NABTT CNS Consortium (2003) Meningiomas: loss of heterozygosity on chromosome 10 and marker-specific correlations with grade, recurrence, and survival. *Clin Cancer Res* 9:4443-4451

94. Mori H, Sugiyama Y, Terabayashi T, Niida H, Yamamoto K, Kitazawa T, Wakaki K (1988) Recurrent meningioma with malignant changes and extracranial multiple metastases. *No Shinkei Geka* 16:899-902
95. Müller P, Henn W, Niedermayer I, Ketter R, Feiden W, Steudel WI, Zang KD, Steilen-Gimbel H (1999) Deletion of chromosome 1p and loss of expression of alkaline phosphatase indicate progression of meningiomas. *Clin Cancer Res* 5:3569-3577
96. Murakami M, Hashimoto N, Takahashi Y, Hosokawa Y, Inazawa J, Mineura K (2003) A consistent region of deletion on 1p36 in meningiomas: identification and relation to malignant progression. *Cancer Genet Cytogenet* 140:99-106
97. Nadkarni B, Arora A, Kumar S, Bhatia A (2005) Recurrent spinal meningioma: a case report with review of the literature. *J Orthop Surg* 13:326-329
98. Nagasaka T, Gunji M, Hosokai N, Hayashi K, Ikeda H, Ito M, Inao S (2007) Fish 1p/19q deletion/imbalance for molecular subclassification of glioblastoma. *Brain Tumor Pathol* 24:1-5
99. Nakasu S, Nakasu Y, Nakajima M, Matsuda M, Handa J (1999) Preoperative identification of meningiomas that are highly likely to recur. *J Neurosurg* 90:455-462
100. Nakasu S, Fukami T, Jito J, Matsuda M (2005) Microscopic anatomy of the brain-meningioma interface. *Brain Tumor Pathol* 22:53-57
101. Naoumov NV, Alexander GJ, Eddleston AL, Williams R (1988) In situ hybridisation in formalin fixed, paraffin wax embedded liver specimens: method for detecting human and viral DNA using biotinylated probes. *J Clin Pathol* 41:793-798
102. Niedermayer I, Feiden W, Henn W, Steilen-Gimbel H, Steudel WI, Zang KD (1997) Loss of alkaline phosphatase activity in meningiomas: a rapid histochemical technique indicating progression-associated deletion of a putative tumor suppressor gene on the distal part of the short arm of chromosome 1. *J Neuropathol Exp Neurol* 56:879-886
103. Niedermayer I, Kolles H, Feiden W (1998) Klassifikation und Grading von Gliomen und Meningeomen. *Radiologe* 38:888-897
104. Ohta M, Iwaki T, Kitamoto T, Takeshita I, Tateishi J, Fukui M (1994) MIB1 staining index and scoring of histologic features in meningioma. Indicators for the prediction of biologic potential and postoperative management. *Cancer* 74:3176-3189
105. Ozaki S, Nishizaki T, Ito H, Sasaki K (1999) Comparative genomic hybridization analysis of genetic alterations associated with malignant progression of meningioma. *J Neurooncol* 41:167-174

106. Palma L, Celli P, Franco C, Cervoni L, Cantore G (1997) Long-term prognosis for atypical and malignant meningiomas: a study of 71 surgical cases. *J Neurosurg* 86:793-800
107. Parrens M, Belaud-Rotureau MA, Fitoussi O, Carerre N, Bouabdallah K, Marit G, Dubus P, de Mascarel A, Merlio JP (2006) Blastoid and common variants of mantle cell lymphoma exhibit distinct immunophenotypic and interphase FISH features. *Histopathology* 48:353-362
108. Pelz AF, Kröning H, Franke A, Wieacker P, Stumm M (2002) High reliability and sensitivity of the BCR/ABL1 D-FISH test for the detection of BCR/ABL rearrangements. *Ann Hematol* 81:147-153
109. Pelz AF, Klawunde P, Skalej M, Wieacker P, Kirches E, Schneider T, Mawrin C (2007) Novel chromosomal aberrations in a recurrent malignant meningioma. *Cancer Genet Cytogenet* 174:48-53
110. Perry A, Jenkins RB, Dahl RJ, Mörtel CA, Scheithauer BW (1996) Cytogenetic analysis of aggressive meningiomas: possible diagnostic and prognostic implications. *Cancer* 77:2567-2573
111. Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ, Lohse CM (1997) Meningioma grading: an analysis of histologic parameters. *Am J Surg Pathol* 21:1455-1465
112. Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ, Lohse CM (1998) The prognostic significance of MIB-1, p53 and DNA flow cytometry in completely resected primary meningiomas. *Cancer* 82:2262-2269
113. Perry A, Scheithauer BW, Stafford SL, Lohse CM, Wollan PC (1999) "Malignancy" in meningiomas: a clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications. *Cancer* 85:2046-2056
114. Perry A, Banerjee R, Lohse CM, Kleinschmidt-DeMasters BK, Scheithauer BW (2002) A role for chromosome 9p21 deletions in the malignant progression of meningiomas and the prognosis of anaplastic meningiomas. *Brain Pathol* 12:183-190
115. Perry A, Gutmann DH, Reifenberger G (2004a) Molecular pathogenesis of meningiomas. *J Neurooncol* 70:183-202
116. Perry A (2004b) Unmasking the secrets of meningioma: a slow but rewarding journey. *Surg Neurol* 61:171-173
117. Pfisterer WK, Hank NC, Preul MC, Hendricks WP, Puschel J, Coons SW, Scheck AC (2004) Diagnostic and prognostic significance of genetic regional heterogeneity in meningiomas. *Neuro Oncol* 6:290-299

118. Pfisterer WK, Coons SW, Aboul-Enein F, Hendricks WP, Scheck AC, Preul MC (2008) Implicating chromosomal aberrations with meningioma growth and recurrence: results from FISH and MIB-I analysis of grades I and II meningioma tissue. *J Neurooncol* 87:43-50
119. Pinkel D, Straume T, Gray JW (1986) Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2934-2938
120. Raap AK, Marijnen JG, Vrolijk J, van der Ploeg M (1986) Denaturation, renaturation, and loss of DNA during in situ hybridization procedures. *Cytometry* 7:235-242
121. Rajaram V, Brat DJ, Perry A (2004) Anaplastic meningioma versus meningeal hemangiopericytoma: immunohistochemical and genetic markers. *Hum Pathol* 35:1413-1418
122. Reifenberger J, Reifenberger G, Liu L, James CD, Wechsler W, Collins VP (1994) Molecular genetic analysis of oligodendroglial tumors shows preferential allelic deletions on 19q and 1p. *Am J Pathol* 145:1175-1190
123. Rempel SA, Schwechheimer K, Davis RL, Cavenee WK, Rosenblum ML (1993) Loss of heterozygosity for loci on chromosome 10 is associated with morphologically malignant meningioma progression. *Cancer Res* 53:2386-2392
124. Rohringer M, Sutherland GR, Louw DF, Sima AA (1989) Incidence and clinicopathological features of meningioma. *J Neurosurg* 71:665-672
125. Roser F, Samii M, Ostertag H, Bellinzona M (2004) The Ki-67 proliferation antigen in meningiomas. Experience in 600 cases. *Acta Neurochir* 146:37-44
126. Roser F, Nakamura M, Bellinzona M, Ritz R, Ostertag H, Tatagiba MS (2006) Proliferation potential of spinal meningiomas. *Eur Spine J* 15:211-215
127. Roux FX, Nataf F, Pinaudeau M, Borne G, Devaux B, Meder JF (1996) Intraspinal meningiomas: review of 54 cases with discussion of poor prognosis factors and modern therapeutic management. *Surg Neurol* 46:458-464
128. Rutledge MH, Sarrazin J, Rangaratnam S, Phelan CM, Twist E, Merel P, Delattre O, Thomas G, Nordenskjöld M, Collins VP, Dumanski JP, Rouleau GA (1994) Evidence for the complete inactivation of the NF2 gene in the majority of sporadic meningiomas. *Nat Genet* 6:180-184
129. Sade B, Chahlavi A, Krishnaney A, Nagel S, Choi E, Lee JH (2007) World Health Organization grades II und III meningiomas are rare in the cranial base and spine. *Neurosurgery* 61:1194-1198
130. Sanson M, Cornu P (2000) Biology of meningiomas. *Acta Neurochir* 142:493-505

131. Sayagues JM, Tabernero MD, Maillo A, Espinosa A, Rasillo A, Diaz P, Ciudad J, Lopez A, Merino M, Goncalves JM, Santos-Briz A, Morales F, Orfao A (2004) Intratumoral patterns of clonal evolution in meningiomas as defined by multicolor interphase fluorescence in situ hybridization (FISH): is there a relationship between histopathologically benign and atypical/anaplastic lesions? *J Mol Diagn* 6:316-325
132. Schaller B (2005) Spinal meningioma: relationship between histological subtypes and surgical outcome? *J Neurooncol* 75:157-161
133. Schiffer D, Ghimenti C, Fiano V (2005) Absence of histological signs of tumor progression in recurrences of completely resected meningiomas. *J Neurooncol* 73:125-130
134. Schneider BF, Shashi V, von Kap-herr C, Golden WL (1995) Loss of chromosomes 22 and 14 in the malignant progression of meningiomas. A comparative study of fluorescence in situ hybridization (FISH) and standard cytogenetic analysis. *Cancer Genet Cytogenet* 85:101-104
135. Schwab M, Praml C, Amler LC (1996) Genomic instability in 1p and human malignancies. *Genes Chromosomes Cancer* 16:211-229
136. Shintaku M, Hashimoto K, Okamoto S (2007) Intraventricular meningioma with anaplastic transformation and metastasis via the cerebrospinal fluid. *Neuropathology* 27:448-452
137. Simon M, von Deimling A, Larson JJ, Wellenreuther R, Kaskel P, Waha A, Warnick RE, Tew JM Jr, Menon AG (1995) Allelic losses on chromosomes 14, 10, and 1 in atypical and malignant meningiomas: a genetic model of meningioma progression. *Cancer Res* 55:4696-4701
138. Simon M, Boström J, Koch P, Schramm J (2006) Interinstitutional variance of postoperative radiotherapy and follow up for meningiomas in Germany: impact of changes of the WHO classification. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:767-773
139. Simon M, Boström JP, Hartmann C (2007) Molecular genetics of meningiomas: from basic research to potential clinical applications. *Neurosurgery* 60:787-798
140. Simpson D (1957) The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20:22-39
141. Skullerud K, Löken AC (1974) The prognosis in meningiomas. *Acta Neuropathol* 29:337-344
142. Solero CL, Fornari M, Giombini S, Lasio G, Oliveri G, Cimino C, Pluchino F (1989) Spinal meningiomas: review of 174 operated cases. *Neurosurgery* 25:153-160

143. Steudel WI, Feld R, Henn W, Zang KD (1996) Correlation between cytogenetic and clinical findings in 215 human meningiomas. *Acta Neurochir Suppl* 65:73-76
144. Striepecke E, Handt S, Weis J, Koch A, Cremerius U, Reineke T, Büll U, Schröder JM, Zang KD, Böcking A (1996) Correlation of histology, cytogenetics and proliferation fraction (Ki-67 and PCNA) quantitated by image analysis in meningiomas. *Pathol Res Pract* 192:816-824
145. Sulman EP, Dumanski JP, White PS, Zhao H, Maris JM, Mathiesen T, Bruder C, Cnaan A, Brodeur GM (1998) Identification of a consistent region of allelic loss on 1p32 in meningiomas: correlation with increased morbidity. *Cancer Res* 58:3226-3230
146. Taberner MD, Espinosa AB, Maillo A, Sayagues JM, Alguero MdelC, Lumbreras E, Diaz P, Goncalves JM, Onzain I, Merino M, Morales F, Orfao A (2005) Characterization of chromosome 14 abnormalities by interphase in situ hybridization and comparative genomic hybridization in 124 meningiomas. Correlation with clinical, histopathologic, and prognostic features. *Am J Clin Pathol* 123:744-751
147. Taberner MD, Espinosa AB, Maillo A, Rebelo O, Vera JF, Sayagues JM, Merino M, Diaz P, Sousa P, Orfao A (2007) Patient gender is associated with distinct patterns of chromosomal abnormalities and sex chromosome linked gene-expression profiles in meningiomas. *Oncologist* 12:1225-1236
148. Thomas HG, Dolman CL, Berry K (1981) Malignant meningioma: clinical and pathological features. *J Neurosurg* 55:929-934
149. Tourtellotte WW, Verity AN, Schmid P, Martinez S, Shapshak P (1987) Covalent binding of formalin fixed paraffin embedded brain tissue sections to glass slides suitable for in situ hybridization. *J Virol Methods* 15:87-99
150. Tse JY, Ng HK, Lau KM, Lo KW, Poon WS, Huang DP (1997) Loss of heterozygosity of chromosome 14q in low- and high-grade meningiomas. *Hum Pathol* 28:779-785
151. Van Prooijen-Knegt AC, Van Hoek JF, Bauman JG, Van Duijn P, Wool IG, Van der Ploeg M (1982) In situ hybridization of DNA sequences in human metaphase chromosomes visualized by an indirect fluorescent immunocytochemical procedure. *Exp Cell Res* 141:397-407
152. Vankalakunti M, Vasishta RK, Das Radotra B, Khosla VK (2007) MIB-1 immunolabeling: a valuable marker in prediction of benign recurring meningiomas. *Neuropathology* 27:407-412

153. Ventura RA, Martin-Subero JI, Jones M, McParland J, Gesk S, Mason DY, Siebert R (2006) FISH analysis for the detection of lymphoma-associated chromosomal abnormalities in routine paraffin-embedded tissue. *J Mol Diagn* 8:141-151
154. von Deimling A, Louis DN, von Ammon K, Petersen I, Wiestler OD, Seizinger BR (1992) Evidence for a tumor suppressor gene on chromosome 19q associated with human astrocytomas, oligodendrogliomas, and mixed gliomas. *Cancer Res* 52:4277-4279
155. von Deimling A, Larson J, Wellenreuther R, Stangl AP, van Velthoven V, Warnick R, Tew J Jr, Balko G, Menon AG (1999) Clonal origin of recurrent meningiomas. *Brain Pathol* 9:645-650
156. Ware ML, Berger MS, Binder DK (2003) Molecular biology of glioma tumorigenesis. *Histol Histopathol* 18:207-216
157. Weber RG, Sabel M, Reifenberger J, Sommer C, Oberstrass J, Reifenberger G, Kiessling M, Cremer T (1996) Characterization of genomic alterations associated with glioma progression by comparative genomic hybridization. *Oncogene* 13:983-994
158. Weber RG, Boström J, Wolter M, Baudis M, Collins VP, Reifenberger G, Lichter P (1997) Analysis of genomic alterations in benign, atypical, and anaplastic meningiomas: toward a genetic model of meningioma progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14719-14724
159. Weith A, Brodeur GM, Bruns GA, Matisse TC, Mischke D, Nizetic D, Seldin MF, van Roy N, Vance J (1996) Report of the second international workshop on human chromosome 1 mapping 1995. *Cytogenet Cell Genet* 72:114-144
160. Wellenreuther R, Kraus JA, Lenartz D, Menon AG, Schramm J, Louis DN, Ramesh V, Gusella JF, Wiestler OD, von Deimling A (1995) Analysis of the neurofibromatosis 2 gene reveals molecular variants of meningioma. *Am J Pathol* 146:827-832
161. Wernicke C, Thiel G, Lozanova T, Vogel S, Witkowski R (1997) Numerical aberrations of chromosomes 1, 2, and 7 in astrocytomas studied by interphase cytogenetics. *Genes Chromosomes Cancer* 19:6-13
162. Whittle IR, Foo MS, Besser M, Vanderfield GK (1984) Progesterone and oestrogen receptors in meningiomas: biochemical and clinicopathological considerations. *Aust N Z J Surg* 54:325-330
163. Wong G, Harper C (1984) Atypical meningiomas: clinical pathological correlation. *Aust N Z J Surg* 54:331-336

164. Woo KS, Sung KS, Kim KU, Shaffer LG, Han JY (2008) Characterization of complex chromosome aberrations in a recurrent meningioma combining standard cytogenetic and array comparative genomic hybridization techniques. *Cancer Genet Cytogenet* 180:56-59
165. Yamazaki Y, Kawano N, Suwa T, Ito H, Yada K, Kuwao S (1994) Recurrent meningioma with malignant transformation: a case which changed from meningothelial type to papillary type. *No Shinkei Geka* 22:285-289
166. Yang SY, Park CK, Park SH, Kim DG, Chung YS, Jung HW (2008) Atypical and anaplastic meningiomas: prognostic implications of clinicopathological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79:574-580
167. Yilmaz Z, Sahin FI, Atalay B, Özen Ö, Caner H, Baybek M, Demirhan B, Altinörs N (2005) Chromosome 1p36 and 22qter deletions in paraffin block sections of intracranial meningiomas. *Pathol Oncol Res* 11:224-228
168. Younis GA, Sawaya R, DeMonte F, Hess KR, Albrecht S, Bruner JM (1995) Aggressive meningeal tumors: review of a series. *J Neurosurg* 82:17-27
169. Zang KD, Singer H (1967) Chromosomal constitution of meningiomas. *Nature* 216:84-85
170. Zang KD (1982) Cytological and cytogenetical studies on human meningioma. *Cancer Genet Cytogenet* 6:249-274
171. Zang KD (2001) Meningioma: a cytogenetic model of a complex benign human tumor, including data on 394 karyotyped cases. *Cytogenet Cell Genet* 93:207-220
172. Zankl H, Zang KD (1972) Cytological and cytogenetical studies on brain tumors. IV. Identification of the missing G chromosome in human meningiomas as no. 22 by fluorescence technique. *Humangenetik* 14:167-169
173. Zankl H, Zang KD (1980) Correlations between clinical and cytogenetical data in 180 human meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1:351-356
174. Zhen J, Liu C, Jiang B, He J, Pang Q, Wang G (2008) Preoperative evaluation of venous systems with computed tomography venography in parasagittal meningiomas. *J Comput Assist Tomogr* 32:293-297
175. Zorludemir S, Scheithauer BW, Hirose T, Van Houten C, Miller G, Meyer FB (1995) Clear cell meningioma: a clinicopathologic study of a potentially aggressive variant of meningioma. *Am J Surg Pathol* 19:493-505

7. Anhang

7.1 Chemikalien und Geräte

- 3-(Triethoxysilyl)-propylamin ($C_9H_{23}NO_3Si$), Merck-Schuchard, Darmstadt, Deutschland
- 4-Hydroxybenzoesäure ($C_7H_6O_3$, M138,12g/mol), Merck-Schuchardt, Darmstadt, Deutschland
- Alkohol abs. (Ethanol 100%, MERCK)
- Aqua B. Braun (1000ml), Braun, Melsungen, Deutschland
- destilliertes Wasser
- Xylol rein (MERCK)
- CCD - Kamera
- Deckgläser (18x18mm, Nr.1), AMEFA, Deutschland
- Diamantschneider
- Eppendorfgefäße (1,5ml), Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Falcon-Röhrchen/Polypropylenröhrchen (50ml, freistehend), Deltalab, Barcelona, Spanien
- Feuchteammer
- Fixogum (Art.-Nr. 290110000), Marabu, Tamm, Deutschland
- Fluoreszenzmikroskop (Olympus AX70 TRF), Olympus optical Co, Japan
- Erlenmeyerkolben
- Gefrierschrank (Comfort, $-20^{\circ}C$), Liebherr, Deutschland
- Glasküvetten (50ml), Küvettendeckel
- Lichtmikroskop (Nikon Eclipse E600), Nikon DN100digital camera, Tokio, Japan
- Kamera (Fluoreszenzmikroskop AX 70)(Olympus PM-C35), Japan
- Kühlschrank (Premium, $4^{\circ}C$), Liebherr, Deutschland
- Magnetrührgerät (IKA Labortechnik), Janke&Kunkel
- Messzylinder
- Mikropipetten (0,5-10 μ l, 100-1000 μ l), Eppendorf
- Mikrotom (2030, Reichert-Jung), Cambridge Instrumente, Deutschland
- Mikrowelle (Combi Cookmate), Daewoo
- Objektträger (76x24mm), Menzel-Gläser
- Objektträgerhalter
- Parafilm (Parafilm M, Laboratory Film), American National Can, Chicago, IL
- PCR-Tube (0,2ml Dome Cap, orange), MBP Molecular Bio Products
- pH-Elektrode (Blue line 11pH), Schott
- pH-Meter (pH526 Multi cal WTW), Weilheim, Deutschland
- Pinzette
- Pipettenspitzen (200 μ l/1000 μ l, steril), Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
- Pipettenspitzen (10 μ l weiß, steril, ultratip), Greiner Bio One, Deutschland
- Thermometer
- Waage (PJ360 Delta Range), Mettler Instrumente, Gießen, Deutschland

- Wärmeofen (Typ B290), Heraeus Instruments, Hanau, Deutschland
- Wärmeplatte (Medax, Störck Tronic, Typ 15801), Nagel GmbH, Kiel, Deutschland
- Wärmeschranke 38°C/45°C (Typ 6), 75°C (Typ 12), Fuction line Heraeus Instruments, Deutschland
- Wecker, Mali

7.2 Ergebnistabellen

Tab. 7.2.1 Daten der Klassischen Zytogenetik

lfd. Nr.	Fall-Nr.	Rez. Nr.	N-Nummer FISH	Klassische Zytogenetik
1	1	1	N 39/92 III 11	n.a.
2		2	N 858/98	43,X,-Y,der(11;17)(p15;q21)-14,-22
3	2	0	N 830/89	n.a.
		1	N 1159/02 *	40-41, XX, cx, der(1)(p21), der(3p),der(4p), del(6)(q23), add(7q), add(8q), -10, +der(12), -17, -18, -22, der(22)
4		2	N 957/05 IV 3	37-41, X, add(X)(qter), cx, der(1)t(1;9)(p12;q21)
4'		3	N 895/06 SS	n.a.
5	3	0	N 652/94 SS	46, XX, -13, +mar, 46, XX ¹⁾
6		1	N 566/01 SS	39-43, XX, cx, del(1)(p12), -7, -10, -14, -15, -18, -19, -22, +1-3mar
		2	N 934/04 *	39-47, XX, del(1)(p12)
7	4	1	N 530/01	n.a.
8		3	N 780/04 II	n.a.
11	6	0	N 40/91 II b	n.a.
12		1	N 180/92 II	45,XY,-22
13		2	N 684/93 IV	44, XY, del(1)(p12)(q32), del(3)(p13),r(5), -6,- 9, 9,+2t(9;11) (q11;q11), del(11)(q11), -14, add(14)8p11), add(19)(q13), del(20)(q21), -22, +r(?)
14	7	1	N 715/03 I 1	n.a.
15		2	N 167/04 SS	80-86,XX,cx<4n>, del(1)(p32), del(1)(q21)x2,del(6)(q15), -10, -11, -13, -15, -18, -20, +3-6mar[cp15]
16	8	0	N 87/88	n.a.
		1	N 301/02 *	46, XY ¹⁾
17		2	N 102/05 I	45, XY, del(1)(p21), -22
18	9	1	N 41/95 3	n.a.
19		3	N 1464/02 I	40,XY, -1, -1, der(1)t(1;1)(p36;q21), 10, -14, -16, -18, -22[cp13]
22	11	0	N 85/92	n.a.
23		1	N 635/95	n.a.
24	12	0	N 58/02 SS 2	laut Bericht vom 11.10.2005: -1p, -22
25		1	N1049/05 SS	43, XX, -1, -11, +der(1)t(1;11)(p11;q11), del(2)(p12), del(6)(q28), der(7)dic(7;22)(p12;q11), -13, -22[cp10]
26	13	1	N 223/89	n.a.
		2	N 1333/94 II *	40-41, XX, -1, +del(1)(p34), +dic(1;9)(p12;q34), -3, +add(3)(pter), +(3;?), -5, -6, +i(6p), del(7)(q32), -9, -(10), t(12;?)(p11;?), -14, (15), -16, (-18), (-19), -22
27		3	N 931/96 I 1	40-42, XX, -1, +1-2del(1)(p34), +dic(1;9)(p12;q34), -5, -6, +i(6p), del(7)(q32), -9, -(10), t(12;?)(p11;?), -14, (-15), -16, (-18), -22
28	14	2	N 162/93 III	42-43, XY, -1, +t(1;14)(q11;q24), +t(1;6)(q21;q25), 2p+, -6, del(6)(q13), -14, -16, -17, -18, +20p+, (-22), (del(22)(q13))
		4	N 1612/95 II *	46,XY ¹⁾
29		7	N 854/01 VIII(1)	41, X, -Y, ?t(3;9)(q12;q13), -6, -10, -14, -20, -22, + mar
30	15	0	N 9234/86	n.a.
		1	N 103/92 II *	laut Bericht vom 08.06.1995: -22, laut Bericht vom 22.08.2005: -22, -14 ?
		2	N 651/95 *	44, XY, -19, -22
		3	N 686/99 *	46, XY ¹⁾
31		4	N 840/05 SS	42-45, cx, -22, [cp12]
32	16	0	N 460/93 I	45, X, -Y
		1	N 1052/99 II *	46, XY, del(1)(p31), add(20)(p13)
33		2	N 1565/01 SS	45, X, -Y ¹⁾
34	17	0	N 1061/98 I 1	43, XX, -1, -7, +t(1;7)(p11;q11), der(4), der(6), -13, -14, -15, der(18), +20, -22[cp15]
		1	N 1431/99	laut Bericht vom 15.01.2002: -1p
35		2	N 99/02 IIa2	43, XX, cx, -1, -7, +der(1)t(1;7)(p11;q11), -22, mar, ace[cp15]
36	18	0	N 226/98 I	43-44, XY, (-1), -14, -22, (+r) [10]/idem, del(1)(p13) [8]
37		1	N1076/01 1	n.a.
38	19	0	N 683/97 Xb	n.a.
39		1	N 1652/01	n.a.
42	21	0	N 284/91	n.a.
43		1	N 1157/96 I	n.a.
46	23	0	N 216/03	46, XX; [42?, cx,?der(1p)] ²⁾
47		1	N 676/03 2	46,XX[cp5]; ?, cx, del(1)(p21)[1] ²⁾
48	24	0	N 25/96 III	42, XY, del(1)(p21), -6, -14, -18, -22
49		1	N 115/02 SS	42, XY, del(1)(p21), -6, -14, -18, -22
50	25	1	N 218/95 II	44, cX, del(1)(p), del(2)(p) ²⁾
51		2	N 1818/01 V	72, XX, cx, del(1)(p21)x2, der(2)(p11)x2 ?der(7)t(3;7)(q21;q34)x2, -22, -22[cp15]
52		3	N 380/02 SS	n.a.
53	26	0	N 1563/95 III	n.a.
54		1	N 506/98 II	62-65, XXYY, +2, +2, +3, +5, +%, +8, +), +11, +11, +add(12)(pter)x2, +17, +17, +19, +20, +20, +21, +21

55	27	0	N 433/96 I	45,XX, -22
56		1	N1424/01 SS	45, XX, -22
57	28	0	N 815/02	46, XX
58		1	N 54/05	46, XX[cp15]
59	29	0	N 211/96 V3	40, X, -Y, -1, -2, +t(1;2)(p11;q23), -4, 5, -6, -9, +t(1;9)(q25;p12), -14, -15, +t(6;15), (p12;q24), -17, +2t(1;17)(q21;p13), -18, -20, 22
60		1	N 84/97 IV	44-46, XY, -1, t(1;2)(p11;q23), (del(1)(p32)), (-8), -17, add(17)(q25), +1-5mar
61	30	0	N 804/95 V 2	n.a.
62		1	N 1237/97 I3	n.a.
63	31	0	N 410/88	n.a.
64		1	N 1015/93	n.a.

Klassische Zytogenetik, n.a. = keine zytogenetischen Daten verfügbar (not available), * = Zytogenetische Daten von nicht anhand FISH untersuchter Meningeome, ¹⁾ schlechte Anzüchtung/angewachsenes Normalgewebe, ²⁾ schlecht auswertbare Mitose, **Rezidiv**, 0 = Primärtumor, 1 = 1. Rezidiv, usw.

Tab. 7.2.2 Übersicht über die Lokalisation progressiver und nicht-progressiver Meningeome

lfd. Nr.	Fall-Nr.	Rez. Nr.	N-Nummer	Geschlecht	Alter ED	Histologie	Verlauf	Lokalisation
1	1	1	N 39/92 III 11	m	60	II	nicht-progressiv	supratent.
2		2	N 858/98			II		supratent.
3	2	0	N 830/89	w	46	I	progressiv	supratent. ¹⁾
4		2	N 957/05 IV 3			II		supratent.
4'		3	N 895/06 SS			II		S.b.
5	3	0	N 652/94 SS	w	42	II	progressiv	supratent.
6		1	N 566/01 SS			III		supratent.
7	4	1	N 530/01	w	26	I	progressiv	spinal
8		3	N 780/04 II			II		spinal
11	6	0	N 40/91 II b	m	63	III	nicht-progressiv	supratent.
12		1	N 180/92 II			III		supratent.
13		2	N 684/93 IV			III		n.a.
14	7	1	N 715/03 I 1	w	46	III	nicht-progressiv	S.b.
15		2	N 167/04 SS			III		S.b.
16	8	0	N 87/88	m	34	I	progressiv	S.b.
17		2	N 102/05 I			II		S.b.
18	9	1	N 41/95 3	m	45	I	nicht-progressiv	supratent.
19		3	N 1464/02 I			I		supratent.
22	11	0	N 85/92	w	68	II	nicht-progressiv	n.a.
23		1	N 635/95			II		supratent.
24	12	0	N 58/02 SS 2	w	15	II	nicht-progressiv	S.b.
25		1	N1049/05 SS			II		S.b.
26	13	1	N 223/89	w	62	I	progressiv	supratent.
27		3	N 931/96 I 1			II		n.a.
28	14	2	N 162/93 III	m	50	II	progressiv	supratent.
29		7	N 854/01 VIII(1)			III		supratent.
30	15	0	N 9234/86	m	39	I	progressiv	supratent. ²⁾
31		4	N 840/05 SS			II		S.b.
32	16	0	N 460/93 I	m	58	II	progressiv	supratent.
33		2	N 1565/01 SS			III		supratent.
34	17	0	N 1061/98 I 1	w	65	II	nicht-progressiv	supratent.
35		2	N 99/02 IIa2			II		supratent.
36	18	0	N 226/98 I	m	57	II	nicht-progressiv	supratent.
37		1	N1076/01 1			II		supratent.
38	19	0	N 683/97 Xb	w	46	I	nicht-progressiv	S.b.
39		1	N 1652/01			I		S.b.
42	21	0	N 284/91	w	67	I	progressiv	n.a.
43		1	N 1157/96 I			II		S.b.
46	23	0	N 216/03	w	69	III	nicht-progressiv	infratent.
47		1	N 676/03 2			III		infratent.
48	24	0	N 25/96 III	m	40	II	progressiv	supratent.
49		1	N 115/02 SS			III		supratent.
50	25	1	N 218/95 II	w	44	I	progressiv	supratent.
51		2	N 1818/01 V			III		n.a.
52		3	N 380/02 SS			III		supratent.
53	26	0	N 1563/95 III 1	m	67	III	nicht-progressiv	supratent.
54		1	N 506/98 II			III		supratent.
55	27	0	N 433/96 I	w	49	II	nicht-progressiv	spinal
56		1	N1424/01 SS			II		spinal
57	28	0	N 815/02	w	38	I	nicht-progressiv	S.b.
58		1	N 54/05			I		S.b.
59	29	0	N 211/96 V3	m	37	III	nicht-progressiv	supratent. ³⁾
60		1	N 84/97 IV			III		S.b.
61	30	0	N 804/95 V 2	m	36	II	nicht-progressiv	supratent.
62		1	N 1237/97 I3			II		supratent.
63	31	0	N 410/88	m	46	I	progressiv	S.b.
64		1	N 1015/93			III		n.a.

Lokalisation, n.a. = keine Angaben zur Lokalisation; supratent. = supratentoriell, S.b. = Schädelbasis, infratent. = infratentoriell, spinal; ¹⁾ primär temporo-parietal, dann petroclival; ²⁾ primäres Falxmeningeom, dann frontoorbital, ³⁾ primär temporo-parietal, dann ethmoidal

Tab. 7.2.3 Ergebnisse der Alkalischen Phosphatase-Reaktion und der Ki-67 Immunhistochemie

Iffd. Nr.	Fall-Nr.	N-Nummer	Histologie	Verlauf	FISH 1p	Alkalische Phosphatase	Ki-67 Index
1	1	N 39/92 III 11	II	nicht-progressiv	disom	n.a.	14,2
2		N 858/98	II		disom	partiell-negativ	15,8
3	2	N 830/89	I	progressiv	del	n.a.	0,4
4		N 957/05 IV 3	II		disom*	partiell-negativ	10,4
4'		N 895/06 SS	II		del	negativ	8,3
5	3	N 652/94 SS	II	progressiv	del	n.a.	5,2
6		N 566/01 SS	III		del	n.a.	10,5
7	4	N 530/01	I	progressiv	del	negativ	5,6
8		N 780/04 II	II		disom	negativ	10,0
11	6	N 40/91 II b	III	nicht-progressiv	del	n.a.	17,2
12		N 180/92 II	III		del	n.a.	50,5
13		N 684/93 IV	III		del	n.a.	15,2
14	7	N 715/03 I 1	III	nicht-progressiv	del	n.a.	30,5
15		N 167/04 SS	III		del	partiell-negativ	35,7
16	8	N 87/88	I	progressiv	del	n.a.	0,4
17		N 102/05 I	II		del	negativ	6,1
18	9	N 41/95 3	I	nicht-progressiv	del	n.a.	2,0
19		N 1464/02 I	I		del	negativ	5,0
22	11	N 85/92	II	nicht-progressiv	del	n.a.	2,5
23		N 635/95	II		n.a.	n.a.	n.a.
24	12	N 58/02 SS 2	II	nicht-progressiv	del	partiell-negativ	5,0
25		N1049/05 SS	II		del	partiell-negativ	1,3
26	13	N 223/89	I	progressiv	del	n.a.	1,7
27		N 931/96 I 1	II		disom*	n.a.	8,6
28	14	N 162/93 III	II	progressiv	del	n.a.	3,6
29		N 854/01 VIII(1)	III		del	partiell-negativ	35
30	15	N 9234/86	I	progressiv	disom	n.a.	3,9
31		N 840/05 SS	II		disom	partiell-negativ	6,5
32	16	N 460/93 I	II	progressiv	del	n.a.	6,1
33		N 1565/01 SS	III		del	negativ	15,6
34	17	N 1061/98 I 1	II	nicht-progressiv	del	partiell-negativ	9,1
35		N 99/02 IIa2	II		del	n.a.	3,7
36	18	N 226/98 I	II	nicht-progressiv	disom	partiell-negativ	5,5
37		N1076/01 I	II		del	n.a.	6,8
38	19	N 683/97 Xb	I	nicht-progressiv	n.a.	n.a.	1,6
39		N 1652/01	I		del	n.a.	0,4
42	21	N 284/91	I	progressiv	n.a.	n.a.	0,4
43		N 1157/96 I	II		del	n.a.	3,6
46	23	N 216/03	III	nicht-progressiv	disom	partiell-negativ	38
47		N 676/03 2	III		disom	n.a.	50,2
48	24	N 25/96 III	II	progressiv	del	negativ	7,8
49		N 115/02 SS	III		del	partiell-negativ	25
50	25	N 218/95 II	I	progressiv	del	n.a.	4,7
51		N 1818/01 V	III		del	partiell-negativ	31,8
52		N 380/02 SS	III		del	negativ	17,0
53	26	N 1563/95 III 1	III	nicht-progressiv	del	n.a.	3,0
54		N 506/98 II	III		del	partiell-negativ	18,5
55	27	N 433/96 I	II	nicht-progressiv	disom	n.a.	9,0
56		N1424/01 SS	II		disom	positiv	13,7
57	28	N 815/02	I	nicht-progressiv	disom	n.a.	0,9
58		N 54/05	I		disom	positiv	1,0
59	29	N 211/96 V3	III	nicht-progressiv	del	n.a.	15,1
60		N 84/97 IV	III		disom*	n.a.	0
61	30	N 804/95 V 2	II	nicht-progressiv	disom	partiell-negativ	0,6
62		N 1237/97 I3	II		disom	partiell-negativ	17,2
63	31	N 410/88	I	progressiv	n.a.	n.a.	6,3
64		N 1015/93	III		del	n.a.	77,2

ALPL, Ki-67, n.a. = Kein Material zur Untersuchung und Auswertung vorhanden; * = 1p Deletion in der Klassischen Zytogenetik; Ki-67 Index in %

Tab. 7.2.4 Histologische Klassifizierung der untersuchten Meningeompopulation

lfd. Nr.	arach.	fibr.	trans.	sekr.	mzyst.	lymp.	klarz.	chor.	pap.	Anapl.	stor.	syn.	Nekr.	pNuk.	klz.	zelld.	MI	Ke.pl.	hirninv.
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	0	2	1	0	1*
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	0	2	1	0	0
3	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0	2	2	0	1
4'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	2	4	0	0
5	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	1	0	0	0	5	2	0
6	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	0	2	2	2	0	2	22	1	1*
7	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	1	0	0
8	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	2	2	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0	2	8	1	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0	2	8	1	0
13	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0	2	15	1	0
14	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	25	0	0
15	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	64	0	0
16	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1	0
17	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	0	0
18	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	2	1	0
19	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	2	1	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	7	0	0
23	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	10	0	0
24	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0
25	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	1	2	0	0
27	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2	1	2	0	2	2	2	8	1	0
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	2	1	2	6	2	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	2	2	2	2	22	2	1*
30	1	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2	1	0	0	1	1	0
31	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	4	0	1
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	2	2	8	0	0
33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	23	1	1
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	1	13	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1	1	2	0	0
36	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	2	0	0	0
37	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	2	1	0	0
38	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0
43	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2	1	1	5	0	0
46	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1	2	2	2	2	2	44	0	1
47	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1	2	2	2	2	2	21	0	1
48	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	2	1	2	2	4	1	0
49	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	2	1	2	2	2	24	1	0
50	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	3	1	0

Fortsetzung Tab. 7.2.4

51	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	1	2	2	2	2	2	33	1	1*
52	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	2	2	2	2	2	34	1	1*
53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	1	1	2	27	1	0
54	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0	2	23	1	1*
55	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	6	0	0
56	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	1	4	0	0
57	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
58	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0
59	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	2	1	2	1	2	21	1	0
60	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	1	2	1	1*
61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	2	2	0	1	0	0	0
62	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	2	2	2	2	0	1	0	1	1*
63	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
64	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	2	2	2	2	2	25	1	0

Histologische Kriterien, 0 = keine Merkmalsausprägung, 1 = partiell/fokal, 2 = dominant; **arach.** = arachnothelial, **fibr.** = fibroblastisch, **trans.** = transitional, **sekr.** = sekretorisch, **mzyst.** = mikrozystisch, **lymp.** = lymphoblastozytär, **klarz.** = klarzellig, **chor.** = chordoid, **pap.** = papillär, **Anapl.** = Anaplasie, **stor.** = storiform, **syn.** = syncytial, **Nekr.** = Nekrosen, **pNuk.** = prominente Nukleolen, **klz.** = kleinzellig, **zeld.** = zell dicht, **MI** = Mitosen, **Ke.pl.** = Kernpleomorphie, **hirninv.** = himnivasives Wachstum, 0 = Keine Hirninvansion, 1 = Hirninvansion, * = in dem zur Verfügung stehenden Paraffinblock keine Hirninvansion nachweisbar, da kein Hirngewebe erfasst; im pathologischen Erstbefund jedoch himnivasives Wachstum vorliegend.

Tab. 7.2.5 Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung für das Normalgewebe mit der 1p-Sonde (D1Z2) und 1q-Sonde (D1Z1)

lfd. Nr.	N-Nummer	Gesamtzahl Kerne	0xD1Z2 0xD1Z1		0xD1Z2 1xD1Z1		0xD1Z2 2xD1Z1		0xD1Z2 3xD1Z1		0xD1Z2 4xD1Z1		0xD1Z2 >4xD1Z1		1xD1Z2 0xD1Z1		1xD1Z2 1xD1Z1	
			abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.								
1	N 1169/05	205	5	2,4	2	1,0	5	2,4	0	0	0	0	0	0	5	2,4	31	15,1
2	N 1355/04	220	4	1,8	6	2,7	3	1,4	0	0	0	0	0	0	6	2,7	30	13,6
3	N 629/05	215	1	0,5	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	2	0,9	17	7,9
4	N 197/05	214	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	2	0,9	14	6,5
5	N 957/04	218	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,9	19	8,7
6	N 1398/01	212	3	0,9	1	1,4	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	21	11,8
7	F 3	210	2	1,4	5	0,5	15	2,4	0	0	0	0	0	0	3	0,5	24	10
8	F 5	209	1	1	1	2,4	1	7,2	0	0	0	0	0	0	2	1,4	17	11,5

Fortsetzung I Tab. 7.2.5

lfd. Nr.	1xD1Z2 2xD1Z1		1xD1Z2 3xD1Z1		1xD1Z2 4xD1Z1		1xD1Z2 >4xD1Z1		2xD1Z2 0xD1Z1		2xD1Z2 1xD1Z1		2xD1Z2 2xD1Z1		2xD1Z2 3xD1Z1		2xD1Z2 4xD1Z1	
	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.
1	22	10,7	0	0	1	0,5	0	0	0	0	13	6,3	107	52,2	3	1,5	0	0
2	11	5,0	4	1,8	1	0,5	0	0	2	0,9	14	6,4	120	54,5	5	2,3	1	0,5
3	26	12,1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	4,2	149	69,3	4	1,9	1	0,5
4	20	9,3	2	0,9	1	0,5	0	0	2	0,9	2	0,9	150	70,1	7	3,3	3	1,4
5	26	11,9	1	0,5	0	0	0	0	4	1,8	2	0,9	157	72	3	1,4	0	0
6	13	12,7	2	0	0	0	0	0	0	0,5	12	1,4	145	68,4	3	1,4	0	0,5
7	13	6,2	3	1	0	0	0	0	2	0	11	5,7	125	69	2	1,4	0	0
8	26	6,2	0	1,4	0	0	0	0	0	1	9	5,3	149	59,8	4	1	1	0

Fortsetzung II Tab. 7.2.5

lfd. Nr.	2xD1Z2 >4xD1Z1		3xD1Z2 0xD1Z1		3xD1Z2 1xD1Z1		3xD1Z2 2xD1Z1		3xD1Z2 3xD1Z1		3xD1Z2 4xD1Z1		3xD1Z2 >4xD1Z1		4xD1Z2 0xD1Z1		4xD1Z2 1xD1Z1	
	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.
1	0	0	0	0	0	0	1	0,5	4	2,0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	1	0,5	7	3,2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	2	0,9	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	2	0,9	3	1,4	1	0,5	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	3	0	1	1,9	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	2	1,4	2	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0

Fortsetzung III Tab. 7.2.5

lfd. Nr.	4xD1Z2 2xD1Z1		4xD1Z2 3xD1Z1		4xD1Z2 4xD1Z1		4xD1Z2 >4xD1Z1		>4xD1Z2 0xD1Z1		>4xD1Z2 1xD1Z1		>4xD1Z2 2xD1Z1		>4xD1Z2 3xD1Z1		>4xD1Z2 4xD1Z1		>4xD1Z2 >4xD1Z1	
	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.
1	0	0	0	0	6	2,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	1	0,5	4	1,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0,5	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tab. 7.2.6 Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung für das Untersuchungsmaterial mit der 1p-Sonde (D1Z2) und 1q-Sonde (D1Z1) [Teil A]

lfd. Nr.	N-Nummer	Gesamtzahl Kerne	0xD1Z2 0xD1Z1		0xD1Z2 1xD1Z1		0xD1Z2 2xD1Z1		0xD1Z2 3xD1Z1		0xD1Z2 4xD1Z1		0xD1Z2 >4xD1Z1		1xD1Z2 0xD1Z1		1xD1Z2 1xD1Z1	
			abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.								
1	N 39/92 III 11	208	0	0	9	4,3	9	4,3	0	0	0	0	0	0	2	1	30	14,4
2	N 858/98	263	5	1,9	8	3	8	3	0	0	0	0	0	0	5	1,9	14	5,3
3	N 830/89	208	0	0	0	0	3	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	25	12
4	N 957/05 IV 3	204	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	2	1	26	12,7
4'	N 895/06 SS	205	0	0	12	5,9	8	3,9	0	0	0	0	0	0	1	0,5	20	9,8
5	N 652/94 SS	224	1	0,4	1	0,4	8	3,6	0	0	1	0,4	0	0	3	1,3	23	10,3
6	N 566/01 SS	225	0	0	6	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,9	9	4
7	N 530/01	207	2	1	6	2,9	6	2,9	3	1,4	0	0	0	0	1	0,5	6	2,9
8	N 780/04 II	235	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,4	10	4,3
11	N 40/91 II b	206	0	0	4	1,9	11	5,3	1	0,5	0	0	0	0	0	0	27	13,1
12	N 180/92 II	216	0	0	5	2,3	7	3,2	0	0	0	0	0	0	4	1,9	22	10,2
13	N 684/93 IV	229	2	0,9	8	3,5	5	2,2	1	0,4	0	0	0	0	8	3,5	31	13,5
14	N 715/03 I 1	203	3	1,5	4	2	9	4,4	3	1,5	1	0,5	0	0	5	2,5	19	9,4
15	N 167/04 SS	218	4	1,8	8	3,7	7	3,2	2	0,9	3	1,4	0	0	6	2,8	7	3,2
16	N 87/88	236	0	0	6	2,5	4	1,7	0	0	0	0	0	0	0	0	34	14,4
17	N 102/05 I	233	0	0	4	1,7	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	20	8,6
18	N 41/95 3	206	14	6,8	7	3,4	17	8,3	0	0	0	0	0	0	11	5,3	8	3,9
19	N 1464/02 I	252	6	2,4	3	1,2	2	0,8	0	0	0	0	0	0	9	3,6	22	8,7
22	N 85/92	216	1	0,5	2	0,9	6	2,8	0	0	0	0	0	0	1	0,5	13	6
24	N 58/02 SS 2	242	0	0	3	1,2	5	2,1	0	0	0	0	0	0	0	0	15	6,2
25	N1049/05 SS	273	1	0,4	5	1,8	2	0,7	0	0	0	0	0	0	2	0,7	20	7,3
26	N 223/89	200	1	0,5	11	5,5	12	6	1	0,5	0	0	0	0	3	1,5	26	13
27	N 931/96 I 1	223	0	0	0	0	3	1,3	0	0	0	0	0	0	4	1,8	18	8,1
28	N 162/93 III	220	0	0	0	0	7	3,2	0	0	0	0	0	0	2	0,9	26	11,8
29	N 854/01 VIII(1)	211	0	0	2	0,9	3	1,4	0	0	0	0	0	0	1	0,5	18	8,5
30	N 9234/86	213	1	0,5	4	1,9	2	0,9	0	0	0	0	0	0	3	1,4	41	19,2
31	N 840/05 SS	204	2	1	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	24	11,8
32	N 460/93 I	211	0	0	2	0,9	4	1,9	0	0	0	0	0	0	5	2,4	20	9,5
33	N 1565/01 SS	217	0	0	5	2,3	7	3,2	0	0	0	0	0	0	4	1,8	20	9,2
34	N 1061/98 I 1	219	1	0,5	3	1,4	5	2,3	0	0	0	0	0	0	4	1,8	42	19,2
35	N 99/02 IIa2	234	1	0,4	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0	7	3	25	10,7
36	N 226/98 I	215	0	0	1	0,5	3	1,4	0	0	0	0	0	0	1	0,5	18	8,4
37	N1076/01 1	231	2	0,9	8	3,5	7	3	0	0	0	0	0	0	2	0,9	26	11,3
39	N 1652/01	207	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	5,8
43	N 1157/96 I	217	1	0,5	1	0,5	6	2,8	0	0	1	0,5	1	0,5	2	0,9	9	4,1
46	N 216/03	218	0	0	2	0,9	7	3,2	0	0	0	0	0	0	1	0,5	22	10,1
47	N 676/03 2	206	0	0	3	1,5	4	1,9	0	0	0	0	0	0	2	1	25	12,1
48	N 25/96 III	211	0	0	4	1,9	9	4,3	0	0	0	0	0	0	1	0,5	19	9
49	N 115/02 SS	217	0	0	1	0,5	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	16	7,4
50	N 218/95 II	249	6	2,4	15	6	6	2,4	1	0,4	0	0	0	0	7	2,8	33	13,3
51	N 1818/01 V	202	0	0	1	0,5	3	1,5	0	0	0	0	0	0	2	1	16	7,9
52	N 380/02 SS	203	0	0	1	0,5	8	3,9	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	15	7,4
53	N 1563/95 III 1	230	1	0,4	5	2,2	7	3	0	0	0	0	0	0	1	0,4	29	12,6

Tab. 7.2.6 Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung für das Untersuchungsmaterial mit der 1p-Sonde (D1Z2) und 1q-Sonde (D1Z1) [Teil B]

54	N 506/98 II	219	0	0	3	1,4	7	3,2	1	0,5	0	0	0	0	3	1,4	22	10
55	N 433/96 I	219	1	0,5	2	0,9	5	2,3	1	0,5	0	0	0	0	4	1,8	18	8,2
56	N1424/01 SS	219	0	0	2	0,9	2	0,9	0	0	0	0	0	0	2	0,9	30	13,7
57	N 815/02	229	1	0,4	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0	2	0,9	40	17,5
58	N 54/05	233	0	0	6	2,6	2	0,9	1	0,4	0	0	0	0	8	3,4	17	7,3
59	N 211/96 V3	244	0	0	5	2	7	2,9	1	0,4	0	0	0	0	1	0,4	23	9,4
60	N 84/97 IV	213	1	0,5	3	1,4	4	1,9	0	0	0	0	0	0	0	0	20	9,4
61	N 804/95 V 2	215	0	0	6	2,8	1	0,5	0	0	0	0	0	0	2	0,9	21	9,8
62	N 1237/97 I3	210	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	10	4,8	30	14,3
64	N 1015/93	225	1	0,4	4	1,8	6	2,7	0	0	0	0	0	0	4	1,8	39	17,3

Fortsetzung I Tab. 7.2.6 [Teil A]

lfd. Nr.	1xD1Z2 2xD1Z1		1xD1Z2 3xD1Z1		1xD1Z2 4xD1Z1		1xD1Z2 >4xD1Z1		2xD1Z2 0xD1Z1		2xD1Z2 1xD1Z1		2xD1Z2 2xD1Z1		2xD1Z2 3xD1Z1		2xD1Z2 4xD1Z1	
	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.
1	34	16,3	6	2,9	4	1,9	0	0	2	1	7	3,4	94	45,2	3	1,4	4	1,9
2	31	11,8	4	1,5	1	0,4	0	0	7	2,7	12	4,6	155	58,9	1	0,4	1	0,4
3	79	38	3	1,4	0	0	0	0	1	0,5	3	1,4	88	42,3	0	0	4	1,9
4	31	15,2	7	3,4	4	2	1	0,5	2	1	4	2	117	57,4	4	2	3	1,5
4'	99	48,3	3	1,5	1	0,5	0	0	0	0	7	3,4	49	23,9	2	1	3	1,5
5	84	37,5	6	2,7	2	0,9	0	0	0	0	3	1,3	62	27,7	9	4	16	7,1
6	69	30,7	6	2,7	2	0,9	3	1,3	0	0	2	0,9	72	32	11	4,9	34	15,1
7	10	4,8	6	2,9	2	1	0	0	0	0	4	1,9	40	19,3	20	9,7	30	14,5
8	19	8,1	1	0,4	0	0	0	0	0	0	7	3	64	27,2	27	11,5	7	3
11	82	39,8	7	3,4	0	0	0	0	0	0	1	0,5	69	33,5	2	1	2	1
12	76	35,2	6	2,8	1	0,5	0	0	2	0,9	5	2,3	79	36,6	1	0,5	1	0,5
13	119	52	9	3,9	2	0,9	0	0	1	0,4	4	1,7	32	14	3	1,3	2	0,9
14	62	30,5	34	16,7	5	2,5	1	0,5	1	0,5	0	0	35	17,2	9	4,4	10	4,9
15	44	20,2	22	10,1	5	2,3	2	0,9	3	1,4	2	0,9	45	20,6	28	12,8	26	11,9
16	87	36,9	3	1,3	1	0,4	0	0	0	0	4	1,7	91	38,6	2	0,8	4	1,7
17	89	38,2	14	6	2	0,9	0	0	2	0,9	5	2,1	75	32,2	4	1,7	10	4,3
18	76	36,9	6	2,9	0	0	0	0	2	1	5	2,4	54	26,2	0	0	2	1
19	100	39,7	5	2	3	1,2	0	0	1	0,4	3	1,2	71	28,2	8	3,2	8	3,2
22	65	30,1	6	2,8	1	0,5	0	0	0	0	0	0	105	48,6	7	3,2	6	2,8
24	111	45,9	4	1,7	2	0,8	0	0	0	0	4	1,7	84	34,7	2	0,8	11	4,5
25	90	33	11	4	2	0,7	0	0	0	0	3	1,1	105	38,5	13	4,8	13	4,8
26	77	38,5	6	3	2	1	0	0	0	0	2	1	48	24	4	2	6	3
27	32	14,3	5	2,2	0	0	0	0	2	0,9	5	2,2	140	62,8	3	1,3	2	0,9
28	75	34,1	4	1,8	0	0	0	0	1	0,5	5	2,3	79	35,9	6	2,7	10	4,5
29	70	33,2	10	4,7	2	0,9	1	0,5	0	0	2	0,9	89	42,2	2	0,9	9	4,3
30	18	8,5	1	0,5	0	0	0	0	7	3,3	14	6,6	121	56,8	0	0	0	0
31	20	9,8	1	0,5	0	0	0	0	7	3,4	8	3,9	131	64,2	3	1,5	1	0,5
32	50	23,7	6	2,8	0	0	1	0,5	0	0	5	2,4	103	48,8	1	0,5	4	1,9
33	64	29,5	10	4,6	0	0	1	0,5	1	0,5	4	1,8	81	37,3	2	0,9	13	6
34	56	25,6	6	2,7	1	0,5	0	0	3	1,4	8	3,7	81	37	2	0,9	3	1,4
35	69	29,5	1	0,4	1	0,4	0	0	1	0,4	5	2,1	104	44,4	5	2,1	8	3,4

Fortsetzung I Tab. 7.2.6 [Teil B]

36	36	16,7	10	4,7	1	0,5	1	0,5	1	0,5	5	2,3	121	56,3	7	3,3	2	0,9
37	79	34,2	5	2,2	5	2,2	0	0	0	0	1	0,4	70	30,3	1	0,4	16	6,9
39	44	21,3	14	6,8	3	1,4	0	0	2	1	2	1	82	39,6	8	3,9	31	15
43	23	10,6	8	3,7	1	0,5	1	0,5	0	0	7	3,2	110	50,7	7	3,2	26	12
46	34	15,6	4	1,8	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	126	57,8	4	1,8	8	3,7
47	24	11,7	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	10	4,9	135	65,5	0	0	0	0
48	58	27,5	8	3,8	3	1,4	0	0	1	0,5	3	1,4	93	44,1	5	2,4	3	1,4
49	65	30	5	2,3	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	103	47,5	7	3,2	12	5,5
50	99	39,8	2	0,8	3	1,2	0	0	1	0,4	6	2,4	51	20,5	3	1,2	12	4,8
51	99	49	3	1,5	4	2	1	0,5	0	0	3	1,5	54	26,7	0	0	12	5,9
52	46	22,7	6	3	9	4,4	0	0	1	0,5	4	2	51	25,1	19	9,4	35	17,2
53	61	26,5	9	3,9	6	2,6	0	0	1	0,4	6	2,6	97	42,2	0	0	3	1,3
54	83	37,9	7	3,2	6	2,7	0	0	1	0,5	3	1,4	60	27,4	5	2,3	10	4,6
55	32	14,6	5	2,3	0	0	0	0	3	1,4	11	5	127	58	5	2,3	2	0,9
56	24	11	1	0,5	0	0	0	0	0	0	11	5	128	58,4	12	5,5	2	0,9
57	26	11,4	2	0,9	1	0,4	0	0	2	0,9	6	2,6	135	59	2	0,9	2	0,9
58	16	6,9	0	0	1	0,4	0	0	2	0,9	9	3,9	158	67,8	8	3,4	0	0
59	102	41,8	17	7	4	1,6	0	0	1	0,4	4	1,6	66	27	4	1,6	6	2,5
60	18	8,5	3	1,4	1	0,5	0	0	2	0,9	13	6,1	124	58,2	4	1,9	6	2,8
61	22	10,2	0	0	0	0	0	0	4	1,9	15	7	128	59,5	5	2,3	2	0,9
62	28	13,3	1	0,5	0	0	0	0	0	0	9	4,3	120	57,1	4	1,9	4	1,9
64	95	42,2	6	2,7	0	0	1	0,4	0	0	2	0,9	45	20	10	4,4	9	4

Fortsetzung II Tab. 7.2.6 [Teil A]

lfd. Nr.	2xD1Z2 >4xD1Z1		3xD1Z2 0xD1Z1		3xD1Z2 1xD1Z1		3xD1Z2 2xD1Z1		3xD1Z2 3xD1Z1		3xD1Z2 4xD1Z1		3xD1Z2 >4xD1Z1		4xD1Z2 0xD1Z1		4xD1Z2 1xD1Z1	
	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.
1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0,5	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	3	1,1	3	1,1	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0
6	1	0,4	0	0	0	0	1	0,4	1	0,4	1	0,4	2	0,9	0	0	0	0
7	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	16	7,7	6	2,9	0	0	0	0	0	0
8	0	0	1	0,4	4	1,7	3	1,3	23	9,8	14	6	0	0	0	0	1	0,4
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	3	1,4	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	1	0,4	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	1	0,5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	3	1,2	2	0,8	1	0,4	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0

Fortsetzung II Tab. 7.2.6 [Teil B]

24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	1	0,4	0	0	0	0	0	0	2	0,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	1	0,4	1	0,4	4	1,8	0	0	1	0,4	0	0	0	0	0
28	1	0,5	0	0	0	0	0	0	3	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	2	0,9	5	2,4	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0
33	1	0,5	0	0	0	0	2	0,9	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	1	0,5	0	0	0	0	0	0	3	1,4	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0
37	3	1,3	0	0	0	0	0	0	2	0,9	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0
39	1	0,5	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0
43	4	1,8	0	0	0	0	2	0,9	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	0	0	0	0	5	2,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	0	0	1	0,5	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	0,4	0	0	1	0,4	0	0	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0
51	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0
52	3	1,5	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	0	0	0	0	0	0	1	0,4	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	2	0,9	0	0	0	0	2	0,9	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	0	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	1	0,5	0	0	0	0	0	0	3	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
57	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,9	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0
58	0	0	0	0	0	0	2	0,9	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,4	2	0,8	0	0	0	0	0	0	0
60	2	0,9	1	0,5	0	0	2	0,9	2	0,9	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0
61	0	0	0	0	1	0,5	4	1,9	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5
62	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0
64	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0

Fortsetzung III Tab. 7.2.6 [Teil A]

lfd. Nr.	4xD1Z2 2xD1Z1		4xD1Z2 3xD1Z1		4xD1Z2 4xD1Z1		4xD1Z2 >4xD1Z1		>4xD1Z2 0xD1Z1		>4xD1Z2 1xD1Z1		>4xD1Z2 2xD1Z1		>4xD1Z2 3xD1Z1		>4xD1Z2 4xD1Z1		>4xD1Z2 >4xD1Z1	
	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.	abs.	proz.
1	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	2	0,8	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,4
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	2	0,9	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	3	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fortsetzung III Tab. 7.2.6 [Teil B]

7	2	1	10	4,8	33	15,9	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	6	2,6	12	5,1	26	11,1	1	0,4	0	0	0	0	1	0,4	2	0,9	3	1,3	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	1	0,4	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	1	0,4	4	1,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	1	0,4	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	1	0,5	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	3	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	1	0,4	0	0	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	3	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	1	0,4	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
43	1	0,5	2	0,9	2	0,9	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	3	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	0	0	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	1	0,5	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	0	0	0	0	0	0	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	0	0	0	0	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
57	2	0,9	0	0	3	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	1	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	1	0,5	0	0	4	1,9	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
61	0	0	0	0	2	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tab. 7.2.7 Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung für das Normalgewebe mit der 14q-Sonde (D14S1419)

lfd. Nr.	N-Nummer	Gesamtzahl Kerne	0 x D14S1419		1 x D14S1419		2 x D14S1419		3 x D14S1419		4 x D14S1419		>4 x D14S1419	
			abs.	proz.	abs.	proz.								
1	N1398/01	206	0	0	18	8,7	185	89,8	2	1,0	1	0,5	0	0
2	N458/05	211	2	0,9	13	6,2	191	90,5	4	1,9	0	0	1	0,5
3	N310/96	201	5	2,5	23	11,4	171	85,1	1	0,5	1	0,5	0	0
4	N1520/02	203	3	1,5	13	6,4	180	88,7	5	2,5	1	0,5	1	0,5
5	N386/05	218	3	1,4	21	9,6	190	87,2	1	0,5	3	1,4	0	0
6	S101/06	210	1	0,5	18	8,6	186	88,6	3	1,4	2	1,0	0	0
7	S129/06	203	6	3,0	20	9,9	176	86,7	1	0,5	0	0	0	0
8	S9/07	201	4	2,0	12	6,0	181	90,0	2	1,0	2	1,0	0	0

Tab. 7.2.8 Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung für das Untersuchungsmaterial mit der 14q-Sonde (D14S1419) [Teil A]

lfd. Nr.	N-Nummer	Gesamtzahl Kerne	0 x D14S1419		1 x D14S1419		2 x D14S1419		3 x D14S1419		4 x D14S1419		>4 x D14S1419	
			abs.	proz.	abs.	proz.								
4'	N 895/06 SS	213	2	0,9	24	11,3	178	83,6	8	3,8	1	0,5	0	0
5	N 652/94 SS	206	1	0,5	25	12,1	177	85,9	1	0,5	1	0,5	1	0,5
6	N 566/01	204	2	1	54	26,5	138	67,6	6	2,9	3	1,5	1	0,5
7	N 530/01	230	7	3	15	6,5	177	77	10	4,3	19	8,3	2	0,9
8	N 780/04 II	208	6	2,9	28	13,5	159	76,4	2	1	13	6,3	0	0
11	N 40/92 II B	210	1	0,5	13	6,2	192	91,4	0	0	4	1,9	0	0
12	N 180/92 II	203	0	0	91	44,8	112	55,2	0	0	0	0	0	0
13	N684/93 IV	52	0	0	13	25	39	75	0	0	0	0	0	0
14	N 715/03 I 1	254	4	1,6	32	12,6	205	80,7	4	1,6	9	3,5	0	0
15	N 167/04 SS	220	4	1,8	23	10,5	169	76,8	14	6,4	9	4,1	1	0,5
18	N 41/95 3	213	7	3,3	47	22,1	144	67,6	5	2,3	10	4,7	0	0
19	N1464/02 I SS	229	2	0,9	51	22,3	166	72,5	3	1,3	5	2,2	2	0,9
25	N 149/05 SS	203	0	0	26	12,8	174	85,7	1	0,5	2	1	0	0
27	N 951/96 I 1	212	1	0,5	56	26,4	150	70,8	4	1,9	1	0,5	0	0
31	N 840/05 SS	212	1	0,5	20	9,4	184	86,8	3	1,4	4	1,9	0	0
34	N 106/98 I 1	216	1	0,5	18	8,3	195	90,3	1	0,5	1	0,5	0	0
35	N 99/02 IIa2	203	1	0,5	70	34,5	124	61,1	7	3,4	1	0,5	0	0
36	N 226/98 1	204	0	0	88	43,1	114	55,9	1	0,5	1	0,5	0	0
37	N 1076/01	219	0	0	78	35,6	139	63,5	0	0	1	0,5	1	0,5
46	N 216/03	216	0	0	20	9,3	193	89,4	1	0,5	2	0,9	0	0
47	N 676/03 2	212	3	1,4	19	9	185	87,3	3	1,4	1	0,5	1	0,5
49	N 115/02 SS	227	0	0	60	26,4	151	66,5	8	3,5	8	3,5	0	0
50	N 818/95 3	201	0	0	22	10,9	176	87,6	2	1	1	0,5	0	0
51	N 1818/01 V 2	203	1	0,5	22	10,8	177	87,2	3	1,5	0	0	0	0
52	N 380/02 SS	205	2	1	24	11,7	176	85,9	2	1	1	0,5	0	0
55	N 433/96 I	207	0	0	23	11,1	179	86,5	3	1,4	2	1	0	0

Tab. 7.2.8 Ergebnisse der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung für das Untersuchungsmaterial mit der 14q-Sonde (D14S1419) [Teil B]

56	N 1024/01 SS	207	0	0	22	10,6	181	87,4	3	1,4	1	0,5	0	0
57	N 815/02	207	0	0	20	9,7	186	89,9	1	0,5	0	0	0	0
58	N 54/05	202	2	1	25	12,4	173	85,6	2	1	0	0	0	0
59	N 211/95 V 3	203	0	0	62	30,5	139	68,5	2	1	0	0	0	0
60	N 84/97 II	210	2	1	27	12,9	177	84,3	3	1,4	1	0,5	0	0
61	N 804/95 V 2	209	0	0	26	12,4	176	83,2	6	2,9	1	0,5	0	0

Anmerkung: Im Rahmen der Auswertung der Deletion 14q bleibt zu erwähnen, dass bei dem Präparat (Ifd. Nr. 13) die ausgewertete Anzahl an hybridisierten Kernen nicht 200, sondern lediglich 52 Zellkerne betrug. Aufgrund dessen, dass es sich dabei um eine ausgezeichnete Signalqualität handelte und nachvollziehbar aus artefiziellen Gründen die übrigen Zellkerne verloren gegangen waren, fanden diese Ergebnisse Berücksichtigung. Die Deutsche Gesellschaft für Humangenetik e.V. 1998 fordert eine Mindestanzahl an ausgewerteten Zellen pro hybridisierter Sonde von 50 Zellen.

8. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. W. Feiden, Direktor des Institutes für Neuropathologie der Universität des Saarlandes in Homburg/Saar, für die Überlassung des Promotionsthemas, des wissenschaftlichen Interesses an meiner Arbeit sowie für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Ressourcen des Institutes.

Herrn Dr. Y.-J. Kim danke ich herzlich für die engagierte Betreuung meiner Arbeit, für die wissenschaftliche Unterstützung mit wertvollen Ratschlägen sowie für die Geduld bei auftretenden Problemen. Danke, dass du mir jederzeit ein verlässlicher Ansprechpartner warst.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich der Wilhelm-Sander-Stiftung, die durch das Förderprojekt (Förderantrag Nr. 2005.164.1) die Arbeit in dieser Form erst ermöglicht hat.

Danken möchte ich auch Herrn Dr. B. Romeike, der mir mit Anregungen und wissenschaftlichen Diskussionen, eine große Hilfe war.

Für die Einführung in die Methodik der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung gilt mein besonderer Dank Herrn W. Förderer, der mir stets mit hilfreichen Tipps zur Seite stand.

Herrn Professor Dr. W. Henn danke ich sehr für das Überlassen der zytogenetischen Befunde.

Vielmals danken möchte ich auch Frau PD Dr. Y. Mehraein für ihre wertvollen Ratschläge in Bezug auf die praktische Durchführung der Versuche, im Besonderen zu Beginn dieser Arbeit, aber auch für ihr fortwährendes Unterstützungsangebot.

Dem Institut für Humangenetik unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Meese möchte ich an dieser Stelle für die Erlaubnis der Nutzung des Arbeitsplatzes am Fluoreszenzmikroskop, meinen besonderen Dank aussprechen. In dem Zusammenhang gilt mein großer Dank Jens Rademacher. Zusätzlich danke ich der Arbeitsgemeinschaft von Frau PD Dr. ret. nat. S. Urbschat für das bereitwillige Ausleihen einzelner Geräte im Bedarfsfall.

Mein großer Dank gilt ebenfalls den Mitarbeitern des Labors für Neuropathologie, deren Hilfsbereitschaft und Freundlichkeit mir oft eine aufbauende Stütze war.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn M. Lesmeister für die freundliche Hilfe in computertechnischen Fragen.

Es sei an alle diejenigen ein Dankeschön ausgesprochen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, hier jedoch namentlich keine Erwähnung finden.

Ganz besonders danken möchte ich meinen Eltern und meinen Schwestern Laura und Sarah für ihre ununterbrochene Unterstützung sowie für das mir jederzeit entgegengebrachte Verständnis. Ich danke euch von Herzen.

Publikationen:

Kim YJ, Bochem N, Mehraein Y, Ketter R, Henn W, Zang KD, Feiden W. Interphase in situ hybridization analyses of chromosome 1 in a series of progressive meningiomas. (Abstract) „Brain Tumor 2006“, Berlin, MDC.C, 07. – 08.12.2006; Kongressband, S. 17-18

Kim YJ, Bochem N, Ketter R, Henn W, Feiden W (2008) Meningeome. Multiparametrische Risikostratifizierung und Grading. Pathologie 29:428-433

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Bochem
Vorname	Nora
Anschrift	Graf-Siegfried-Str. 58 54439 Saarburg
Geburtsdatum	09.08.1982
Geburtsort	Saarburg
Familienstand	ledig
Eltern	Vater (Arzt für Allgemeinmedizin) Mutter (Hausfrau)
Geschwister	zwei Schwestern (29 Jahre, 34 Jahre)

Schulbildung

1989 - 1993	Grundschule St. Laurentius Saarburg
1993 - 2002	Gymnasium Saarburg
2002	Abitur

Hochschulstudium

2002-2008	Studium der Humanmedizin (Universitätsklinikum Homburg/Saar)
2004	Physikum
Frühjahr 2006	Beginn der Arbeiten zur Dissertation am Institut für Neuropathologie (Prof. Dr. med. W. Feiden)
2007-2008	Praktisches Jahr am Universitätsklinikum Homburg/Saar (Wahlfach Dermatologie)
Herbst 2008	2. Staatsexamen, Approbation als Ärztin

Beruflicher Werdegang

Seit März 2009	Assistenzärztin Innere Medizin, Katharinenhospital Stuttgart
----------------	--