

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ДЕНИСЕНКО АНАСТАСІЯ ПЕТРІВНА

УДК 616.831-003.84-006.328-07-089(047.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ
МЕНІНГІОМ

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ А.П. Денисенко

Науковий керівний – **Москаленко Роман Андрійович**, доктор медичних наук, професор кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету.

Суми – 2024

АНОТАЦІЯ

Денисенко А.П. Патоморфологічна характеристика біомінералізації менингіом. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» – Сумський державний університет, МОН України, Суми, 2024.

Біомінералізація – феномен, характерний для живих організмів, що полягає у формуванні біомінеральних утворень. Центральна нервова система людського організму не виключення, біомінералізація в ній може зустрічатись як в нормі (вікові зміни) та і при різноманітних патологіях. Наприклад, вона є типовою для менингіом (пухлин мозкових оболонок), які займають перше місце за поширеністю серед незлоякісних пухлин центральної нервової системи.

Менингіоми з ознаками біомінералізації найчастіше класифікуються як псаммоматозні та характеризуються відносною доброякісністю (ступінь злоякісності 1 за класифікацією ВООЗ 2021 року). Часто менингіоми перебігають зовсім або майже безсимптомно, в результаті чого пацієнт дізнається про свій діагноз на пізніх стадіях, коли пухлина може бути вже неоперабельна через свій розмір та локалізацію.

Щодо походження біомінералізації є різні гіпотези та теорії, в тому числі про переважання в певних тканинах активної чи пасивної біомінералізації. Крім того, дискусійним залишається питання і про біологічне значення даного феномену в менингіомах, наявні аргументи як в сторону позитивного, так і негативного прогностичного значення біомінералізації.

Перші ознаки біомінералізації менингіом виявляються за допомогою методів нейровізуалізації (наприклад, під час комп'ютерної томографії) та є цінною знахідкою, адже дозволяють нейрохірургам більш точно оцінити складність майбутньої операції та визначити прогноз для даного пацієнта. Проте, під час диференційної діагностики необхідно зважати на можливу

біомінералізацію твердої мозкової оболонки, яка часто зустрічається за умов норми.

Дана дисертаційна робота присвячена актуальній на сьогоднішній день проблемі, а саме удосконаленню можливостей діагностичного та лікувального процесу для пацієнтів з менінгіомами. Для вирішення даної проблеми ми скористались наступними методами дослідження: гістологічний (зabarвлення гематоксиліном-еозином), гістохімічний (зabarвлення алізариним червоним S, зabarвлення за фон Коссом, методом Ван Гісона та PAS-реакцією), імуногістохімічний (панель остеобластичних антитіл OPN, SPARC, RANKL та OPG, маркер апоптозу Casp-3), фізико-хімічний (сканувальна електронна мікроскопія, просвічувальна електронна мікроскопія) та статистичний (параметричні та непараметричні критерії). Результати, отримані за допомогою даних методів, були проаналізовані та обґрунтовані, сформульовані висновки та практичні рекомендації.

Оскільки біомінералізація часто виявляється як у тканині менінгіом (переважно псаммоматозних), так і у власне твердій мозковій оболонці, дисертаційне дослідження проводилось на 60 зразках тканини менінгіом та 60 зразках тканини твердої мозкової оболонки. Дизайном дисертаційної роботи передбачено формування 4 досліджуваних груп: менінгіоми з ознаками біомінералізації (30 зразків), менінгіоми без ознак біомінералізації (30 зразків), тверда мозкова оболонка з ознаками біомінералізації (30 зразків) та тверда мозкова оболонка без ознак біомінералізації (30 зразків).

За результатами проведеного бібліометричного аналізу наукових праць на тему дисертації можна зробити висновок про активне зростання кількості публікацій за останні 10 років. Це можна пояснити загальним трендом наростання валу публікацій у зв'язку з посиленням фінансування наукових досліджень у Китаї, азіатських та арабських країнах, а також більшим проникненням комерційного підходу до наукових публікацій у ряді великих і новостворених видавництв.

За результатами аналізу публікацій на тему дисертації за 2017-2021 роки бібліометричними інструментами сервісу SciVal їх можна поділити на 24 тематичні кластери та 61 тему. А на основі результатів аналізу здійсненого за допомогою програмного забезпечення VOSviewer, вдалось візуалізувати найбільш поширені ключові слова, які зустрічаються в даних публікаціях, такі як «дорослі», «жінки», «комп'ютерна томографія», «магнітно-резонансна томографія», «кальциноз», «гістологія», «диференційна діагностика» та «пухлини».

Пухлини мозкових оболонок (менінгіоми) під час макроскопічного дослідження часто описувались як кулясті або напівкулясті, рідко бляшкоподібні утворення, розмір яких варіювався від 0,5 см до 3,0 см. Для них був характерний сірий колір, гладка або злегка бугриста поверхня, помірна або підвищена щільність, специфічний хруст при розрізанні.

Менінгіоми під час гістологічного дослідження найчастіше класифікувались як менінготеліальний, псаммоматозний чи фіброзний гістологічні підтипи та характеризувались наявністю клітин ендотеліального фенотипу (за типом мозкових оболонок). Для даних клітин було характерне щільне розташування, багатокутна форма, овальні ядрця, рідкі мітози (до 4 в 10 полях зору на великому збільшенні). Менінгіоми з ознаками біомінералізації класифікувались як псаммоматозний гістологічний підтип, для якого характерним гістологічним паттерном були псаммомні тільця, які в деяких випадках майже повністю заміщали пухлинну тканину.

Наступним кроком для детекції сполук кальцію було гістохімічне дослідження. Забарвлення алізариновим червоним S ідентифікувало сполуки кальцію (всі форми) та заліза (може вказувати на наслідки церебральних крововиливів, для підтвердження рекомендована реакція Перлса). Забарвлення за фон Коссом звузило коло до сполук кальцію фосфату.

Метод Ван Гісона, PAS-реакція та імуногістохімічне дослідження вказують, що псаммомні тільця містять глікопротеїни та білки, крім біомінерального компонента, тобто є органічно-мінеральним композитом.

Достовірно вищий рівень Casp-3 та особливості експресії остеобластичних маркерів (нижчий рівень експресії OPG і вищий рівень наявності RANKL у групі з біомінералізацією, відсутність коливань експресії SPARC) можуть свідчити про переважання пасивного механізму в утворенні псаммомних тілець (за дистрофічним типом).

За результатами сканувальної електронної мікроскопії з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією та просвічувальної електронної мікроскопії з електронною дифракцією було встановлено, що основним біомінералом в псаммомних тільцях менінгіом є кальцій гідроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Тверда мозкова оболонка – це одна з мозкових оболонок, що представлена фіброзною тканиною, містить фібробласти та позаклітинний колаген. Дана оболонка має виражені в'язко-пружні властивості та витримує високі навантаження, що життєво необхідно для захисту головного та спинного мозку. За даними КТ кальцифікація твердої мозкової оболонки спостерігається у 12,5% дорослої популяції, переважно у чоловіків середнім віком 53 роки.

Варто зазначити, що часто під «кальцифікатами твердої мозкової оболонки» на КТ іноді мається на увазі анатомічне розташування, а не структура, що можна пояснити тісним анатомічним зв'язком з кровоносними та лімфатичними судинами.

Під час гістологічного дослідження біомінерали описувались як різноманітні утворення неправильної форми фіолетового кольору, з нерівномірним накопиченням гематоксиліну. Гістохімічне дослідження алізариним червоним S та методом фон Косса було використане для ідентифікації сполук кальцію фосфату, забарвлення за Ван Гізоном для візуалізації сполучної тканини, PAS-реакція для детекції глікозаміногліканів. Гістохімічні методи наочно визначили дрібні кальцифікати, а PAS-реакція, на відміну від менінгіом, в біомінеральних утвореннях негативна).

На основі отриманих результатів імуногістохімічного дослідження тканини твердої мозкової оболонки за допомогою панелі остеобластичних

антитіл (OPN, SPARC, RANKL – $p < 0.001$) а також маркеру апоптозу Casp-3 ($p > 0.05$) можна зробити висновок про переважання активного механізму утворення кальцій-фосфорних біомінералів в даній тканині.

За результатами сканувальної електронної мікроскопії з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією та просвічувальної електронної мікроскопії з електронною дифракцією було встановлено, що основним біомінералом в тканині твердої мозкової оболонки є кальцій гідроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Отримані результати дозволяють розрізнити кальцифікати в менінгіомах і в твердій мозковій оболонці: вони мають подібний хімічний склад (за співвідношенням Ca/P відповідають зрілому гідроксиапатиту), проте різні за структурою та морфологією (на відміну від округлих псаммомних тілець шаруватої будови менінгіом, біомінерали в твердій мозковій оболонці більше коливаються у розмірах, мають неправильну форму, дифузно розташовані по всій тканині, іноді зливаються).

Опираючись на результати нашого дисертаційного дослідження, ми пропонуємо оптимізувати діагностичний процес шляхом впровадження розробленого діагностичного алгоритму для диференційної діагностики новоутворень твердої мозкової оболонки за наявних ознак кальцифікації тканини.

Крім того, проведене детальне патоморфологічне та матеріалознавче (фізико-хімічне) дослідження біомінеральних депозитів може бути корисним для створення біоматеріалів за типом твердої мозкової оболонки та може покращити лікувальний процес хворих з дефектами мозкових оболонок після травматичних ушкоджень та нейрохірургічних операцій.

Ключові слова: менінгіома, кальцифікація, гістологія, імуногістохімія, бібліометричний аналіз, морфометрія, сканувальна електронна мікроскопія, остеопонтин, RANKL, внутрішньочерепні новоутворення головного мозку, нейрохірургія, остеокласти, пухлина, вікові зміни.

ANNOTATION

Denysenko A.P. Pathomorphological characteristics of meningioma biomineralization. Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Philosophy Doctor in speciality 222 "Medicine" – Sumy State University, MES of Ukraine, Sumy, 2024.

Biomineralization is a phenomenon characteristic of living organisms, consisting of forming biominerals. The central nervous system of the human body is no exception; biomineralization can occur in both normal conditions (age changes) and in various pathologies. For example, it is typical for meningiomas (tumours of the brain membranes), which are the most common non-malignant tumours of the central nervous system.

Meningiomas with signs of biomineralization are most often classified as psammomatous and are characterized by relative benignity (malignancy grade 1 according to the 2021 WHO classification). Usually, meningiomas are entirely or almost asymptomatic, resulting in the patient's diagnosis in the late stages, when the tumour may already be inoperable due to its size and location.

Regarding the origin of biomineralization, there are various hypotheses and theories, including the predominance of active or passive biomineralization in certain tissues. In addition, the biological significance of this phenomenon in meningiomas remains debatable, and there are arguments for both positive and negative predictive values of biomineralization.

The first signs of biomineralization of meningiomas are detected using neuroimaging methods (for example, during computed tomography). They are a valuable finding because they allow neurosurgeons to more accurately assess the complexity of future surgery and determine the prognosis for a given patient. However, during the differential diagnosis, it is necessary to consider the possible biomineralization of the dura mater, which often occurs under normal conditions.

This dissertation work is devoted to a relevant problem, namely, improving the possibilities of the diagnostic and treatment process for patients with meningiomas. To

solve this problem, we used the following research methods: histological (hematoxylin-eosin staining), histochemical (alizarin red S staining, von Koss staining, Van Gieson method and PAS reaction), immunohistochemical (panel of osteoblastic antibodies OPN, SPARC, RANKL and OPG, apoptosis marker Casp-3), electron microscopic (scanning electron microscopy, transmission electron microscopy) and statistical (parametric and non-parametric criteria). The results obtained using these methods were analysed and substantiated, and conclusions and practical recommendations were formulated.

Since calcification is often found both in meningioma tissue (mainly psammomatous) and in the dura mater itself, the dissertation study was conducted on 60 meningioma tissue samples and 60 dura mater tissue samples. The design of the dissertation provides for the formation of 4 research groups: meningiomas with signs of biomineralization (30 samples), meningiomas without signs of biomineralization (30 samples), dura mater with signs of biomineralization (30 samples), dura mater without signs of biomineralization (30 samples).

Based on the results of the bibliometric analysis of scientific works on the dissertation topic, it is possible to conclude that the number of publications has been actively growing over the past ten years. This can be explained by the general trend of increasing the volume of publications in connection with the strengthening of funding for scientific research in China, Asian and Arab countries, as well as the greater penetration of a commercial approach to scientific publications in several large and newly established publishing houses.

According to the results of the analysis of publications on the dissertation topic for 2017-2021 using the bibliometric tools of the SciVal service, they can be divided into 24 thematic clusters and 61 topics. And based on the results of the analysis carried out using the VOSviewer software, it was possible to visualize the most common keywords found in these publications, such as "adults", "women", "computed tomography", "magnetic resonance imaging", "calcinosis", "histology", "differential diagnosis" and "tumours".

Tumours of the meninges (meningiomas) during macroscopic examination were often described as spherical or hemispherical, rarely plaque-like formations, the size of which varied from 0.5 cm to 3.0 cm. They were characterized by a grey colour, a smooth or slightly bumpy surface, moderate or increased density, and specific crunch when cut.

During the histological examination, meningiomas were often classified as meningothelial, psammomatous or fibrous histological subtypes. They were characterized by the presence of cells of the endothelial phenotype (by the type of meninges). These cells were characterized by a dense arrangement, a polygonal shape, oval nuclei, and rare mitoses (up to 4 in 10 fields of view on a large magnification).

Meningiomas with signs of biomineralization were classified as psammomatous histological subtype, for which the characteristic histological pattern was psammoma bodies, which in some cases almost completely replaced the tumour tissue.

The next step for the detection of calcium compounds was a histochemical study. Alizarin red S staining identified calcium (all forms) and iron compounds (may indicate effects of cerebral haemorrhage; Perl's reaction is recommended for confirmation). Von Koss's staining narrowed the circle to calcium phosphate compounds.

Van Gieson's method, PAS-reaction and immunohistochemical study indicate that psammoma bodies contain glycoproteins and proteins in addition to the biomineral component, which is an organic-mineral composite.

A significantly higher level of Casp-3 and specific features of the expression of osteoblastic markers (a lower level of OPG expression and a higher level of RANKL in the group with biomineralization, no fluctuations in SPARC expression) may indicate the predominance of a passive mechanism (by dystrophic type) in the pathogenesis of psammoma bodies.

Based on the results of scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy and transmission electron microscopy with electron diffraction, it was established that calcium hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ is the main biomineral in psammoma bodies of meningiomas.

The dura mater is one of the meninges, represented by fibrous tissue and contains fibroblasts and extracellular collagen. This membrane has pronounced visco-elastic properties and can withstand high loads, vital for protecting the brain and spinal cord. According to CT scans, calcification of the dura mater is observed in 12.5% of the adult population, mostly in men with an average age of 53.

It is worth noting that "dural calcifications" on CT often refer to the anatomical location rather than the structure, which can explain the close anatomical relationship between blood and lymphatic vessels.

During the histological examination, biominerals were described as various formations of irregular shapes of purple colour, with an uneven accumulation of hematoxylin. Histochemical examination with alizarin red S and the von Koss method was used to identify calcium phosphate compounds, Van Gieson staining to visualize connective tissue, and PAS reaction to detect glycosaminoglycans. Histochemical methods identified small calcifications, and the PAS reaction, unlike meningiomas, is negative in biomineral formations).

Based on the results of the immunohistochemical examination of the dura mater tissue using a panel of osteoblastic antibodies (OPN, SPARC, RANKL— $p < 0.001$) and the apoptosis marker Casp-3 ($p > 0.05$), it is possible to conclude that the active mechanism of formation of calcium-phosphorus biominerals predominates in this tissue.

According to the results of scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy and transmission electron microscopy with electron diffraction, it was established that calcium hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ is the main biomineral in the tissue of the dura mater.

The obtained results make it possible to distinguish calcifications in meningiomas and the dura mater: they have a similar chemical composition (according to the Ca/P ratio, they correspond to mature hydroxyapatite), but differ in structure and morphology (in contrast to the rounded psammoma bodies of the layered structure of meningiomas, biominerals in the dura mater shells fluctuate more in size, have an irregular shape, are diffusely located throughout the tissue, sometimes merge).

Based on our dissertation research results, we propose optimising the diagnostic process by implementing the developed diagnostic algorithm for the differential diagnosis of neoplasms of the dura mater based on the existing signs of tissue calcification.

In addition, the detailed pathomorphological and material science (physico-chemical) study of biomineral deposits can help create biomaterials based on the type of dura mater. It can improve the treatment process of patients with defects of the meninges after traumatic injuries and neurosurgical operations.

Keywords: *meningioma, calcification, histology, immunohistochemistry, bibliometric analysis, morphometry, scanning electron microscopy, osteopontin, RANKL, intracranial brain neoplasm, neurosurgery, osteoclasts, tumour, age-related features.*

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Denysenko, A., Danilchenko, S., Stepanenko, A., Chivanov, V., & Moskalenko, R. (2024). A Comprehensive Study of Meningioma Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. *Microscopy and Microanalysis*. <https://doi.org/10.1093/mam/ozae020> (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним, гістохімічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).

2. Denysenko, A. P., Piddubnyi, A. M., Tkachenko, I. A., Shubin, P. A., Tarabarov, S. I., & Moskalenko, R. A. (2023). A comprehensive study of dura mater biomineralization: morphological, crystallographic, and immunohistochemical aspects. *Reports of Morphology*, 29(4), 50–57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07) (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним, гістохімічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).

3. Denysenko, A. P., & Moskalenko, R. A. (2022). Bibliometric Analysis of the Scientific Literature on Meningiomas With Calcification. *Eastern Ukrainian Medical Journal*, 10(1), 98–108. [https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10\(1\):98-108](https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10(1):98-108) (здобувачем проведено пошук літературних джерел та їх бібліометричний аналіз, інтерпретація результатів).

4. Denysenko A., Moskalenko R. Pathological Biomineralization as a Prospective Marker for the Diagnosis of Meningioma. Transformation of medical sciences and education in the era of digitalization: Scientific monograph. Riga.Latvia: “Baltija Publishing”. 2024. 404 p. ISBN 978-9934-26-430-6 <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-430-6-13> (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним, гістохімічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).

5. Denysenko A., Piddubnyi A., Kuzenko Y., Pylypenko O. & Moskalenko R. (2021). Composition and Structure of Meningioma Psammoma Bodies. *Proceedings of the 2021 IEEE 11th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties”, NAP 2021.* <https://doi.org/10.1109/NAP51885.2021.9568556> (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
6. Denysenko, A., Pylypenko, O., Moskalenko, R., & Kuzenko, Y. (2022). Nanoscale Calcification of the Dura Mater. *Proceedings of the 2022 IEEE 11th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties”, NAP 2022.* <https://doi.org/10.1109/nap55339.2022.9934715> (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
7. Денисенко А.П., Кузенко Є.В., Карпенко Л.І., Москаленко Р.А. Морфологічні особливості псаммоматозних менінгіом з кальцифікацією. Програма та матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень»; 2021 жовтень 8; Полтава. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. С 42-44 (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
8. Denysenko A., Yekymenko V., Moskalenko R. Morphological analysis of meningiomas with calcification by using haematoxylin-eosin, Van Gieson, and von Kossa staining. *Biomedical Perspectives III: Abstract book of International Medical Conference. Sumy. October 26-28. 2021. – Sumy: Sumy State University. 2021(3): 93* (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).

9. Denysenko A., Moskalenko R. Nanoparticles in our brains. The Book of abstracts / Twenty-third Annual Conference YUCOMAT 2022 & Twelfth World Round Table Conference on Sintering XII WRTCS 2022, Herceg Novi, Montenegro, August 29 - September 2, 2022. P. 47 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків)*.

10. Denysenko A., Moskalenko R. Morphological Analysis with Morphometry of Meningioma Calcifications. 34th European Congress of Pathology; 3-7 September 2022 (Basel, Switzerland); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2022; 481 (Suppl 1):S54 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та морфометричним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків)*.

11. Denysenko A., Moskalenko R. The influence of calcification on the microelement composition in the dura mater. The Book of Abstracts / Twenty-fourth Annual Conference YUCOMAT 2023, Herceg Novi, Montenegro, September 4 - 8, 2023. P. 102 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та морфометричним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків)*.

12. Denysenko A., Moskalenko R. OPN overexpression in psammomatous meningiomas. 35th European Congress of Pathology; 09–13 September 2023 (Dublin, Ireland); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2023; 483 (Suppl 1): S325 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків)*.

13. Денисенко А.П., Москаленко Р. А. Гістохімічні особливості менингіом з ознаками біомінералізації. «Актуальні проблеми патологічної анатомії», 5-6 жовтня 2023 р., «Український науково-медичний молодіжний журнал», №4 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків)*.

14. Denysenko A., Moskalenko R. RANKL/OPG expression ratio in the dura mater tissue with biomineralization. Biomedical Perspectives IV: Abstract book of International Medical Conference. Sumy. April 24-25 2024. – Sumy: Sumy State University. 2024: 125 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).*

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів	17
Вступ	18
Розділ 1. Огляд літератури	25
1.1 Менінгіоми: епідеміологія, етіологія, класифікація, діагностика та лікування	25
1.2 Патологічна біомінералізація менінгіом: бібліометричний аналіз наукової літератури	31
1.3 Тверда мозкова оболонка: патологічна біомінералізація, перспективи створення біоматеріалів	39
Розділ 2. Матеріали та методи	42
Розділ 3. Дослідження тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації	49
Розділ 4. Дослідження тканини менінгіом без ознак патологічної біомінералізації	65
Розділ 5. Дослідження тканини твердої мозкової оболонки з ознаками патологічної біомінералізації	78
Розділ 6. Дослідження тканини твердої мозкової оболонки без ознак патологічної біомінералізації	93
Розділ 7. Аналіз та узагальнення результатів дослідження	106
Висновки	125
Практичні рекомендації	127
Примітки	128
Список використаної літератури	129
Додатки	159

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- ПБМ – патологічна біомінералізація.
- ЦНС – центральна нервова система.
- ТМО – тверда мозкова оболонка.
- КТ – комп’ютерна томографія.
- ПТ – псаммомні тільця.
- ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров’я.
- ІГХ – імуногістохімічне дослідження
- OPN – остеопонтин.
- SPARC – остеонектин.
- RANKL – активатор рецептору ядерного кВ-ліганду.
- OPG – остеопротегерин.
- Casp-3 – каспаза 3.
- DAB – діамінобензидин.
- СЕМ – сканувальна електронна мікроскопія.
- ЕДС – енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія.
- ПЕМ – просвічувальна електронна мікроскопія.
- ЕД – електронна дифракція

ВСТУП

Актуальність. Біомінералізація – феномен, характерний для живих організмів, що полягає у формуванні біомінеральних утворень. Під патологічною біомінералізацією (ПБМ) розуміють відкладення сполук кальцію поза тканинами скелета і зубів [1, 2].

Центральна нервова система людського організму не виключення, біомінералізація в ній може зустрічатись як і в нормі (вікові зміни) та і при різноманітних патологіях (запалення, дистрофія, пухлинний ріст та ін.) [3-5].

Так, наприклад, у нормальній тканині твердої мозкової оболонки (ТМО) за даними комп'ютерної томографії (КТ) частота біомінеральних відкладень коливається від 1 до 20% та зростає з віком пацієнтів. В той же час, за результатами аутопсій кальцифікати, у тому числі мікроскопічні, зустрічаються значно частіше – у 72% пацієнтів [6-8].

Кількість біомінеральних депозитів за умов пухлинного росту в тканині ТМО лише зростає, досягаючи 100% при псаммоматозних менінгіомах [9]. Можна виділити три морфологічні форми біомінералізації: пластинчаста, псаммоматозна та тотальна [10, 11].

Менінгіоми з ознаками біомінералізації найчастіше класифікуються як псаммоматозні та характеризуються відносною доброякісністю (ступінь злоякісності 1 за класифікацією Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) 2021 року). Часто менінгіоми перебігають зовсім або майже безсимптомно, в результаті чого пацієнт дізнається про свій діагноз на пізніх стадіях, коли пухлина може бути вже неоперабельна через свій розмір та локалізацію [12].

Тому важливо верифікувати цю патологію на ранніх стадіях та проводити диференційну діагностику з іншими ураженнями, особливо метастатичними пухлинами. Крім псаммоматозних, існує ще 14 типів менінгіом, для яких кальцифікація не є провідним симптомом [13-15].

Щодо походження біомінералізації є різні гіпотези та теорії, в тому числі про переважання в певних тканинах активної чи пасивної біомінералізації. Крім того, дискусійним залишається питання і про біологічне значення даного

феномену в менінгіомах, наявні аргументи як в сторону позитивного [16], так і негативного прогностичного значення біомінералізації [17-19].

За умов встановлення ознак морфологічної різниці між кальцифікатами в менінгіомах та в ТМО з'являється перспектива застосування цих знань для диференційної діагностики.

Крім того, проведення детального патоморфологічного та матеріалознавчого дослідження біомінеральних депозитів може бути корисним для створення біоматеріалів за типом твердої мозкової оболонки та може покращити лікувальний процес хворих з дефектами мозкових оболонок після травматичних ушкоджень та нейрохірургічних операцій.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційне дослідження виконане згідно плану наукового дослідження кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового Медичного інституту Сумського державного університету і є частиною науково-дослідної теми «Стан мінералізованих тканин при застосуванні нових композитів з наночастинками Ag^+ та Cu^+ » (№ держреєстрації 0121U100471, термін виконання 2021-2023 роки).

Тема дисертації затверджена вченою радою Сумського державного університету МОН України (наказ №0975-I від 26 жовтня 2021 року).

Мета дослідження: встановити патоморфологічні особливості біомінералізації твердої мозкової оболонки в нормі та за умов пухлинного росту.

Завдання дослідження:

1. Встановити морфологічні особливості тканини менінгіом з ознаками/без ознак біомінералізації.
2. Встановити морфологічні особливості тканини твердої мозкової оболонки з ознаками/без ознак біомінералізації.
3. Встановити імуногістохімічні особливості тканини менінгіом з ознаками/без ознак біомінералізації.
4. Встановити імуногістохімічні особливості тканини твердої мозкової оболонки з ознаками/без ознак біомінералізації.

5. Визначити структурні особливості біомінералів менінгіом за допомогою фізико-хімічних методів дослідження.

6. Визначити структурні особливості біомінералів ТМО за допомогою фізико-хімічних методів дослідження.

7. Оцінити роль маркерів остеобластичного фенотипу в патогенезі ПБМ менінгіом та твердої мозкової оболонки.

Об'єктом дослідження є тверда мозкова оболонка людського організму в нормі та за умов пухлинного росту.

Предметом дослідження є морфологічні, імуногістохімічні та фізико-хімічні особливості тканини ТМО в нормі та за умов пухлинного росту.

Методи дослідження:

1. Макроскопічне дослідження: візуальна та макроскопічна характеристика тканини ТМО та менінгіом.

2. Гістологічне дослідження: забарвлення гематоксиліном-еозином тканини ТМО та менінгіом.

3. Гістохімічне дослідження: забарвлення тканини ТМО та менінгіом алізариновим червоним S, методами фон Косса та Ван Гізона, PAS-реакцією.

4. Імуногістохімічне дослідження (ІГХ) з використанням панелі остеобластичних антитіл до остеопонтину (OPN), остеонектину (SPARC), ліганду ядерного фактора-kB (RANKL), остеопротегерину (OPG) та маркеру апоптозу каспази 3 (Casp-3).

5. Морфометричний метод: визначення розмірів біомінералів в тканині ТМО та менінгіом.

6. Сканувальна електронна мікроскопія (СЕМ) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (ЕДС).

7. Просвічувальна електронна мікроскопія (ПЕМ) та електронна дифракція (ЕД).

8. Статистичний метод дослідження: із використанням параметричних та непараметричних показників.

Наукова новизна отриманих результатів

У дисертаційній роботі було вперше проведене комплексне дослідження біомінеральних депозитів твердої мозкової оболонки в нормі та за умов пухлинного росту (в менінгіомах). Зразки були досліджені за допомогою гістологічного та гістохімічних методів, імуногістохімічної панелі остеобластичних антитіл, а також методами прикладного матеріалознавства.

Гістохімічні методи забарвлення тканин менінгіом вказують, що псаммомні тілця, крім біомінерального компонента, містять глікопротеїни та білки, тобто є органічно-мінеральним композитом. В той же час, у складі біомінералів тканини твердої мозкової оболонки глікопротеїнів не було виявлено.

Імуногістохімічне дослідження біомінералізованої тканини ТМО в нормі та за умов пухлинного росту за допомогою панелі остеобластичних антитіл та маркеру апоптозу Casp-3 показало різні механізми біомінералізації в ТМО та менінгіомах. Для пухлин ТМО (менінгіом) характерний пасивний (дистрофічний) механізм, а для тканини власне ТМО встановлено активний механізм утворення біомінералів кальцій-фосфорної природи.

Практичне застосування отриманих результатів

Результати комплексного морфологічного дослідження дозволяють запропонувати механізм розвитку біомінеральних утворень у твердій мозковій оболонці за умов норми та пухлинного росту, встановити їх морфологію, фазовий склад та розглянути можливість використання в скринінгу та диференційні діагностиці новоутворень головного мозку. У роботі було встановлено, що біомінерали в ТМО та менінгіомах мають подібний хімічний склад (за співвідношенням Ca/P відповідають зрілому гідроксиапатиту кальцію), проте різні за структурою та морфологією (на відміну від округлих псаммомних тілець шаруватої будови менінгіом, біомінерали в твердій мозковій оболонці більше коливаються у розмірах, мають неправильну форму, дифузно розташовані по всій тканині, іноді зливаються), що може бути використано для диференційної діагностики менінгіом на ранніх стадіях розвитку. Крім того, було

встановлено склад органічно-мінерального композиту менінгіом та біомінеральних депозитів ТМО, що може стати основою для перспективної біонічної моделі біоматеріалів для пластики мозкових оболонок після нейрохірургічних операцій. На основі результатів дисертаційного дослідження розроблено діагностичний алгоритм для новоутворень твердої мозкової оболонки.

У ході роботи над дисертаційним дослідженням було подано та зареєстровано патент на корисну модель «Пластиковий атравматичний пінцет з світлодіодною підсвіткою та металевими зйомними робочими щелепами» (заявка u202401653).

Основні результати даного дисертаційного дослідження можуть бути корисними в практичній діяльності лікарів: патологоанатомів, неврологів, нейрохірургів, онкологів та радіологів.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на: кафедрі морфології, клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я імені П.Л. Шупика; кафедрі патологічної анатомії Буковинського державного медичного університету; кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету, кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету. Результати дисертаційного дослідження (в тому числі діагностичний алгоритм) використовуються у практичній діяльності лікарів патологоанатомічного відділення КНП «Сумська обласна клінічна лікарня» СОР, нейрохірургічного відділення КНП «Центральна міська клінічна лікарня» СМР, неврологічного відділення КНП «Сумський обласний клінічний госпіталь ветеранів війни» СОР, патологоанатомічного відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «Сі Ес Ді Лаб»), хірургічного відділення Медичного центру хірургічного профілю «Надія».

Особистий внесок дисертанта. Дисертантка самостійно сформулювала мету та завдання дослідження, визначила об'єкт та предмет дослідження, продумала дизайн та провела бібліометричний аналіз літературних джерел.

Здобувачка самостійно сформувала групи зразків та провела їх дослідження гістологічним, гістохімічним, імуногістохімічним та морфометричним методами. Дисертантка самостійно проаналізувала отримані результати статистичними методами дослідження та зробила на їх основі обґрунтовані висновки, які виносяться на захист дисертаційного дослідження. Здобувачка самостійно оформила матеріали дисертації. Сканувальна електронна мікроскопія була проведена в центрі колективного користування обладнанням СумДУ (за консультації канд. фіз.-мат. наук О.В. Пилипенка та провідного фахівця А.О. Степаненка), просвічувальна електронна мікроскопія була виконана в Інституті прикладної фізики НАН України (за консультації канд. фіз.-мат. наук С.М. Данильченка).

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були висвітлені на: Міжнародній конференції «Nanomaterials: Applications and Properties (NAP-2021)» (м. Одеса, Україна, 5-9 вересня 2021 року), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень» (м. Полтава, Україна, 8 жовтня 2021 року), Міжнародній науково-практичній конференції «Biomedical Perspectives III» (м. Суми, Україна, 26-28 жовтня 2021 року), Міжнародній конференції Yucomat 2022 & XII WRTCS (м. Герцег-Нові, Чорногорія, 29 серпня – 2 вересня 2022 року), 34-му Європейському конгресі патологів (м. Базель, Швейцарія, 3-7 вересня 2022 року), Міжнародній конференції «Nanomaterials: Applications and Properties (NAP-2022)» (м. Краків, Польща, 11-16 вересня 2022 року), Міжнародному конкурсі аспірантів UKRAINET PhD Thesis Presentation Contest (м. Ганновер, Німеччина, 30 вересня – 1 жовтня 2022 р.), Міжнародній конференції YUCOMAT 2023 (м. Герцег-Нові, Чорногорія, 4-8 вересня 2023 року), 35-му Європейському конгресі патологів (м. Дублін, Ірландія, 9-13 вересня 2023 року), Науково-практичній конференції «Актуальні проблеми патологічної анатомії» (м. Київ, Україна, 5-6 жовтня 2023 року), 7-му Паннонійському конгресі патології (м. Відень, Австрія, 7-9 березня 2024 року), Міжнародній науково-практичній конференції «Biomedical

Perspectives IV» (м. Суми, Україна, 24-25 квітня 2024 року). Дисертаційну роботу заслухано на міжкафедральному науковому семінарі Навчально-наукового медичного інституту СумДУ 7 червня 2024 року.

Публікації. Матеріали дисертаційного дослідження були висвітлені в 14-ти наукових публікаціях, з яких: 3 статті (2 у наукових журналах України, що індексуються наукометричною базою Scopus, 1 у закордонному журналі, який індексується наукометричною базою Scopus (Q3) та Web of Science (Q1), 1 розділ монографії. Отримані результати дисертаційного дослідження були опубліковані в матеріалах 10 конференцій та конгресів, 4 з яких опубліковуються наукометричними базами Scopus чи Web of Science.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційне дослідження викладене на 174 сторінках комп'ютерного тексту та складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів дослідження (розділи 3-6), аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, примітку, списку використаної літератури та додатків. Дисертаційне дослідження містить 82 рисунки, 1 таблицю, 233 використаних літературних джерела (2 кирилицею та 231 латиницею).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Менінгіоми: епідеміологія, етіологія, класифікація, діагностика та лікування

Епідеміологія

Згідно статистичних даних Центрального реєстру пухлин головного мозку Сполучених Штатів Америки (від 5 жовтня 2019 року) за 2012-2016 роки, поширеність менінгіом складала 37,6% від усіх пухлин ЦНС (8,83 випадки на 100 000 населення). Співвідношення кількості внутрішньочерепних пухлин до спинномозкових складало 19:1. Жінки хворіли у 2,32 рази частіше, за чоловіків, а середній вік пацієнтів складав 65,5 років. Гістологічно більшість менінгіом були доброякісними (80,5%), інші атиповими (17,7%) чи злоякісними (1,8%). Десятирічна виживаність становила 61,7% для пацієнтів зі злоякісними менінгіомами та 83,7% з доброякісними [20].

Згідно останнього звіту Центрального реєстру пухлин головного мозку Сполучених Штатів Америки (від 4 жовтня 2023 року) за 2016-2020 роки поширеність менінгіом зросла до 40,8% від усіх пухлин ЦНС (9,73 випадки на 100 000 населення). Співвідношення кількості внутрішньочерепних пухлин до спинномозкових (19,8:1), кількості жінок відносно чоловіків (2,21:1), як і середній вік (67 років) значимо не змінились. Гістологічно більшість менінгіом були доброякісними (80,1%), інші атиповими (18,3%) чи злоякісними (1,6%). Десятирічна виживаність також майже не змінилась 60,1% для пацієнтів зі злоякісними менінгіомами та 83,4% з доброякісними [21].

У дітей менінгіоми діагностуються досить рідко (менше 1% від усіх менінгіом) та характеризуються рівнозначним гендерним розподілом, агресивнішою поведінкою та гіршим клінічним прогнозом [22-25].

Визначити поширеність менінгіом на території України за даними Національного канцер-реєстру не виявляється можливим через об'єднану статистику для всіх пухлин головного мозку та внесення в реєстр лише злоякісних новоутворень.

Етіологія

На сьогоднішній день етіологія менінгіом залишається недостатньо вивченою. Серед проблем, які виникають при дослідженні даної нозології, можна відзначити: відносну рідкісність захворювання, тривалий латентний перебіг (20-30 років і більше), субклінічну захворюваність (діагноз встановлюється вперше при аутопсії), хибне виявлення за допомогою методів візуалізації [26-29].

На сьогоднішній день, єдиним достовірним фактором ризику для розвитку менінгіом вважається вплив іонізуючого випромінювання (підвищує ризик в 6-10 разів) [30-32]. Одним з можливих сценаріїв є лікування первинної пухлини головного мозку за допомогою променевої терапії, що спричиняє виникнення вторинних менінгіом [33-36].

Також можна відзначити спадкову схильність, адже наявність пухлини головного мозку у близького члена сім'ї (включно з батьками, дітьми та рідними братами та сестрами) підвищує ризик приблизно вдвічі [37-39].

Достовірної кореляції між розвитком менінгіом та впливом гормонів (екзогенним чи ендогенним), травмами голови, використанням мобільного телефону, професіями, дієтами та алергіями поки що встановлено не було. Проте, ці фактори потребують подальшого вивчення [40-43].

Класифікація

Внутрішньочерепні менінгіоми можна класифікувати за локалізацією: навколо півкуль головного мозку, вздовж серпа мозку, вздовж намету мозочка та на основі черепа [44-46].

За класифікацією Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) 2021 року менінгіоми (ісд-о код 9530/0) поділяються за трьома ступенями злоякісності (доброякісні, атипові, злоякісні), а також виділяються 15 гістологічних підтипів: менінготеліальний, фіброзний, перехідний, псаммоматозний, ангіоматозний, мікрокістозний, секреторний, з вираженою лімфо-плазмоцитарною інфільтрацією та метапластичний, хордоїдний, світлоклітинний, атиповий, папілярний, рабдоїдний, анапластичний (табл. 1) [47-49].

Таблиця 1.1.1. Менінгіоми за класифікацією ВООЗ 2021 року.

Ступінь злоякісності	Гістологічний підтип	Додаткові ознаки
Доброякісні (ступінь злоякісності 1)	менінготеліальний, фіброзний, перехідний, псаммоматозний, ангіоматозний, мікрокістозний, секреторний, з вираженою лімфо-плазмоцитарною інфільтрацією, метапластичний	≤4 мітозів в 10 полях зору на великому збільшені; відсутня інвазія в мозок
Атипові (ступінь злоякісності 2)	хордоїдний, світлоклітинний, атиповий, папілярний*, рабдоїдний*	4-19 мітозів в 10 полях зору на великому збільшені; присутня інвазія в мозок; 3 або більше наступних ознак (некроз, втрата типових гістологічних структур, виражені ядерця, виражена клітинність, високе ядерно- цитоплазматичне співвідношення)
Анапластичні (ступінь злоякісності 3)	папілярний*, рабдоїдний*, анапластичний	≥20 мітозів в 10 полях зору на великому збільшені; молекулярні аберації в TERT промоторі, делеція CDKN2A/B

Примітка: *Ступінь злоякісності в даному випадку визначається залежно від додаткових ознак.

Морфологічно менінгіоми найчастіше класифікуються як доброякісні новоутворення, що мають експансивний характер росту. Вони зазвичай представлені кулястими або напівкулястими утвореннями, що тісно прикріплені до твердої мозкової оболонки, та в процесі росту у напрямку порожнини черепа утворюють нішу в мозковій речовині. У випадку злоякісних менінгіом можливе проростання пухлинної тканини в мозкову речовину, поширення пухлинного процесу на кістки черепа через Гаверсові канали [50-53].

Діагностика та лікування

Деякі пацієнти з внутрішньочерепними менінгіомами можуть страждати головним болем, порушеннями зору та нюху, зниженням пам'яті, епілепсією та іншими неврологічними порушеннями [54-56].

Пацієнти з спинномозковими менінгіомами зазвичай скаржаться на порушення в кінцівках, проблеми з сечовипусканням та дефекацією, що може призводити до інвалідності та смертності [57-59].

Але зазвичай, менінгіоми мають асимптомний перебіг та виявляються випадково під час комп'ютерної томографії чи магнітно-резонансної томографії (призначених з інших причин) або не виявляються за життя зовсім (первинний діагноз при аутопсії) [60, 61].

Першим кроком до встановлення морфологічного діагнозу є рутинне забарвлення гематоксиліном-еозином. Існують деякі характерні гістологічні паттерни як для менінгіом в цілому, так і для певних підтипів. Проте, іноді вони поєднуються в одному гістологічному препараті, у такому випадку перевагу надають тому підтипу, структури якого переважають.

Розглянемо детальніше деякі гістологічні підтипи менінгіом. Одним з найпоширеніших є менінготеліальний підтип. Для нього характерні типові ендотеліальні клітини, близькі за морфологією до мозкових оболонок. Клітини овальні або багатокутні, ядра округлі або овальні, ядерця невеликі. Строма може бути невираженою або проявляється утворенням сполучнотканинних перетинок [62-64].

Також поширеним є псаммоматозний гістологічний підтип, який характеризується наявністю псаммомних тілець (округлих утворень шаруватої структури з нерівномірним накопиченням барвника). Варто зазначити, що невелика кількість псаммомних тілець є в принципі характерною ознакою менінгіом, в той час як для псаммоматозного підтипу характерна їх велика кількість (іноді вони майже повністю заміщують пухлинну тканину) [65, 66].

Ще одним поширеним гістологічним підтипом є фіброзний. Він характеризується фібробластоподібними витягнутими клітинами, що збираються в паралельні пучки, які переплітаються між собою. Ядра округлі або овальні середньої величини. При забарвленні пікрофуксином між клітинами пухлини можна спостерігати аргірофільні волокна, частково колагеновані [67-69].

Ангіоматозний гістологічний підтип менінгіом нагадує ангіому чи ангіоретикулому, проте має характерні ділянки, що типові для менінгіоми. Під час гістологічного дослідження можна спостерігати численні судини дрібного калібру, тонкостінні синусоїди, багаточисленні капіляри та прекапіляри [70-73].

Для атипових менінгіом характерні вогнища дрібних дедиференційованих клітин з округлими або поліморфними ядрами, вираженими ядерцями, високим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням. Нараховується від 4 до 19 мітозів в 10 полях зору на великому збільшенні. Характер росту змінюється з експансивного на інфільтративно-експансивний або інфільтративний. Може спостерігатися інвазія в мозок, вогнища некрозу, втрата типових гістологічних структур [74-77].

Анапластичні менінгіоми характеризуються інфільтративним характером росту, інвазією в мозкову речовину з її подальшою деструкцією. Можливі рецидиви після оперативного лікування, метастазування лімфогенним шляхом, позачерепні метастази в поодиноких випадках. Нараховується більше 20 мітозів в 10 полях зору на великому збільшенні [78-82].

Для диференційної діагностики може бути призначене додаткове імуногістохімічне дослідження. Типовими маркерами є епітеліально-

мембранний антиген та віментин. Щодо типових негативних маркерів, то це цитокератини (окрім секреторного гістологічного підтипу) та S100 [83-85].

Щодо експресії рецепторів статевих гормонів, то найбільш дослідженою є роль прогестерону. Зазвичай, експресія рецепторів прогестерону обернено пропорційна ступеню диференціації менінгіоми та є гарною прогностичною ознакою. Експресія рецепторів естрогену менш досліджена. Є дані, що вона прямо пропорційна ступеню злоякісності та є поганою прогностичною ознакою. Проте, ці дані потребують подальших досліджень та не можуть бути єдиним підґрунтям для прогностичних висновків [86-89].

Деякі вчені повідомляють про експресію рецептору сомататину 2а в менінгіомах. Високочутливе та високоспецифічне антитіло до нього може бути використане для диференційної діагностики з іншими новоутвореннями головного мозку [90-93].

Прогностична роль Ki-67 в діагностиці менінгіом дискусійна, деякі дослідники рекомендують ретельне спостереження у випадку, коли експресія цього маркеру більше 4% [94-97].

Перед призначенням лікування менінгіом необхідно провести детальний збір анамнезу, в тому числі уточнити чи не приймає пацієнт гормональних препаратів, таких як ципротерону ацетат та йому подібні, що можуть використовуватись при лікуванні гірсутизму, акне, себореї, облісінні та ін., адже зафіксовані випадки повного або часткового регресу після відміни гормональної терапії [98-100].

Для вперше виявлених пухлин діаметром до 2,5 см без неврологічної симптоматики можлива вичікувальна стратегія з регулярним клінічним та рентгенологічним контролем [101-103].

Для всіх менінгіом першим кроком рекомендоване хірургічне лікування. Для пухлин I ступеня може бути достатньо повної хірургічної резекції, для II-III ступеня зазвичай призначається ад'ювантна променева та хіміотерапія. Проводяться дослідження препаратів для таргетної терапії менінгіом [104-107].

1.2. Патологічна біомінералізація менінгіом: бібліометричний аналіз наукової літератури

Патологічна біомінералізація (кальцифікація) має багату історію дослідження і невеликий поступ у розумінні і осмисленні цього феномену. Розбіжності трактування класифікації цього загальнопатологічного процесу в англійській і кириличній (радянській та пострадянській) літературі не виглядають занадто великими [108], з огляду на присутність метаболічної кальцифікації (у вигляді вапняної подагри) [109-111].

Узагальнюючи напрацювання останніх десятиліть, можна зробити висновок про наявність «активної» та «пасивної» біомінералізації. Значна кількість випадків кальцифікації відбувається за активним сценарієм шляхом диференціювання напівстовбурових клітин і набуття ними остеобластичного фенотипу з відповідним утворенням кісткового матриксу та продукцією гідроксиапатиту (солей кальцію фосфату) [112-114].

З іншого боку, неможливо заперечити наявність пасивного механізму кальцифікації у загиблих чи дистрофічних тканинах за відсутністю ознак остеобластичного диференціювання в рамках епітеліально-мезенхімальної трансформації [1, 115-117].

Проявом патологічної біомінералізації в центральній нервовій системі є кальцифікація пухлин мозкових оболонок (менінгіом). Вона більш притаманна для внутрішньочерепних менінгіом (20-25%), ніж для спинномозкових (1-5%) [118-119].

На даний момент механізм утворення псаммомних тілець в менінгіомах невідомий, так само як і їх біологічне значення залишається предметом дискусій вчених (рис. 1.2.1).

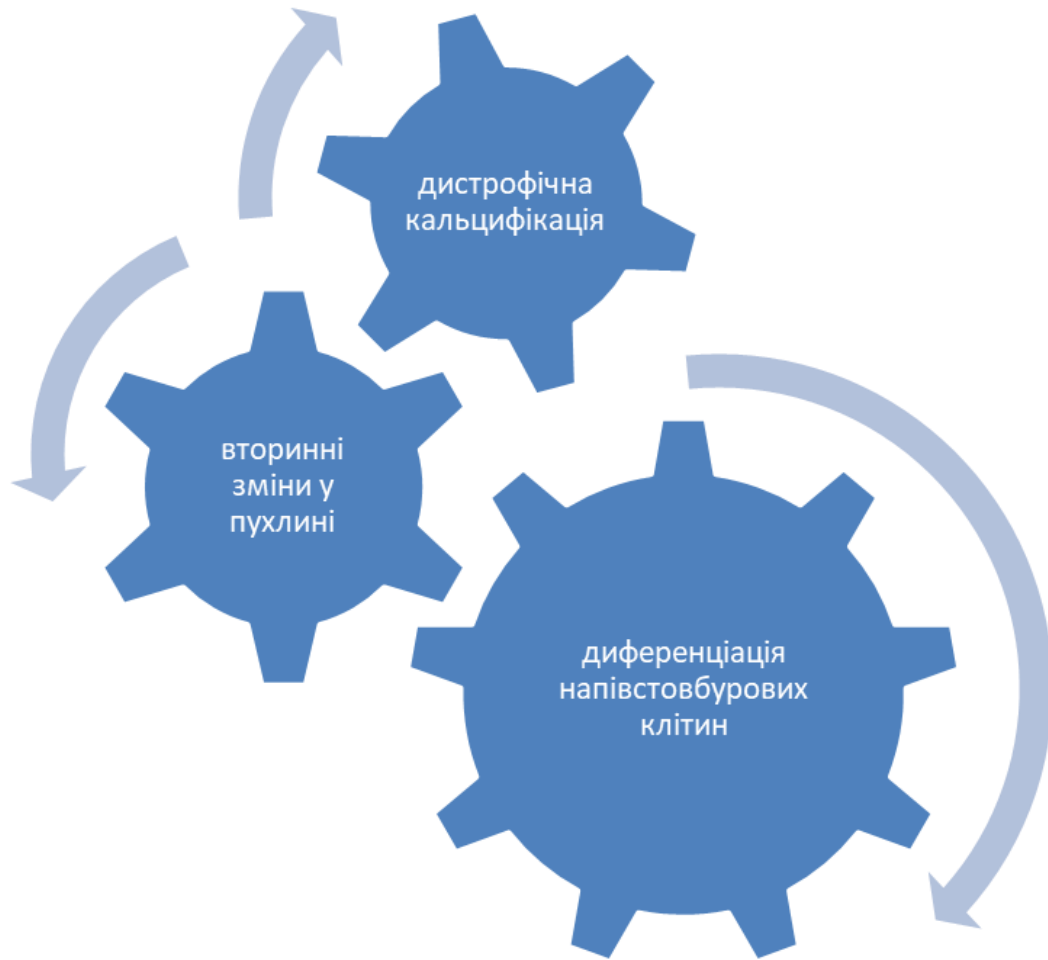


Рисунок 1.2.1. Схема можливих шляхів патогенезу кальцифікації менінгіом.

Деякі вчені вважають, що утворення псаммомних тілець відбувається за типом дистрофічної кальцифікації та пов'язане з дегенеративними змінами в пухлинних клітинах, що створює бар'єр для подальшого росту та поширення пухлини, а тому є гарною прогностичною ознакою [16].

Інша поширена думка, що кальцифікація є ознакою вторинних змін у пухлині, пов'язаних із незрілістю та високою злоякісністю пухлинних клітин, і тому є несприятливим маркером [17].

Однією із сучасних концепцій про природу кальцифікації є припущення, що напівстовбурові клітини можуть диференціюватися в клітини остеобластного ряду і продукувати біомінеральні відкладення та елементи кісткової тканини [120-122].

Можна виділити три морфологічні форми біомінералізації в тканині менінгіом: пластинчаста, псаммоматозна та тотальна. Псаммоматозна проявляються формуванням псаммомних тілець та є найбільш поширеною [123-125].

Менінгіоми з ознаками біомінералізації найчастіше класифікуються як псаммоматозні та характеризуються відносною доброякісністю (ступінь злоякісності 1 за класифікацією WHO 2021 року). Часто менінгіоми перебігають зовсім або майже безсимптомно, в результаті чого пацієнт дізнається про свій діагноз на пізніх стадіях, коли пухлина може бути вже неоперабельна через свій розмір та локалізацію [126-128].

Тому важливо верифікувати цю патологію на ранніх стадіях та проводити диференційну діагностику з іншими ураженнями, особливо метастатичними пухлинами. Крім псаммоматозних, існує ще 14 типів менінгіом, для яких кальцифікація не є провідним симптомом, хоча поодинокі псаммомні тільця можуть зустрічатись не лише в псаммоматозному підтипі менінгіом [129-132].

Псаммомні тільця часто візуалізуються при забарвленні гематоксиліном-еозином у вигляді округлих шаруватих утворень з нерівномірним накопиченням барвнику. Поруч з ними можуть знаходитись вогнища некрозу, колагенові волокна, концентричні структури. За допомогою методів прикладного матеріалознавства деякі вчені визначили, що в складі псаммомних тілець основним біомінералом є кальцію гідроксиапатит. Проте повний склад псаммомних тілець потребує подальших досліджень [133-136].

Перші ознаки біомінералізації менінгіом виявляються за допомогою методів нейровізуалізації (наприклад, під час комп'ютерної томографії) та є цінною знахідкою, адже дозволяють нейрохірургам більш точно оцінити складність майбутньої операції та визначити прогноз для даного пацієнта [137-140].

За результатами проведено пошуку літературних джерел нами було визначено, що науковометрична база даних Scopus за 1938-2021 роки налічує 678

публікацій, що містять ключові слова «менінгіома» та «кальцифікація» (рис. 1.2.2).

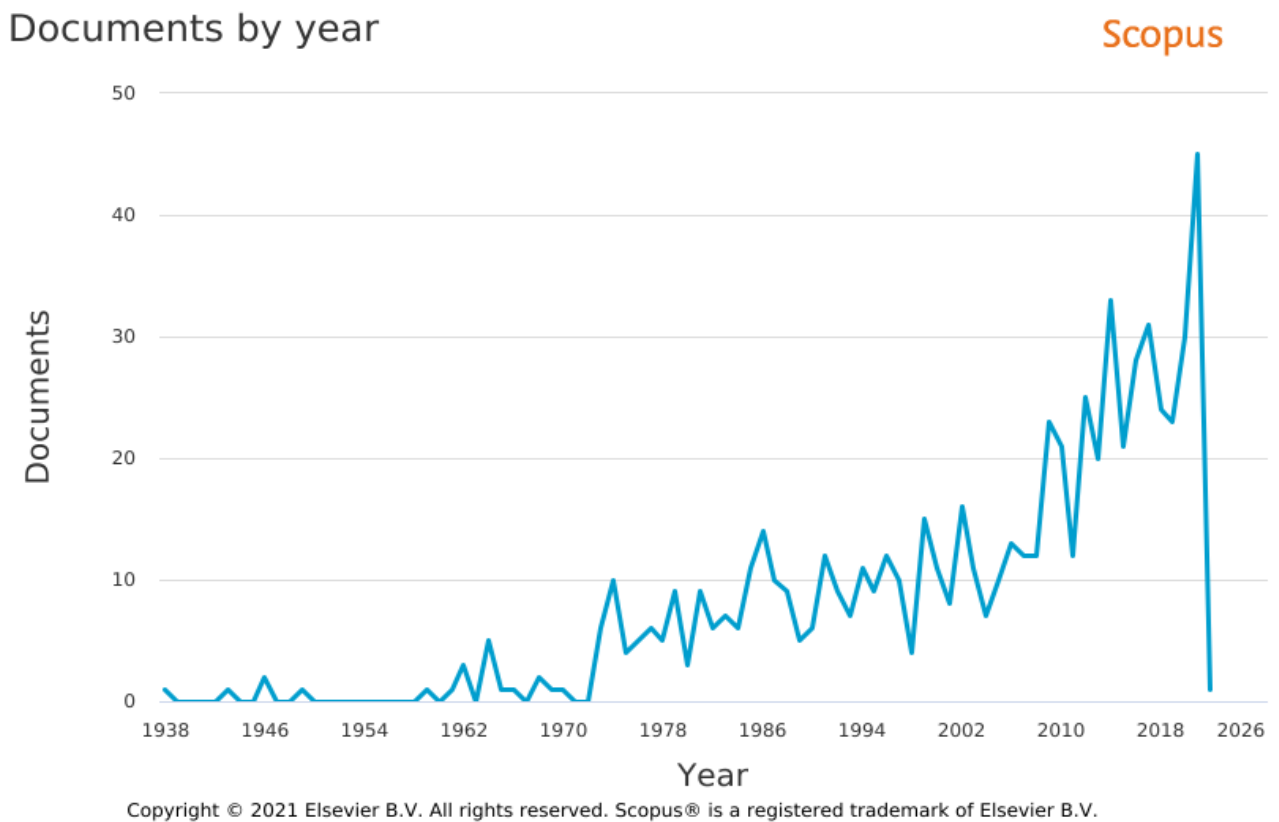


Рисунок 1.2.2. Хронологія виходу публікацій за ключовими словами «менінгіома» та «кальцифікація» у наукометричній базі даних Scopus.

За результатами проведеного бібліометричного аналізу наукових праць на тему дисертації можна зробити висновок про активне зростання кількості публікацій за останні 10 років. В цілому збільшення опублікованих результатів можна пояснити загальним трендом наростання валу публікацій у зв'язку з посиленням фінансування наукових досліджень у Китаї, азіатських та арабських країнах, а також більшим проникненням комерційного підходу до наукових публікацій у ряді великих і новостворених видавництв.

Серед найбільш цитованих дослідників у даній галузі можна відзначити Nakasu Satoshi (Shiga University of Medical Science, Otsu, Japan), Benjamin Brokinkel (University of Munster, Munster, Germany) та Peter B. Sporns (University of Basel, Basel, Switzerland).

Серед найбільш популярних видавництв можна відмітити «Journal of Neurosurgery», «Neuroradiology», «Neurologia Medico Chirurgica», «American Journal of Neurosurgery», а також «World Neurosurgery», який набрав популярності за останні десять років (рис. 1.2.3).

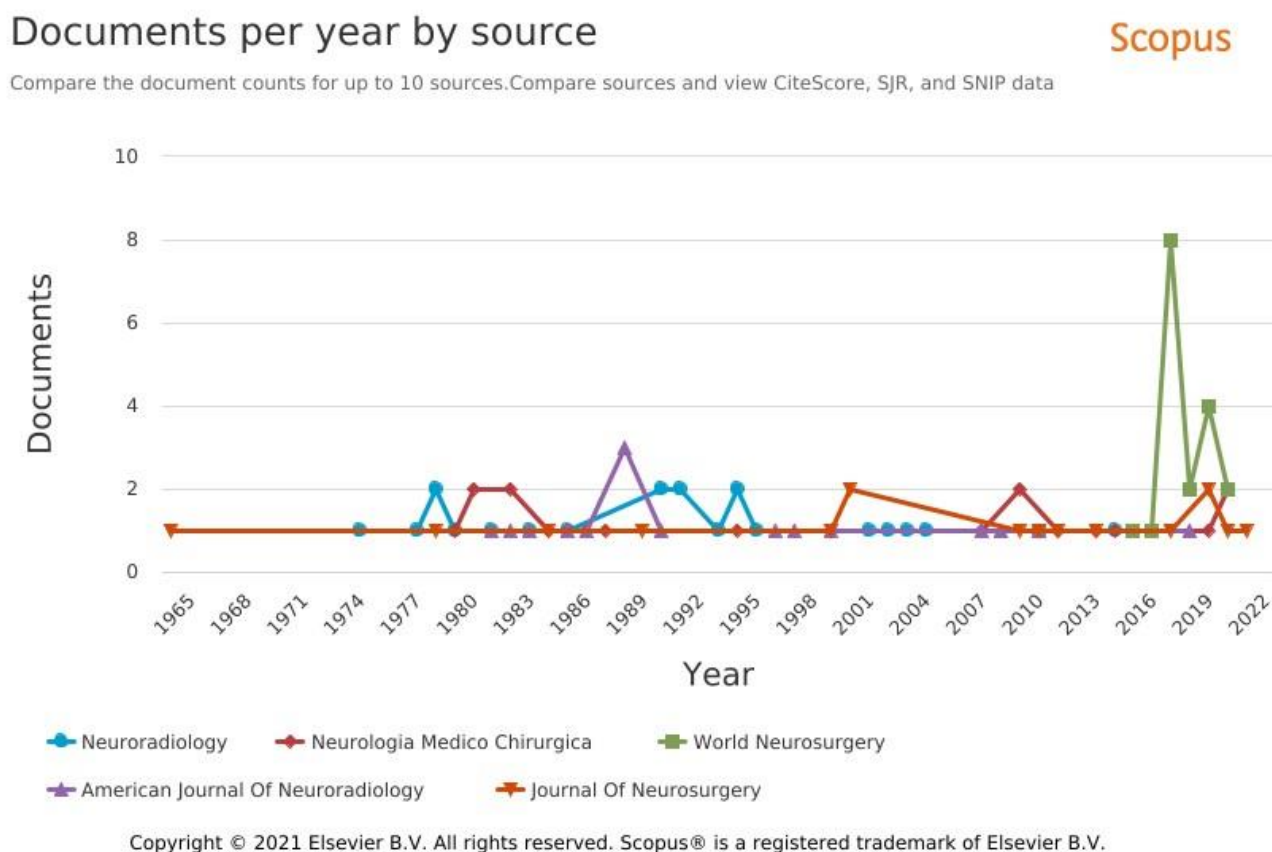


Рисунок 1.2.3. Найбільш популярні видавництва для публікацій за ключовими словами «менінгіома» та «кальцифікація» у науково-метричній базі даних Scopus.

Найбільше досліджень проводилось в Сполучених Штатах Америки, Китаї, Японії та Німеччині, а більшість наукових праць за темою дисертації була афільована до West China School of Medicine, Fudan University та Mayo Clinic, та відносилась до оригінальних дослідницьких статей (85,4%), крім того, публікувались також огляди літератури (7,7%), листи до редакцій (3,2%), матеріали конференцій (0,9%), розділи книжок (0,7%) та інше.

За допомогою сервісу SciVal був проведений бібліометричний аналіз публікацій за даними ключовими словами за 2017-2021 роки. За результатами аналізу 154 публікації можна поділити на 61 тему.

Їх переважна більшість належить до сфери медицини (онкології, патоморфології), та дотичні до сфери фармації. Крім того, візуалізується окрема тема у сфері комп'ютерних наук, що можна пояснити особливостями нейровізуалізації та все ширшим залученням алгоритмів штучного інтелекту до діагностичного процесу (рис. 1.2.4).

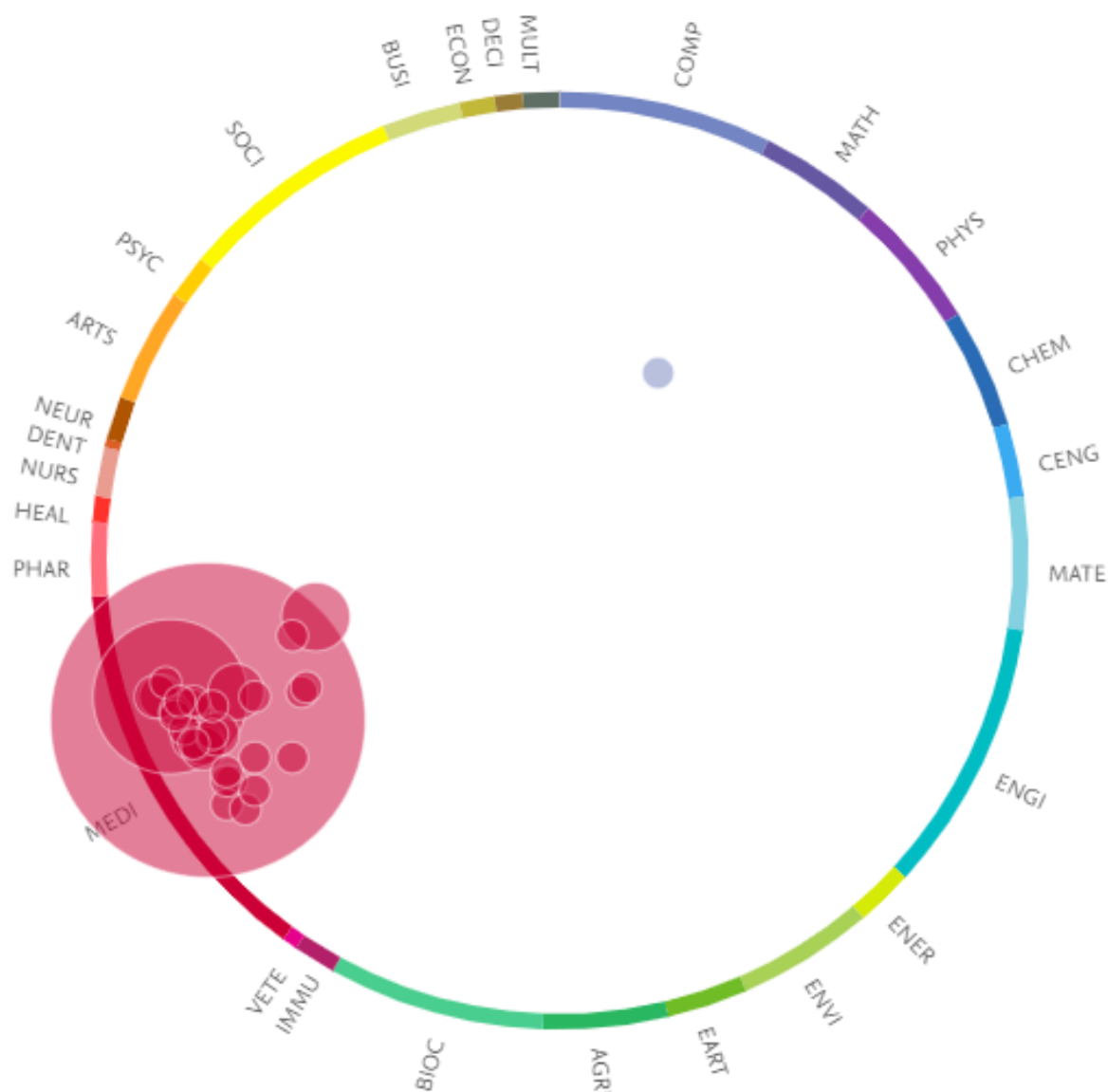


Рисунок 1.2.4. Розподіл публікацій за темами за допомогою інструментів сервісу SciVal.

Крім того, дані 154 публікації за 2017-2021 роки на тему кальцифікації та менінгіом, за результатами бібліометричного аналізу за допомогою інструментів сервісу SciVal, можна поділити на 24 тематичні кластери, більшість яких належить до сфери медицини, проте дотичні до сфер біології та фармації. Також можна виділити окремий кластер публікацій у сфері прикладного матеріалознавства (рис. 1.2.5).

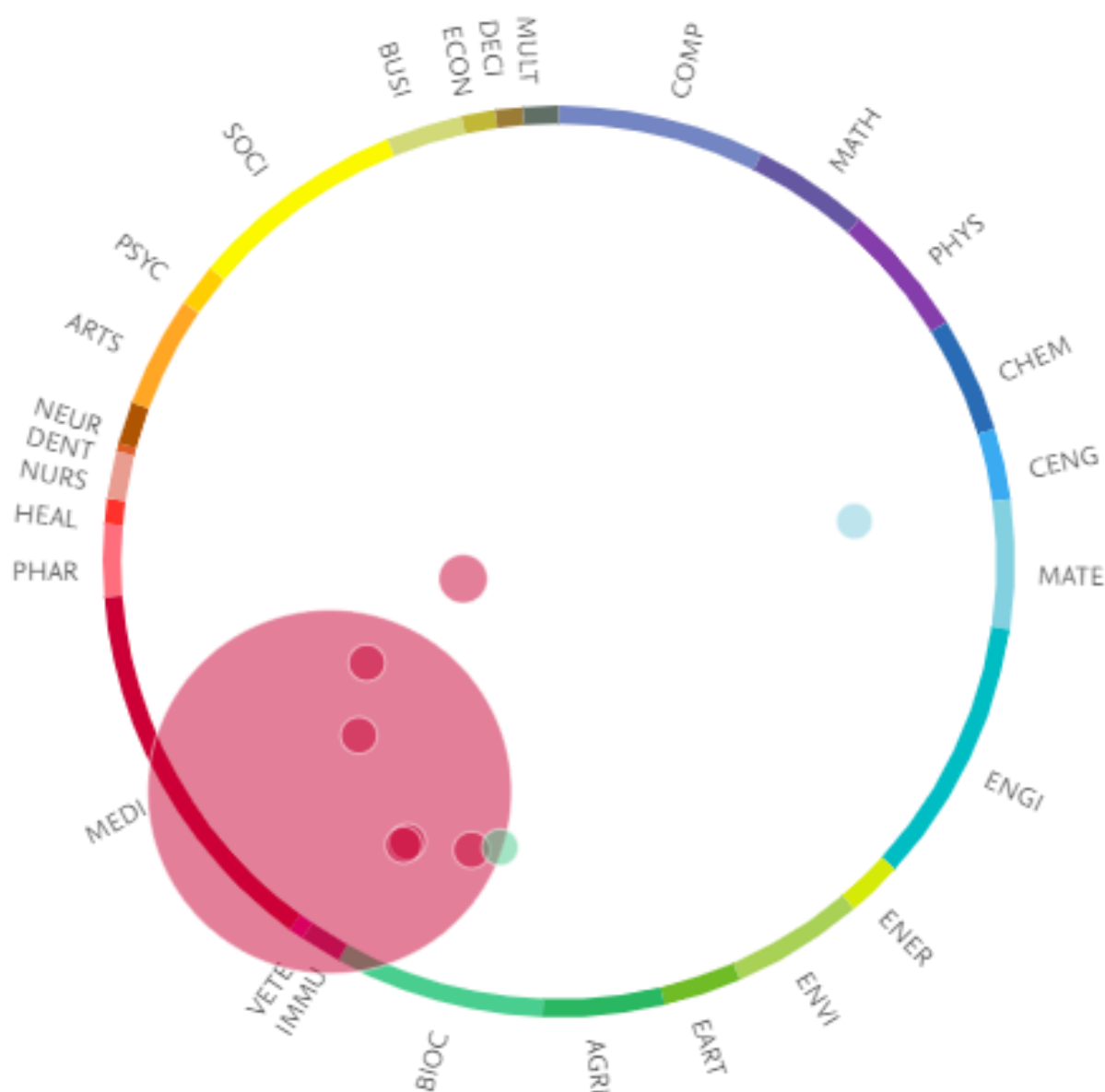


Рисунок 1.2.5. Розподіл публікацій за тематичними кластерами за допомогою інструментів сервісу SciVal.

За допомогою інструментів VOSviewer можна візуалізувати найбільш поширені ключові слова, які зустрічаються в 678 публікаціях за даною темою, такі як: «дорослі», «жінки», «комп'ютерна томографія», «магнітно-резонансна томографія», «кальциноз», «гістологія», «диференційна діагностика» та «пухлини».

За результатами візуалізації тематичного розподілу ключових слів, можна зробити узагальнення та виділити серед них 7 тематичних груп: пухлини мозку, менінгіоми, комп'ютерна томографія, магнітно-резонансна томографія, диференційна діагностика, псаммомні тільця і кальцифікація (рис. 1.2.6).

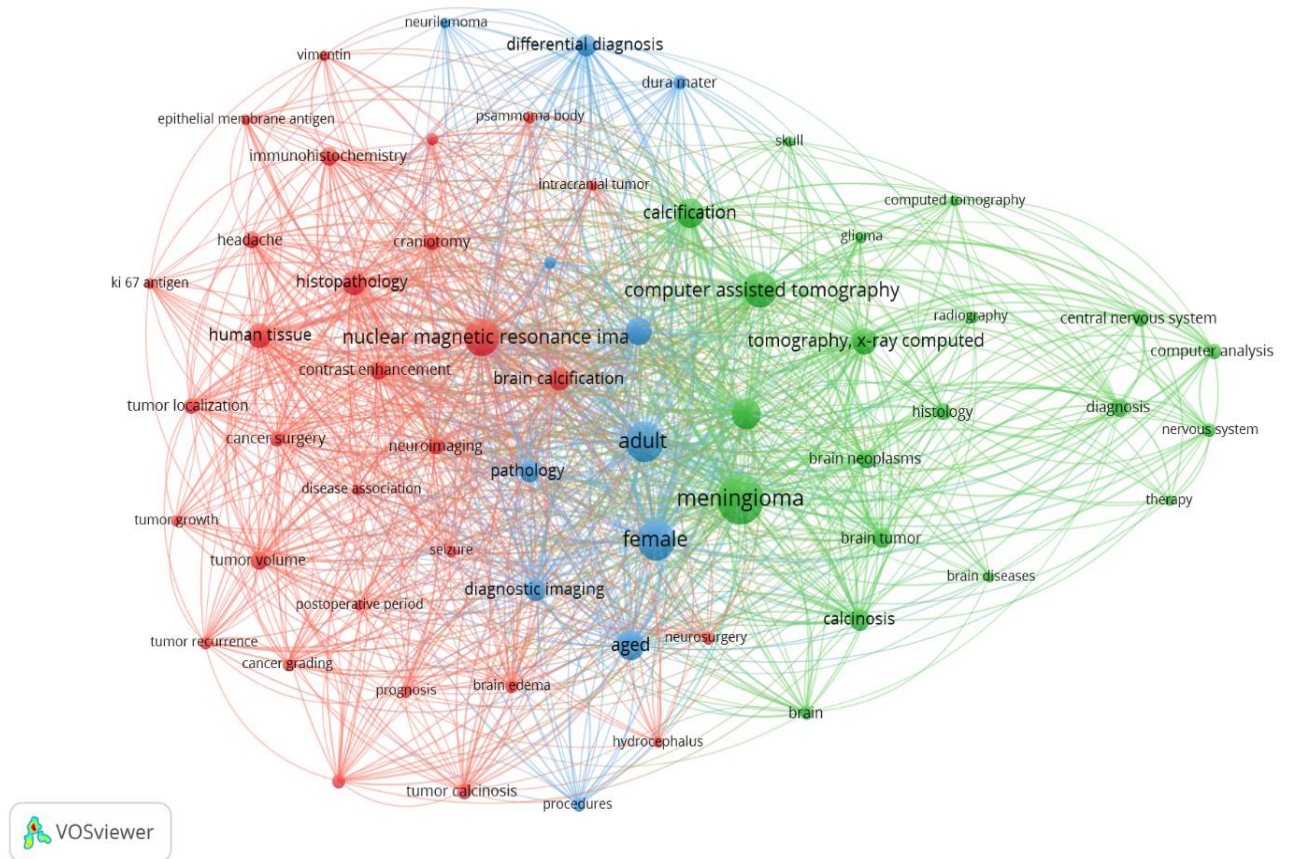


Рисунок 1.2.6. Тематичний розподіл ключових слів публікацій, створений за допомогою інструментів візуалізації VOSviewer.

За допомогою інструментів VOSviewer серед 678 публікацій за даною темою загалом можна виділити 4 орієнтовні хронологічні етапи: виявлення

виявлення кальцій-вмісних утворень та дало можливість локалізувати та класифікувати ці утворення більш точно [143-145].

Тверда мозкова оболонка – це одна з мозкових оболонок, що представлена фіброзною тканиною, містить фібробласти та позаклітинний колаген. Дана оболонка має виражені в'язко-пружні властивості та витримує високі навантаження, що життєво необхідно для захисту головного та спинного мозку [146-149].

За даними КТ кальцифікація твердої мозкової оболонки спостерігається у 12,5% дорослої популяції, переважно у чоловіків середнім віком 53 роки. Причому більш ніж у 75% випадків одночасно спостерігається кальцифікація судинного сплетення [150-152].

Варто зазначити, що часто під «кальцифікатами твердої мозкової оболонки» на КТ іноді мається на увазі анатомічне розташування, а не структура, що можна пояснити тісним анатомічним зв'язком з кровоносними та лімфатичними судинами [153-157].

В той же час, за результатами аутопсій кальцифікати, у тому числі мікроскопічні, зустрічаються значно частіше у порівнянні з даними комп'ютерної томографії – у 72% пацієнтів, що може вказувати на їх фізіологічне походження [158-160].

У дітей цей феномен дуже рідкісний (менше 1% пацієнтів при КТ), його виявлення має викликати настороження та бути приводом для дообстеження на предмет пухлинних процесів, наслідків субдуральних та епідуральних крововиливів, мікроелементозів [161-165].

Щодо біологічного значення кальцифікації ТМО у дорослих думки вчених розходяться. Одні припускають, що цей феномен є проявом вікових змін та є фізіологічним, а тому є настільки розповсюдженим [6].

Інші пов'язують кальцифікацію ТМО з різноманітними патологічними процесами, в тому числі з артеріальною гіпертензією, яка є поширеною патологією серед популяції дорослого населення. Крім того, деякі вчені

повідомляють про можливий зв'язок кальцифікації мозкових оболонок з гемодіалізом та гіперпаратиреозом [166-170].

Після нейрохірургічних втручань з приводу видалення пухлин, травматичного пошкодження головного мозку чи інших причин, необхідно провести реконструкцію твердої мозкової оболонки так, щоб мінімізувати ризики ускладнень: нориць, інфекцій, кил головного мозку, рубців і спайок [171-175].

Є дані про використання аутотрансплантантів, наприклад, скроневої фасції. Цей метод має деякі переваги: простота обробки матеріалу, ціна та гарна біосумісність. Проте аутотрансплантат неможливо використати, коли розміри дефекту значні, крім того цей метод потребує додаткової операції та створює ризик ускладнень на місці видалення [176-178].

Використання гомотрансплантантів на сьогоднішній день не виявляється гарним варіантом, через ризики передачі пріонної інфекції (хвороба Крейтцфельдта–Якоба) [179-181].

Перспективним рішенням є використання синтетичних матеріалів, в тому числі наноматеріалів (наприклад, полікапролактонові нановолокна з різноманітними наночастинками), для створення штучної твердої мозкової оболонки [182].

Проте, можливими перешкодами для застосування в нейрохірургічній клінічній практиці штучної твердої мозкової оболонки можуть стати недостатня біосумісність та нейротоксичність, тому ці матеріали потребують детального вивчення та тестування перед можливим застосуванням [183, 184].

Крім того, проведене детальне патоморфологічне та матеріалознавче (фізико-хімічне) дослідження біомінеральних депозитів може бути корисним для створення біоматеріалів за типом твердої мозкової оболонки та може покращити лікувальний процес хворих з дефектами мозкових оболонок після травматичних ушкоджень та нейрохірургічних операцій.

Матеріали даного розділу висвітлені в публікаціях: [185-187].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дисертаційна робота виконана в Сумському державному університеті на базі кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту.

Протокол комісії з біоетики. Дане дослідження схвалено комісією з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету (протокол №2/12 від 8 грудня 2022). Усі дослідження виконані згідно з Гельсінською декларацією Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта» (6-те видання, перегляд 2008 р., Сеул) та Загальною декларацією про біоетику та права людини (2006 р).

Зразки менінгіом

Дослідження проводили на тканинах, отриманих після оперативних втручань в нейрохірургічних відділеннях КНП СОР «Сумська обласна клінічна лікарня» та КНП «Центральна міська клінічна лікарня» СМР, а також на тканинах, отриманих під час аутопсій у патологоанатомічному відділенні КНП СОР «Сумська обласна клінічна лікарня» (м. Суми, Україна). Всього було досліджено 30 зразків менінгіом з ознаками біомінералізації (група МЕН-I) і 30 зразків менінгіом без даних ознак (група МЕН-II). Група МЕН-I містила 24 зразків від пацієнтів жіночої статі та 6 від пацієнтів чоловічої статі. Група МЕН-II включала 18 зразків від пацієнтів жіночої статі та 12 зразків від пацієнтів чоловічої статі. Варто відмітити, що кількість жінок та чоловіків в групах хоч і не є однаковою, однак цілком відповідає гендерному розподілу загальної захворюваності на менінгіоми (жінки хворіють частіше за чоловіків у 2,32 рази [20]).

Зразки твердої мозкової оболонки

Дослідження проводили на тканинах, отриманих під час аутопсій у патологоанатомічному відділенні КНП СОР «Сумська обласна клінічна лікарня» (м. Суми, Україна). Всього було досліджено 30 зразків ТМО з ознаками

біомінералізації (група ТМО-I) і 30 зразків ТМО без даних ознак (група ТМО-II). Група ТМО-I містила 15 зразків від пацієнтів жіночої статі та 15 від пацієнтів чоловічої статі. Група ТМО-II включала 14 зразків від пацієнтів жіночої статі та 16 зразків від пацієнтів чоловічої статі.

Гістологічне та гістохімічне дослідження

Для гістологічного дослідження (забарвлення гематоксиліном-еозином) біологічний матеріал менінгіом та ТМО фіксувався в 10% буферному розчині формаліну (CAS No. 50-00-0) протягом 24 годин. У подальшому вирізались фрагменти тканини, які потім зневоднювались та заливались парафіном в апараті карусельного типу «АТ-1010-ЕКА» (Україна). З парафінових блоків виготовлялись зрізи тканини товщиною 7 мікрметрів за допомогою ротаційного мікротому Shandon Finesse 325 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Після цього парафінові зрізи фарбувались гематоксиліном-еозином. Всі фото були зроблені за допомогою мікроскопу Zeiss Primo Star з камерою Zeiss AxioCam ERc 5s та програмним забезпеченням “Zen 2.0” (Carl Zeiss, Jena, Germany).

Розподіл на групи базувався на результатах гістологічного дослідження, під час якого враховувались ступінь злоякисності та гістологічний підтип за класифікацією WHO 2021 року, наявність та тип кальцифікації.

Гістохімічне дослідження алізариновим червоним S (модифікація Дала–МакГі) зразків тканини менінгіом та ТМО починали з депарафінізації (двічі по 5 хв в розчині ксилолу (CAS No. 95-47-6)) та дегідратації (двічі по 5 хв в розчині 96% етилового спирту (CAS No. 64-17-5), 10 хв в розчині 70% етилового спирту (CAS No. 64-17-5)) до дистильованої води. Потім зразки забарвлювались протягом 2 хвилин розчином алізаринового червоного S.

Для приготування розчину 0,5 г алізаринового червоного S (CAS No. 130-22-3) розчиняли в 45 мл дистильованої води, корекцію рН до 6,3-6,5 проводили 10% розчином NH_4OH (CAS № 1336-21-6). Потім зразки промивали дистильованою водою протягом 5-10 секунд і обробляли розчином підкисленого етанолу (CAS № 7647-01-0) протягом 15 секунд. Потім проводили дегідратацію, освітлення та покриття середовищем.

Гістохімічне дослідження за методом фон Косса зразків тканини менінгіом та ТМО починали з депарафінізації (двічі по 5 хв в розчині ксилолу (CAS No. 95-47-6)) та дегідратації (двічі по 5 хв в розчині 96% етилового спирту (CAS No. 64-17-5), 10 хв в розчині 70% етилового спирту (CAS No. 64-17-5)) до дистильованої води. Потім зразки поміщали в стакан зі 5% розчином нітрату срібла (CAS № 7761-88-8) під інтенсивне освітлення (навпроти 60-ватної лампи, попередньо обгорнувши стакан фольгою) на 1 годину. Для видалення залишків нітрату срібла зразки тричі промивали дистильованою водою та поміщали в розчин тіосульфату натрію (CAS № 10102-17-7) на 5 хв. Зразки промивали водопровідною та дистильованою водою. Потім зразки забарвлювали в 0,1% розчині ядерного швидкого червоного (CAS № 6409-77-4) протягом 5 хвилин. Зразки промивали водопровідною та дистильованою водою. Потім проводили дегідратацію, освітлення та покриття середовищем.

Гістохімічне дослідження за методом Ван Гізона зразків тканини менінгіом та ТМО починали з депарафінізації (двічі по 5 хв в розчині ксилолу (CAS No. 95-47-6)) та дегідратації (двічі по 5 хв в розчині 96% етилового спирту (CAS No. 64-17-5), 10 хв в розчині 70% етилового спирту (CAS No. 64-17-5)) до дистильованої води. Потім на зрізи накапували на 5 хвилин гематоксилін Вейгерта (50 крапель розчину Вейгерта I та 25 крапель розчину Вейгерта II).

Розчин Вейгерта I – це суміш 1 г гематоксиліну (CAS № 517-28-2) і 100 мл 96% етанолу (CAS № 64-17-5). Розчин Вейгерта II – це суміш 4 мл хлориду заліза (CAS № 7705-08-0), 1 мл концентрованої HCl (CAS № 7647-01-0) і 95 мл дистильованої води. Потім зразки промивали 2 порціями води та обробляли розчином підкисленого етанолу (CAS № 7647-01-0) до прояснення фону. Потім розчин пікрофуксину (суміш 10 мл насиченого водного розчину пікринової кислоти (CAS № 88-89-1) з 1 мл 1% водного розчину кислого фуксину (CAS № 3244-88-0)) капали на зразки. Потім проводили дегідратацію, освітлення та покриття середовищем.

Гістохімічне дослідження методом PAS-реакції розпочиналось з приготування реактиву Шиффа. Для цього до 200 мл киплячої дистильованої

води додавали 1 г основного фуксину (CAS № 569-61-9) і кип'ятили 5 хв при постійному помішуванні. Потім розчин охолоджували до 60-70 °С і фільтрували через паперовий фільтр. Потім чекали поки розчин охолоне до 50 °С і додавали 20 мл 1 н соляної кислоти (суміш 3,6 мл концентрованої HCl (CAS № 7647-01-0) і 16,4 мл дистильованої води). Потім давали розчину охолонути до 20-25 °С та додавали 1 г бісульфіту натрію (CAS № 7631-90-5).

Забарвлення зразків тканини менінгіом та ТМО починали з депарафінізації (двічі по 5 хв в розчині ксилолу (CAS No. 95-47-6)) та дегідратації (двічі по 5 хв в розчині 96% етилового спирту (CAS No. 64-17-5), 10 хв в розчині 70% етилового спирту (CAS No. 64-17-5)) до дистильованої води.

Потім зразки обробляли 1% розчином перйодної кислоти (CAS № 10450-60-9) протягом 10 хв при кімнатній температурі в темряві. Зразки промивали водопровідною водою (5 хв) та дистильованою водою (2 хв). Потім холодний реактив Шиффа капали на зразки протягом 10 хвилин при кімнатній температурі та при легкому освітленні, поки вони не стали рожевими. Зразки промивали водопровідною водою (кілька разів до червоного кольору води) та дистильованою водою (2 хв). Після цього зразки фарбували розчином гематоксиліну (CAS № 517-28-2) протягом 4 хвилин. Зразки двічі промивали у водопровідній воді. Потім проводили дегідратацію, освітлення та покриття середовищем.

Імуногістохімічне дослідження (ІГХ)

З парафінових блоків за допомогою ротаційного мікротому Shandon Finesse 325 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) виготовлялись зрізи (3-4 мкм), які наносились на адгезивні скельця SuperFrost (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) та підлягали висушуванню в термостаті при 37°C упродовж 18 годин. Потім розпочинали депарафінізацію (двічі по 3 хв в розчині ксилолу (CAS No. 95-47-6)) та дегідратацію (двічі по 5 хв в розчині 96% етилового спирту (CAS No. 64-17-5), 10 хв в розчині 70% етилового спирту (CAS No. 64-17-5)) до дистильованої води.

Демаскували антигени за рахунок нагрівання у цитратному буфері (спочатку в мікрохвильовій пічці на 60 с, потім в водяній бані на 30 хв при температурі 97°C. Використовували систему “UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer” (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Як хромоген використовувався діамінобензидин (DAB). У дослідженнях використана така панель антитіл: OPN (Thermo Fisher Scientific, PA5-34579, розведення 1:300), SPARK (Abcam, ab203284, розведення 1:300), RANKL (Abcam, ab239607, розведення 1:100), OPG (Abcam, ab203061, розведення 1:100) and Casp-3 (Abcam, ab32042, розведення 1:250). В якості контролю якості ІГХ дослідження проводили активний та пасивний контроль отриманих результатів.

Всі фото були зроблені за допомогою мікроскопу Zeiss Primo Star з камерою Zeiss AxioCam ERc 5s та програмним забезпеченням “Zen 2.0” (Carl Zeiss, Jena, Germany).

Морфометричні дослідження проводили за допомогою програми «SEO Scan Lab 3.0». В полі зору діаметром 1 000 мкм, поділеному на чотири рівні сектори, підраховувалась кількість імунопозитивних клітин, в кожному препараті було проаналізовано 6 унікальних полів зору.

Сканувальна електронна мікроскопія (СЕМ) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (ЕДС)

Дослідження біомінералів за допомогою сканувальної електронної мікроскопії було проведене в центрі колективного користування обладнанням СумДУ (за консультації канд. фіз.-мат. наук О.В. Пилипенка та провідного фахівця А.О. Степаненка).

Попередньо з парафінових блоків виготовлялись зрізи тканини товщиною 12 мікрметрів за допомогою ротаційного мікротому Shandon Finesse 325 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), які розміщувались на підложці з спектрально чистого графіту та поміщались в термостат на 30 хв при температурі 60°C. Для видалення парафіну зразки покривали ксилолом (CAS No. 95-47-6) тричі по 3–4 хв, а потім 96% етанолом (CAS No. 64-17-5) тричі по 5–6 хв та споліскували дистильованою водою. Після цього зразок біологічного матеріалу

додатково заземляли струмопровідним скотчем, який огортали навколо предметного столика. Виготовлені препарати досліджували на скануючому мікроскопі SEO-SEM Inspect S50-B (SEO, Суми, Україна) з енергодисперсійний спектрометром AZtecOne з детектором X-MaxN20 (Oxford Instruments plc, Abingdon, UK).

Просвічувальна електронна мікроскопія (ПЕМ) з електронною дифракцією (ЕД)

Дослідження біомінералів за допомогою просвічувальної електронної мікроскопії було виконане в Інституті прикладної фізики НАН України (за консультації канд. фіз.-мат. наук С.М. Данильченка).

Спочатку зразки піддавались попередній термічній обробці в електропечі при 200°C на повітрі впродовж 60 хв. При такому низькотемпературному відпалі після руйнування органічної складової та випарування вільної води тверді частинки мінералу можна було відокремити від органічної золи.

Просвічувальна електронна мікроскопія (ПЕМ) з електронною дифракцією (ЕД) проводилась на просвічувальному мікроскопі ПЕМ-125К (SELMІ, Україна). Мінералізовану тканину у вигляді порошку обробляли ультразвуком у дистильованій воді установкою УЗДН-А (SELMІ, Україна). Питома потужність установки 15 – 20 Вт/см² при частоті випромінювача 22 кГц.

Отриману суспензію (декілька крапель) наносили на вертикально направлений догори ультразвуковий випромінювач УЗДН-А і розпорошували протягом 2-3 секунд, змінюючи потужність установки. Розпилений аерозоль вловлювали на тонку вуглецеву плівку (10-20 нм), розташовану на мідній сітці тримача зразків. Мікрофотографії електронної дифракції були отримані при напрузі $U(\text{приск}) = 90 \text{ кВ}$.

Статистичний аналіз

Результати морфометричних вимірювань імуногістохімічного дослідження були перевірені на нормальний розподіл за допомогою критерію Шапіро-Вілк (Shapiro-Wilk). У випадку ненормального розподілу цифрових

показників для оцінки статистичної значимості використовували критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney).

Якщо вибірки даних мали правильний розподіл, їх порівняння проводилося за допомогою параметричного t- критерію Стюдента. Результати вважалися статистично значущими з імовірністю понад 95% ($p < 0,05$). Графічне представлення результатів статистичного аналізу виконано за допомогою GraphPad Prism 8.0.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ТКАНИНИ МЕНІНГІОМ З ОЗНАКАМИ ПАТОЛОГІЧНОЇ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ

Для дисертаційної роботи було відібрано 30 зразків менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації, які сформували групу МЕН-I. Остаточну приналежність відібраних зразків підтверджувалась за допомогою гістологічного та гістохімічних методів дослідження. Середній вік пацієнтів групи МЕН-I складав $63,33 \pm 2,09$ роки. При вивченні розподілу хворих за статтю середній вік чоловіків становив $67,33 \pm 7,63$ років, а жінок $62,33 \pm 1,87$ роки.

3.1. Макроскопічне дослідження тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації

Менінгіоми були представлені твердими кулястими, напівкулястими або бляшкоподібними утвореннями, що тісно спаяні з твердою мозковою оболонкою (рис. 3.1.1). Їх розмір коливався від 0,5 до 3,0 см, колір від світло-сірого до брудно-сірого з включеннями коричневого, поверхня була гладкою або дещо зернистою. Деякі з них були досить щільними та різались з характерним хрустом.



Рисунок 3.1.1. Макроскопічне дослідження тканини менінгіоми: 1) тверда мозкова оболонка; 2) місце прикріплення менінгіоми; 3) тканина менінгіоми.

3.2. Гістологічне дослідження тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації

Гістологічно тканина менінгіом була представлена досить однорідними клітинами середнього розміру ендотеліального фенотипу, які морфологічно дуже близькі до ендотелію мозкових оболонок. Клітини тісно прилягали одна до одної, мали овальну або багатокутну форму. Ядра були округло-овальної форми; ядерця дрібні з нечіткими контурами. Мітози спостерігалися рідко. Строма в одних випадках була не виражена (представлена кровоносними судинами і сполучною тканиною), а в інших характеризувалась утворенням неповних сполучнотканинних перетинок (рис. 3.2.1 А-Д).

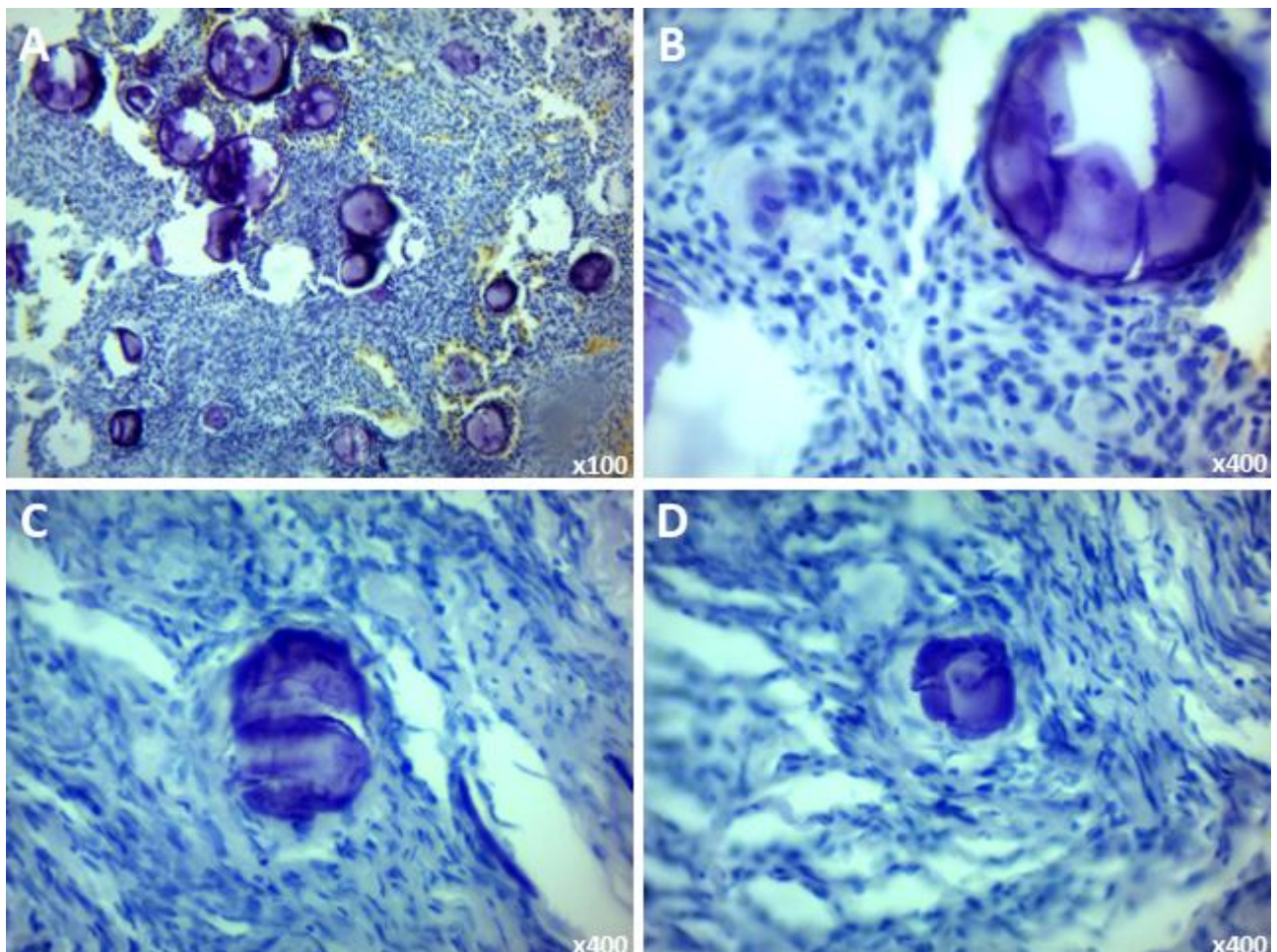


Рисунок 3.2.1. Гістологічне дослідження тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Забарвлення гематоксилином-еозином. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Також спостерігались своєрідне концентричне розташування сплюснених пухлинних клітин, що нагадувало в поперечному розрізі цибулину. Характерна була наявність псаммомних тілець (ПТ) – специфічних округлих утворень шаруватої будови. У деяких випадках більша частина пухлинної тканини була заміщена ПТ. Наявність пошкоджених ПТ та їх уламків можна пояснити механічним пошкодженням мікротомним ножом під час виготовлення гістологічних препаратів.

3.3. Гістохімічне дослідження тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації

Забарвлення зразків менінгіом з біомінералізацією алізариновим червоним було проведене для ідентифікації сполук кальцію та диференціації їх з депозитами заліза (для підтвердження рекомендована реакція Перлса). Кальцієві біомінерали забарвлювались у різні відтінки червоного кольору. Накопичення барвника було не рівномірним: більша насиченість в оболонці, ділянки просвітлення в центрі (рис. 3.3.1 А-Д).

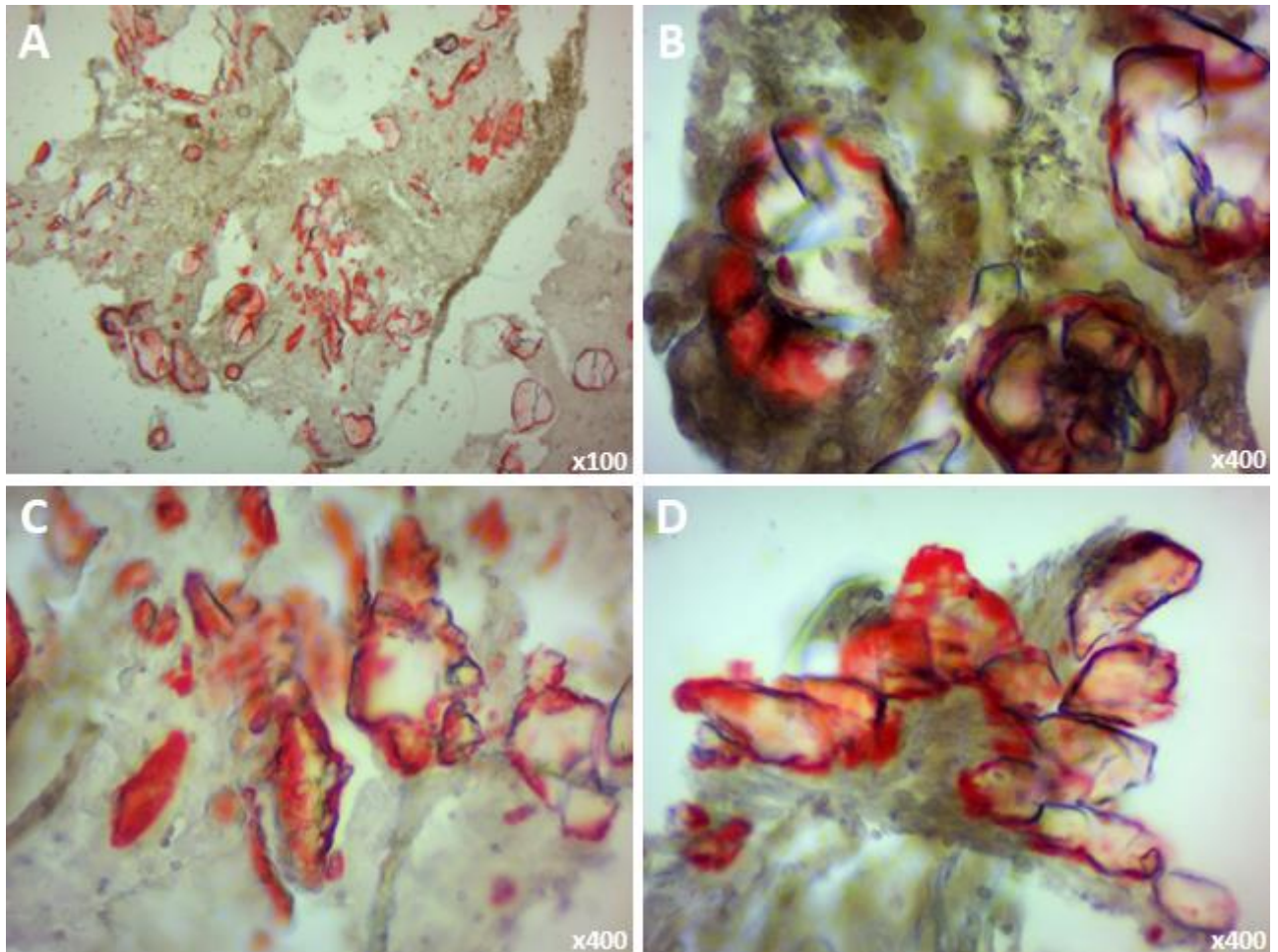


Рисунок 3.3.1. Гістохімічне дослідження тканини менингіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Забарвлення алізариновим червоним S. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення зразків менингіом з біомінералізацією за фон Коссом було проведене для детекції та візуалізації сполук кальцію фосфату. На фініші дослідження біомінеральні депозити набули коричневого кольору (варіації від світло-коричневого до темно-коричневого), що підтверджує наявність в їх складі сполук кальцію фосфату. Також можна відмітити нерівномірність насичення барвником (рис. 3.3.2 А-D).

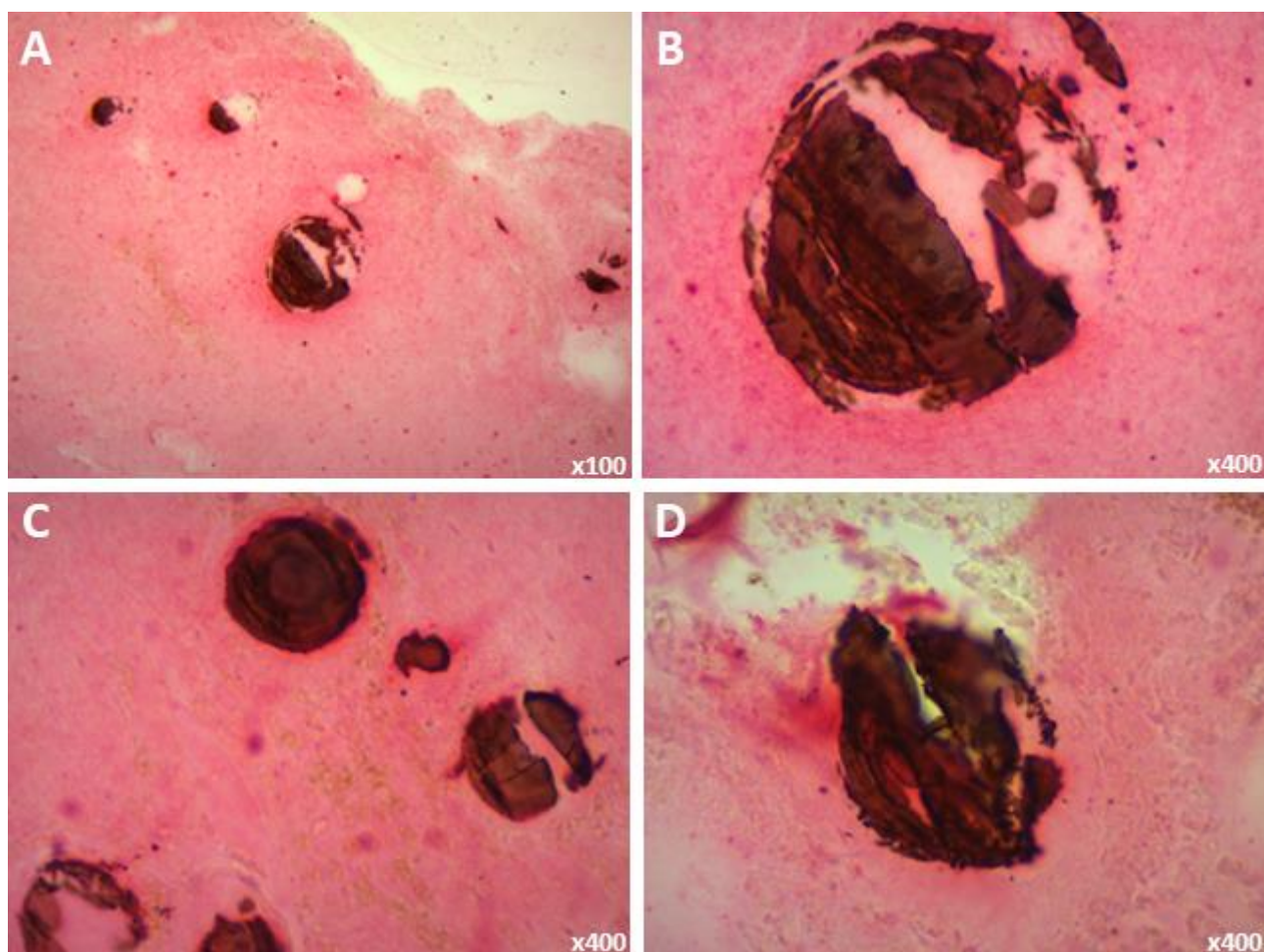


Рисунок 3.3.2. Гістохімічне дослідження тканини менингіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Забарвлення за фон Коссом. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за допомогою методу PAS-реакції було використане для ідентифікації глікопротеїдів та глікозаміногліканів в даних зразках. В результаті дослідження ПТ виявились PAS-позитивними з нерівномірним яскраво-червоним забарвленням біомінералів. Також позитивна реакція спостерігалась в прошарках між ПТ і сполучнотканинними тяжами. Значна кількість PAS-позитивної субстанції була виявлена у міжклітинних та міжволоконних просторах пухлин (рис. 3.3.3 А-D).

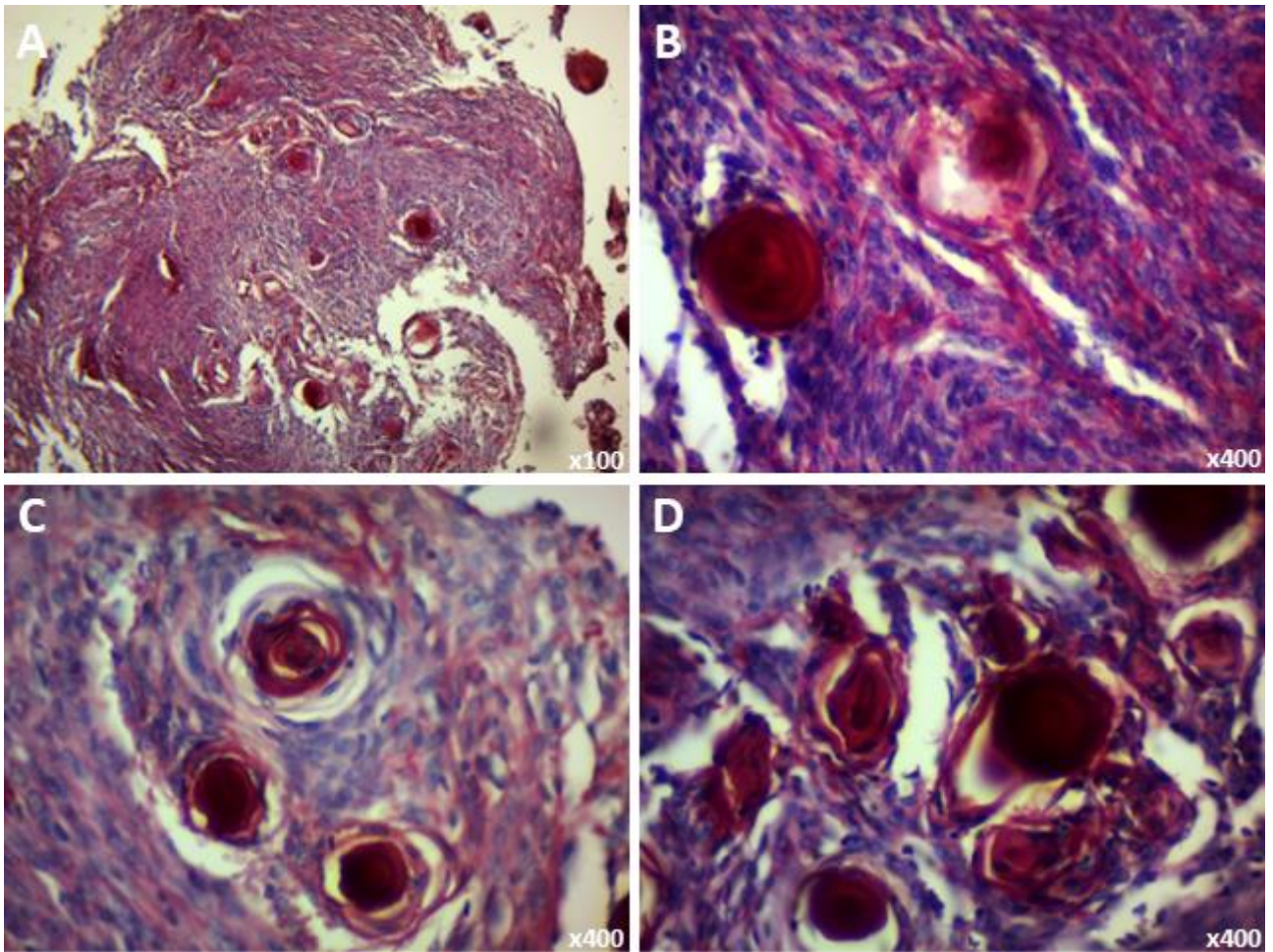


Рисунок 3.3.3. Гістохімічне дослідження тканини менингіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Забарвлення за допомогою PAS-реакції. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за Ван Гізоном було застосоване для візуалізації сполучної тканини та колагенових волокон у зразках тканини менингіом з біомінералізацією. Воно показало наявність в пухлині помітної кількості сполучної тканини (пурпурно-червоного кольору). Також візуалізувались сполучнотканинні тяжі, що поділяли групи пухлинних клітин на часточки, створюючи дольчатість в тканині менингіом (рис. 3.3.4 А-D).

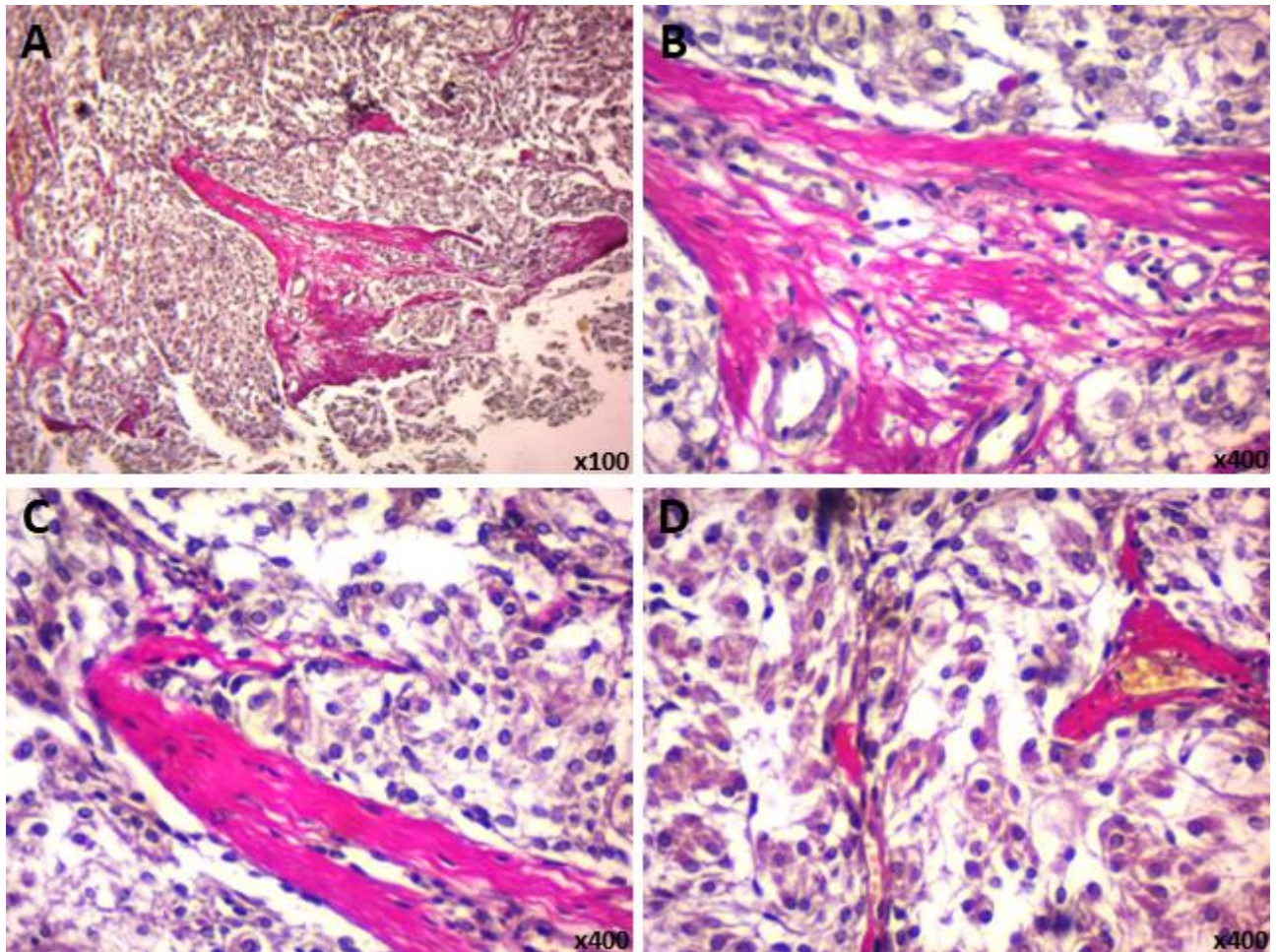


Рисунок 3.3.4. Гістохімічне дослідження тканини менингіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Забарвлення за Ван Гізоном. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

3.4. Імуногістохімічне дослідження тканини менингіом з ознаками патологічної біомінералізації

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-I з антитілами проти остеопонтину (OPN) показало помітну присутність цього білка. Найбільше його накопичення спостерігалось в кальцифікатах та навколишніх тканинах. Експресія остеопонтину у зразках даної групи становила 137.23 ± 7.16 клітин у полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 3.4.1 А-D).

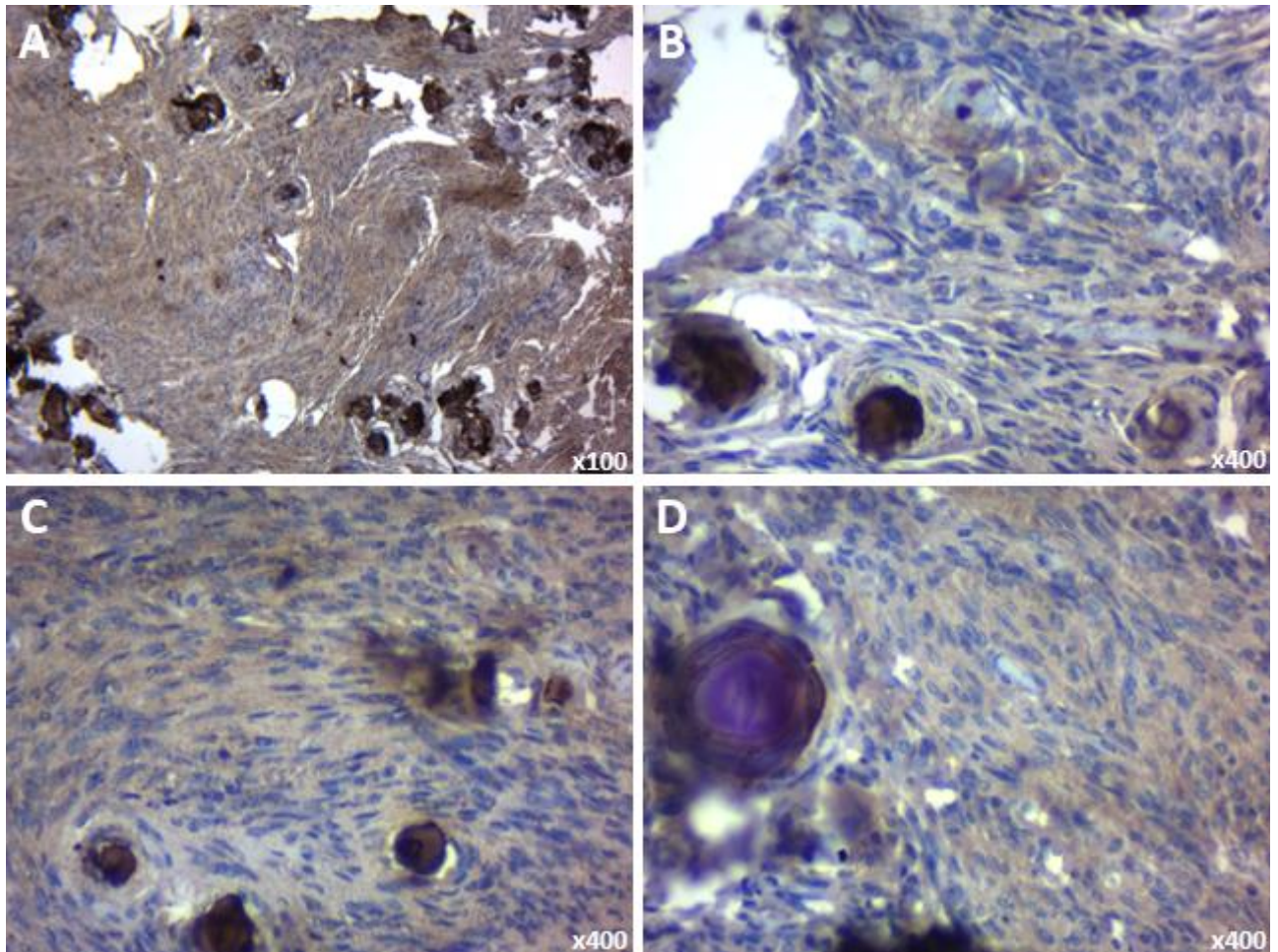


Рисунок 3.4.1. Імуногістохімічне дослідження експресії OPN у тканині менингіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-I з антитілами проти SPARC показало загальну помірну присутність цього білка. Виражена позитивна реакція спостерігалась в клітинах пухлинного мікрооточення. Також спостерігався підвищений рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія SPARC у зразках даної групи становила 73.60 ± 5.88 клітин у полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 3.4.2 A-D).

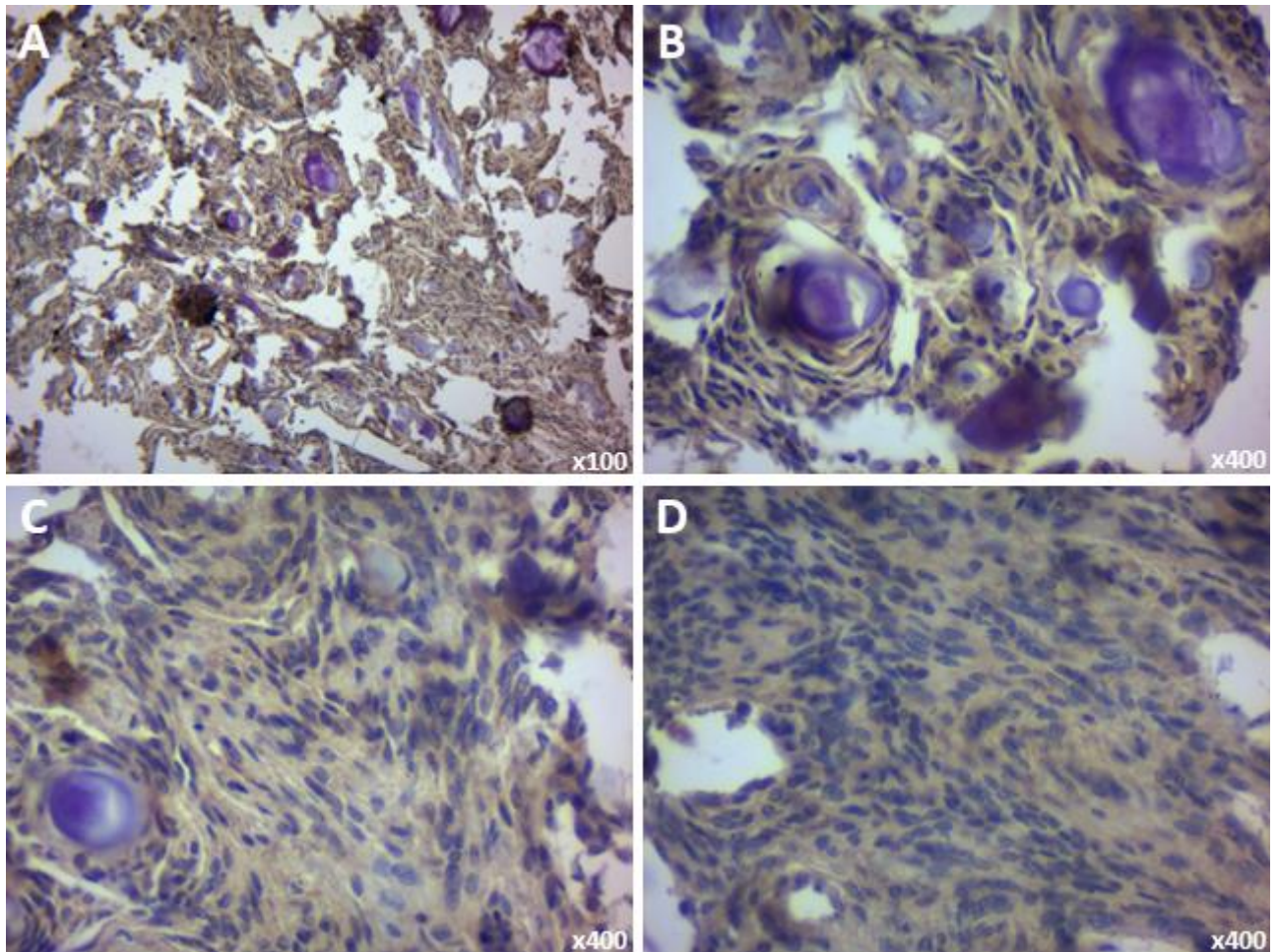


Рисунок 3.4.2. Імуногістохімічне дослідження експресії SPARC у тканині менингіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження зразків тканини групи МЕН-I з антитілами проти RANKL показало загальну помірну присутність цього білка. Спостерігалась помітно виражена експресія в клітинах на периферії деяких біомінеральних утворень. Експресія RANKL у зразках групи менингіом з ознаками патологічної біомінералізації становила 75.17 ± 4.51 клітин у полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 3.4.3 A-D).

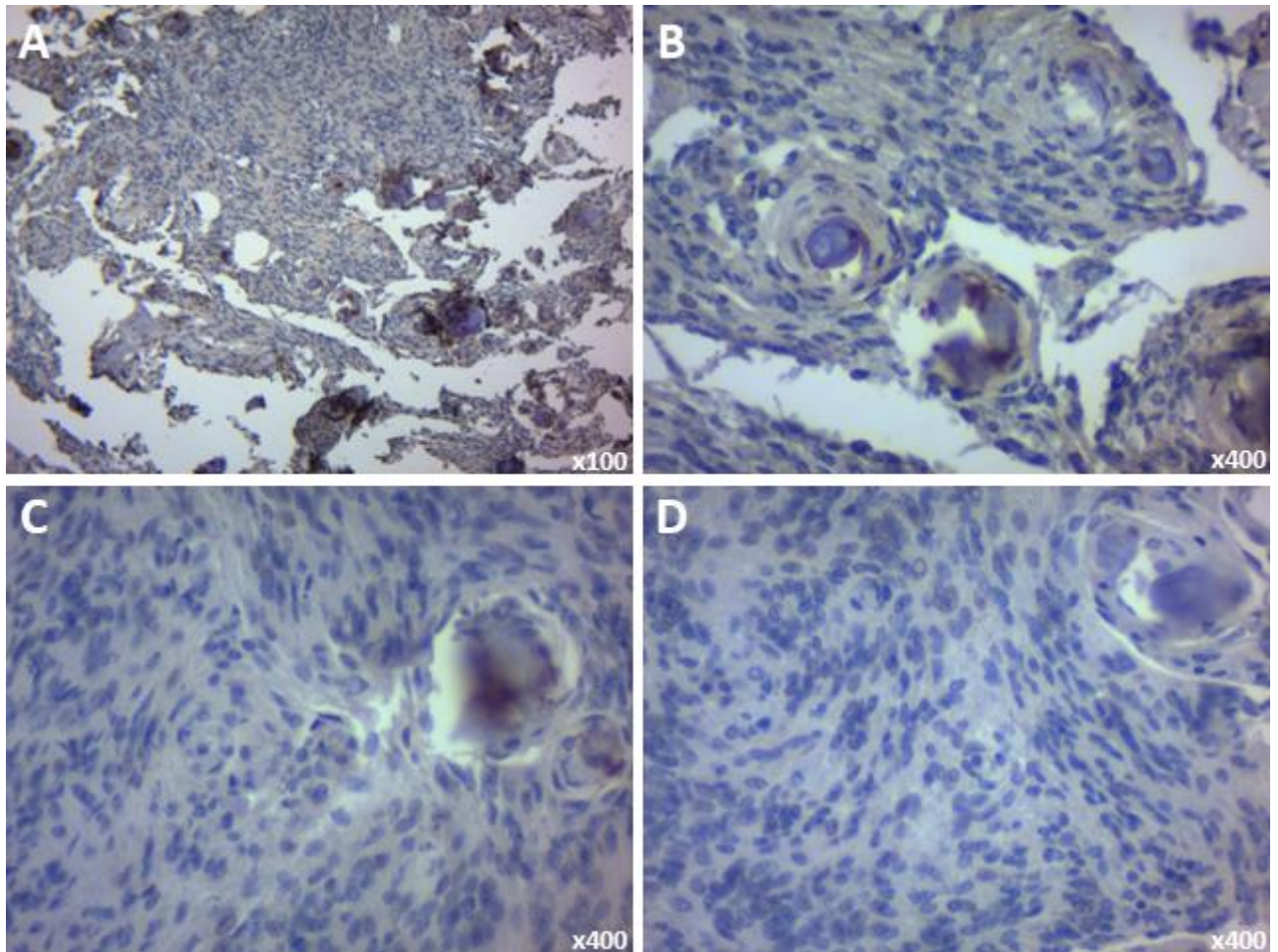


Рисунок 3.4.3. Імуногістохімічне дослідження експресії RANKL у тканині менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-I з антитілами проти OPG показало загальну низьку присутність цього білка. Візуалізувалась цитоплазматична експресія пухлинними клітинами низької та помірної інтенсивності. Іноді помітно виражена експресія OPG спостерігалась в клітинах на периферії поодиноких біомінеральних утворень. Присутній підвищений рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія OPG у зразках менінгіом з наявністю патологічної біомінералізації складала 43.13 ± 4.01 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 3.4.4 A-D).

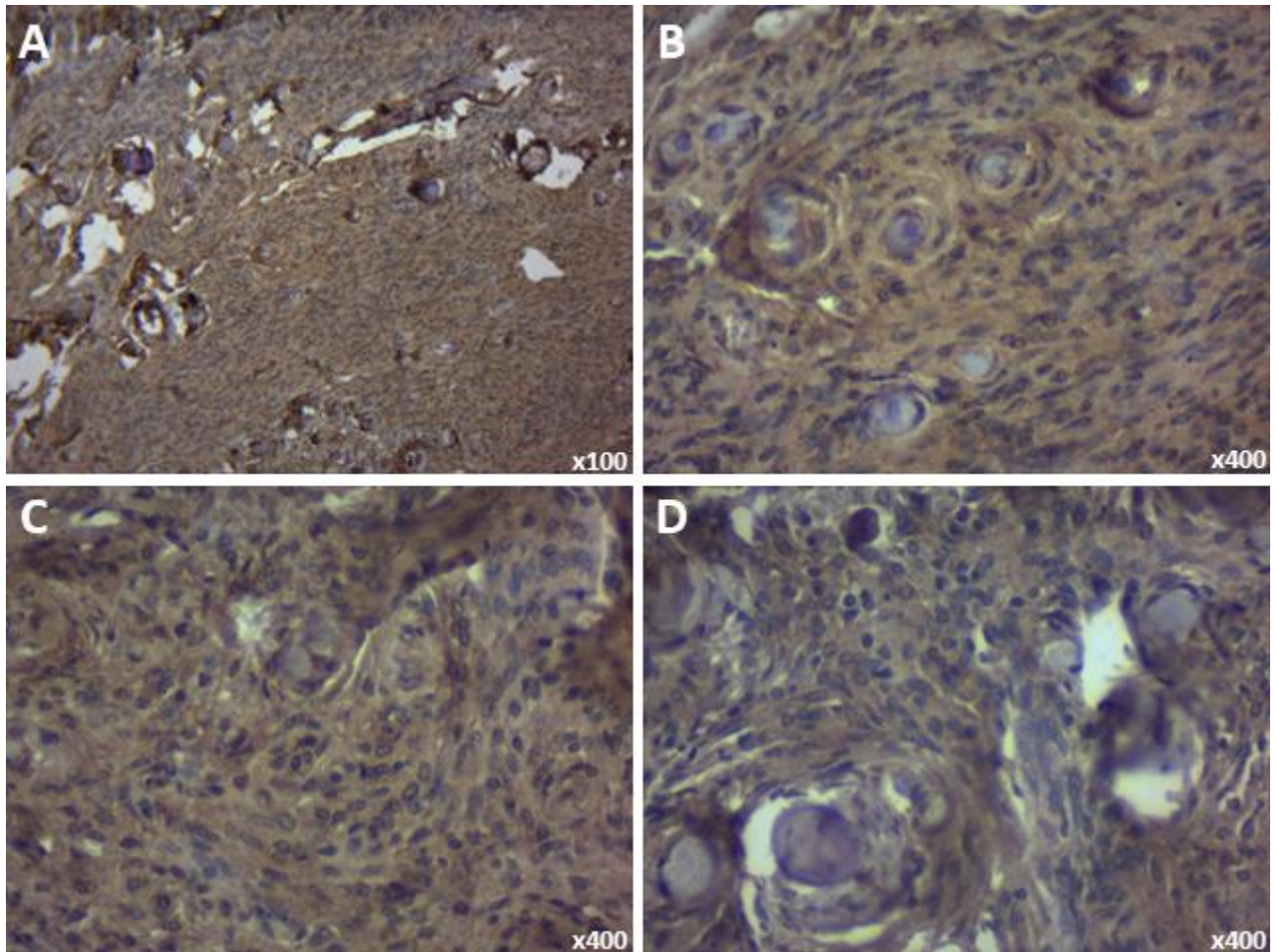


Рисунок 3.4.4. Імуногістохімічне дослідження експресії OPG у тканині менингіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-I з антитілами проти Casp-3 показало загальну помірну присутність цього білка. Візуалізувалась виражена позитивна експресія в клітинах пухлинного мікрооточення та накопичення білку на периферії поодиноких біомінеральних утворень. Експресія Casp-3 у зразках менингіом з наявністю патологічної біомінералізації складала 57.65 ± 4.10 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 3.4.5 А-D).

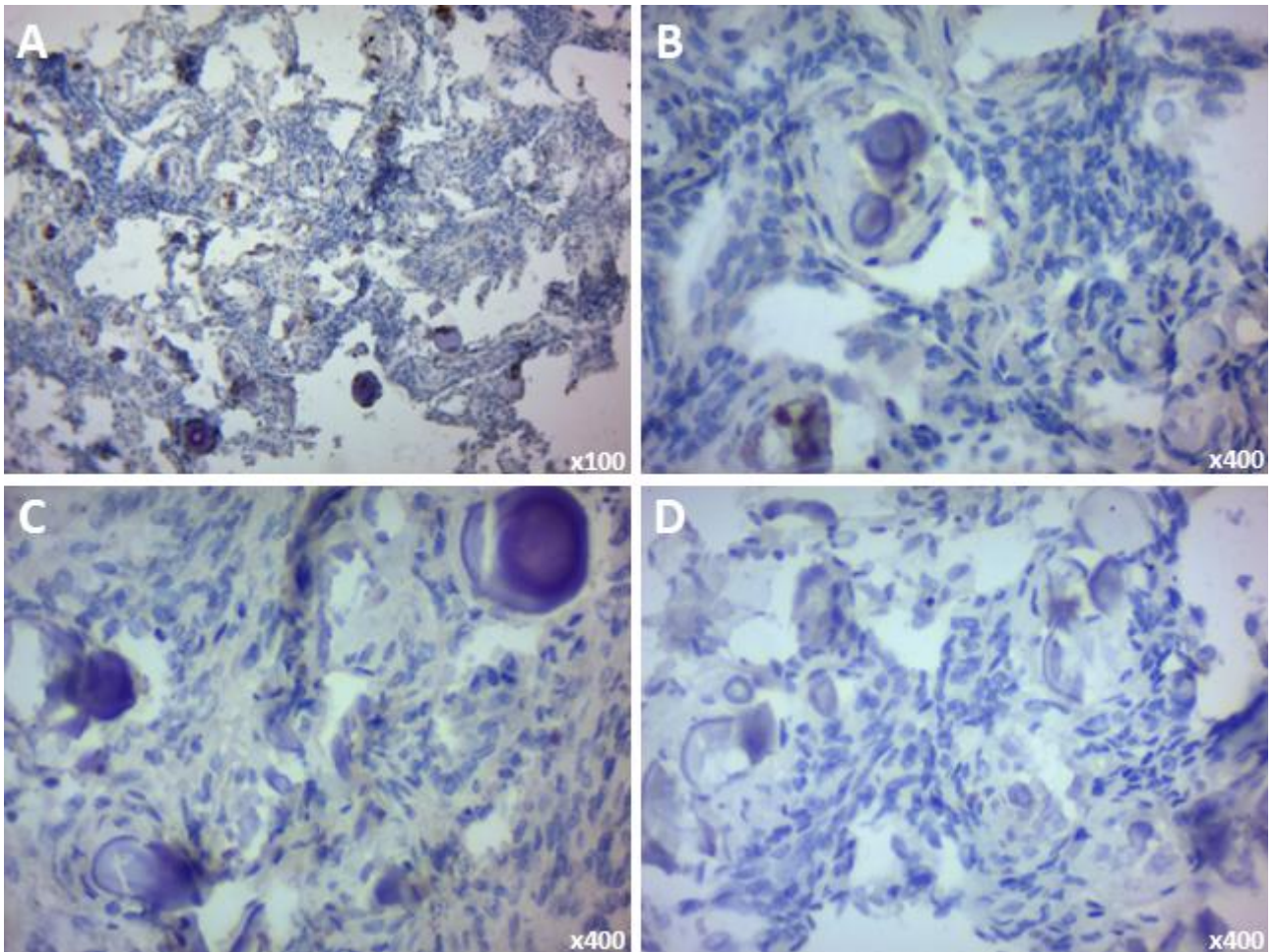


Рисунок 3.4.5. Імуногістохімічне дослідження експресії Casp-3 у тканині менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

3.5. Морфометричний аналіз біомінеральних включень менінгіом

Аналіз морфометричних характеристик біомінералів на основі зображень гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методів досліджень продемонстрував коливання середніх розмірів ПТ від 20.01 до 197.02 мкм (рис. 3.5.1). Загалом, біомінеральні включення менінгіом відповідно до розміру можна розділити на 3 групи: великі – більше 100 мкм, середні – 70-100 мкм включно та дрібні – розміром до 70 мкм.

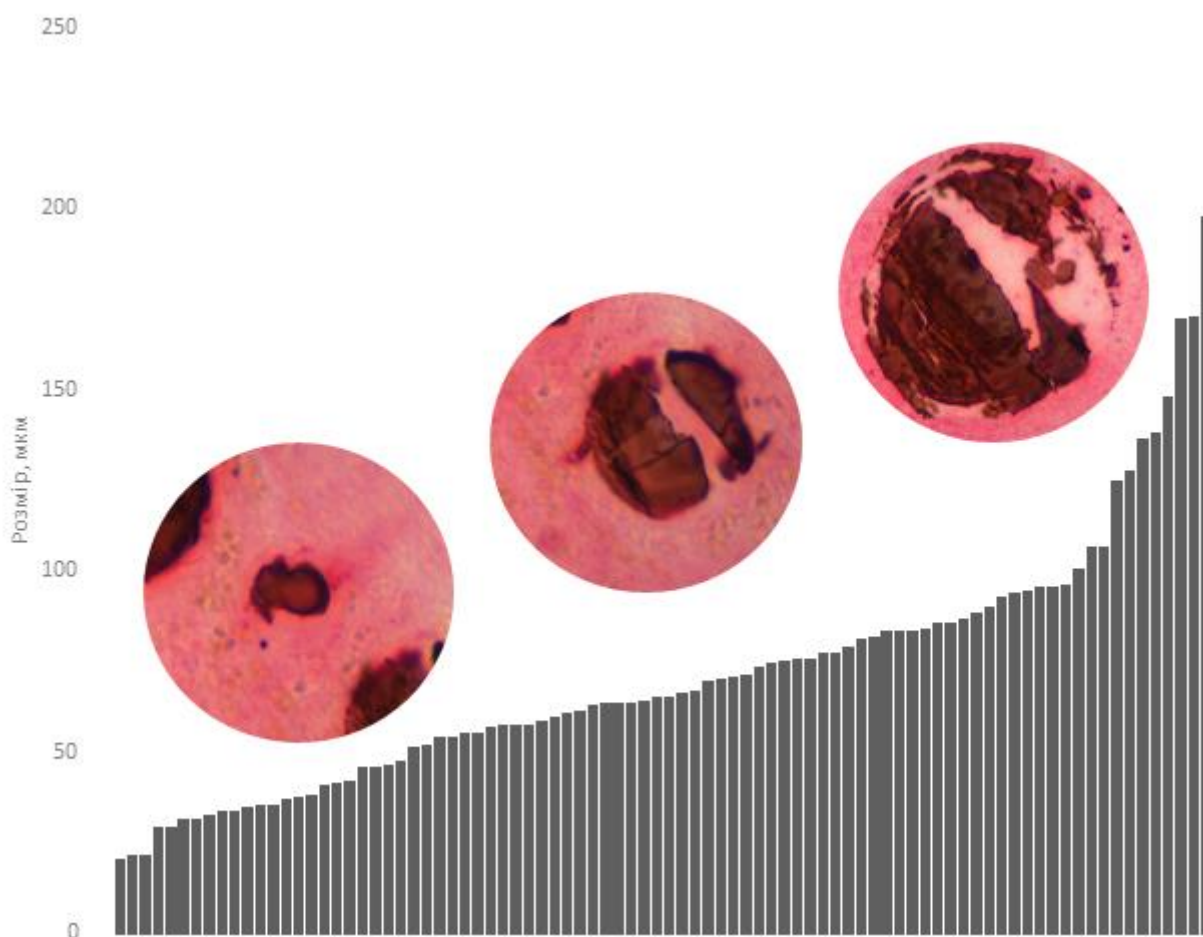


Рисунок 3.5.1. Градація розмірів псаммомних тілець менінгіом.

3.6. Сканувальна електронна мікроскопія (СЕМ) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (ЕДС)

СЕМ дослідження тканини групи МЕН-I виявило присутність великої кількості яскравих об'єктів біло-сірого кольору у вигляді овальних та круглих утворень. Їх розміри коливались від кількох десятків до сотні мікрометрів. Також візуалізувались окремі фрагменти у вигляді «брил» і «пластинок», що скоріше за все утворились внаслідок руйнування великих біомінеральних депозитів (рис. 3.6.1 А, В).

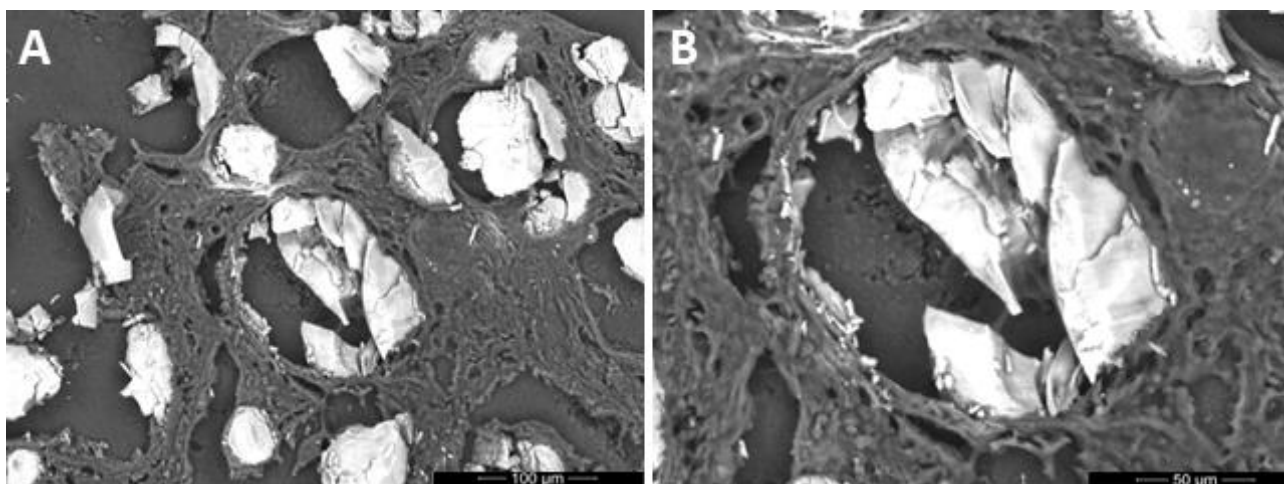


Рисунок 3.6.1. Сканувальна електронна мікроскопія тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

За даними енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії зразків менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації групи МЕН-I були виявлені виражені піки кальцію (Ca) та фосфору (P), а також помірно виражені піки оксигену (O) та карбону (C), співвідношення яких, найбільш вірогідно, відповідає гідроксиапатиту кальцію $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (рис. 3.6.2). Крім того, візуалізувались незначні піки натрію та магнію.

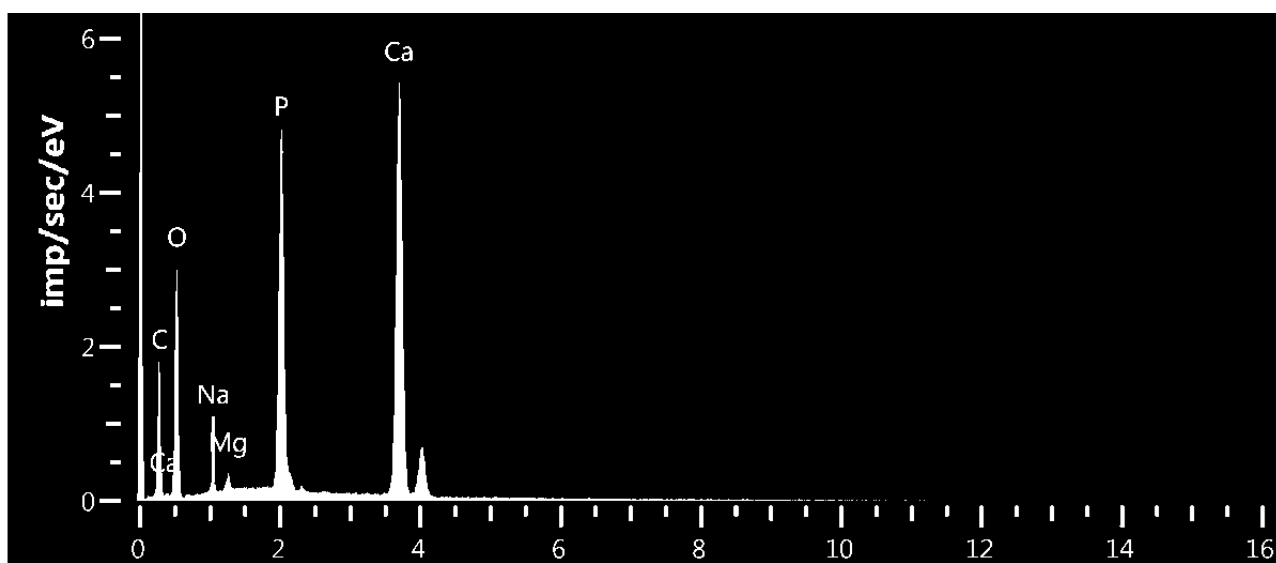


Рисунок 3.6.2. ЕДС спектр тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I).

За даними ЕДС картування зразків групи МЕН-I було встановлено накопичення кальцію, фосфору та кисню в місцях локалізації біомінеральних депозитів, а також відсутність накопичення карбону в цих ділянках, не зважаючи на рівномірний його розподіл в цілому по полю сканування (результат екранування графітового столика від електронного пучка біомінеральними депозитами). Ці дані підтверджують, що мінералом депозитів є кальцій-фосфат апатитного складу (рис.3.6.3).

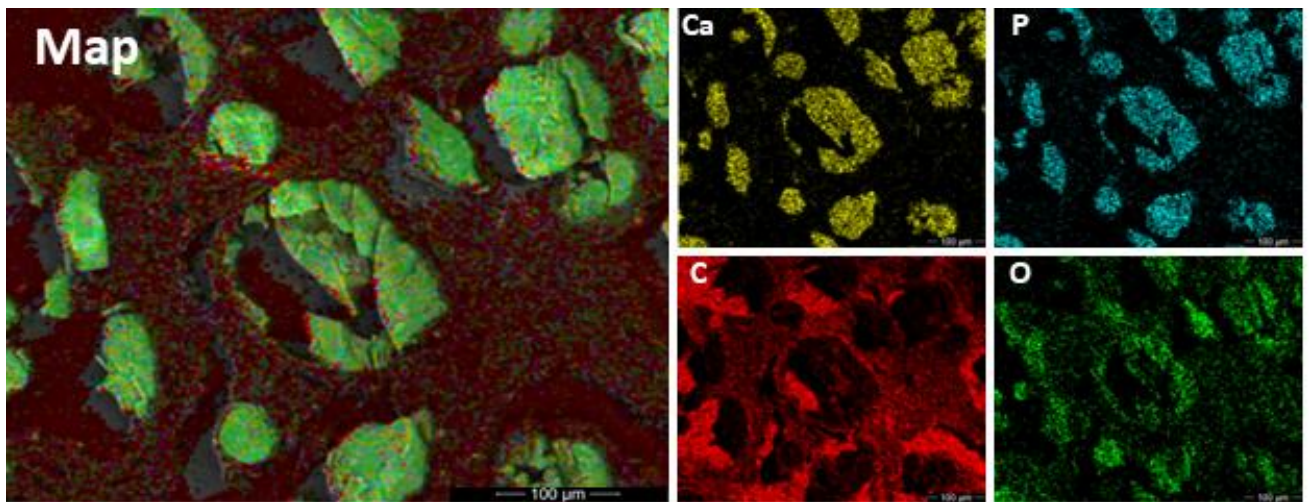


Рисунок 3.6.3. ЕДС- картування тканини менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I): іони кальцію (Ca) позначено жовтим, фосфору (P) – блакитним, карбону (C) – червоним, кисню (O) – зеленим. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

3.7. Просвітлювальна електронна мікроскопія (ПЕМ) та електронна дифракція (ЕД)

Дослідження мікроструктури біомінералів менінгіом групи МЕН-I показують, що зразки представляють собою конгломерати кристалів розмірами 1-5 мкм в аморфній матриці (рис. 3.7.1. А, В, С). Кристалічні частинки мають розміри від 30 до 200 нм. При цьому частинки з розмірами в інтервалі 30 – 60 нм збираються в агломерації (рис. 3.7.1. D, E, F). Нагрівання електронним пучком активізує процеси рекристалізації, що супроводжується переорієнтацією та незначним збільшенням розмірів кристалітів.

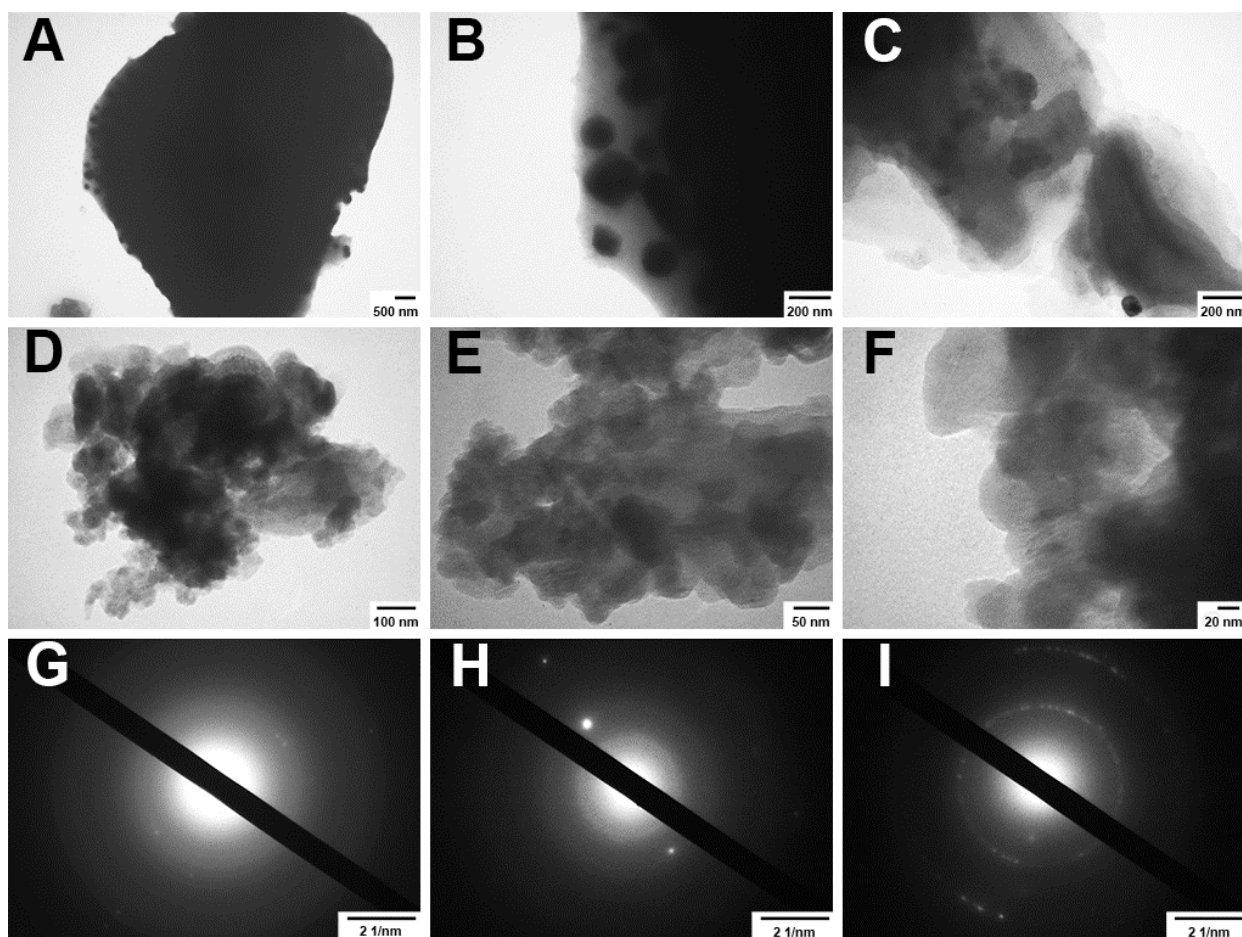


Рисунок 3.7.1. ПЕМ (А-Ф) та ЕД (G-I) менінгіом з ознаками патологічної біомінералізації (група МЕН-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Електронна дифракція від конгломератів представляє собою гало інтенсивності, що відповідає аморфній фазі, та слабкі кільця і точкові рефлекси від кристалічних частинок (рис. 3.7.1. G). Це свідчить про значну долю аморфної компоненти. Електронна дифракція від обраної ділянки з відносно великими (60-200 нм) кристалами в аморфній матриці (рис. 3.7.1. Н – відповідає центральній частині рис. 3.7.1. В) показує збільшення інтенсивності рефлексів від кристалу. При цьому спостерігається зменшення яскравості гало від аморфної складової. Електронна дифракція від агломератів нанокристалів 30-60 нм (рис. 3.7.1. I – відповідає структурі з рис. 3.7.1. Е) показує чіткі дифракційні кільця та рефлекси. При цьому гало інтенсивності від аморфної складової не спостерігається.

Матеріали даного розділу висвітлені в публікаціях: [185, 188-194].

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ТКАНИНИ МЕНІНГІОМ БЕЗ ОЗНАК ПАТОЛОГІЧНОЇ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ

Для дисертаційної роботи було відібрано 30 зразків менінгіом без ознак патологічної біомінералізації, які сформували групу МЕН-II. Остаточне підтвердження приналежності відібраних зразків до даної групи відбувалось з використанням гістологічного та гістохімічних методів дослідження. Середній вік пацієнтів групи МЕН-II складав $56,73 \pm 1,98$ років. При вивченні розподілу хворих за статтю середній вік чоловіків становив $52,67 \pm 4,00$ роки, а жінок $59,44 \pm 1,78$ років.

4.1. Макроскопічне дослідження тканини менінгіом без ознак патологічної біомінералізації

Менінгіоми були представлені кулястими або бляшкоподібними утвореннями помірної щільності, що тісно спаяні з твердою мозковою оболонкою. Їх розмір коливався від 0,5 до 2,2 см, колір від світло-сірого до брудно-сірого, поверхня була гладкою або зернистою (рис. 4.1.1).

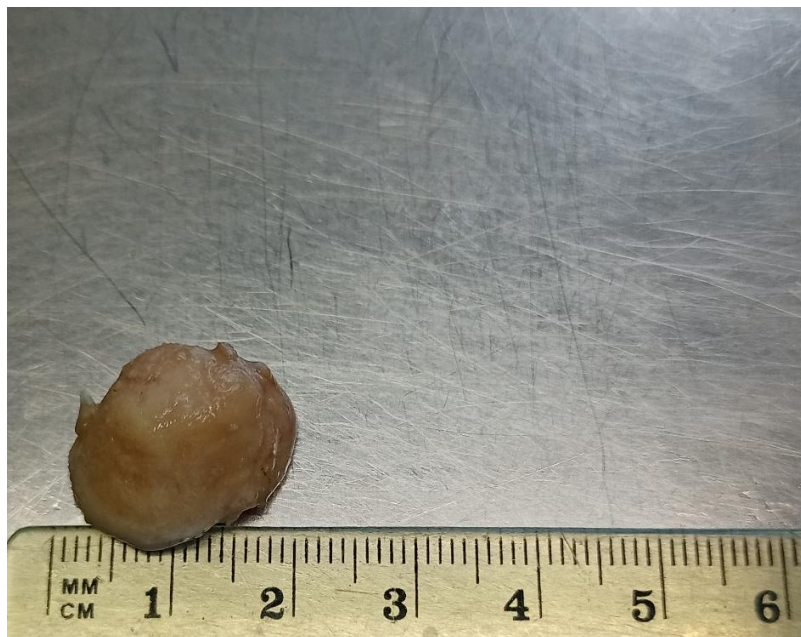


Рисунок 4.1.1. Макроскопічне дослідження тканини менінгіоми (група МЕН-II).

4.2. Гістологічне дослідження тканини менінгіом без ознак патологічної біомінералізації

Гістологічно тканина менінгіом була представлена досить однорідними клітинами середнього розміру ендотеліального фенотипу, які морфологічно дуже близькі до ендотелію мозкових оболонок. Клітини тісно прилягали одна до одної, мали овальну або багатокутну форму. Ядра були округло-овальної форми; ядерця дрібні з нечіткими контурами. Мітози спостерігалися рідко. Строма могла бути невиражена або з утворенням неповних сполучнотканинних перетинок. Псаммомних тілець не спостерігалось (рис. 4.2.1 А-D).

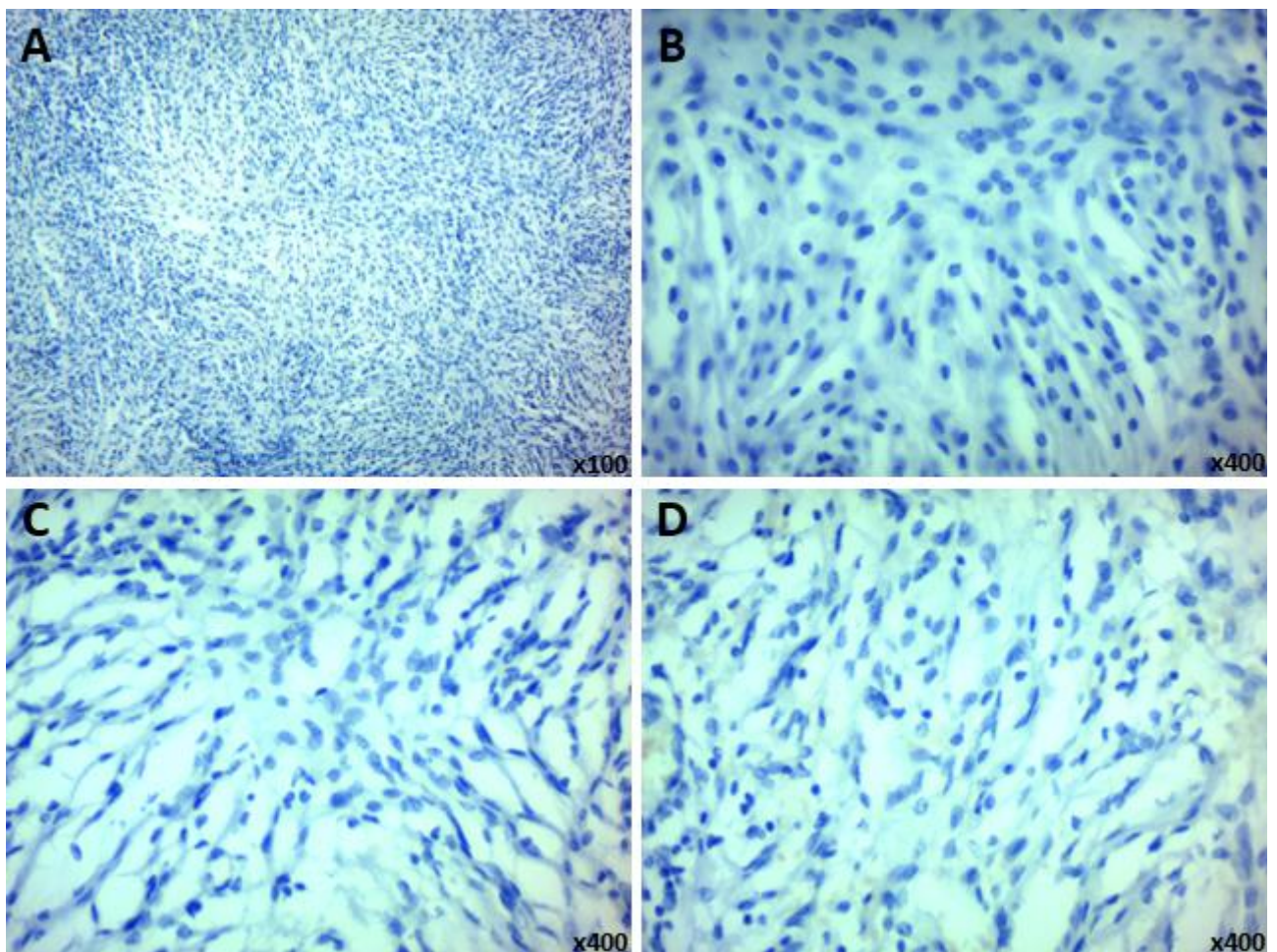


Рисунок 4.2.1. Гістологічне дослідження тканини менінгіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

4.3. Гістохімічне дослідження тканини менингіом без ознак патологічної біомінералізації

Забарвлення зразків менингіом без ознак патологічної біомінералізації алізариновим червоним S було проведене для детекції та візуалізації сполук кальцію, а також їх диференціації з депозитами неорганічного заліза. В результаті даного дослідження підтвердились дані гістологічного дослідження про відсутність кальцієвих мінеральних депозитів в зразках тканини менингіом групи МЕН-II (рис. 4.3.1 А-D). Лише в деяких зразках було виявлено поодинокі депозити заліза (пурпурний колір).

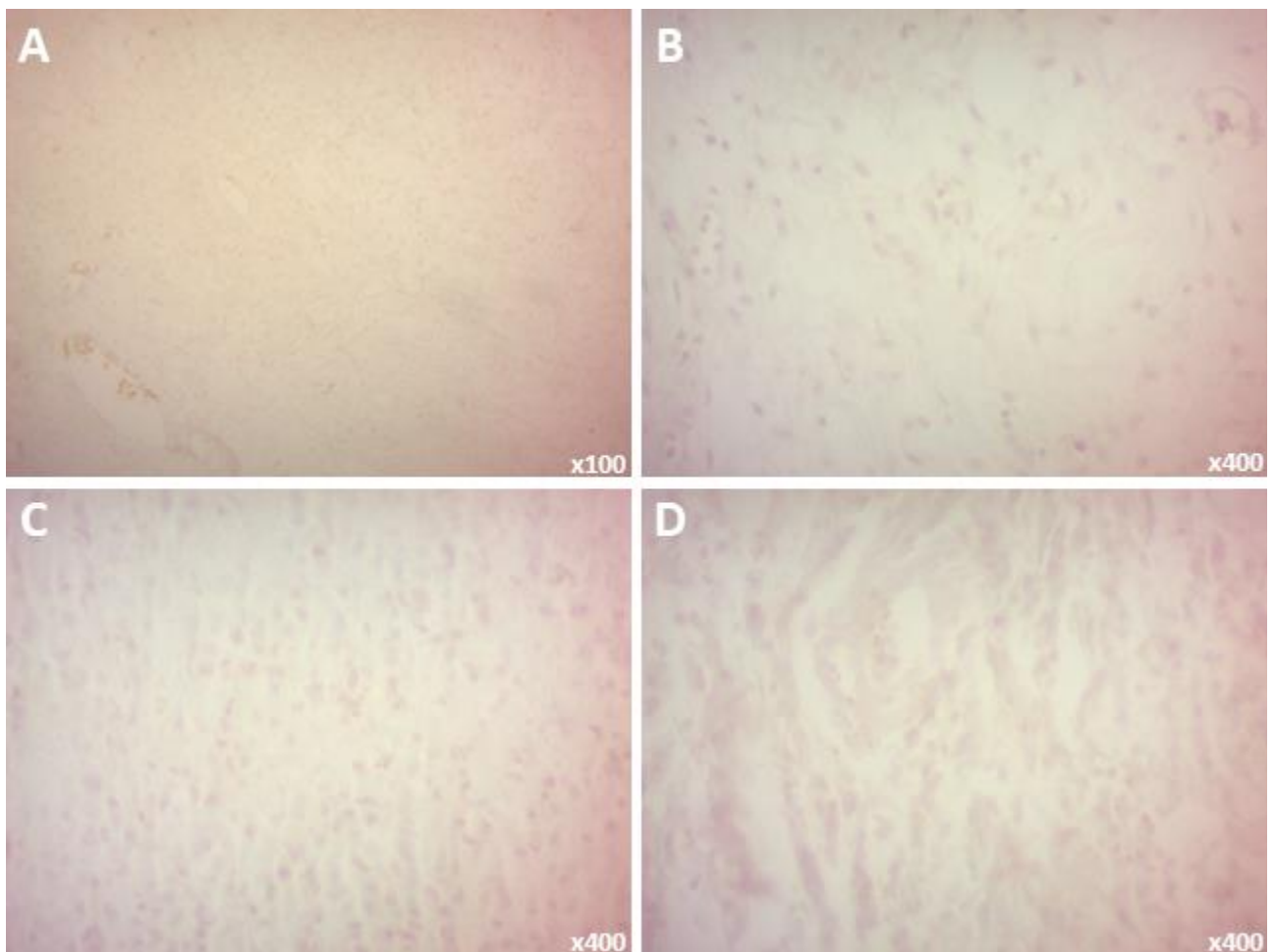


Рисунок 4.3.1. Гістохімічне дослідження тканини менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Забарвлення алізариновим червоним S. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Дослідження зразків менингіом без ознак патологічної біомінералізації групи МЕН-II за фон Коссом було проведене для детекції та візуалізації сполук кальцію фосфату. Барвник ядерний швидкий червоний (nuclear fast red) візуалізував ядра клітин, іноді накопичувався у вигляді депозитів у міжклітинних просторах як артефакт. Забарвлення за фон Коссом підтвердило відсутність сполук кальцію фосфату в складі досліджуваних зразків тканин, тобто спостерігалась негативна реакція (рис. 4.3.2 А-D).

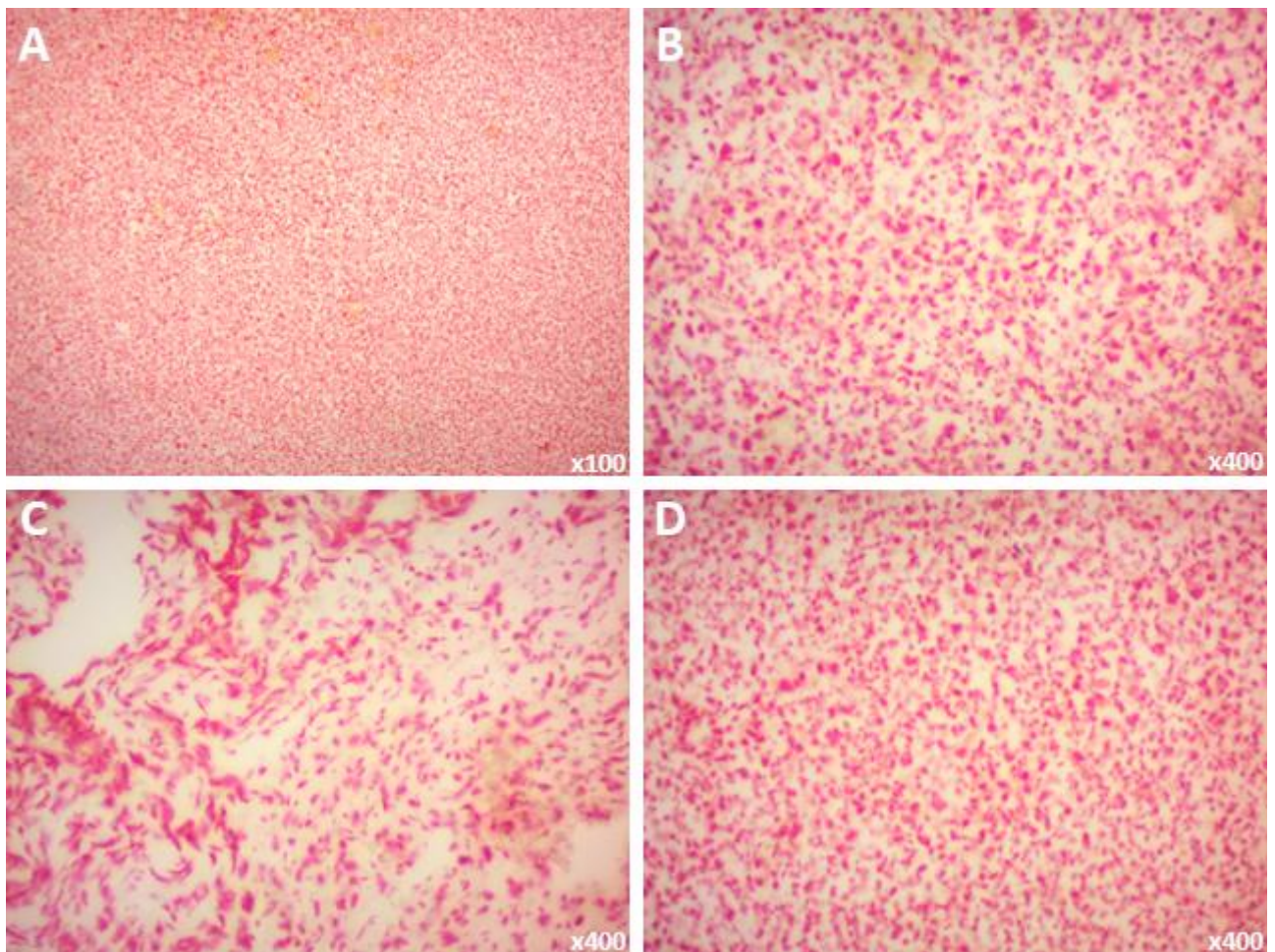


Рисунок 4.3.2. Гістохімічне дослідження тканини менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Забарвлення за фон Коссом. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за допомогою методу PAS-реакції дало негативний результат, тобто не було виявлено глікопротеїнів, фосфоліпідів чи глікозаміногліканів у зразках тканини менингіом групи МЕН-II (рис. 4.3.3 А-D).

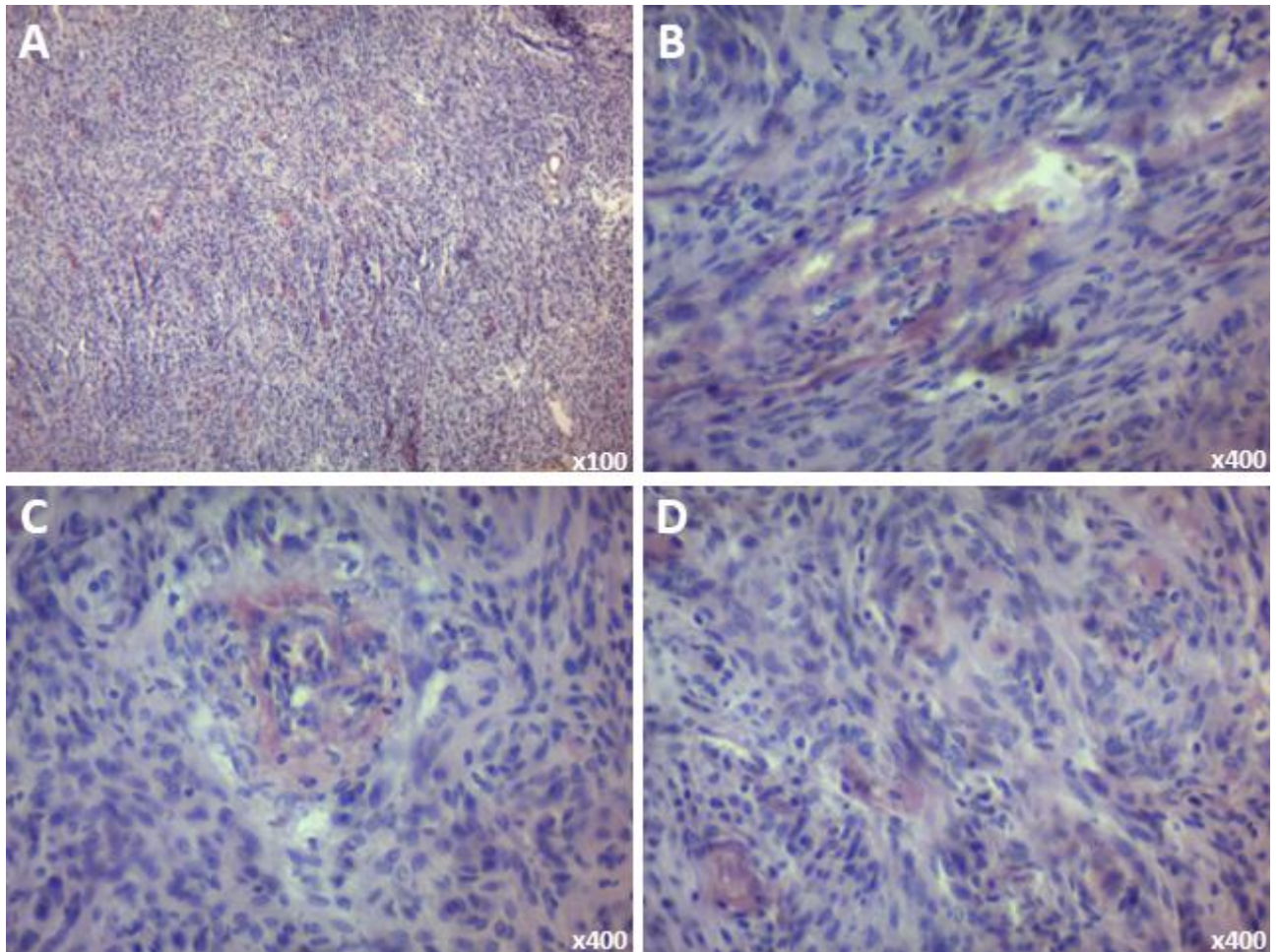


Рисунок 4.3.3. Гістохімічне дослідження тканини менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Забарвлення PAS-реакцією. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за методом Ван Гісона було застосоване для візуалізації сполучної тканини у зразках тканини менингіом без ознак патологічної біомінералізації. Дане забарвлення зразків групи МЕН-II показало наявність в пухлині помітної кількості сполучної тканини (пурпурно-червоного кольору). Також візуалізувались сполучнотканинні тяжі, що створювали дольчастість в тканині пухлини (рис. 4.3.4 А-Д).

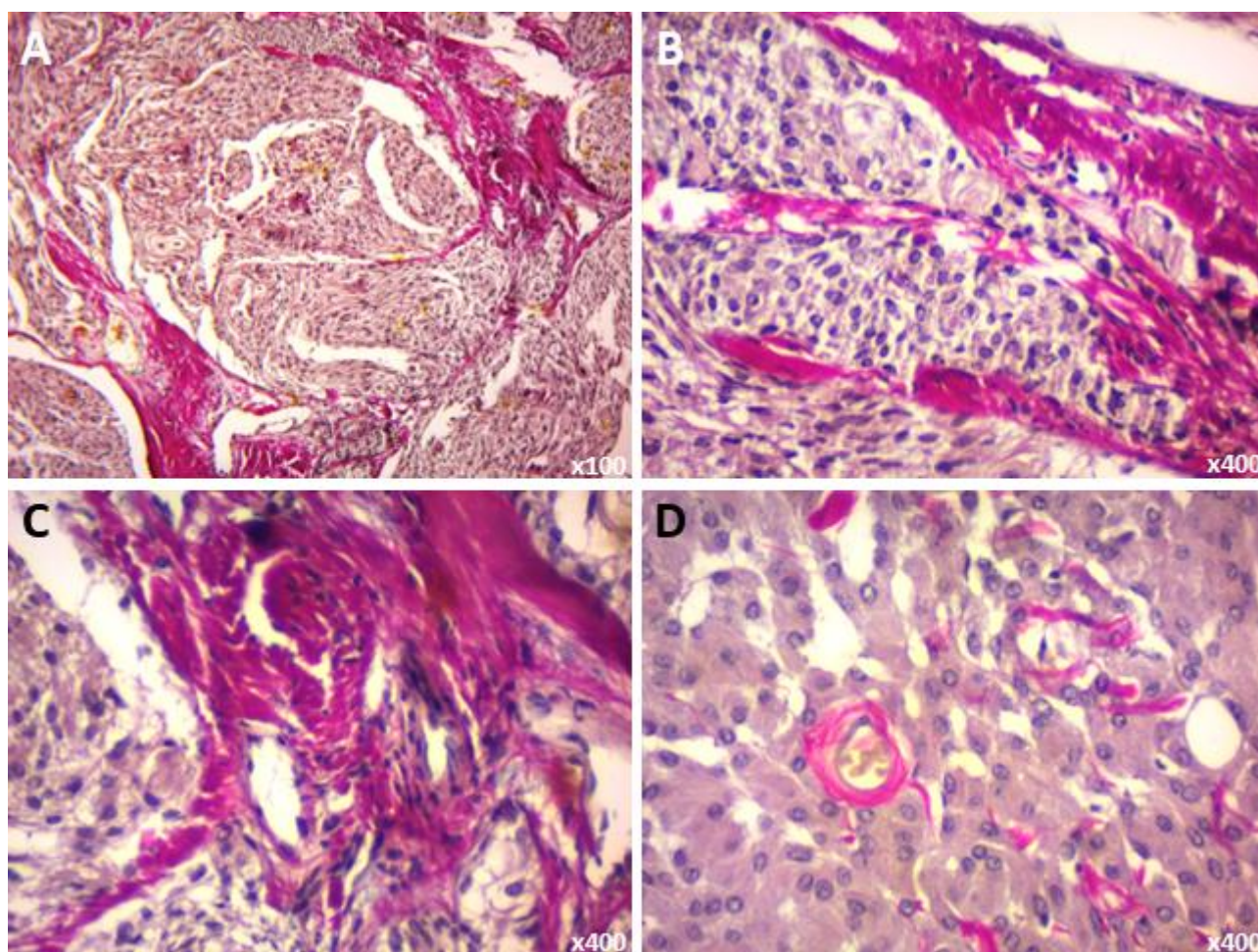


Рисунок 4.3.4. Гістохімічне дослідження тканини менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Забарвлення за методом Ван-Гісона. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

4.4. Імуногістохімічне дослідження тканини менингіом без ознак патологічної біомінералізації

Імуногістохімічне дослідження тканин групи МЕН-II з антитілами проти остеопонтину (OPN) показало позитивну реакцію з низькою інтенсивністю у пухлинних клітинах. Експресія OPN у зразках менингіом без патологічної біомінералізації складала 57.43 ± 5.20 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 4.4.1 A-D).

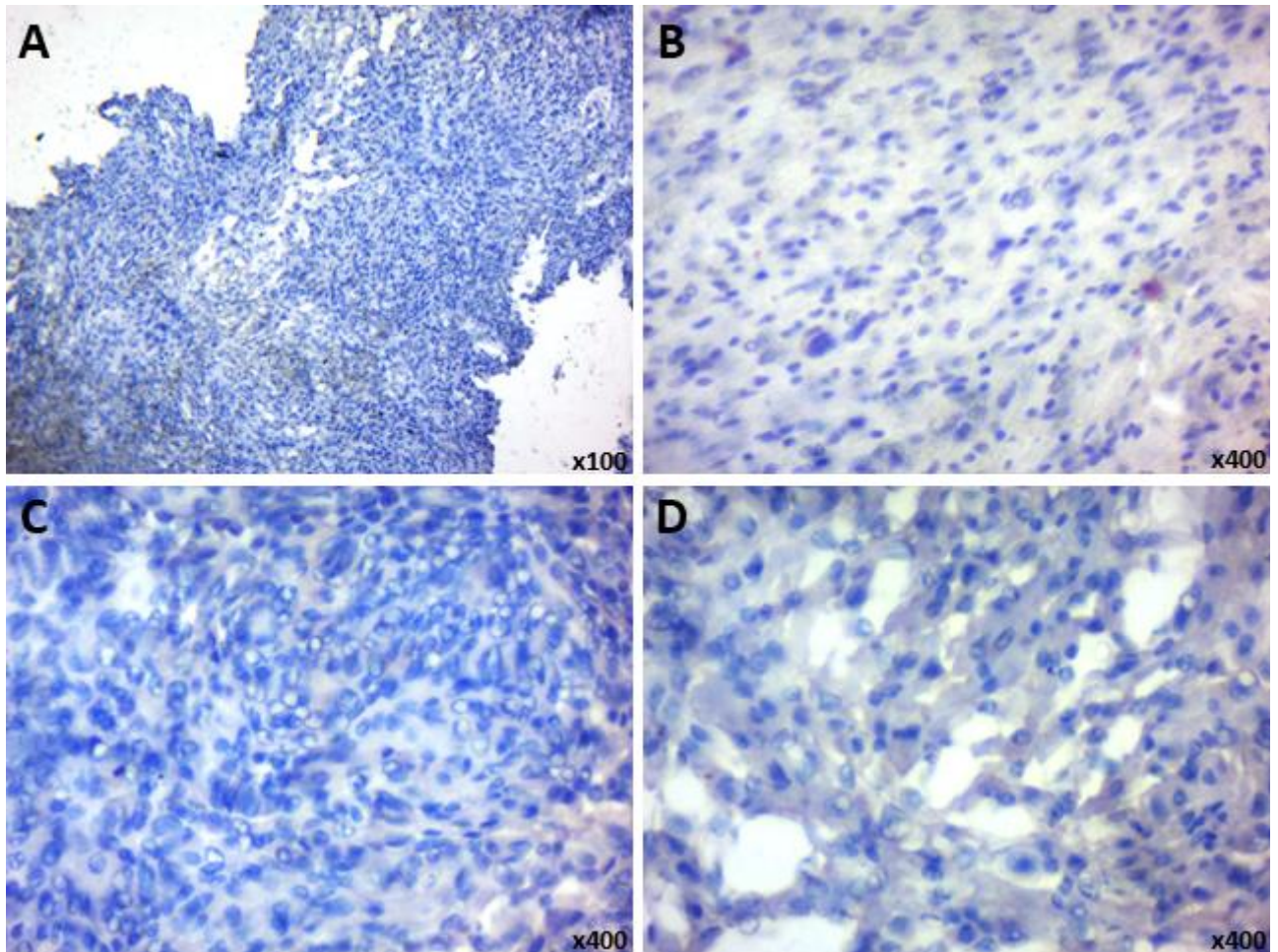


Рисунок 4.4.1. Імуногістохімічне дослідження експресії OPN у тканині менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-II з антитілами проти SPARC показало загальну помірну присутність цього білка. Виражена позитивна реакція спостерігалась в клітинах пухлинного мікрооточення. Також спостерігався підвищений рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія SPARC у зразках менингіом без патологічної біомінералізації складала 61.80 ± 2.95 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 4.4.2 А-D).

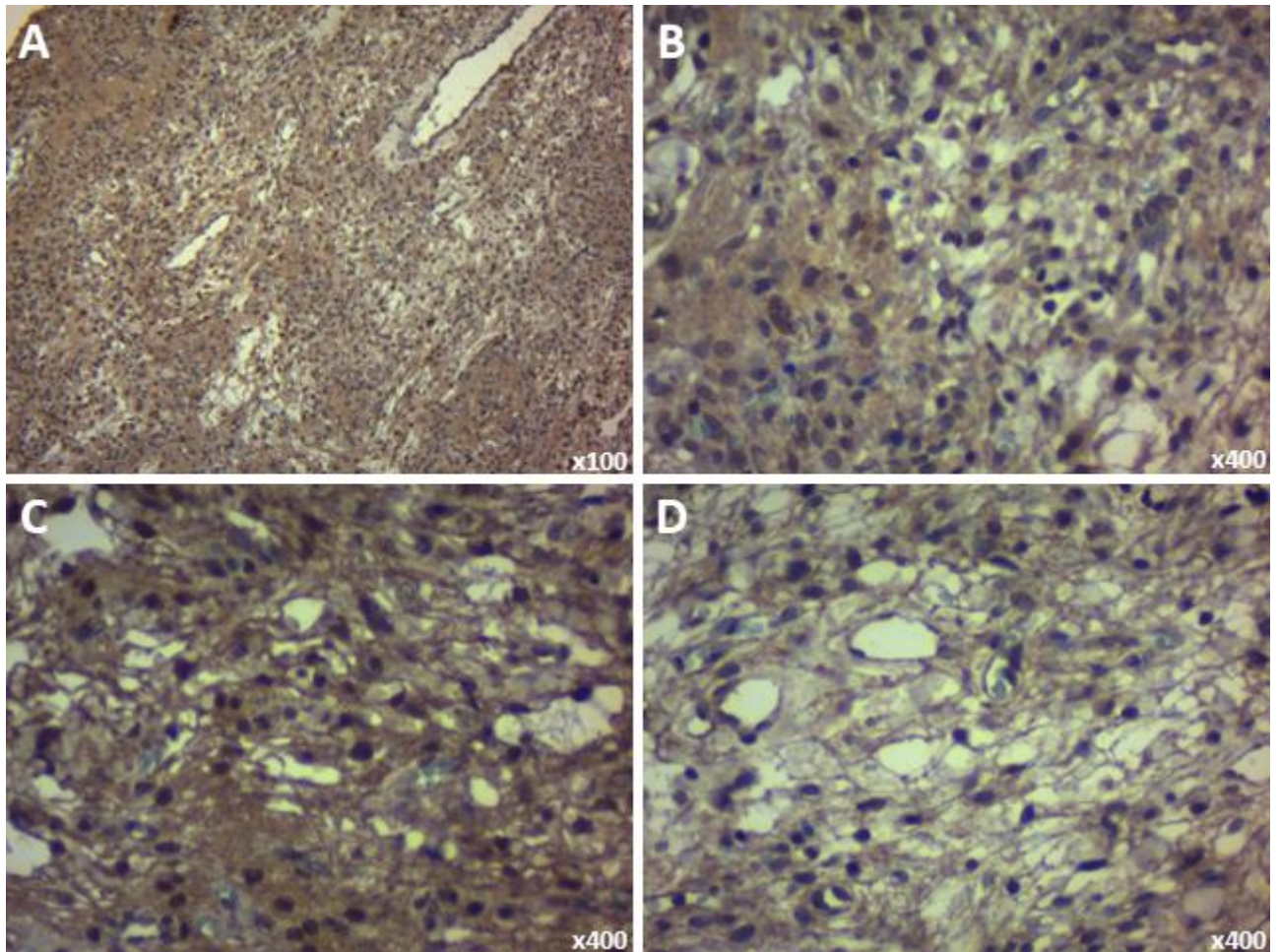


Рисунок 4.4.2. Імуногістохімічне дослідження експресії SPARC у тканині менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-II з антитілами проти RANKL показало загальну низьку присутність цього білка. В пухлинних клітинах спостерігалась позитивна реакція низької інтенсивності, а в поодиноких клітинах пухлинного мікрооточення була помірно виражена реакція. Експресія RANKL у даних зразках складала 44.37 ± 3.71 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 4.4.3 A-D).

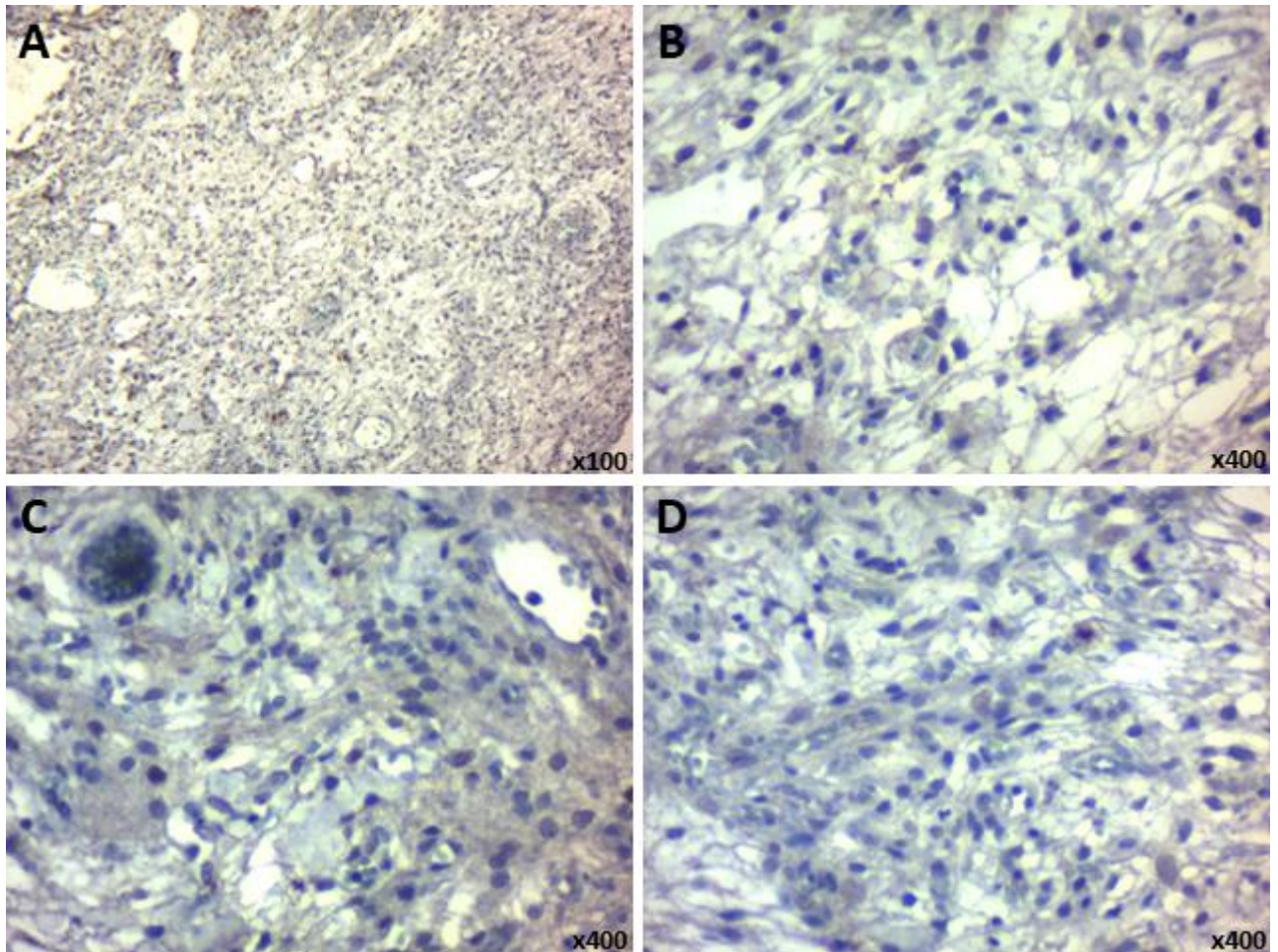


Рисунок 4.4.3. Імуногістохімічне дослідження експресії RANKL у тканині менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-II з антитілами проти OPG показало загальну помітну присутність цього білка. Візуалізувалась цитоплазматична експресія пухлинними клітинами низької та помірної інтенсивності. Присутній підвищений рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія OPG у даних зразках складала 62.49 ± 4.24 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 4.4.4 А-D).

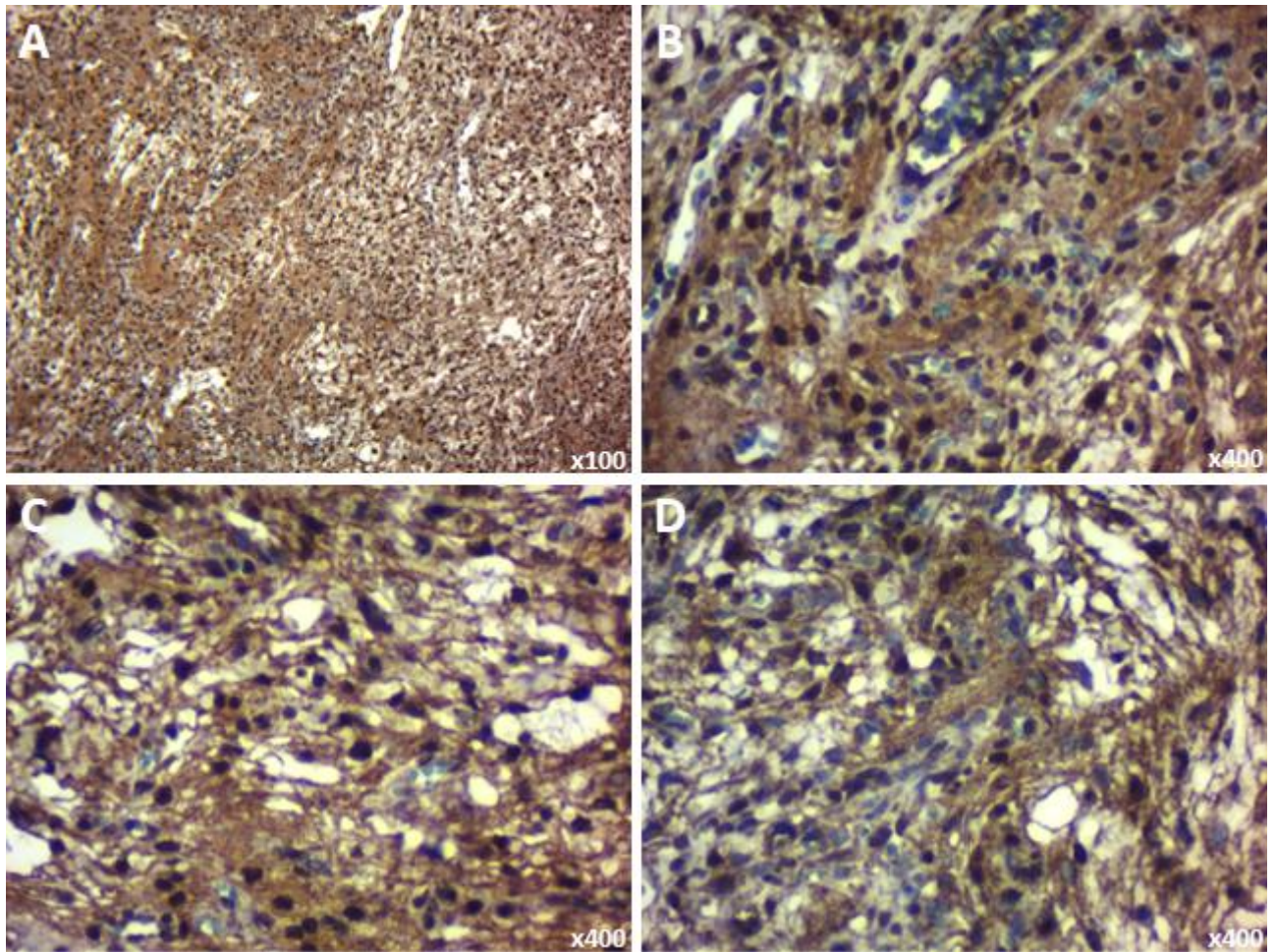


Рисунок 4.4.4. Імуногістохімічне дослідження експресії OPG у тканині менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи МЕН-II з антитілами проти Casp-3 показало загальну низьку присутність цього білка. Візуалізувалась помірно виражена позитивна експресія в клітинах пухлинного мікрооточення та негативна реакція в пухлинних клітинах. Експресія Casp-3 у даних зразках менингіом складала 40.68 ± 3.27 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 4.4.5 А-D).

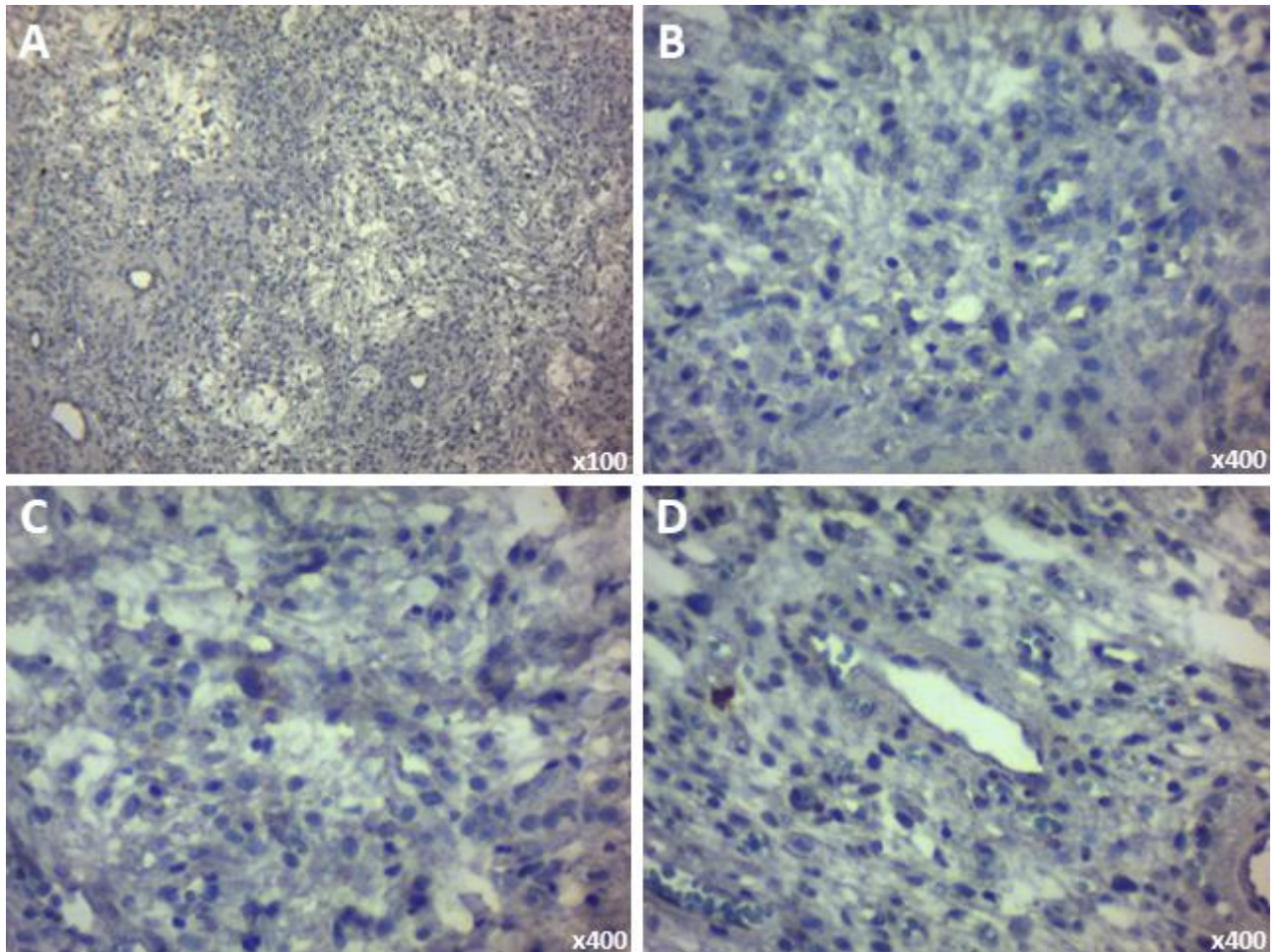


Рисунок 4.4.5. Імуногістохімічне дослідження експресії Casp-3 у тканині менингіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

4.5. Сканувальна електронна мікроскопія (СЕМ) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (ЕДС)

За допомогою сканувальної електронної мікроскопії були отримані тривимірні (за типом 3D) зображення. Це дозволило визначити архітектуру тканини менингіом, включаючи хід сполучнотканинних волокон, їх розриви та дефекти. СЕМ дослідження тканини групи МЕН-II підтвердило відсутність біомінеральних депозитів в тканині менингіом (рис. 4.5.1 А, В).

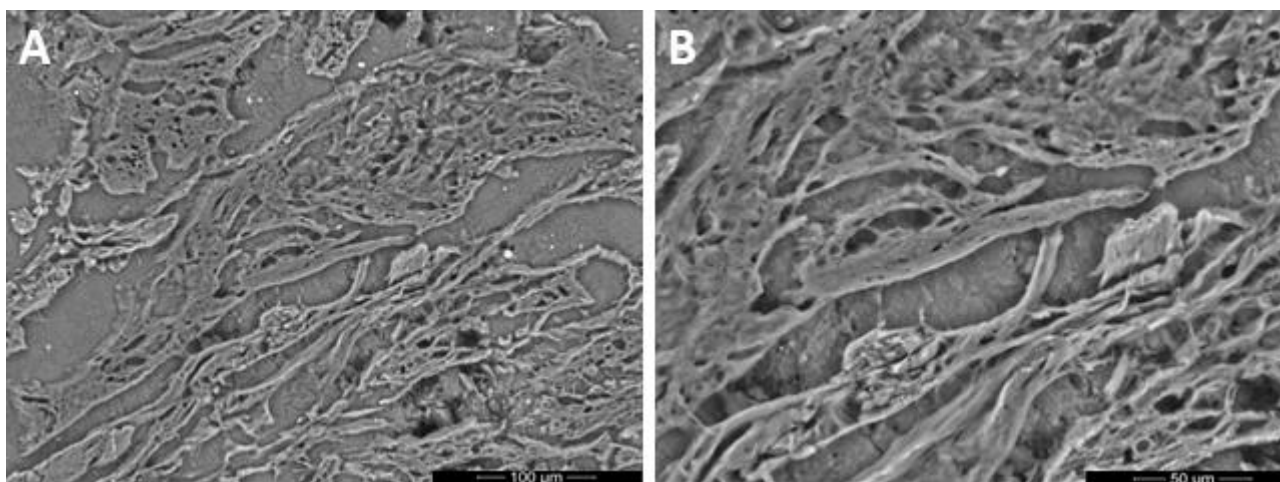


Рисунок 4.5.1. Сканувальна електронна мікроскопія тканини менінгіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

За даними ЕДС аналізу зразків менінгіом групи МЕН-II були виявлені виражені лінії оксигену (O) та карбону (C), що відповідає органічній природі досліджуваної тканини. Лінії кальцію (Ca) та фосфору (P) близькі до нульової позначки, що підтверджує відсутність біомінеральних депозитів, зокрема кальцію гідроксиапатиту, в тканині зразків менінгіом без ознак патологічної біомінералізації групи МЕН-II (рис. 4.5.2).

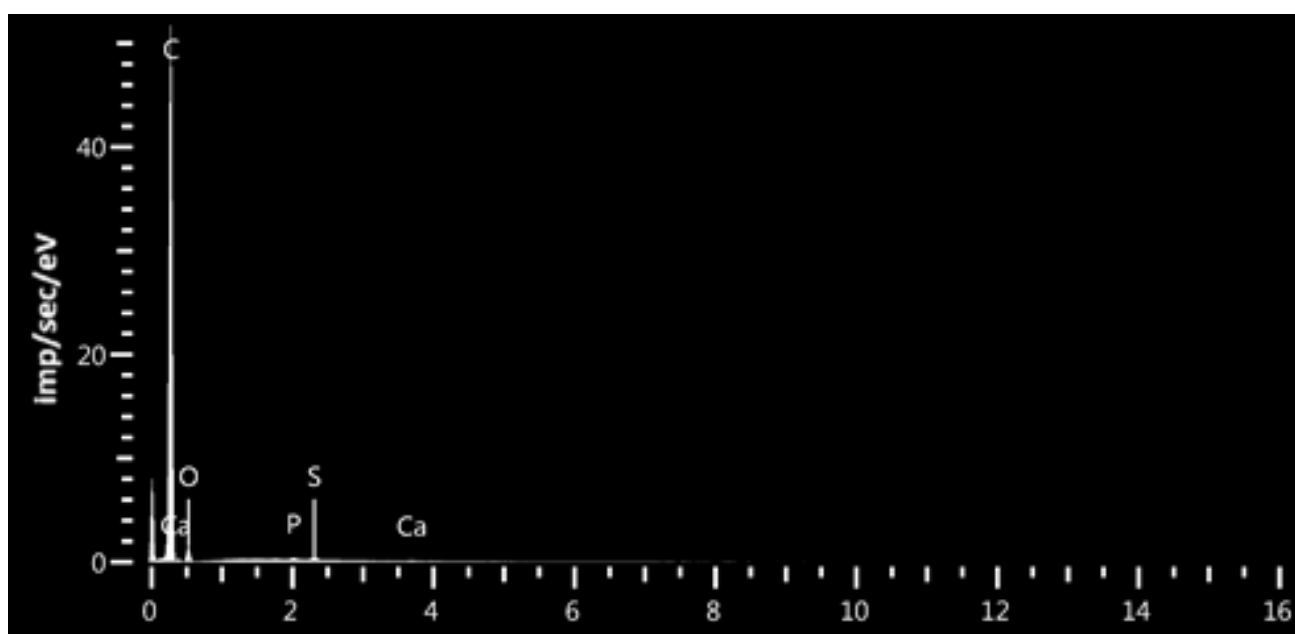


Рисунок 4.5.2. ЕДС спектр тканини менінгіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II).

За даними ЕДС картування зразків групи МЕН-II було встановлено рівномірний розподіл карбону та кисню по полю сканування (результат впливу електронного пучка на органічну тканину менінгіом на графітовому столику). Ці дані підтверджують відсутність біомінеральних, зокрема кальцію гідроксиapatиту, депозитів в тканині зразків даної групи менінгіом МЕН-II (рис. 4.5.3).

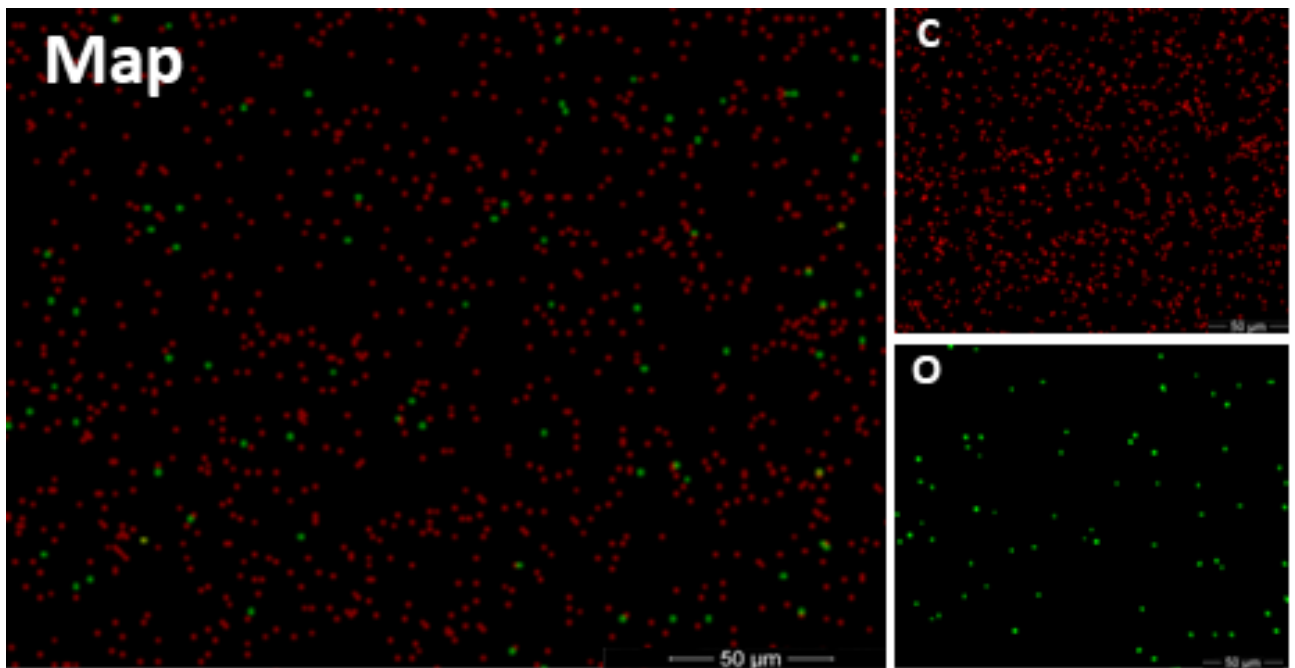


Рисунок 4.5.3. ЕДС- картування тканини менінгіом без ознак патологічної біомінералізації (група МЕН-II): іони карбону (С) позначено червоним, кисню (О) – зеленим. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Матеріали даного розділу висвітлені в публікаціях: [185, 188-194].

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ТКАНИНИ ТВЕРДОЇ МОЗКОВОЇ ОБОЛОНКИ З ОЗНАКАМИ ПАТОЛОГІЧНОЇ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ

Для дисертаційної роботи було відібрано 30 зразків твердої мозкової оболонки (ТМО) з ознаками патологічної біомінералізації, які сформували групу ТМО-I. Остаточне підтвердження приналежності відібраних зразків до даної групи відбувалось з використанням гістологічного та гістохімічних методів дослідження. Середній вік пацієнтів групи ТМО-I складав $67,00 \pm 2,33$ років. При вивченні розподілу хворих за статтю середній вік чоловіків становив $61,93 \pm 3,54$ рік, а жінок $72,07 \pm 2,49$ роки.

5.1. Макроскопічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації

Тканина твердої мозкової оболонки (*dura mater*), що видалялась з ділянки серпа мозку (*falx cerebri*), представляла собою щільну сполучну тканину (рис. 5.1.1). Макроскопічно не було можливості підтвердити чи заперечити наявність біомінералів в твердій мозковій оболонці.

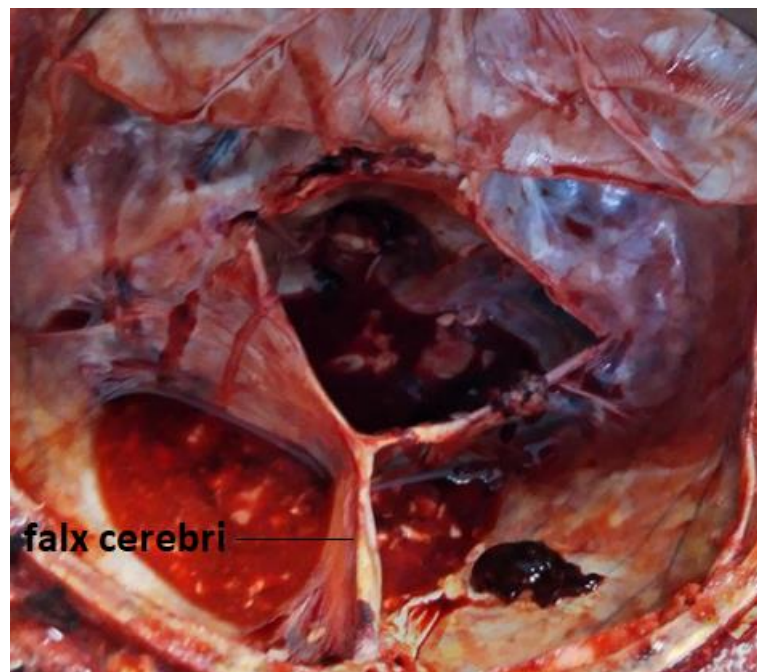


Рисунок 5.1.1. Макроскопічне дослідження тканини твердої мозкової оболонки (група ТМО-I).

5.2. Гістологічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації

Гістологічно тканина твердої мозкової оболонки представляла собою щільну сполучну тканину, внутрішня поверхня якої була покрита одношаровим плоским епітелієм. Крім того, тканина ТМО містила фібробласти та позаклітинний колаген. До групи ТМО-I були віднесені зразки з ознаками біомінералізації – дрібними утвореннями різного розміру неправильної форми, що забарвлювались в різні відтінки фіолетового кольору. Накопичення гематоксиліну було не рівномірним: більша насиченість по контуру, ділянки просвітлення в центрі (рис. 5.2.1 А-Д).

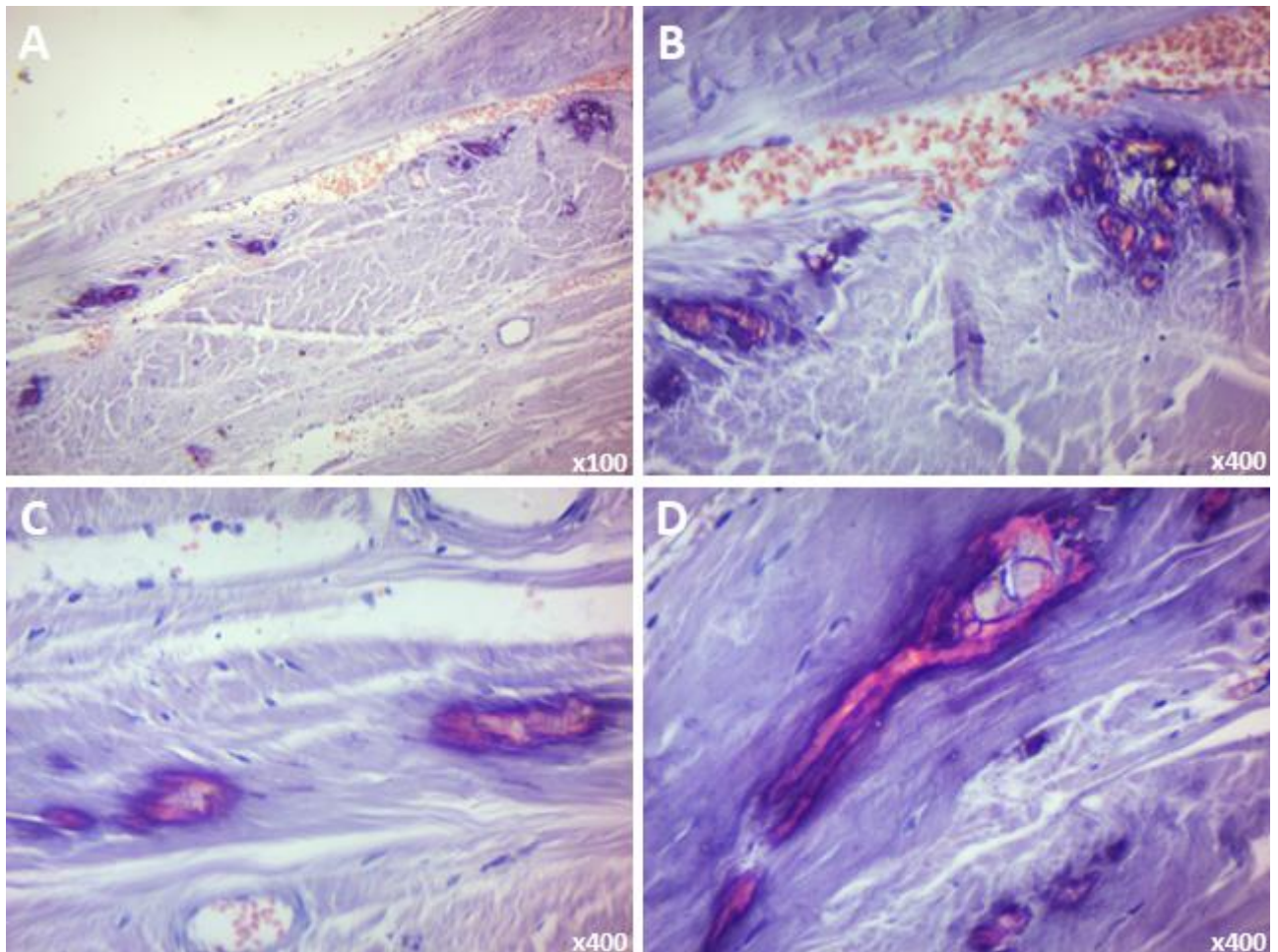


Рисунок 5.2.1. Гістологічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

5.3. Гістохімічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації

Забарвлення алізариновим червоним S зразків ТМО з біомінералізацією було проведене для детекції та візуалізації сполук кальцію, а також їх диференціації з депозитами неорганічного заліза.

Біомінеральні кальцієві депозити забарвлювались у відтінки червоного кольору, з градацією від цегляно-оранжевого до насичено вишневого. Накопичення барвника було не рівномірним: більша насиченість в оболонці, ділянки просвітлення в центрі (рис. 5.3.1 А-D).

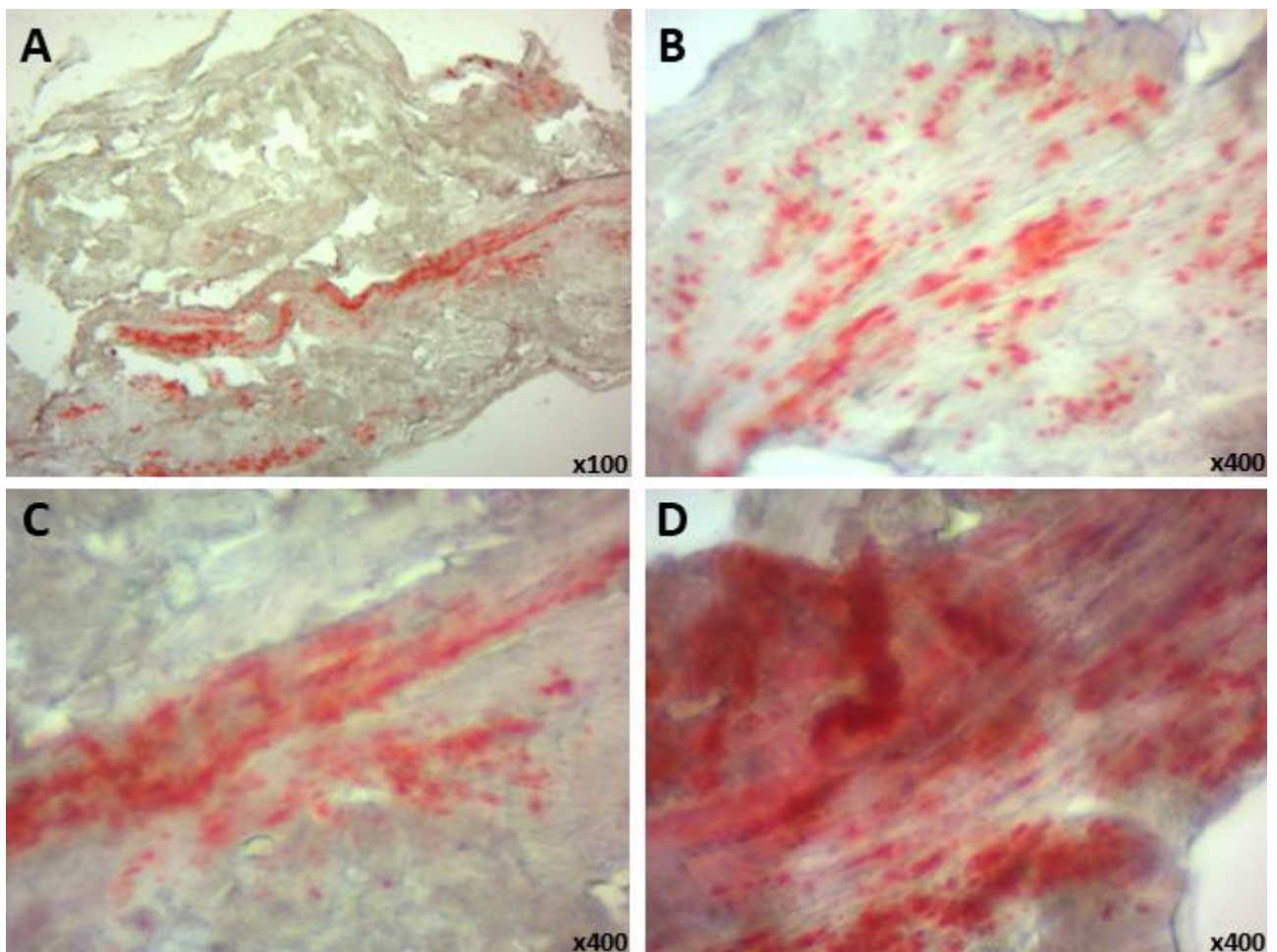


Рисунок 5.3.1. Гістохімічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Забарвлення алізариновим червоним S. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення зразків ТМО з біомінералізацією за фон Коссом було проведене для детекції та візуалізації сполук кальцію фосфату. В результаті забарвлення біомінеральні депозити набули коричневого кольору (варіації від світло-коричневого до темно-коричневого), що підтверджує наявність в їх складі сполук кальцію фосфату. Також можна відмітити в поодиноких депозитах нерівномірність насичення барвником (рис. 5.3.2 А-D).

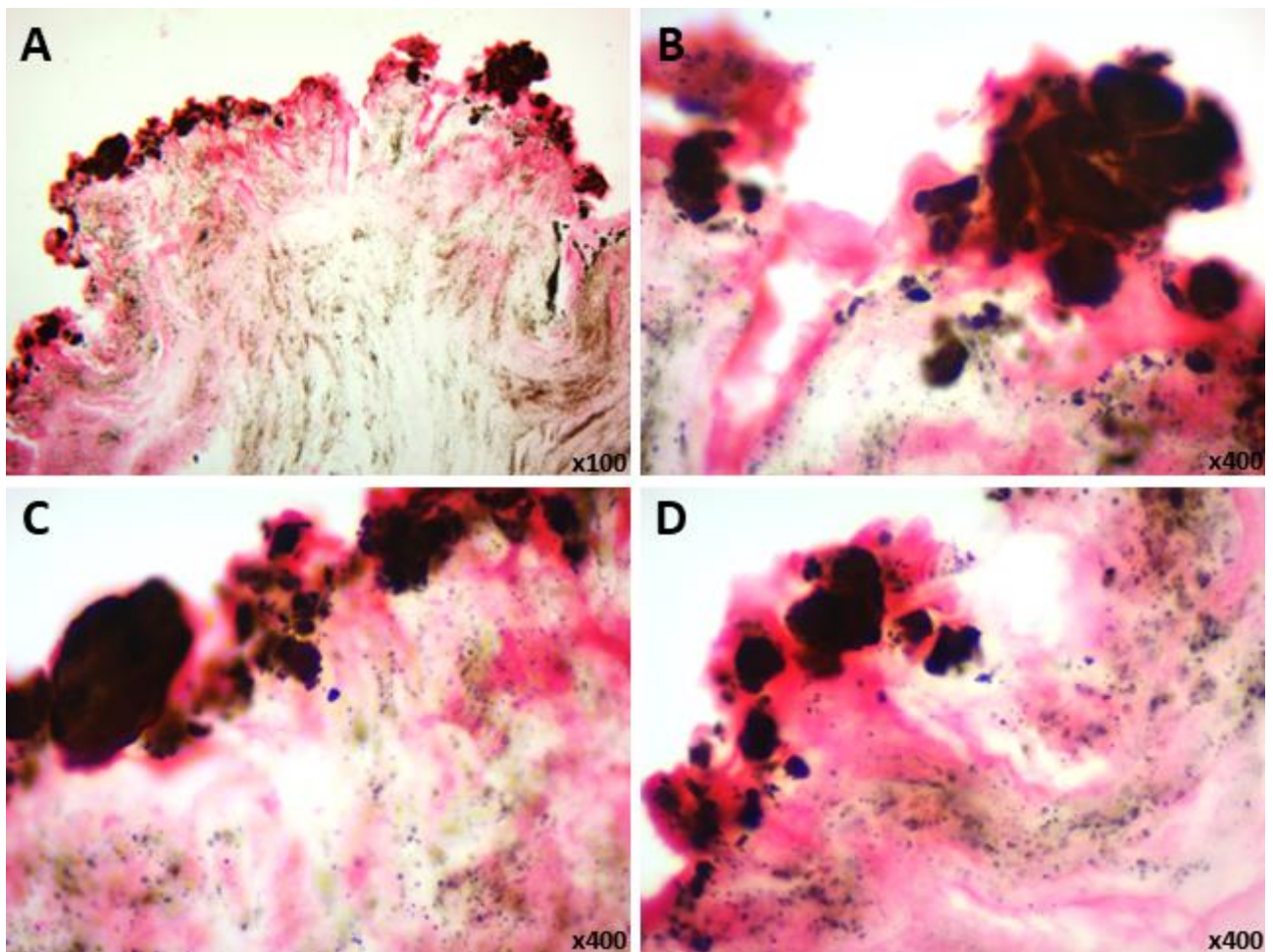


Рисунок 5.3.2. Гістохімічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Забарвлення за фон Коссом. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за допомогою методу PAS-реакції було застосоване для детекції та візуалізації глікопротеїнів, фосфоліпідів та глікозаміногліканів у зразках тканини ТМО з біомінералізацією. В результаті дослідження виявлено

відсутність даних сполук у складі біомінеральних депозитів. В деяких зразках візуалізувались поодинокі PAS-позитивні клітини навколо судин (рис. 5.3.3 А-D).

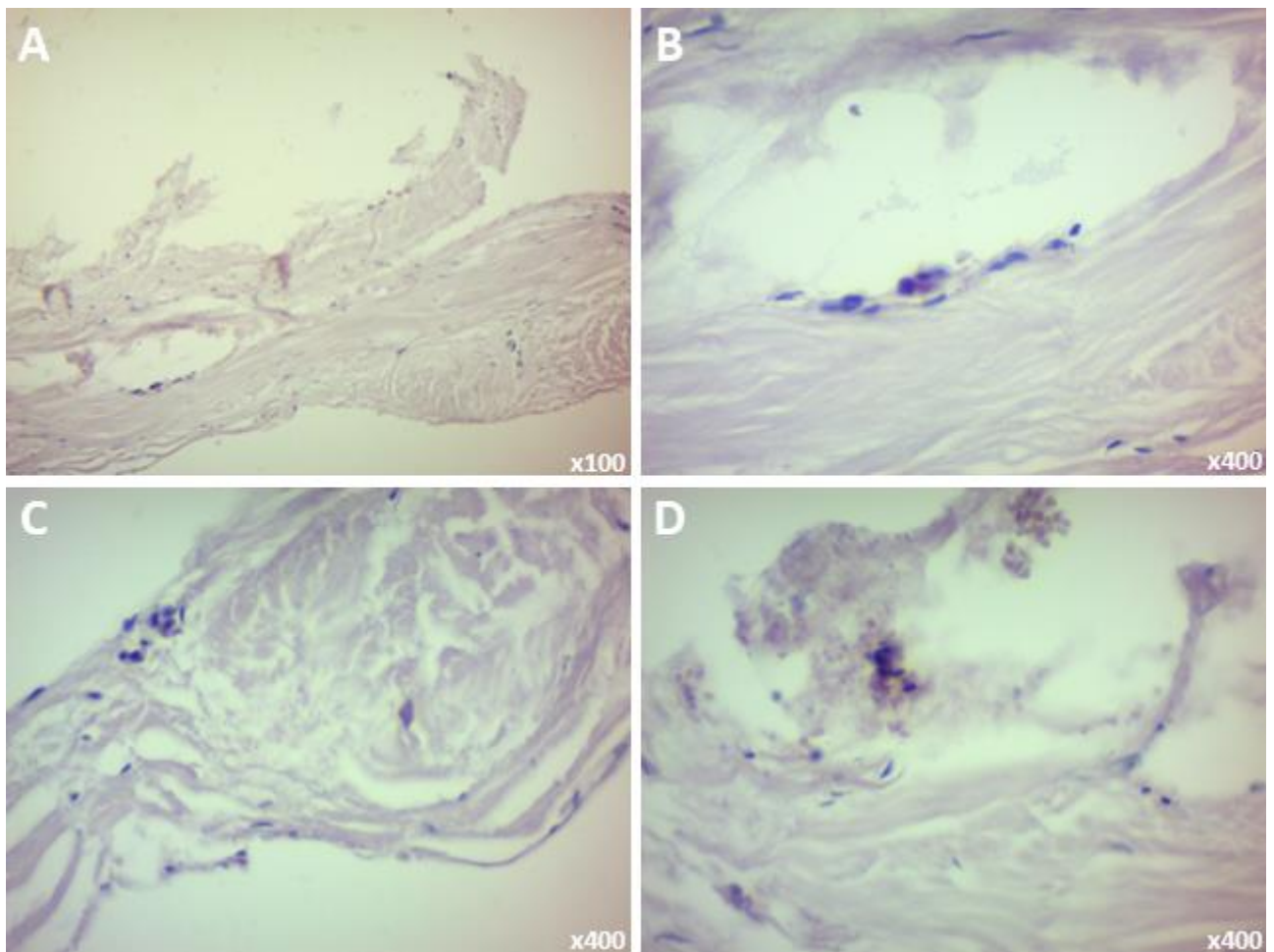


Рисунок 5.3.3. Гістохімічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Забарвлення PAS-реакцією. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за Ван Гізоном було застосоване для візуалізації сполучної тканини у зразках тканини ТМО з біомінералізацією. Застосування цього забарвлення підтвердило факт, що сполучна тканина складає основу структури твердої мозкової оболонки (рис. 5.3.4 А-D).

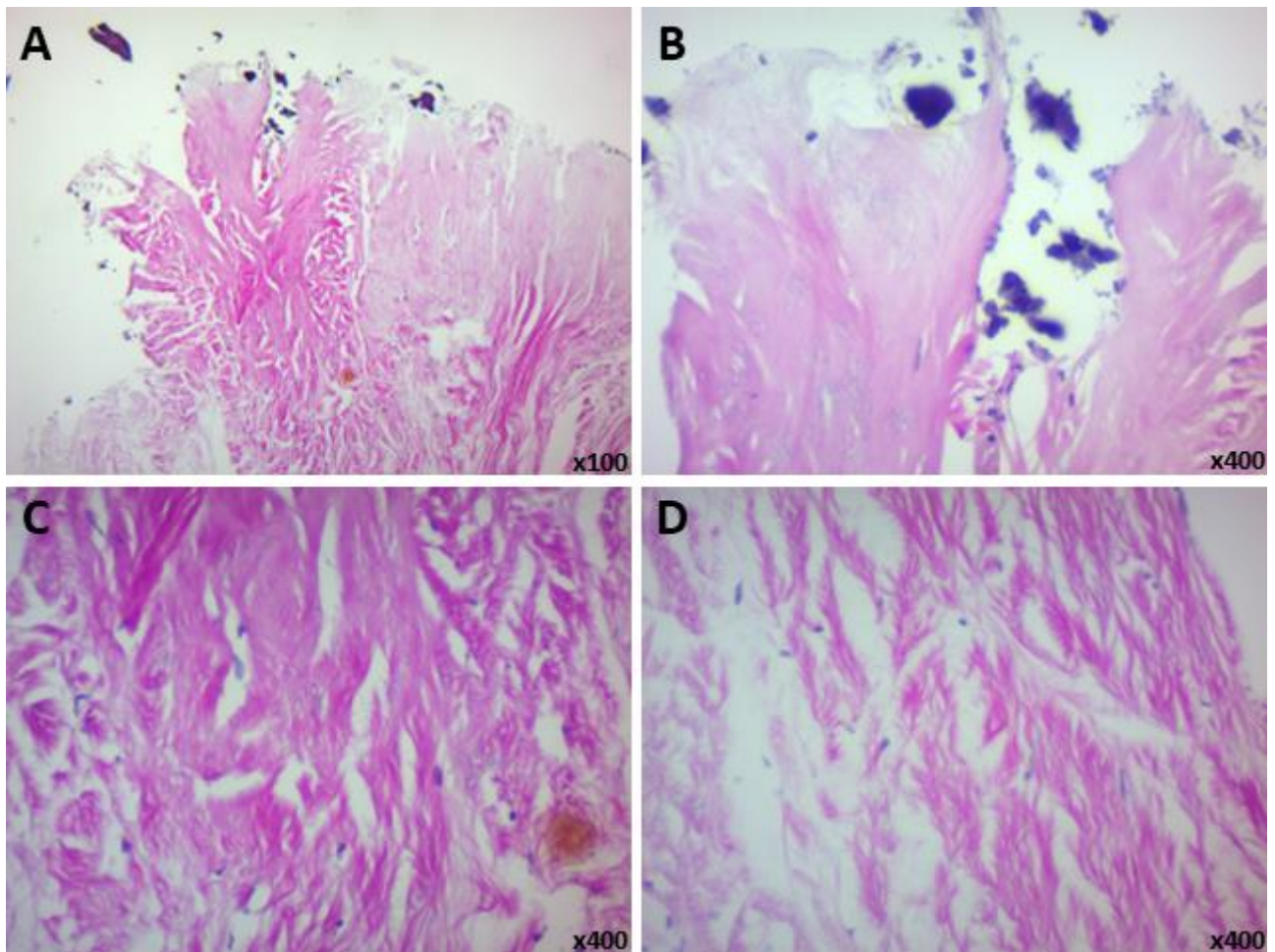


Рисунок 5.3.4. Гістохімічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-І). Забарвлення за методом Ван-Гісона. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

5.4. Імуногістохімічне дослідження тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації

Імуногістохімічне дослідження тканини групи ТМО-І з антитілами проти остеопонтину (OPN) показало помітну присутність цього білка. Найбільше його накопичення спостерігалось в кальцифікатах та навколишніх тканинах. Експресія OPN у зразках ТМО з наявністю патологічної біомінералізації складала 25.29 ± 2.39 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 5.4.1 А-Д).

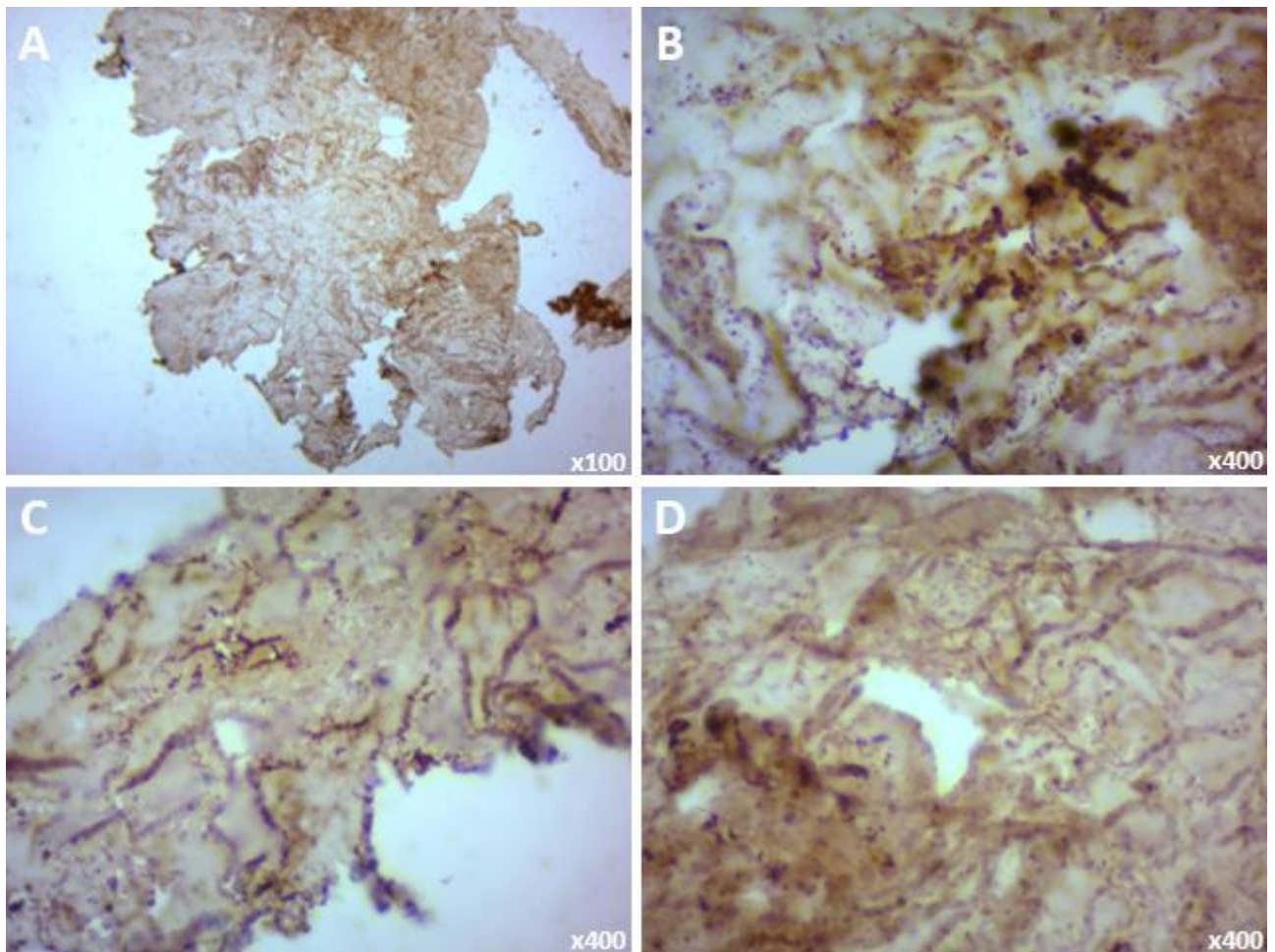


Рисунок 5.4.1. Імуногістохімічне дослідження експресії OPN у тканині ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини твердої мозкової оболонки з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I) з антитілами проти SPARC показало загальну помірну присутність цього білка. Присутній низький рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія SPARC у даних зразках твердої мозкової оболонки складала 39.13 ± 2.10 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 5.4.2 A-D).

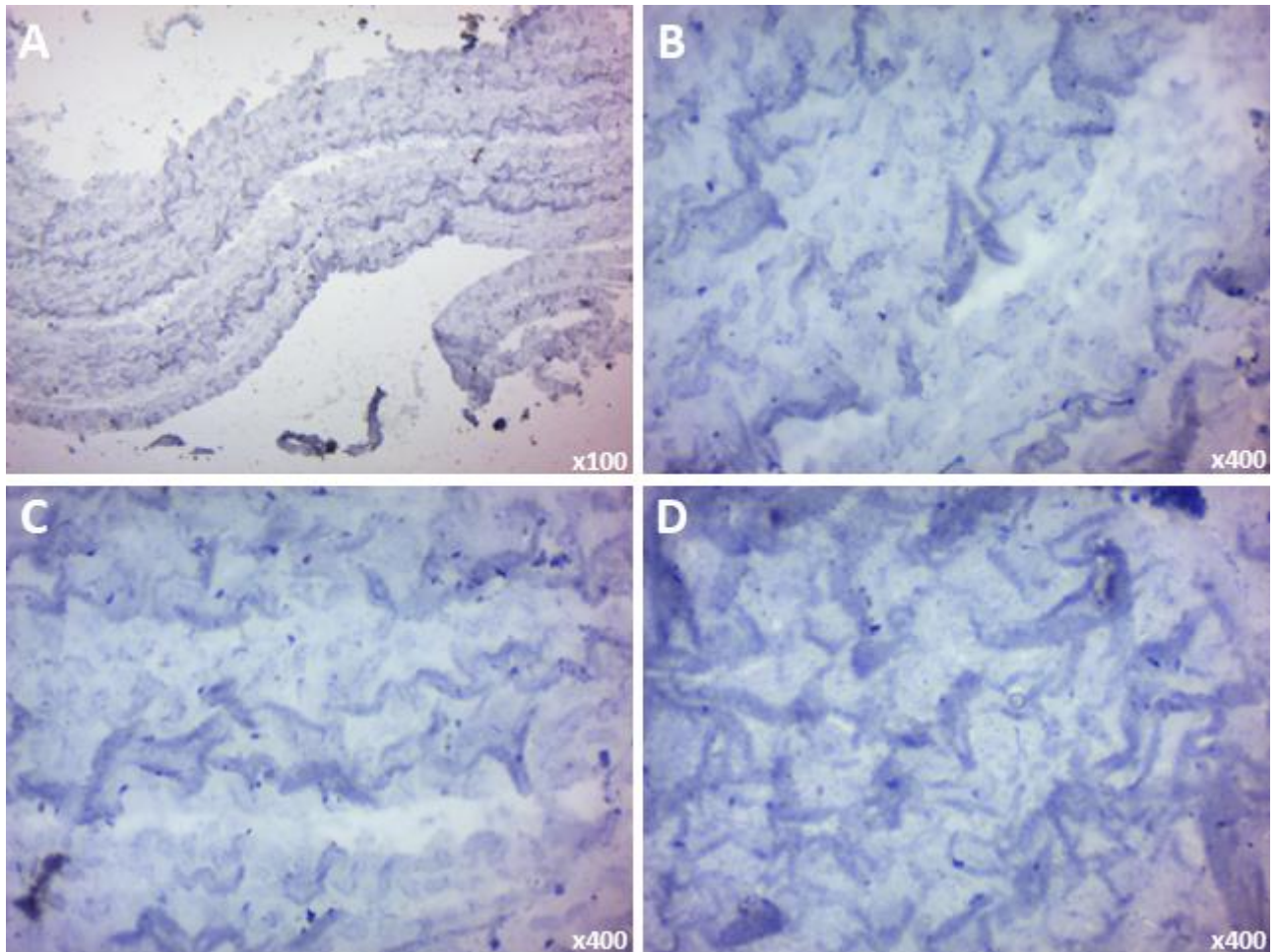


Рисунок 5.4.2. Імуногістохімічне дослідження експресії SPARC у тканині ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи ТМО-I з антитілами проти RANKL показало загальну помітну присутність цього білка. Спостерігалась помітно виражена експресія в клітинах на периферії поодиноких біомінеральних утворень. Присутній помірний рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія RANKL у даних зразках ТМО складала 41.64 ± 2.19 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 5.4.3 A-D).

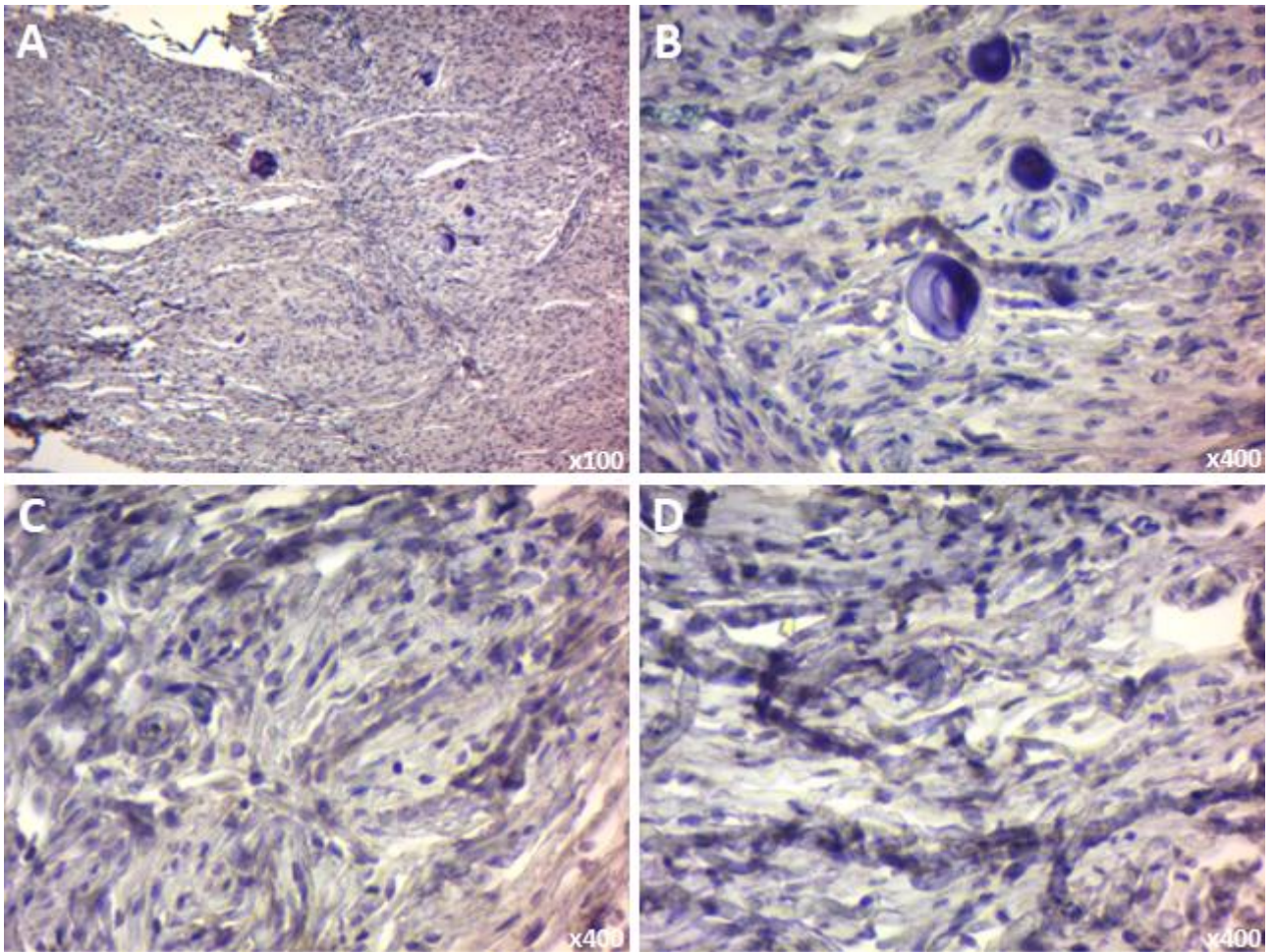


Рисунок 5.4.3. Імуногістохімічне дослідження експресії RANKL у тканині ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи ТМО-I з антитілами проти OPG показало загальну низьку присутність цього білка. Спостерігалась помітно виражена експресія в клітинах на периферії поодиноких біомінеральних утворень. Присутній помірний рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія OPG у даних зразках ТМО складала 25.71 ± 1.58 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 5.4.4 A-D).

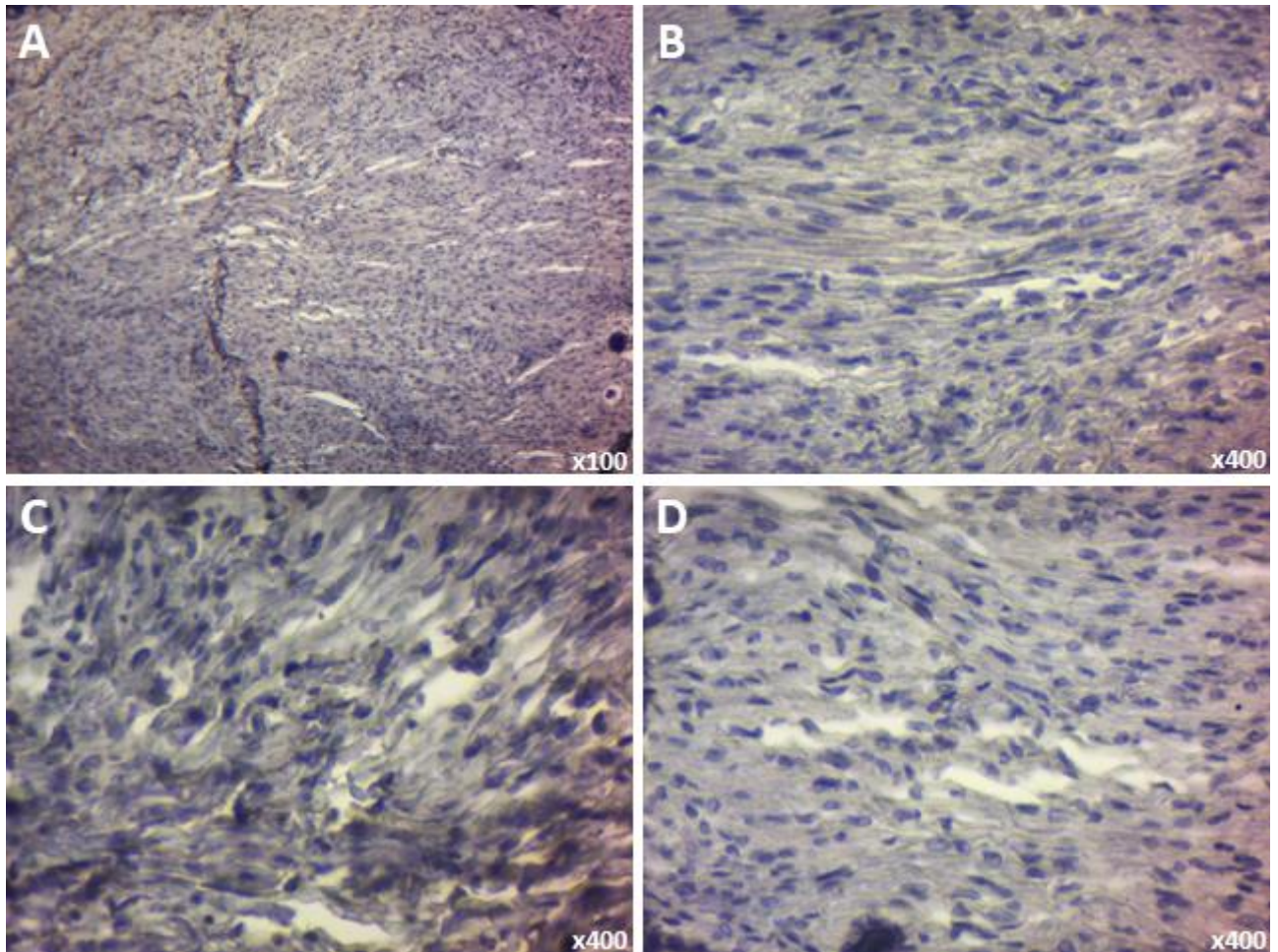


Рисунок 5.4.4. Імуногістохімічне дослідження експресії OPG у тканині ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини групи ТМО-I з антитілами проти Casp-3 показало загальну низьку присутність цього білка. Візуалізувалось накопичення білку навколо деяких біомінеральних утворень. Присутній низький рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія Casp-3 у даних зразках ТМО складала 26.70 ± 2.06 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 5.4.5 A-D).

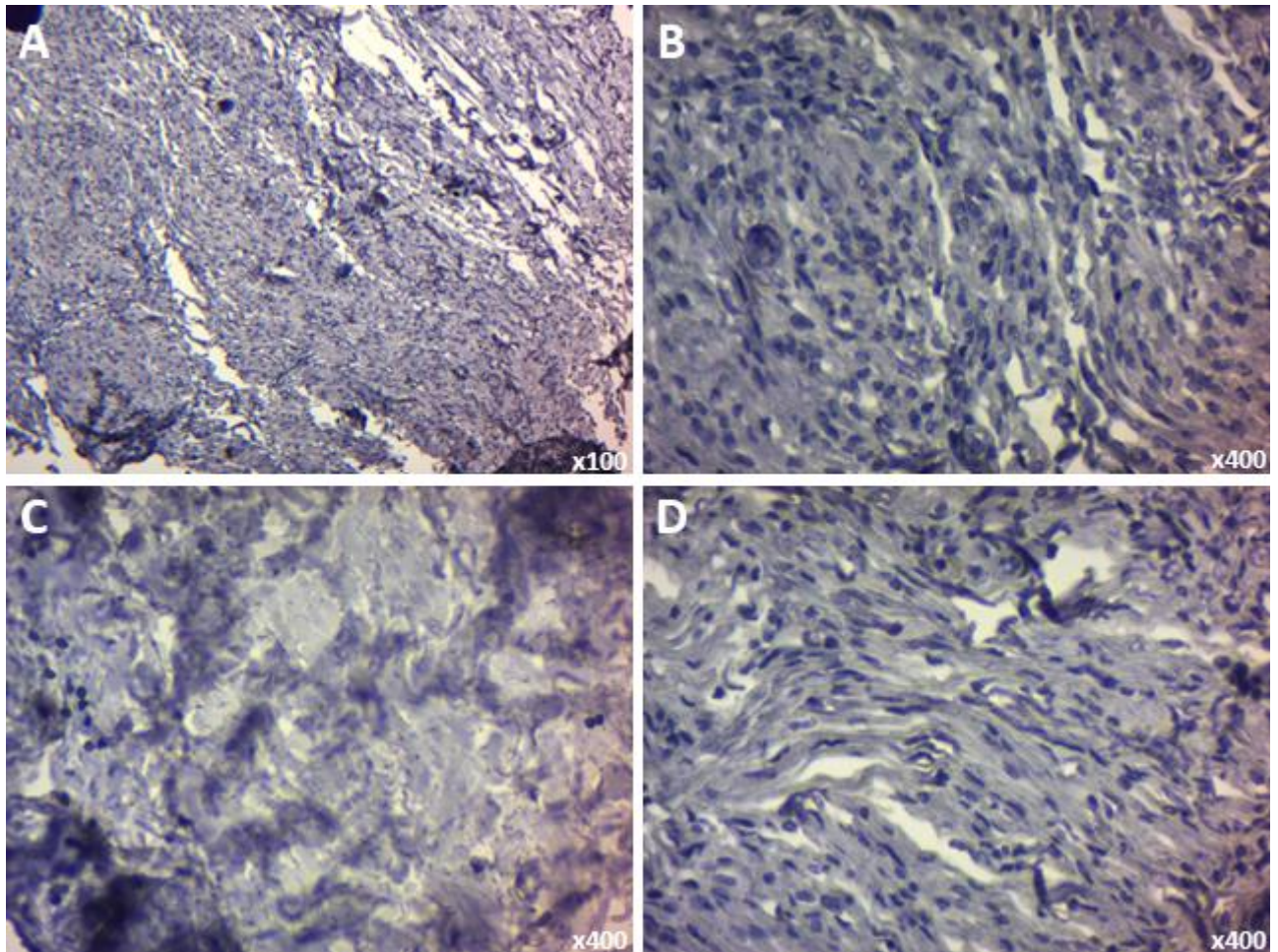


Рисунок 5.4.5. Імуногістохімічне дослідження експресії Casp-3 у тканині ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

5.5. Морфометричний аналіз біомінеральних включень ТМО

Аналіз морфометричних характеристик біомінералів на основі зображень гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методів досліджень продемонстрував коливання середніх розмірів біомінералів від 19.27 до 313.72 мкм. Загалом, біомінерали в ТМО відповідно до розміру можна розділити на 3 групи: великі – більше 150 мкм, середні – 70-150 мкм включно та дрібні – розміром до 70 мкм (рис. 5.5.1).

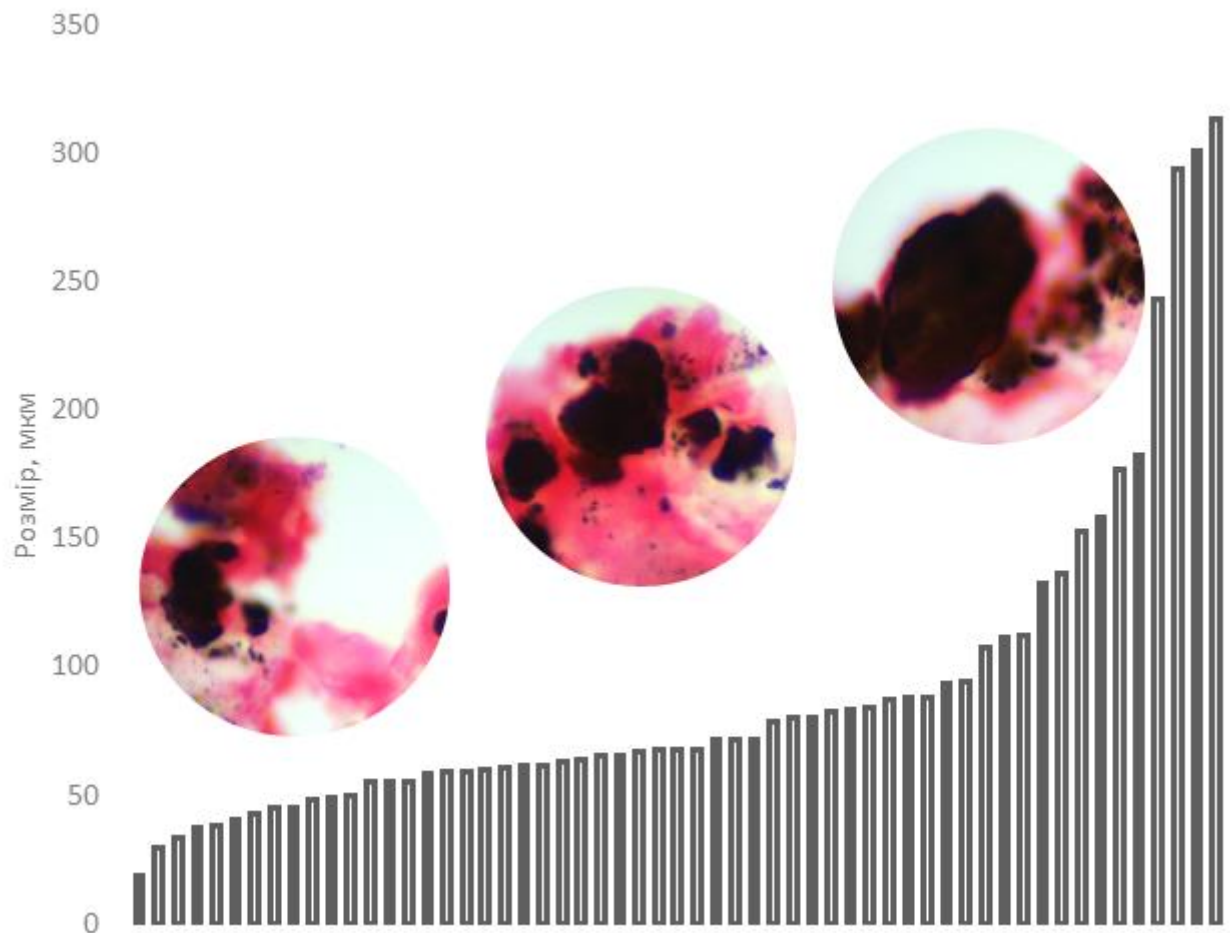


Рисунок 5.5.1. Градація розмірів біомінералів ТМО.

5.6. Сканувальна електронна мікроскопія (СЕМ) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (ЕДС)

На відміну від оптичних мікрофотографій, які є результатом гістологічного дослідження, за допомогою сканувальної електронної мікроскопії можна отримати тривимірні (за типом 3D) зображення. Це дозволяє більш чітко визначити архітектуру тканини ТМО, включаючи хід колагенових волокон, їх розриви та дефекти.

СЕМ дослідження тканини зразків групи ТМО-I виявило, що біомінерали в твердій мозковій оболонці представлені десятками-сотнями утворень у формі уламків, брил, сферичних та округлих структур, полікристалічних утворень, розміри яких коливаються від десятків нанометрів до 150 мікрометрів (рис. 5.6.1 А, В).

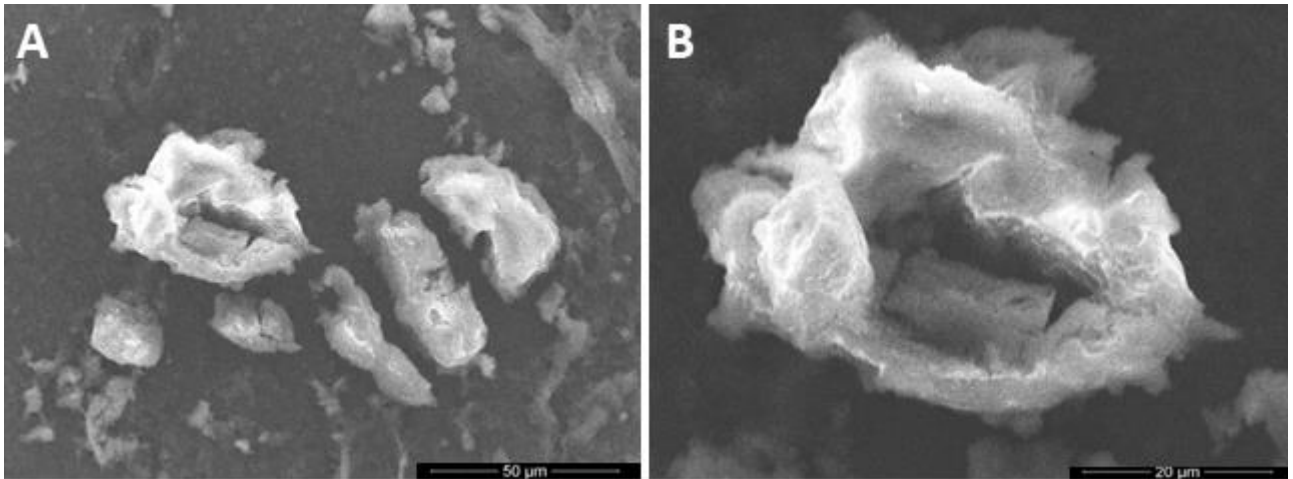


Рисунок 5.6.1. Сканувальна електронна мікроскопія тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

За результатами аналізу даних, отриманих за допомогою енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії зразків тканини твердої мозкової оболонки з ознаками патологічної біомінералізації групи ТМО-I були виявлені виражені лінії кальцію (Ca) та фосфору (P), а також помірно виражені лінії оксигену (O) та карбону (C), співвідношення яких, найбільш вірогідно, відповідає гідроксиапатиту кальцію $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (рис. 5.6.2).

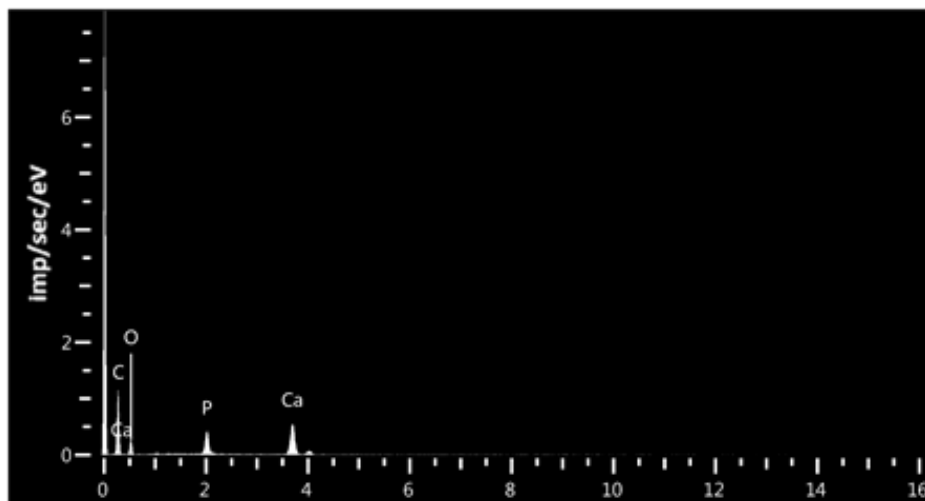


Рисунок 5.6.2. ЕДС спектр тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I).

За даними ЕДС картування зразків групи ТМО-I було встановлено накопичення кальцію, фосфору та кисню в місцях локалізації біомінеральних депозитів, а також відсутність накопичення карбону в цих ділянках, не зважаючи на рівномірний його розподіл в цілому по полю сканування. Ці дані підтверджують, що мінералом депозитів є кальцій-фосфат апатитного складу (рис.5.6.3).

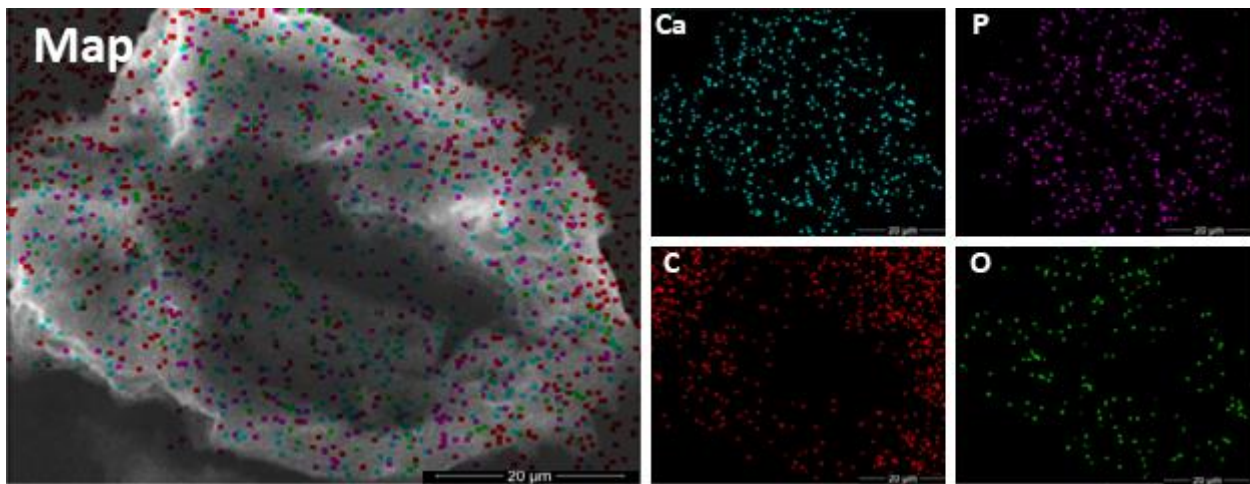


Рисунок 5.6.3. ЕДС- картування тканини ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-I): іони кальцію (Ca) позначено блакитним, фосфору (P) – пурпурним, карбону (C) – червоним, кисню (O) – зеленим. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

5.7. Просвітлювальна електронна мікроскопія (ПЕМ) та електронна дифракція (ЕД)

Дослідження мікроструктури біомінералів групи ТМО-I показують, що зразки представляють собою частинки-агломерати розмірами 1,5-2 мкм. Агломерати складаються з наночастинок різного типу: витягнуті кристали прямокутної форми з шириною 20-30 нм та довжиною від 80 до 300 нм; аморфні частинки розмірами 5-20 нм та частинки розмірами 30-70 нм, в яких спостерігається кристалізація на різних стадіях (рис. 5.7.1 А-Е).

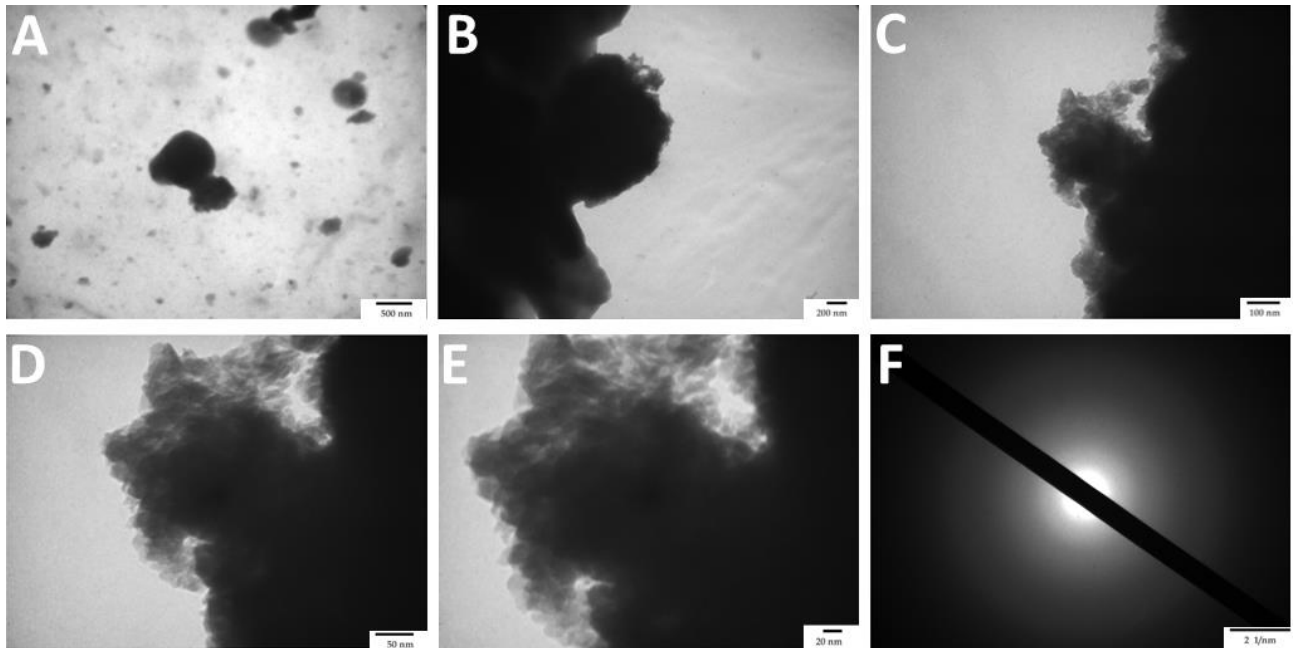


Рисунок 5.7.1. ПЕМ (А-Е) та ЕД (F) ТМО з ознаками патологічної біомінералізації (група ТМО-І). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

В агломераціях спостерігається міцний взаємозв'язок між складовими. Нагрівання частинок електронним променем не приводе до процесів кристалізації. Оскільки відносний вміст аморфних частинок превалує, то електронна дифракція представляє собою гало інтенсивності, без чітких кілець та точкових рефлексів (рис. 5.7.1. F). Вміст кристалічних частинок менше 5%, або їх розміри менше 5 нм (ближній порядок розташування атомів).

Матеріали даного розділу висвітлені в публікаціях: [186, 195-198].

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ТКАНИНИ ТВЕРДОЇ МОЗКОВОЇ ОБОЛОНКИ БЕЗ ОЗНАК ПАТОЛОГІЧНОЇ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ

Для дисертаційної роботи було відібрано 30 зразків твердої мозкової оболонки (ТМО) без ознак патологічної біомінералізації, які сформували групу ТМО-II. Остаточне підтвердження приналежності відібраних зразків до даної групи відбувалось з використанням гістологічного та гістохімічних методів дослідження. Середній вік пацієнтів групи ТМО-II складав $62,97 \pm 3,12$ роки. При вивченні розподілу хворих за статтю середній вік чоловіків становив $57,81 \pm 4,45$ років, а жінок $68,85 \pm 3,93$ років.

6.1. Макроскопічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації

Тканина твердої мозкової оболонки (*dura mater*), що видалялась з ділянки серпа мозку (*falx cerebri*), представляла собою щільну сполучну тканину (рис. 6.1.1). Макроскопічно не було можливості підтвердити чи заперечити наявність біомінералів в твердій мозковій оболонці.



Рисунок 6.1.1. Макроскопічне дослідження тканини ТМО (група ТМО-II).

6.2. Гістологічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації

Гістологічно тканина твердої мозкової оболонки представляла собою щільну сполучну тканину, внутрішня поверхня якої була покрита одношаровим плоским епітелієм мезенхімного походження. До групи ТМО-II були віднесені зразки твердої мозкової оболонки без ознак будь-яких патологічної біомінералізації (не було виявлено жодних утворень різного розміру правильної чи неправильної форми, які б нерівномірно забарвлювались гематоксиліном) (рис. 6.2.1 A-D).

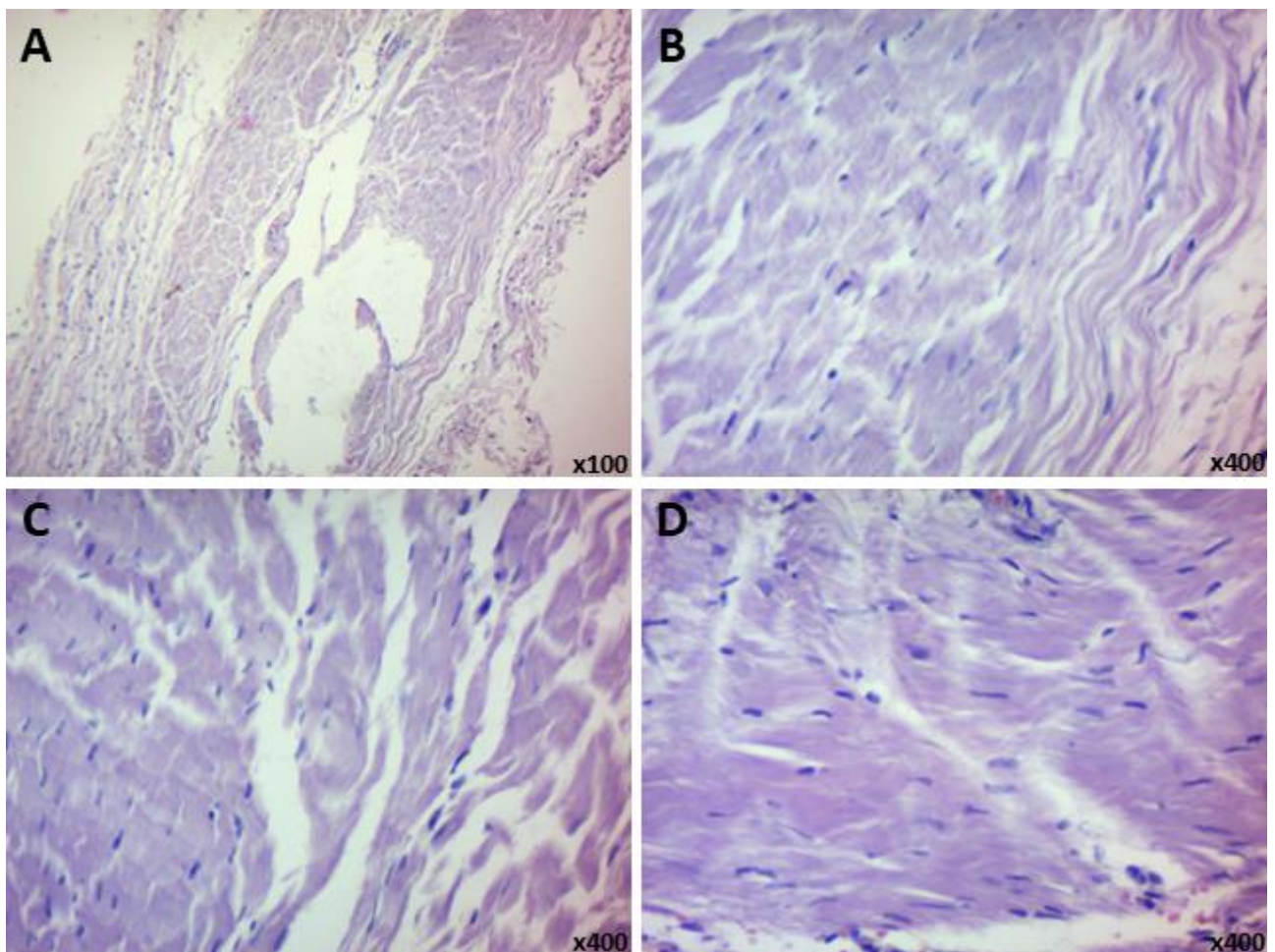


Рисунок 6.2.1. Гістологічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

6.3. Гістохімічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації

Забарвлення зразків групи ТМО-II алізариновим червоним S підтвердило дані гістологічного дослідження про відсутність будь-яких мінеральних депозитів в тканині твердої мозкової оболонки даної групи (рис. 6.3.1 A-D).

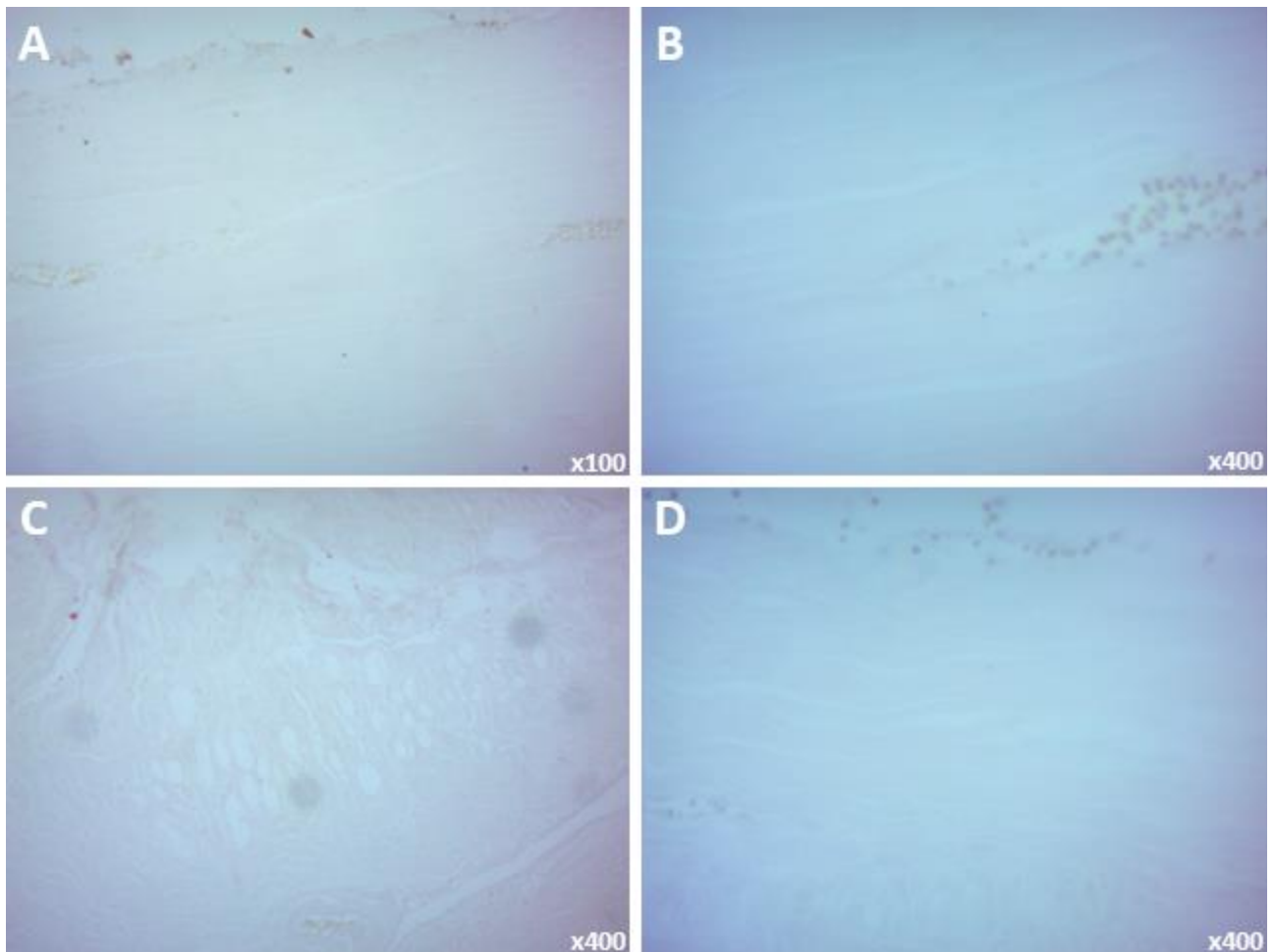


Рисунок 6.3.1. Гістохімічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Забарвлення алізариновим червоним S. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення зразків ТМО групи ТМО-II за фон Коссом підтвердило відсутність сполук кальцію фосфату в складі досліджуваних зразків тканин твердої мозкової оболонки, тобто в даній групі спостерігалась негативна реакція (рис. 6.3.2 A-D).

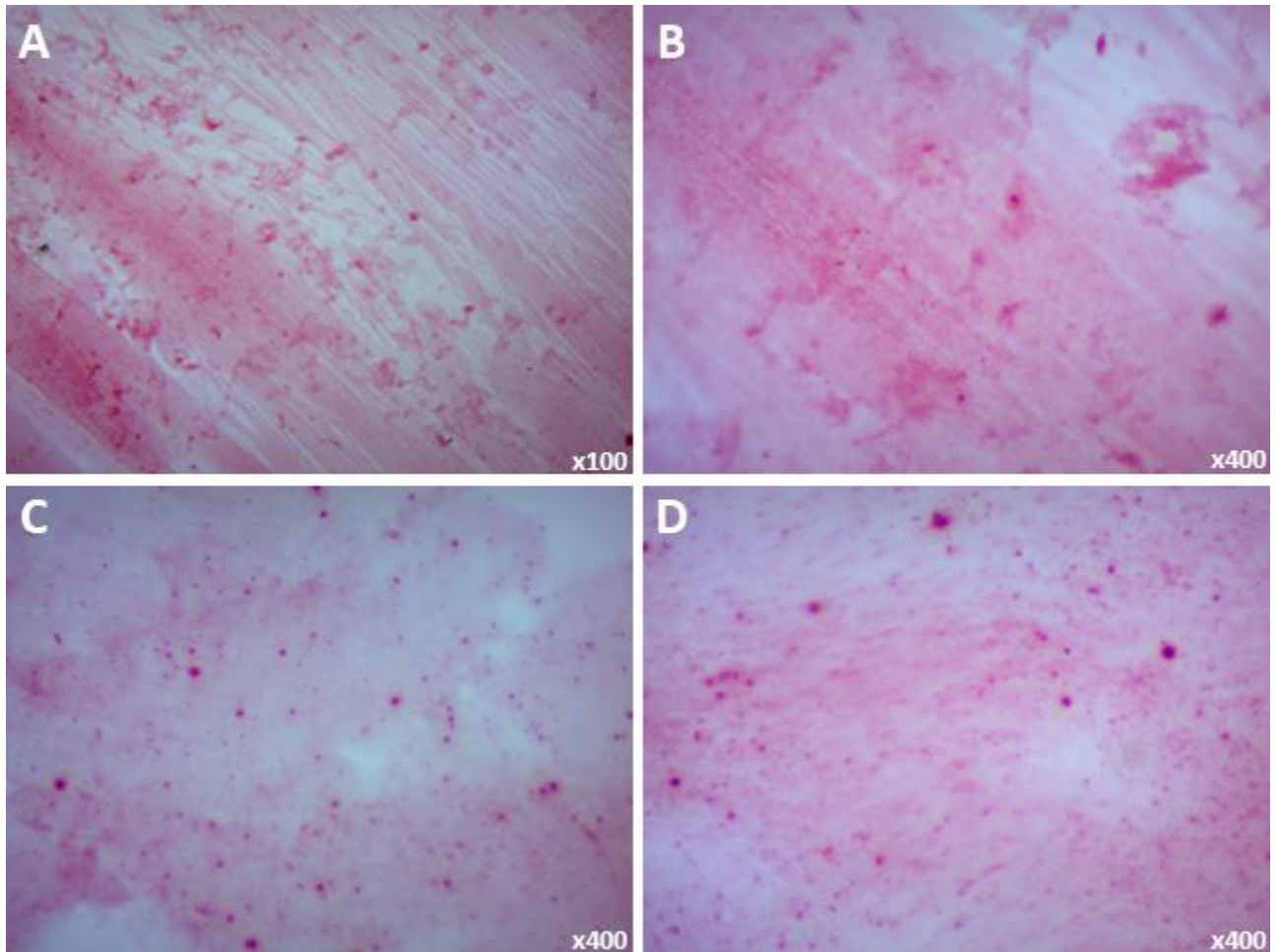


Рисунок 6.3.2. Гістохімічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Забарвлення за фон Коссом. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за допомогою методу PAS-реакції було застосоване для детекції та візуалізації глікопротеїнів, фосфоліпідів та глікозаміногліканів у зразках тканини ТМО без ознак біомінералізації. В результаті дослідження виявлено відсутність даних сполук у зразках тканини твердої мозкової оболонки групи ТМО-II. В деяких зразках візуалізувались поодинокі PAS-позитивні клітини навколо судин (рис. 6.3.3 А-Д).

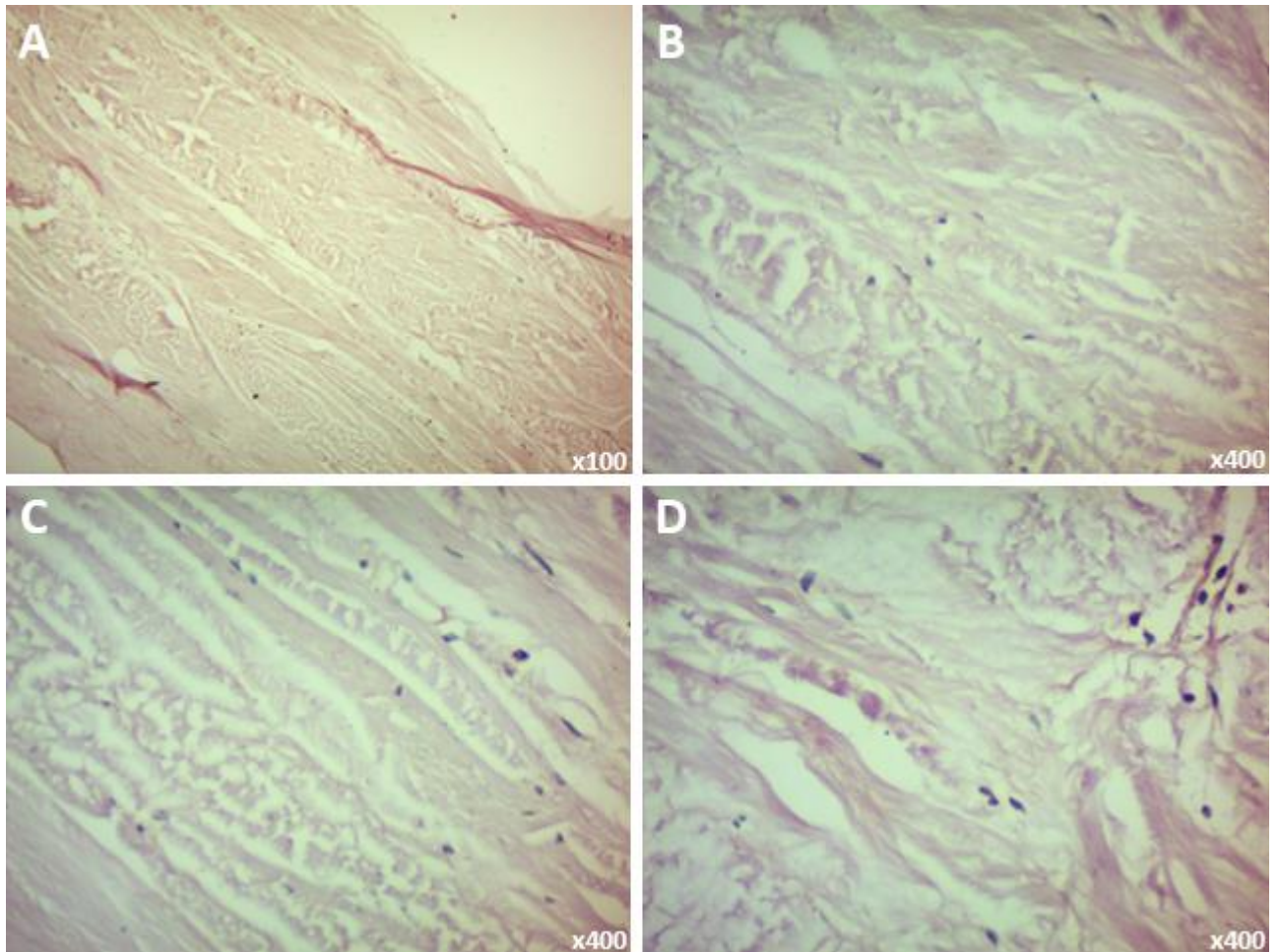


Рисунок 6.3.3. Гістохімічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Забарвлення PAS-реакцією. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Забарвлення за методом Ван Гісона було застосоване для візуалізації сполучної тканини та колагенових волокон у зразках тканин твердої мозкової оболонки без ознак патологічної біомінералізації. Воно показало наявність помітної кількості сполучної тканини та колагенових волокон (пурпурно-червоного кольору) в зразках тканини твердої мозкової оболонки групи ТМО-II (рис. 6.3.4 А-D).

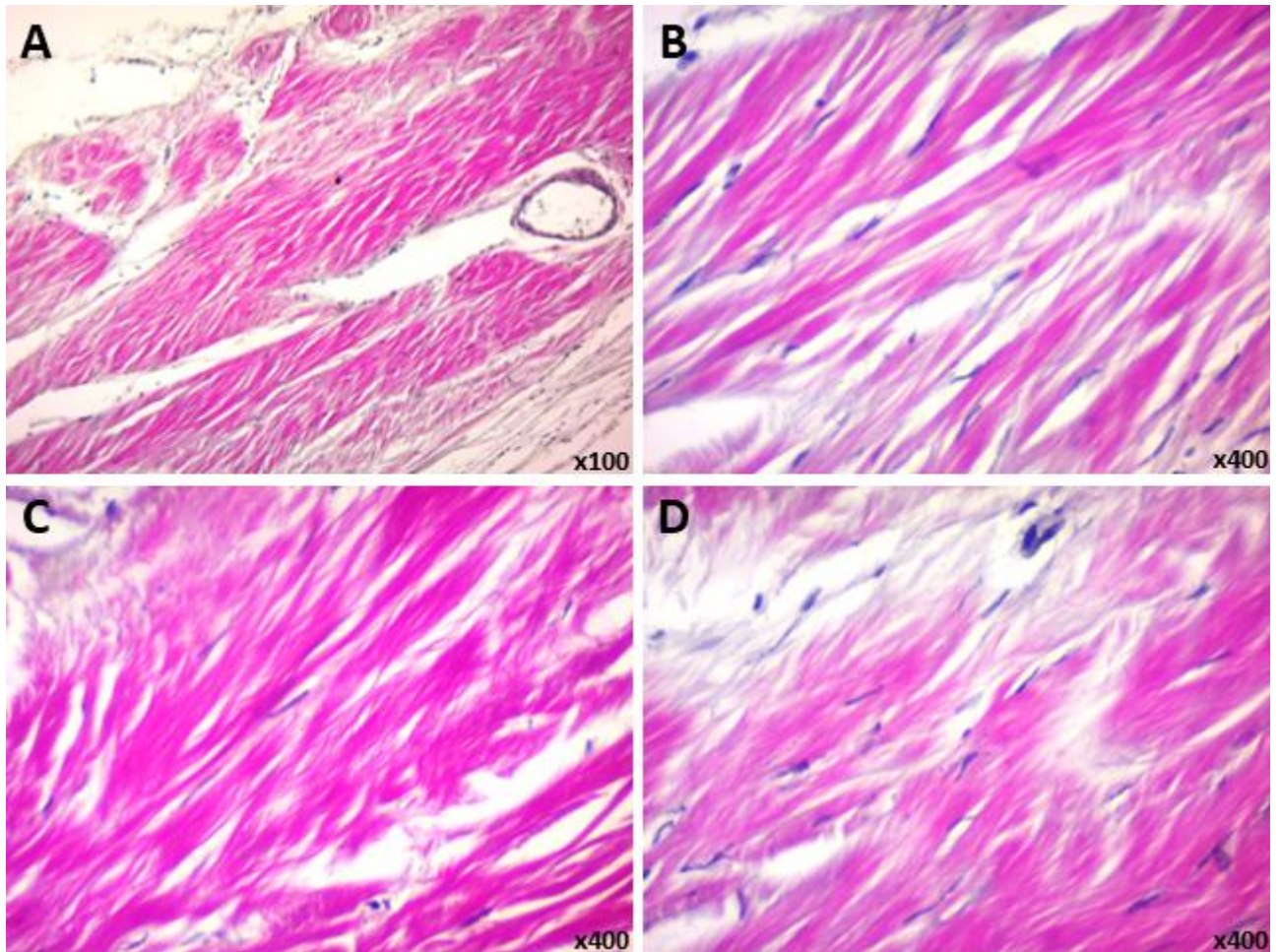


Рисунок 6.3.4. Гістохімічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Забарвлення за методом Ван-Гізона. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

6.4. Імуногістохімічне дослідження тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації

Імуногістохімічне дослідження тканин групи ТМО-II з антитілами проти остеопонтину (OPN) показало позитивну реакцію з низькою інтенсивністю. Експресія OPN у зразках ТМО без патологічної біомінералізації складала 15.08 ± 1.18 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 6.4.1 А-D).

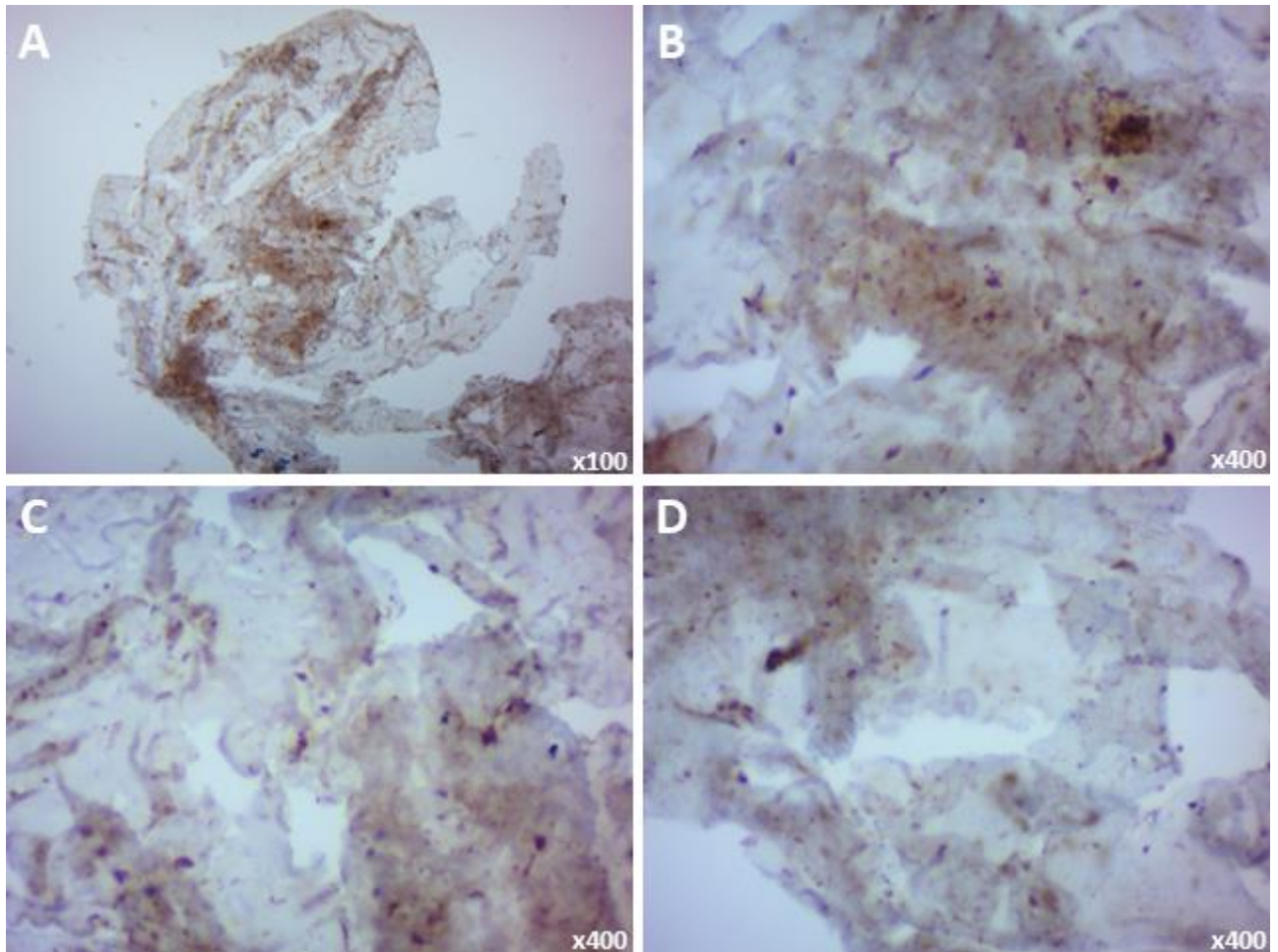


Рисунок 6.4.1. Імуногістохімічне дослідження експресії OPN у тканині ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини твердої мозкової оболонки групи ТМО-II з антитілами проти SPARC показало загальну низьку присутність цього білка. Присутній низький рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія SPARC у зразках твердої мозкової оболонки без патологічної біомінералізації групи ТМО-II складала 24.63 ± 1.80 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 6.4.2 A-D).

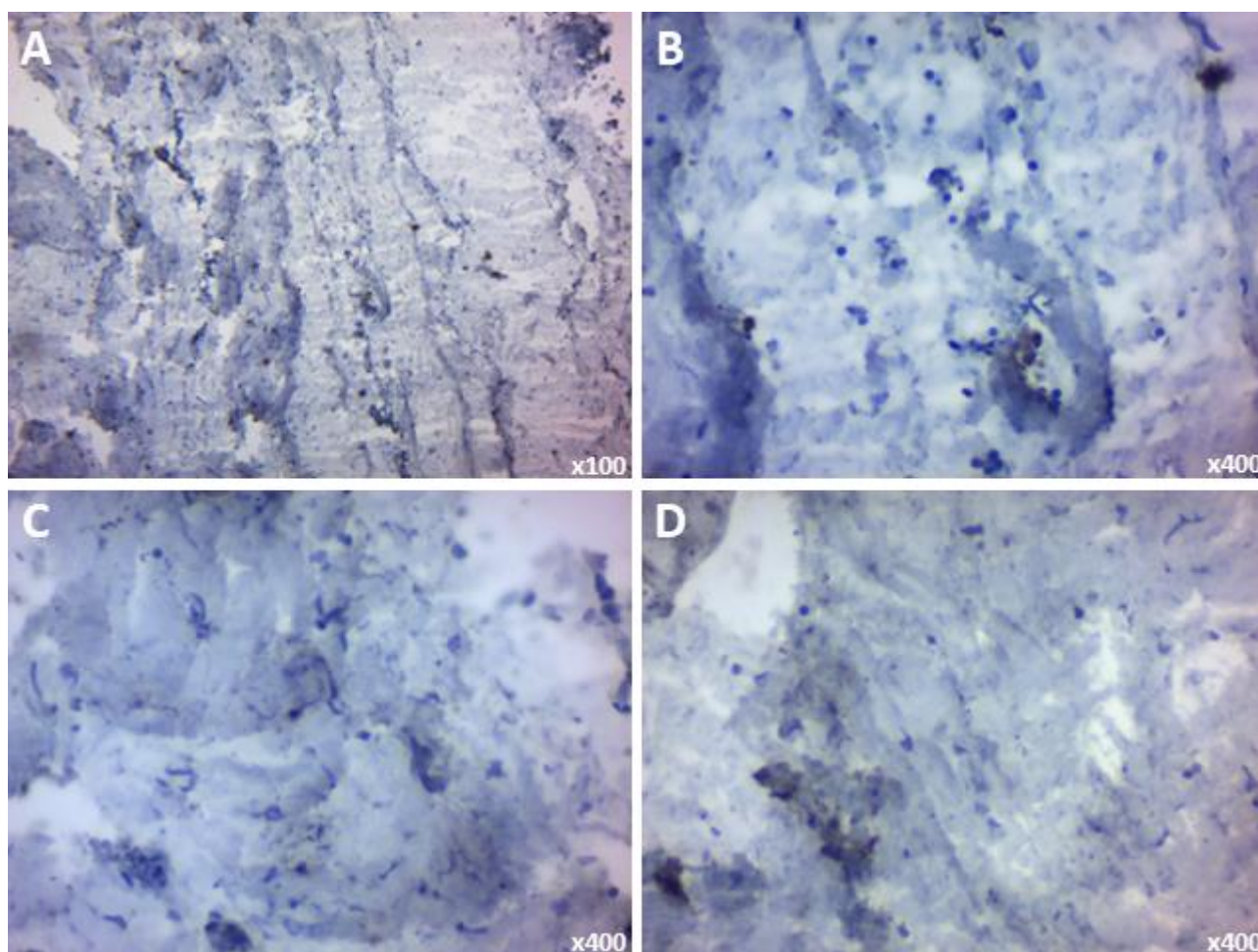


Рисунок 6.4.2. Імуногістохімічне дослідження експресії SPARC у тканині ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини твердої мозкової оболонки без ознак патологічної біомінералізації групи ТМО-II з антитілами проти RANKL показало загальну низьку присутність цього білка. Присутній помірний рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія RANKL у зразках ТМО без патологічної біомінералізації складала 26.81 ± 2.63 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 6.4.3 A-D).

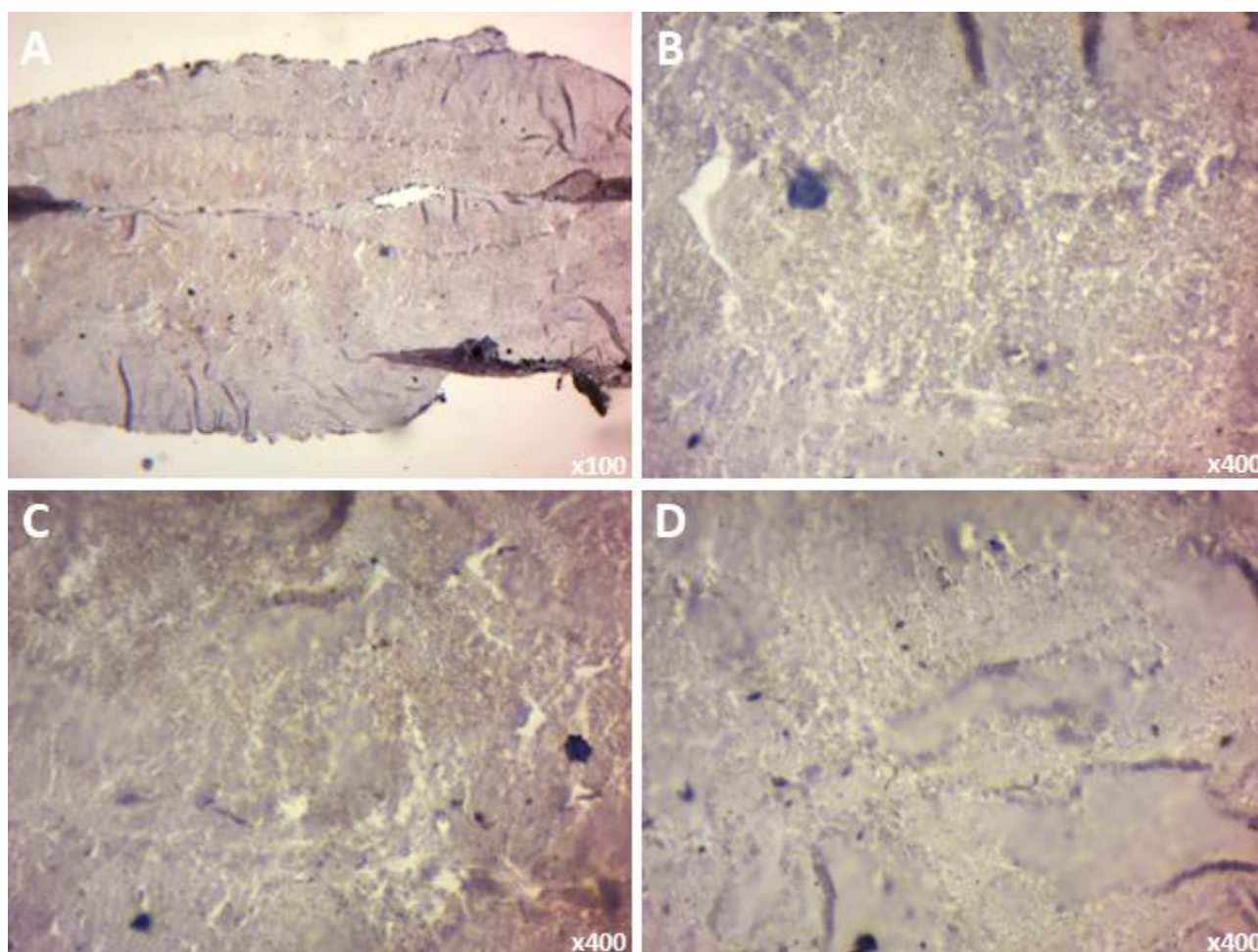


Рисунок 6.4.3. Імуногістохімічне дослідження експресії RANKL у тканині ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини твердої мозкової оболонки групи ТМО-II з антитілами проти остеопротегерину (OPG) показало загальну низьку присутність цього білка. Присутній низький рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія OPG у зразках твердої мозкової оболонки без патологічної біомінералізації складала 28.84 ± 2.00 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 6.4.4 A-D).

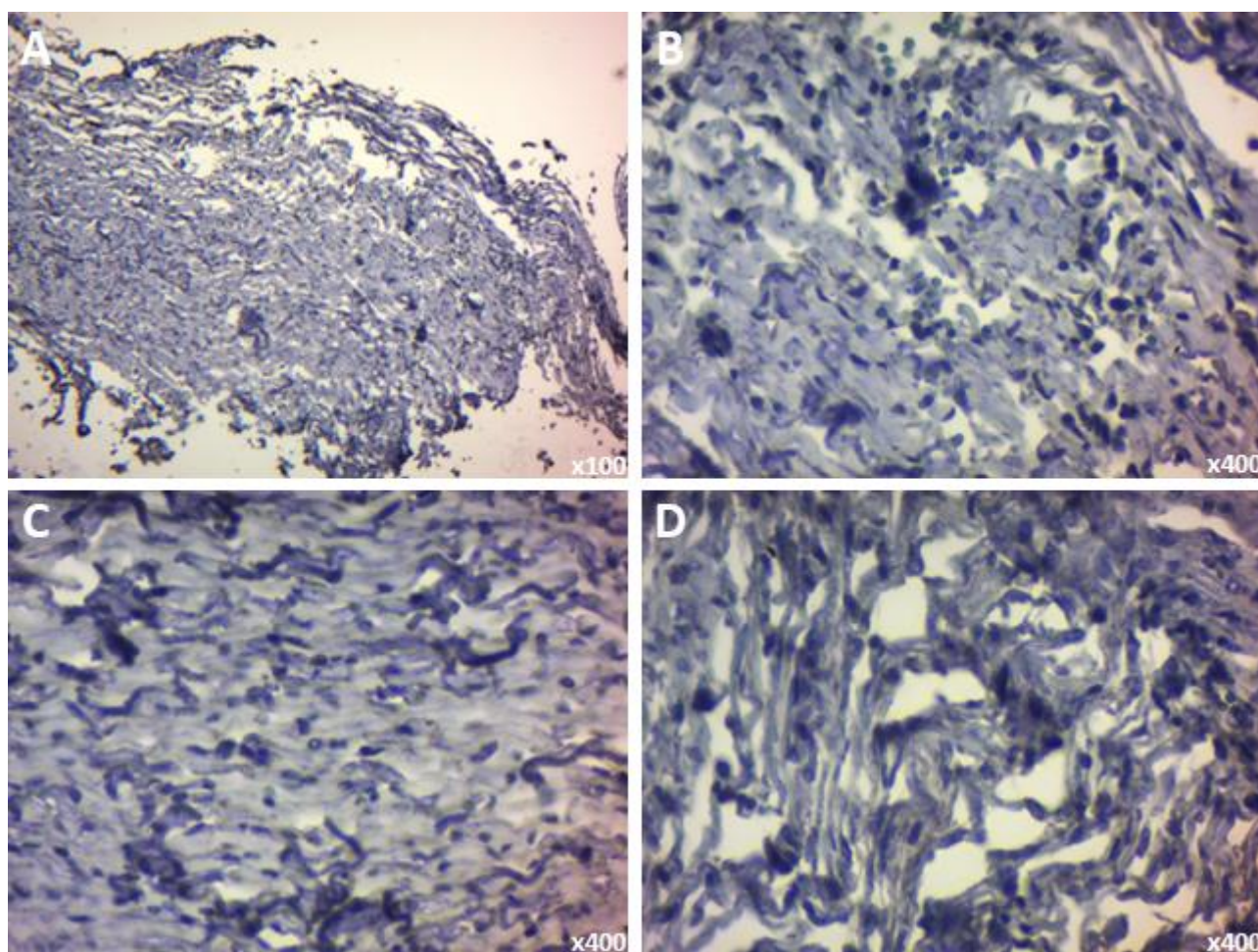


Рисунок 6.4.4. Імуногістохімічне дослідження експресії OPG у тканині ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Імуногістохімічне дослідження тканини твердої мозкової оболонки групи ТМО-II з антитілами проти Casp-3 показало загальну низьку присутність цього білка. Присутній низький рівень фонового хромогенного забарвлення (DAB). Експресія Casp-3 у зразках твердої мозкової оболонки без ознак патологічної біомінералізації складала 24.32 ± 1.96 клітин в полі зору діаметром 1000 мкм (рис. 6.4.5 A-D).

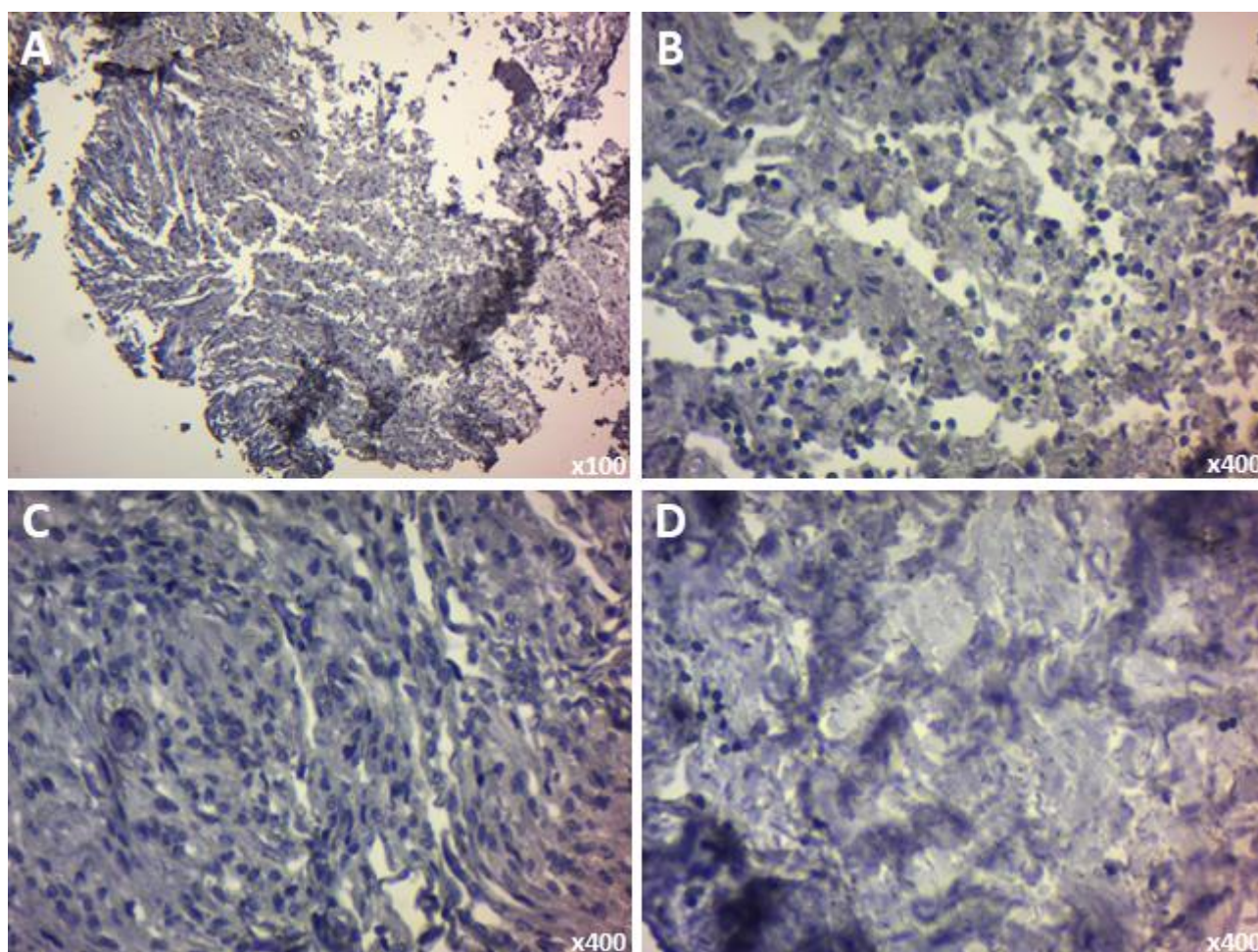


Рисунок 6.4.5. Імуногістохімічне дослідження експресії Casp-3 у тканині ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

6.5. Сканувальна електронна мікроскопія (СЕМ) з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (ЕДС)

Сканувальна електронна мікроскопія дала змогу отримати тривимірні зображення структури ТМО. СЕМ дослідження тканини групи ТМО-II підтвердило відсутність біомінеральних депозитів в тканині твердої мозкової оболонки досліджуваних зразків. (рис. 6.5.1 А, В).

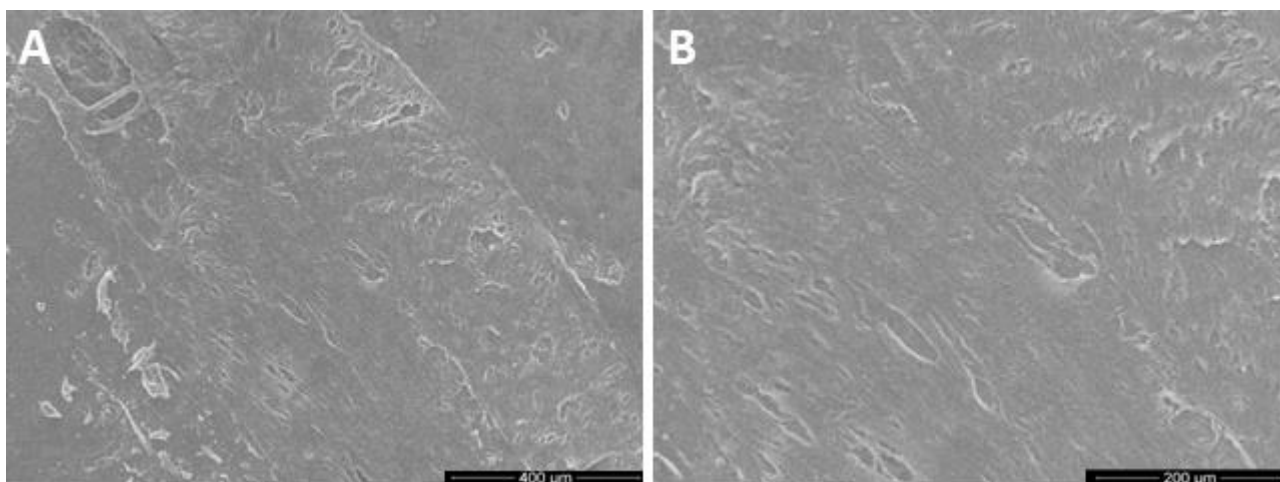


Рисунок 6.5.1. Сканувальна електронна мікроскопія тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II). Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

За даними ЕДС аналізу зразків твердої мозкової оболонки групи ТМО-II були виявлені помірно виражені лінії оксигену (O) та карбону (C), що відповідає органічній природі досліджуваної тканини. Лінії кальцію (Ca) та фосфору (P) не візуалізувались, що підтверджує відсутність біомінеральних, зокрема кальцію гідроксиапатиту, депозитів в тканині зразків твердої мозкової оболонки даної групи ТМО-II (рис. 6.5.2).

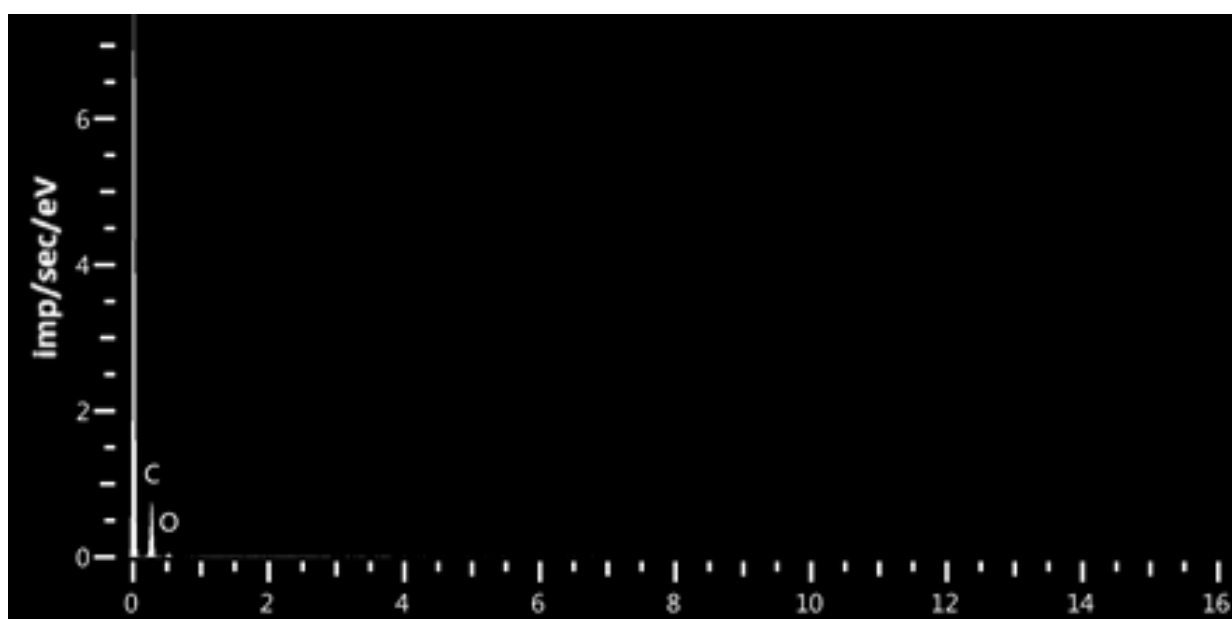


Рисунок 6.5.2. ЕДС спектр тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II).

За даними ЕДС картування зразків групи ТМО-II було встановлено рівномірний розподіл карбону та кисню по полю сканування (результат впливу електронного пучка на органічну тканину твердої мозкової оболонки на графітовому столику). Ці дані підтверджують відсутність біомінеральних, зокрема кальцію гідроксиapatиту, депозитів в тканині зразків твердої мозкової оболонки групи ТМО-II (рис. 6.5.3).

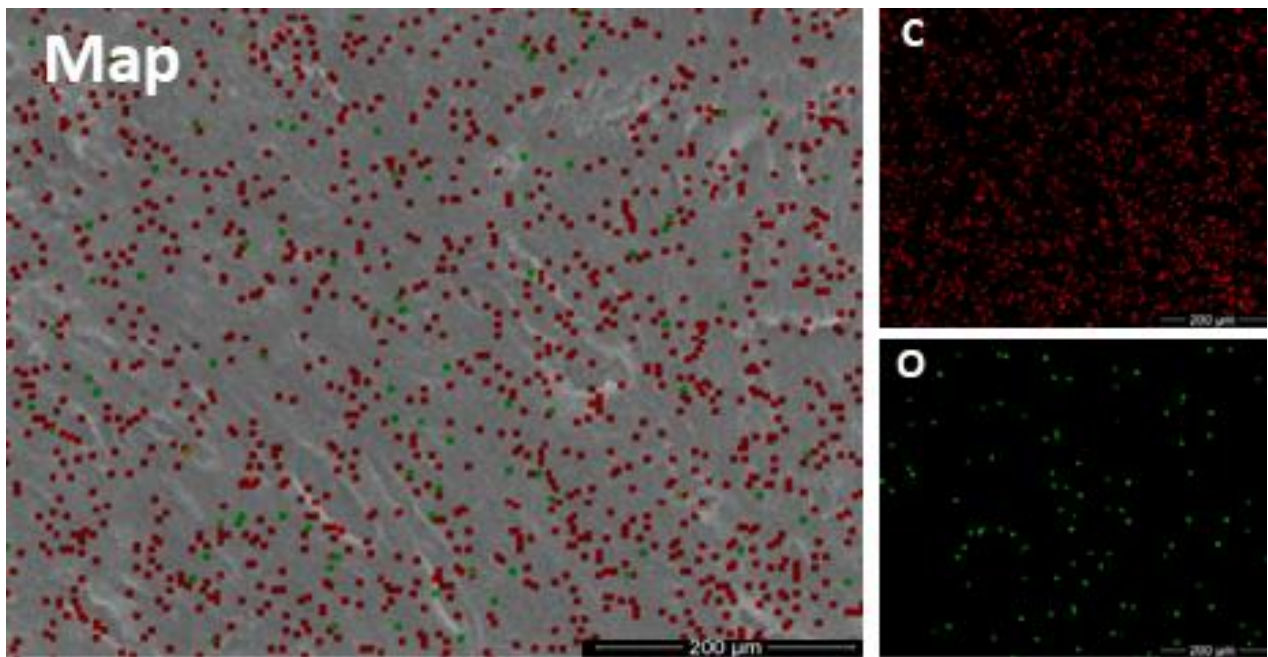


Рисунок 6.5.3. ЕДС- картування тканини ТМО без ознак патологічної біомінералізації (група ТМО-II): іони карбону (С) позначено червоним, кисню (О) – зеленим. Збільшення вказано в правому нижньому куті зображень.

Матеріали даного розділу висвітлені в публікаціях: [186, 195-198].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Менінгіоми походять з твердої оболонки головного або спинного мозку (з розростань арахноїдального ендотелію) і рідко з м'яких оболонок мозку або строми судинного сплетення. Морфологічно менінгіоми найчастіше класифікуються як доброякісні новоутворення, що мають експансивний характер росту [199-202].

Характерна локалізація менінгіом дозволяє обмежити диференційну діагностику вузьким колом позамозкових пухлин, в першу чергу невриноом [203-205]. Гістологічно ці пухлин доволі схожі. Деякі характерні структури для невриноом, такі як «вихори» та «завитки», можуть бути помилково прийняті за «концентричні структури» менінгіом. Кальцифікація є єдиним надійним маркером, що відрізняє ці пухлини.

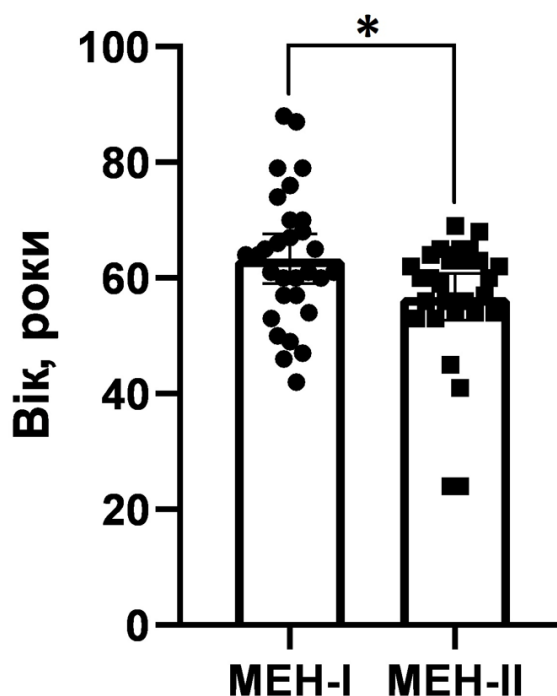
В деякій мірі походження менінгіом з твердої мозкової оболонки допомагає їх відрізнити від метастазів раку, адже останні зазвичай внутрішньомозкові [206-209], хоча і зустрічаються внутрішньокісткові метастази в кістки черепа [210-214]. Оскільки кальцифікати часто виявляються в мозкових оболонках, виникає складна проблема диференціальної діагностики між відносно «нормальною» тканиною мозкових оболонок та кальцифікованими менінгіомами.

Диференціація менінгіом на гістологічні підтипи надзвичайно важлива, адже вони мають різний проліферативний (злоякісний) потенціал. Проте ґрунтується класифікація на відносних ознаках переважання в пухлині певного компонента: менінготеліального, фібропластичного, псаммоматозного та ін. Але проблема в тому, що усі ці компоненти часто присутні в одному зразку, що ускладнює діагностику.

Щодо походження біомінералізації є різні гіпотези та теорії, в тому числі про переважання в певних тканинах активної чи пасивної біомінералізації. Крім того, дискусійним залишається питання і про біологічне значення даного феномену в менінгіомах, наявні аргументи як в сторону позитивного, так і

негативного прогностичного значення біомінералізації. Постає дискусійне питання: чим більше кальцифікатів, тим краще?

Середній вік пацієнтів групи МЕН-I складав $63,33 \pm 2,09$ роки (загалом від 42 до 88 років, серед чоловіків – від 47 до 88 років, серед жінок – від 42 до 79 років), а групи МЕН-II – $56,73 \pm 1,98$ років (загалом від 24 до 69 років, серед чоловіків – від 24 до 63 років, серед жінок – від 41 до 69 років). Вік пацієнтів групи МЕН-I достовірно більший за вік пацієнтів групи МЕН-II ($p < 0.05$), що може вказувати на те, що формування кальцифікатів це тривалий процес, що потребує часу (рис.7.1).



*Рисунок 7.1. Віковий розподіл пацієнтів з менінгіомами з ознаками патологічної біомінералізації (МЕН-I) та без (МЕН-II). 95% інтервал достовірності – * ($p < 0.05$).*

Навіть у менінгіомах, які були не були визначені як «псаммоматозні», виявляються поодинокі або нечисельні псаммомні тільця. Це може означати єдність патогенезу і напряду розвитку патологічного процесу у більш широкого переліку гістологічних типів менінгіом. Можливо, це і є ознакою залежності морфології менінгіом від протяжності розвитку патологічного процесу.

Найперші ознаки біомінералізації можуть бути виявлені ще під час макроскопічного дослідження – кальцифіковані зразки більш щільні та ріжуться з характерним звуком хрусту. Під час гістологічного дослідження надійним маркером біомінералізації та власне самих менінгіом, виступали псаммомні тільця.

Відкрити завісу над структурним складом ПТ до певного ступеню допомагають гістохімічні методи дослідження. Такі методи ідентифікації сполук кальцію як забарвлення алізариним червоним та за фон Коссом легко виявляють навіть дрібні кальцифікати та дають можливість звзвити коло можливих біомінералів до кальцію фосфату, відокремити депозити заліза (ймовірні наслідки крововиливів в головний мозок). Метод Ван Гісона візуалізував колагенові волокна, а PAS-реакція виявила, що псаммомні тільця містять вуглеводний компонент. Цей факт є цікавим з огляду на досі невідомий механізм розвитку ПТ.

При проведенні імуногістохімічного дослідження тканини менінгіом використовували наступну панель маркерів остеобластичного фенотипу, таких як OPN, SPARC, RANKL та OPG, додатково було використано маркер апоптозу Casp-3.

Остеопонтин (OPN) є глікозильованим фосфопротеїном, який регулює остеогенез, бере участь у процесах інвазії, проліферації та прогресування пухлини. В деяких дослідженнях було показано, що експресія OPN була вищою в менінгіомах порівняно з непухлинною тканиною мозкових оболонок, а також переважала в атипових і злоякісних менінгіомах, порівняно з доброякісними [215-219].

Імуногістохімічне дослідження тканин менінгіом з кальцифікацією та зразків групи контролю показало достовірно вищий рівень присутності OPN у кальцифікованих тканинах. Присутність OPN у тканинах менінгіом групи МЕН-II відповідала $57,43 \pm 5,20$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм і це було достовірно менше, ніж у групі МЕН-I ($137,23 \pm 7,16$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм) ($p < 0,001$) (рис. 7.2).

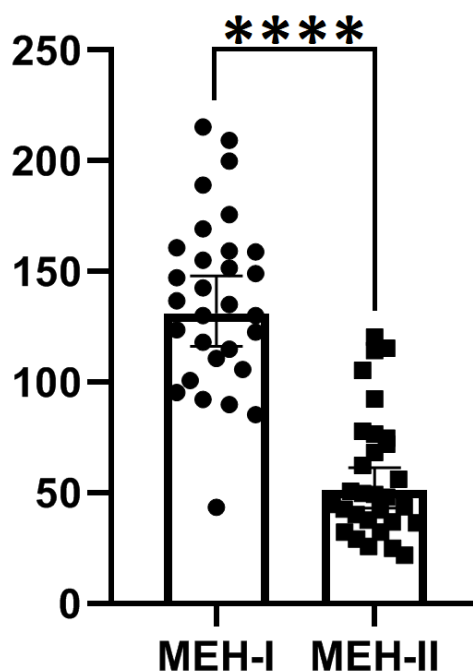


Рисунок 7.2. Імуногістохімічне дослідження експресії OPN у тканині менингіом з (МЕН-I) та без (МЕН-II) патологічної біомінералізації. 95% інтервал достовірності – **** ($p < 0.001$).

За результатами нашого дослідження, можна зробити висновок, що феномен біомінералізації позитивно корелює з гіперекспресією OPN, але поки не зрозуміло, як це пов'язано з клінічним прогнозом. Тому що за класифікацією ВООЗ кальцифіковані (псаммоматозні) менингіоми відносяться до доброякісних, а гіперекспресія OPN характерна як для кальцифікованих, так і для більш злоякісних пухлин. На нашу думку, значна кількість OPN присутня у зв'язку з ремоделюванням у процесі кальцифікації, так як цей кислий глікопротеїн притягується кристалами гідроксиапатиту [220-222].

Дослідження інших вчених виявили, що експресія SPARC (secreted protein acidic and cysteine rich), також відомого як остеонектин, позитивно корелює зі ступенем злоякісності менингіом, а також вища у рецидивуючих пухлинах. Дані щодо притаманності гіперекспресії SPARC інвазивним менингіомам суперечливі. Також є дані, що загальна виживаність пацієнтів з високою

експресією цього маркера значно нижча, ніж у пацієнтів з низькою експресією [223-225].

У нашому дослідженні ми не виявили достовірної різниці рівня експресії SPARC у групах МЕН-I ($73,60 \pm 5,88$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) та МЕН-II ($61,80 \pm 2,95$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p > 0,05$) (рис. 7.3). Це може бути пов'язано з тим, що остеонектин присутній у тканині менінгіом і його роль у патологічній біомінералізації невизначена. Можливо SPARC не бере суттєвої участі у процесах кальцифікації пухлин мозкових оболонок.

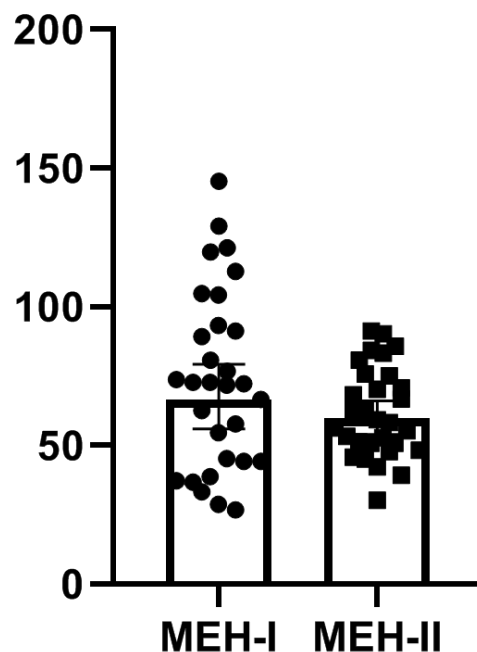


Рисунок 7.3. Імуногістохімічне дослідження експресії SPARC у тканині менінгіом з (МЕН-I) та без (МЕН-II) патологічної біомінералізації.

OPG є фактором, що інгібує остеокластогенез, шляхом блокування сигнального каскаду RANK. Співвідношення експресії RANKL/OPG є основним визначальним фактором остеокластогенезу. Він посилюється численними факторами, наприклад, під впливом глюкокортикоїдів та паратгормону, а знижується, наприклад, під дією естрогену і гормону росту [226-228].

Імуногістохімічне дослідження тканин менінгіом з кальцифікацією (група МЕН-I) та зразків групи менінгіом без кальцифікації (МЕН-II) показало достовірно вищий рівень присутності RANKL у кальцифікованих тканинах (рис. 7.4). Присутність RANKL у тканинах менінгіом групи МЕН-I відповідала $75,17 \pm 4,51$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм і це було достовірно більше, ніж у групі МЕН-II ($44,37 \pm 3,71$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p < 0,05$).

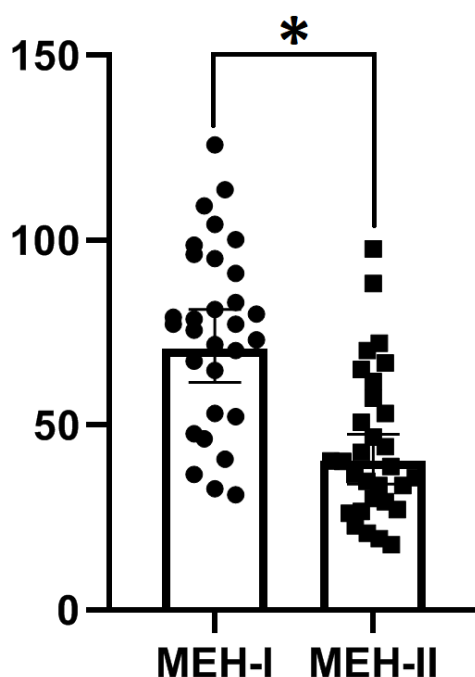


Рисунок 7.4. Імуногістохімічне дослідження експресії RANKL у тканині менінгіом з (МЕН-I) та без (МЕН-II) патологічної біомінералізації. 95% інтервал достовірності – * ($p < 0,05$).

Імуногістохімічне дослідження тканин менінгіом з кальцифікацією (група МЕН-I) та зразків групи менінгіом без кальцифікації (МЕН-II) показало достовірно вищий рівень присутності OPG у некальцифікованих тканинах (рис. 7.5). Присутність OPG у тканинах менінгіом групи МЕН-I відповідала $43,13 \pm 4,01$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм і це було достовірно менше, ніж у контрольній групі ($62,49 \pm 4,24$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p < 0,05$).

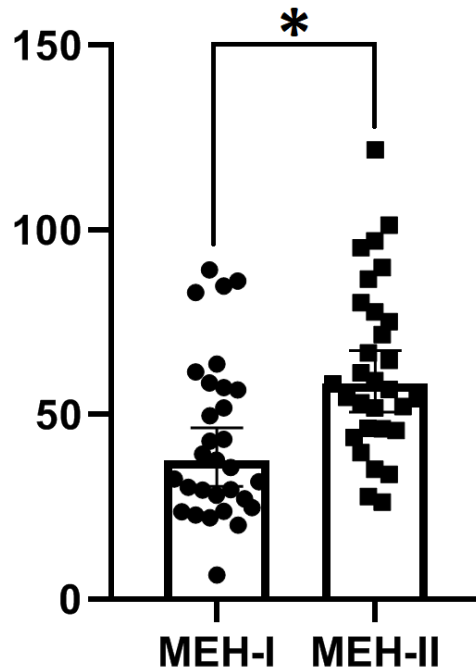


Рисунок 7.5. Імуногістохімічне дослідження експресії OPG у тканині менингіом з (МЕН-I) та без (МЕН-II) патологічної біомінералізації. 95% інтервал достовірності – * ($p < 0.05$).

У нашому дослідженні рівень експресії OPG парадоксально поєднувався з достовірно вищим рівнем присутності RANKL у кальцифікованих тканинах, та навпаки, у некальцифікованих тканинах переважала експресія OPG. На нашу думку, такий результат є цікавим і потребує більш детального подальшого дослідження. Логічно було б очікувати високого рівня OPG та низького рівня RANKL у кальцифікованих тканинах. Проте такий результат мав би бути за умов визначальної участі остеокластів у процесах патологічної біомінералізації пухлин. Очевидно, що роль остеокластів у патологічній біомінералізації менингіом не є суттєвою, а то і взагалі відсутня.

Каспаза-3 – це протеаза, які відіграє центральну роль в нетранскрипційному механізмі регуляції апоптозу. У інших дослідженнях було показано, що гіперекспресія цього маркеру позитивно корелює зі ступенем злоякісності та частотою рецидиву менингіом. Крім того, апоптоз може бути індукованим ззовні, наприклад, променевою та хіміотерапією [229-231].

Імуногістохімічне дослідження тканин менінгіом з кальцифікацією (група МЕН-I) та зразків контрольної групи МЕН-II показало достовірно вищий рівень присутності Casp-3 у кальцифікованих тканинах (рис. 7.6). Присутність Casp-3 у тканинах менінгіом групи МЕН-I відповідала $57,65 \pm 4,10$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм і це було достовірно більше, ніж у контрольній групі МЕН-II ($40,68 \pm 3,27$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p < 0,01$).

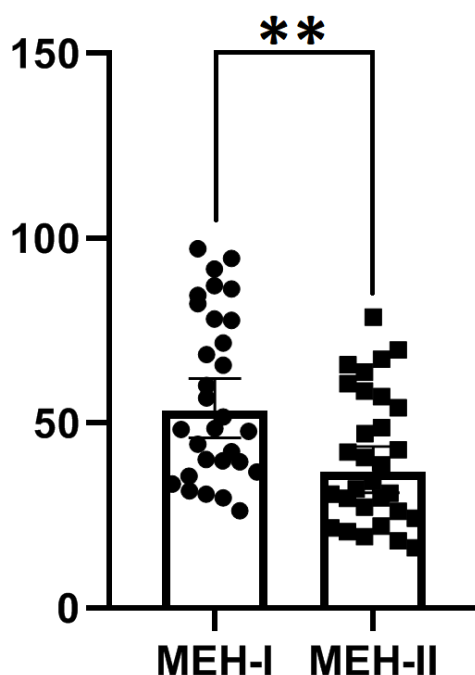


Рисунок 7.6. Імуногістохімічне дослідження експресії Casp-3 у тканині менінгіом з (МЕН-I) та без (МЕН-II) патологічної біомінералізації. 95% інтервал достовірності – ** ($p < 0,01$).

На основі отриманих результатів ІГХ дослідження зразків тканини менінгіом з кальцифікацією та контрольної групи (МЕН-I та МЕН-II) можна зробити висновок, що головним механізмом формування патологічних біомінералів є розвиток дистрофічних та некротичних змін у пухлинній тканині з подальшим формуванням кальцифікатів. На це вказує високий рівень експресії маркера апоптозу Каспази-3 у біомінералізованих менінгіомах у порівнянні з контролем.

Розвиток патологічної біомінералізації тканин менінгіоми через епітеліально-мезенхімальну трансформацію та формування клітин з остеобластичним фенотипом виглядає малоімовірним. Схоже на те, що процеси патологічної біомінералізації у менінгіомах дещо відрізняються від таких у злоякісних пухлинах, таких як рак передміхурової залози та рак грудної залози [232, 233].

Аналіз морфометричних характеристик біомінералів продемонстрував коливання середніх розмірів ПТ від 20.01 до 197.02 мкм (можна виділити 3 групи: великі – більше 100 мкм, середні – 70-100 мкм включно та дрібні – розміром до 70 мкм). На основі аналізу зображень результатів гістологічного, гістохімічного та імуногістохімічного методів досліджень ПТ можна розглянути як шаруваті утворення, які складаються з послідовних шарів ламел та міжпластинчастого простору (рис. 7.7).

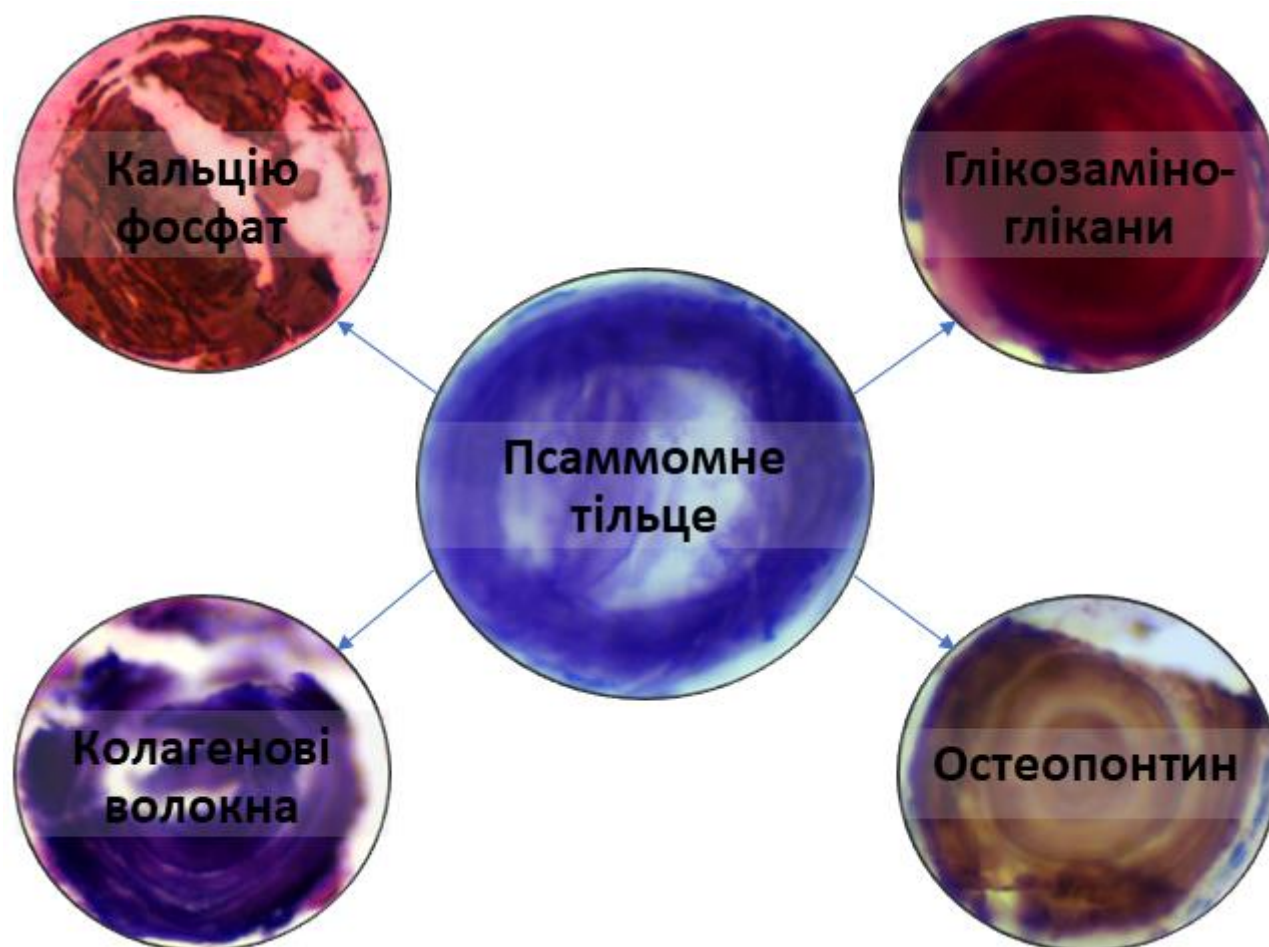


Рисунок 7.7. Схематичне зображення структури псаммомного тільця.

Аналіз результатів СЕМ та ПЕМ досліджень вказує на те, що мінералом в біомінеральних депозитах досліджуваних зразків менінгіом є кальцію гідроксиапатит, розміри якого коливаються від 2 до 3400 нм, проте найбільш стабільними є частинки з розміром 50 нм.

Середній вік пацієнтів групи ТМО-I складав $67,00 \pm 2,33$ роки (загалом від 39 до 90 років, серед чоловіків – від 39 до 85 років, серед жінок – від 58 до 90 років), а групи ТМО-II – $62,97 \pm 3,12$ років (загалом від 27 до 87 років, серед чоловіків – від 28 до 81 років, серед жінок – від 27 до 87 років). Між даними групами не було визначено достовірної різниці у віці, що може свідчити про поступове формування біомінералів впродовж всього життя та можливе фізіологічне значення ($p > 0.05$) (рис.7.8).

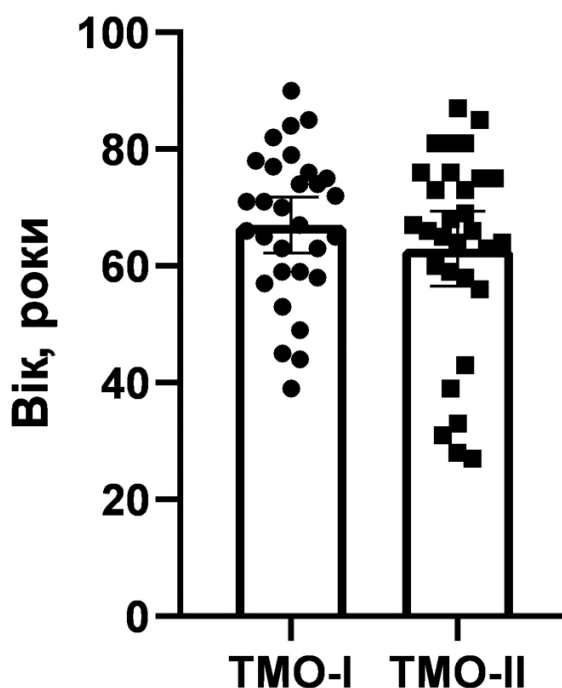


Рисунок 7.8. Віковий розподіл зразків твердої мозкової оболонки від пацієнтів з ознаками патологічної біомінералізації (ТМО-I) та без (ТМО-II).

На відміну від менінгіом, макроскопічне дослідження твердої мозкової оболонки не надало достатньої візуальної інформації про присутність біомінералів в тканині. Під час гістологічного дослідження було зроблено

розподіл зразків на 2 групи, що базувався на наявності/відсутності ознак біомінералізації – дрібних утворень різного розміру неправильної форми.

Гістохімічні методи в деякій мірі нам допомогли дослідити склад цих утворень. Метод фон Косса допоміг з'ясувати коло до сполук кальцію фосфату, а забарвлення алізариним червоним S допомогло відокремити депозити заліза. Метод Ван Гізона візуалізував колагенові волокна, PAS-реакція не виявила глікозаміногліканів в складі мінеральних депозитів.

Враховуючи відсутність запальних та виразних дистрофічних змін навколо біомінеральних депозитів в ТМО та вікової різниці у групах ($p > 0.05$) можна зробити висновок про непатологічний характер змін тканини. За сукупністю морфологічних та клінічних даних відкладення біомінеральних депозитів твердої мозкової оболонки можна віднести до варіанту анатомічної вікової норми.

При проведенні імуногістохімічного дослідження тканини ТМО використовували наступну панель маркерів остеобластичного фенотипу, таких як OPN, SPARC, RANKL та OPG, додатково було використано маркер апоптозу Casp-3.

Присутність OPN у тканинах твердої мозкової оболонки групи ТМО-II відповідала $15,08 \pm 1,18$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм і це було достовірно менше, ніж у групі ТМО-I ($25,29 \pm 2,39$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p < 0,001$) (рис. 7.9).

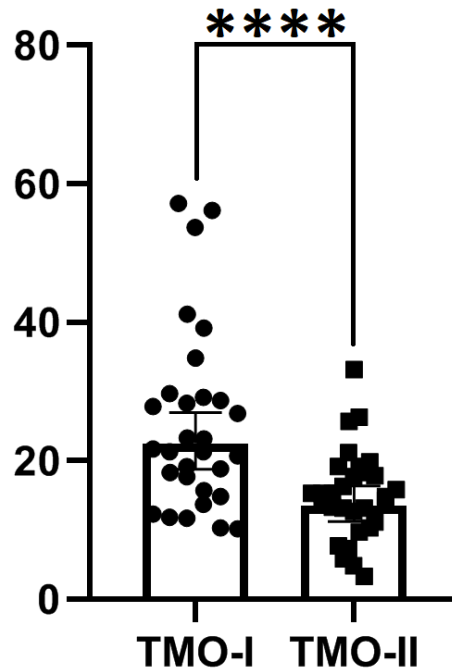


Рисунок 7.9. Імуногістохімічне дослідження експресії OPN у тканині твердої мозкової оболонки з (ТМО-I) та без (ТМО-II) патологічної біомінералізації. 95% інтервал достовірності – **** ($p < 0.001$).

Можна зробити висновок, що феномен біомінералізації позитивно корелює з гіперекспресією OPN не тільки в менінгіомах, а й у тканині твердої мозкової оболонки.

Присутність SPARC у тканинах твердої мозкової оболонки групи ТМО-II відповідала $24,63 \pm 1,80$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм і це було достовірно менше, ніж у тканинах твердої мозкової оболонки групи ТМО-I ($39,13 \pm 2,10$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p < 0,001$) (рис. 7.10). Зважаючи на те, що в тканині менінгіом не було виявлено достовірної різниці рівня експресії SPARC у групах з патологічною біомінералізацією та без, можна зробити висновок, що роль SPARC у процесах кальцифікації мозкових оболонок доволі неоднозначна.

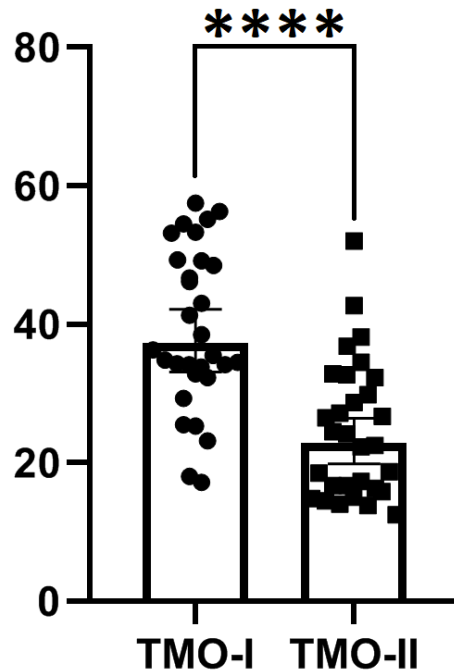


Рисунок 7.10. Імуногістохімічне дослідження експресії SPARC у тканині твердої мозкової оболонки з (ТМО-I) та без (ТМО-II) патологічної біомінералізації. 95% інтервал достовірності – **** ($p < 0.001$).

Оскільки співвідношення експресії RANKL/OPG є основним визначальним фактором остеокластогенезу, логічно було б очікувати високого рівня OPG та низького рівня RANKL у кальцифікованих тканинах.

За результатами нашого дослідження присутність RANKL у тканинах твердої мозкової оболонки групи ТМО-II відповідала $26,81 \pm 2,63$ клітин в полі зору діаметром 1000 мкм і це було достовірно менше, ніж у групі ТМО-I ($41,64 \pm 2,19$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p < 0,001$) (рис. 7.11).

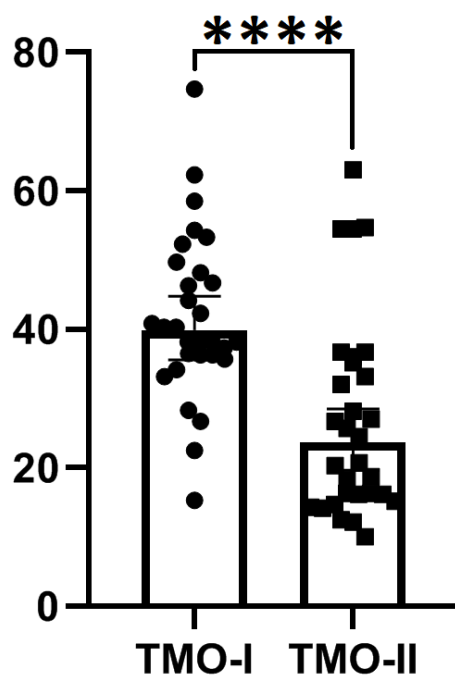


Рисунок 7.11. Імуногістохімічне дослідження експресії RANKL у тканині твердої мозкової оболонки з (ТМО-I) та без (ТМО-II) патологічної біомінералізації. 95% інтервал достовірності – **** ($p < 0.001$).

Крім того, у нашому дослідженні ми не виявили достовірної різниці рівня експресії OPG у групах ТМО-I ($25,71 \pm 1,58$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) та ТМО-II ($28,84 \pm 2,00$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p > 0,05$) (рис. 7.12).

Ці результати суперечать попередньому припущенню та дають можливість зробити висновок, що роль остеокластів у патологічній біомінералізації твердої мозкової оболонки несуттєва або відсутня.

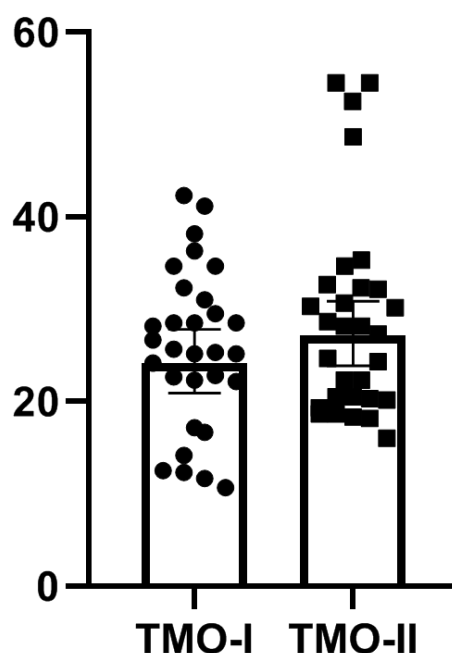


Рисунок 7.12. Імуногістохімічне дослідження експресії OPG у тканині твердої мозкової оболонки з (ТМО-I) та без (ТМО-II) патологічної біомінералізації.

За результатами імуногістохімічного дослідження тканин твердої мозкової оболонки ми не виявили достовірної різниці рівня експресії Casp-3 у групах ТМО-I ($26,70 \pm 2,05$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) та ТМО-II ($24,32 \pm 1,96$ клітин в полі зору діаметром 1 мм) ($p > 0,05$) (рис. 7.13). На відміну від менінгіом, де експресія цього маркера переважала в групі з патологічною біомінералізацією та вказувала на роль дистрофічних та некротичних змін у пухлинній тканині в процесах біомінералізації.

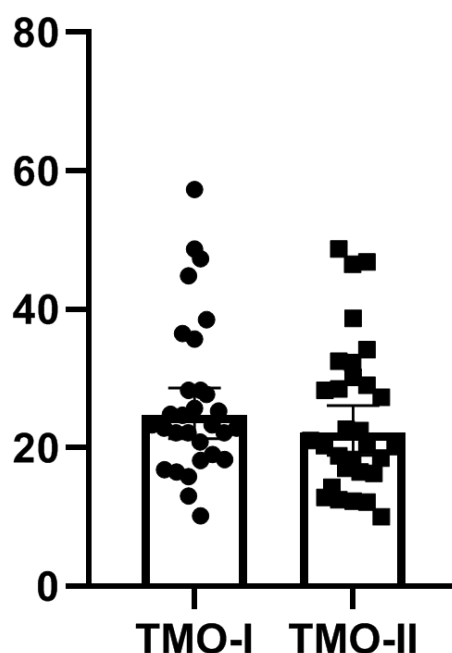


Рисунок 7.13. Імуногістохімічне дослідження експресії Casp-3 у тканині твердої мозкової оболонки з (ТМО-I) та без (ТМО-II) патологічної біомінералізації.

На основі отриманих результатів ІГХ дослідження зразків тканини твердої мозкової оболонки з кальцифікацією та контрольної групи (ТМО-I та ТМО-II) можна зробити висновок про активний сценарій утворення біомінеральних депозитів. У ході аналізу результатів дослідження постало дискусійне питання щодо можливості переходу активного механізму біомінералізації в пасивний за умов пухлинної трансформації тканини ТМО в менінгіоми (рис. 7.14). Оскільки дослідження виконується ретроспективно (не можливо провести послідовне або одночасне дослідження нормальної тканини ТМО та менінгіоми у одних і тих самих пацієнтів), то це питання залишається відкритим.

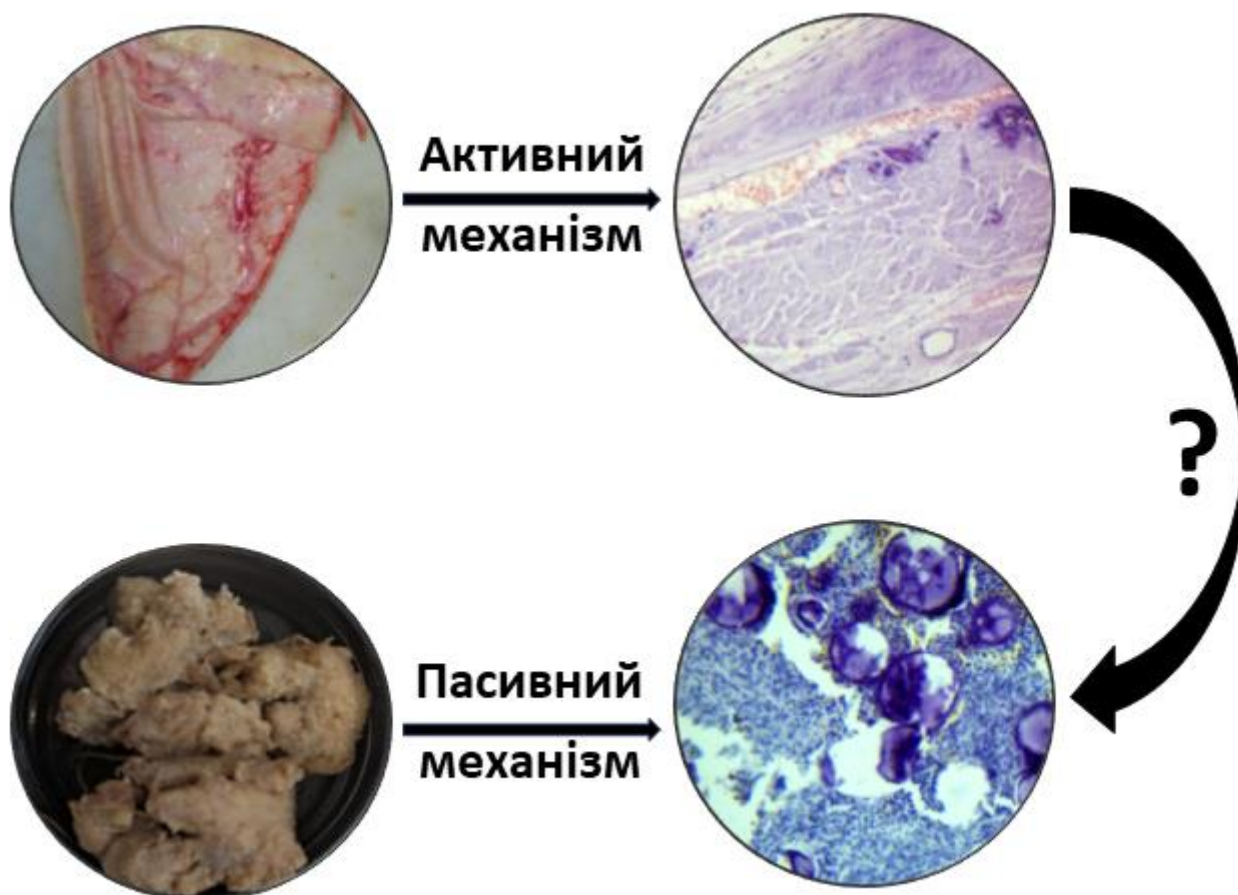


Рисунок 7.14. Схематичне зображення механізмів біомінералізації тканини ТМО в нормі та за умов пухлинного росту (менінгіом).

За результатами сканувальної електронної мікроскопії з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією та просвічувальної електронної мікроскопії з електронною дифракцією було встановлено, що основним біомінералом в тканині твердої мозкової оболонки є кальцій гідроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, а самі мінерали представлені десятками-сотнями утворень різної форми, що варіюються в розмірах від десятків нм до 50 мкм.

Отримані результати дозволяють розрізнити кальцифікати в менінгіомах і в твердій мозковій оболонці: вони мають подібний хімічний склад (за співвідношенням Ca/P відповідають зрілому гідроксиапатиту), проте різні за структурою та морфологією (на відміну від округлих псаммомних тілець шаруватої будови менінгіом, біомінерали в твердій мозковій оболонці більше

коливаються у розмірах, мають неправильну форму, дифузно розташовані по всій тканині, іноді зливаються).

Опираючись на результати нашого дисертаційного дослідження, ми пропонуємо розроблений діагностичний алгоритм для диференційної діагностики новоутворень твердої мозкової оболонки за наявних ознак кальцифікації тканини. Проведене детальне патоморфологічне та матеріалознавче (фізико-хімічне) дослідження біомінеральних депозитів дозволило виділити перспективні ознаки і застосувати їх у діагностичному алгоритмі (рис 7.15).

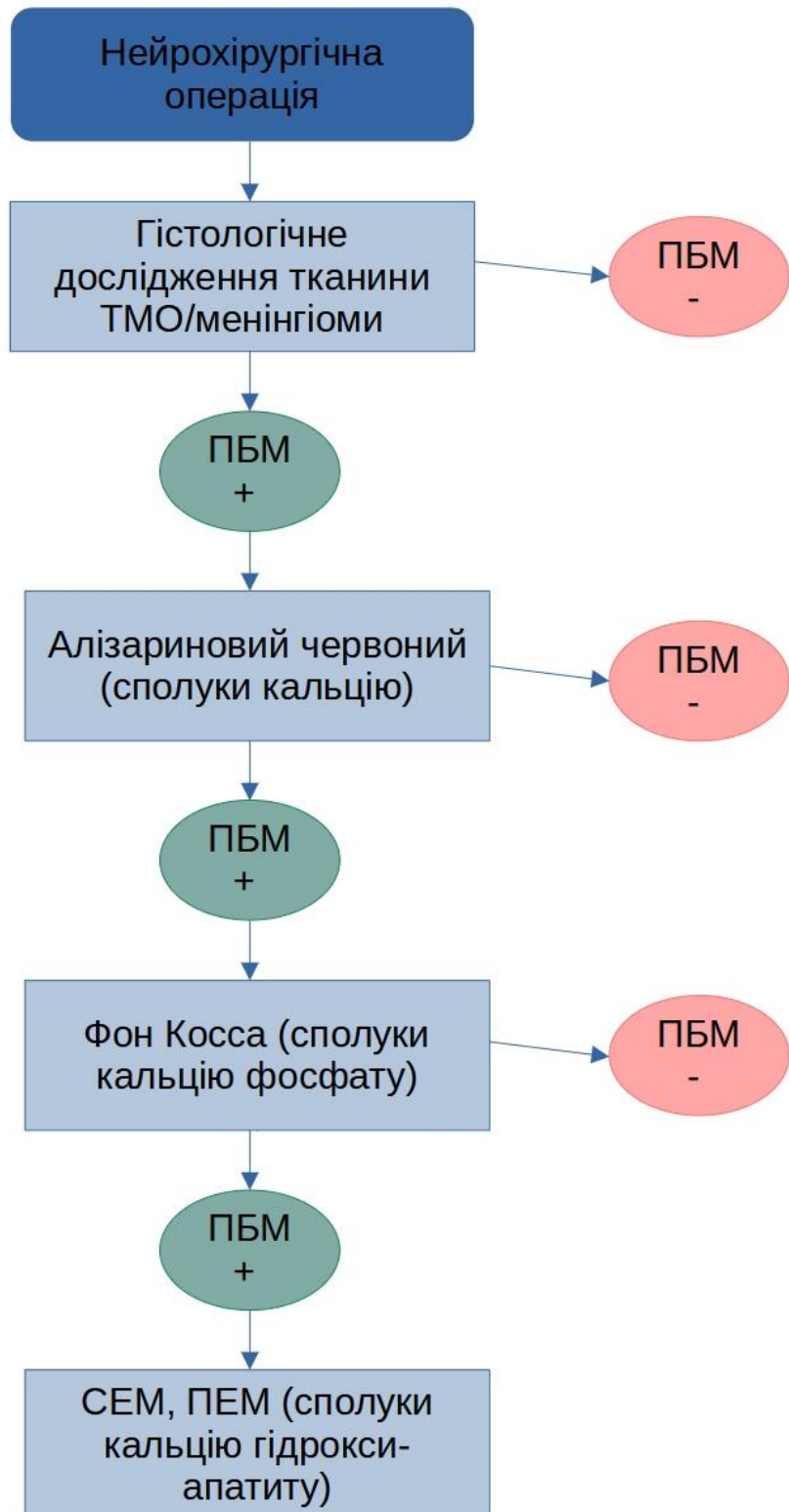


Рисунок 7.15. Діагностичний алгоритм дослідження зразків твердої мозкової оболонки та менінгіом з патологічною біомінералізацією.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішується актуальне завдання патологічної анатомії, що відноситься до оптимізації патоморфологічної діагностики менінгіом шляхом виявлення патоморфологічних особливостей твердої мозкової оболонки та менінгіом з ознаками біомінералізації.

1. Процеси біомінералізації менінгіом спостерігаються у осіб достовірно старшого віку ($63,33 \pm 2,09$ роки у групі МЕН-I проти $56,73 \pm 1,98$ років у групі МЕН-II) ($p < 0,05$), що свідчить про повільне утворення патологічних біомінеральних депозитів. Встановлено, що застосування макроскопічних (кальцифіковані зразки більш щільні та ріжуться з характерним звуком хрусту), гістологічних (патогномонічна форма організації біомінералів – псаммомні тільця), гістохімічних (забарвлення алізариновим червоним та за фон Коссом легко виявляють дрібні кальцифікати та дають можливість відокремити депозити заліза) діагностичних ознак є цінними критеріями у диференційній діагностиці менінгіом з ознаками біомінералізації.

2. На основі проведеного комплексного морфологічного дослідження твердої мозкової оболонки з ознаками біомінералізації та відсутності достовірної різниці пацієнтів можна зробити висновок про відсутність патологічних змін тканини, що дозволяє віднести відкладення біомінеральних депозитів твердої мозкової оболонки до варіанту вікової норми (морфологічно).

3. За результатами імуногістохімічного дослідження остеобластичних маркерів менінгіом з патологічною біомінералізацією було встановлено, що рівень експресії OPN відповідав 137.23 ± 7.16 , SPARC – 73.60 ± 5.88 , RANKL – 75.17 ± 4.51 , OPG – 43.13 ± 4.01 , в той час як зразки менінгіом без патологічної біомінералізації мали експресію OPN 57.43 ± 5.20 ($p < 0.001$), SPARC – 61.80 ± 2.95 ($p > 0.05$), RANKL – 44.37 ± 3.71 ($p < 0.05$), OPG – 62.49 ± 4.24 ($p < 0.05$). Встановлено достовірну різницю імуногістохімічної експресії Casp-3 між групами менінгіом з кальцифікацією (57.65 ± 4.10) та без (40.68 ± 3.27), ($p < 0.01$).

4. За результатами імуногістохімічного дослідження остеобластичних маркерів твердої мозкової оболонки з патологічною біомінералізацією було

встановлено, що рівень експресії OPN відповідав 25.29 ± 2.34 , SPARC – 39.13 ± 2.10 , RANKL – 41.64 ± 2.19 , OPG – 25.71 ± 1.58 , в той час як зразки менінгіом без патологічної біомінералізації мали експресію OPN 15.08 ± 1.18 ($p < 0.001$), SPARC – 24.63 ± 1.80 ($p < 0.001$), RANKL – 26.81 ± 2.63 ($p < 0.001$), OPG – 28.84 ± 2.00 ($p > 0.05$). Встановлено відсутність достовірної різниці імуногістохімічної експресії Casp-3 між групами твердої мозкової оболонки з кальцифікацією (26.70 ± 2.05) та без (24.32 ± 1.96), ($p > 0.05$). 5. Аналіз результатів СЕМ та ПЕМ досліджень вказує на те, що головною мінеральною фазою в біомінеральних депозитах досліджуваних зразків менінгіом є кальцію гідроксиапатит, розміри якого коливаються від 2 до 3400 нм, проте найбільш стабільними є частинки з розміром 50 нм.

6. За результатами сканувальної електронної мікроскопії з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією та просвічувальної електронної мікроскопії з електронною дифракцією було встановлено, що основним біомінералом в тканині твердої мозкової оболонки є кальцій гідроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, а самі мінерали представлені десятками-сотнями утворень різної форми, що варіюються в розмірах від десятків нм до 50 мкм.

7. На основі отриманих результатів ІГХ дослідження зразків тканини менінгіом з кальцифікацією та контрольної групи можна зробити висновок, що головним механізмом формування патологічних біомінералів є розвиток дистрофічних та некротичних змін у пухлинній тканині з подальшим формуванням кальцифікатів. На це вказує високий рівень експресії маркера апоптозу каспази-3 у біомінералізованих менінгіомах у порівнянні з контролем. Для тканини ТМО не було встановлено достовірної різниці між групами в експресії маркера апоптозу каспази-3, тому найбільш вірогідним є активний механізм утворення біомінералів кальцій-фосфорної природи.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для виявлення та ідентифікації біомінеральних утворень в твердій мозковій оболонці рекомендовано додаткове використання гістохімічних методик забарвлення зразків — забарвлення алізариновим червоним та методом фон Косса, на основі цього рішення запропонований діагностичний алгоритм.

2. Рекомендовано враховувати морфологічні особливості та якісний склад біомінеральних утворень в менінгіомах та в твердій мозковій оболонці, застосовувати їх як маркер для диференційної діагностики.

3. Біомінералізовану тверду мозкову оболонку рекомендовано розглянути як перспективну модель для створення біомедичних матеріалів у галузі охорони здоров'я та об'єктів промислового виробництва.

ПРИМІТКИ

Результати дисертаційного дослідження були опубліковані у співавторстві з науковим керівником Р.А. Москаленко та консультантами з аспектів прикладного матеріалознавства О.В. Пилипенко, А.О. Степаненко, С.М. Данильченко.

Хочу висловити подяку науковому керівнику д.мед.н. професору Москаленко Роману Андрійовичу за допомогу з вибором теми дослідження та підтримку на кожному етапі даного дослідження. Найщиріша вдячність Вам, Романе Андрійовичу, за мотивацію, цінні поради та заохочення до наукової діяльності.

Окрема подяка к.фіз.-мат.н Данильченко Сергію Миколайовичу за можливість проведення фізико-хімічних досліджень біомінералів менінгіом та твердої мозкової оболонки на базі відділу радіаційної біофізики Інституту прикладної фізики НАН України.

Р.А. Москаленко – запропонував ідею комплексного морфологічного дослідження біомінералізації твердої мозкової оболонки, допоміг сформулювати мету та завдання дослідження, а також приймав безпосередню участь в гістохімічних, імуногістохімічних та морфометричних дослідженнях, а також в обговоренні результатів та підготовці наукових праць.

О.В. Пилипенко, А.О. Степаненко, С.М. Данильченко – приймали участь у проведенні фізико-хімічних досліджень та обговоренні результатів.

Найщиріша вдячність рідному колективу кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету за підтримку та активну участі в обговоренні та удосконаленні матеріалів дисертаційного дослідження на наукових семінарах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Giachelli, C. M. (1999). Ectopic calcification: Gathering hard facts about soft tissue mineralization. *American Journal of Pathology*, *154*(3), 671–675.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65313-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65313-8)
2. Snijders, B. M. G., Peters, M. J. L., & Koek, H. L. (2023). Ectopic Calcification: What Do We Know and What Is the Way Forward? *Journal of Clinical Medicine*, *12*(11). <https://doi.org/10.3390/jcm12113687>
3. Saade, C., Najem, E., Asmar, K., Salman, R., Achkar, B. El, & Naffaa, L. (2019). Intracranial calcifications on CT: An updated review. *Journal of Radiology Case Reports*, *13*(8), 1–18. <https://doi.org/10.3941/jrcr.v13i8.3633>
4. Issa, R., Barakat, A., Salman, R., & Naffaa, L. (2019). Vein of galen malformation, a cause of intracranial calcification: Case report and review of literature. *Journal of Radiology Case Reports*, *13*(3), 13–18. <https://doi.org/10.3941/jrcr.v13i3.3456>
5. Kiroğlu, Y., Çalli, C., Karabulut, N., & Óncel, Ç. (2010). Intracranial calcifications on CT. *Diagnostic and Interventional Radiology*, *16*(4), 263–269. <https://doi.org/10.4261/1305-3825.DIR.2626-09.1>
6. Deng, H., Zheng, W., & Jankovic, J. (2015). Genetics and molecular biology of brain calcification. *Ageing Research Reviews*, *22*, 20–38. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.04.004>
7. Xiao, C., Cassini, T., Benavides, D., Ebrahim, A., Adams, D., & Toro, C. (2023). Genomic Diagnoses for Ectopic Intracerebral Calcifications. *Neurology Genetics*, *9*(5). <https://doi.org/10.1212/nxg.0000000000200083>
8. Monfrini, E., Arienti, F., Rinchetti, P., Lotti, F., & Riboldi, G. M. (2023). Brain Calcifications: Genetic, Molecular, and Clinical Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(10). <https://doi.org/10.3390/ijms24108995>
9. Liu, L., Lu, Y., Peng, W., Geng, D., Wen, J., Xiong, J., Zou, L., & Yin, B. (2017). Imaging features of intracranial psammomatous meningioma. *Journal of Neuroradiology*, *44*(6), 395–399. <https://doi.org/10.1016/j.neurad.2017.06.003>

10. Chang, H. K., Wu, J. C., Lin, D. S. C., Chang, C. C., Tu, T. H., Huang, W. C., & Cheng, H. (2014). Calcified meningiomas. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 20(1), 117–118. <https://doi.org/10.3171/2013.6.SPINE13512>
11. Chuang, T. L., Chen, J. C., Chen, Y. R., & Wang, Y. F. (2021). FDG PET/CT of Benign Psammomatous Meningioma Effacing the Medulla. *Clinical Nuclear Medicine*, 46(3), 252–254. <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000003477>
12. Komori, T. (2022). [The 2021 WHO Classification of Tumors, 5th edition, Central Nervous System Tumors: A Short Review]. *Brain and Nerve = Shinkei Kenkyu No Shinpo*, 74(6), 803–809. <https://doi.org/10.11477/mf.1416202124>
13. Goel, A., Darji, H., Shah, A., Rai, S., Biswas, C., & Lunawat, A. (2020). Ossified Anterior Foramen Magnum Meningioma: Report of Long-Term Surgical Outcome. *World Neurosurgery*, 141, 59–63. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.06.011>
14. Maas, S. L. N., Stichel, D., Hielscher, T., Sievers, P., Berghoff, A. S., Schrimpf, D., Sill, M., Euskirchen, P., Blume, C., Patel, A., Dogan, H., Reuss, D., Dohmen, H., Stein, M., Reinhardt, A., Suwala, A. K., Wefers, A. K., Baumgarten, P., Ricklefs, F., ... Sahm, F. (2021). Integrated Molecular-Morphologic Meningioma Classification: A Multicenter Retrospective Analysis, Retrospectively and Prospectively Validated. *Journal of Clinical Oncology*, 39(34), 3839–3852. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.00784>
15. Nasrallah, M. L. P., & Aldape, K. D. (2023). Molecular classification and grading of meningioma. *Journal of Neuro-Oncology*, 161(2), 373–381. <https://doi.org/10.1007/s11060-022-04228-9>
16. Das, D. K. (2009). Psammoma body: A product of dystrophic calcification or of a biologically active process that aims at limiting the growth and spread of tumor? *Diagnostic Cytopathology*, 37(7), 534–541. <https://doi.org/10.1002/dc.21081>
17. Goyal, N., Kakkar, A., Sarkar, C., & Agrawal, D. (2012). Does bony hyperostosis in intracranial meningioma signify tumor invasion A radio-pathologic study. *Neurology India*, 60(1), 50–54. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.93589>

18. Di Cristofori, A., Del Bene, M., Locatelli, M., Boggio, F., Ercoli, G., Ferrero, S., & Del Gobbo, A. (2018). Meningioma and Bone Hyperostosis: Expression of Bone Stimulating Factors and Review of the Literature. *World Neurosurgery*, *115*, e774–e781. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.04.176>
19. Pieper, D. R., Al-Mefty, O., Hanada, Y., & Buechner, D. (1999). Hyperostosis associated with meningioma of the cranial base: Secondary changes or tumor invasion. *Neurosurgery*, *44*(4), 742–747. <https://doi.org/10.1097/00006123-199904000-00028>
20. Ostrom, Q. T., Cioffi, G., Gittleman, H., Patil, N., Waite, K., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2019). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro-Oncology*, *21*, V1–V100. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz150>
21. Ostrom, Q. T., Price, M., Neff, C., Cioffi, G., Waite, K. A., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2023). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016-2020. *Neuro-Oncology*, *25*, IV1–IV99. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noad149>
22. Dudley, R. W. R., Torok, M. R., Randall, S., Béland, B., Handler, M. H., Mulcahy-Levy, J. M., Liu, A. K., & Hankinson, T. C. (2018). Pediatric versus adult meningioma: comparison of epidemiology, treatments, and outcomes using the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Journal of Neuro-Oncology*, *137*(3), 621–629. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2756-1>
23. Hong, S., Usami, K., Hirokawa, D., & Ogiwara, H. (2019). Pediatric meningiomas: a report of 5 cases and review of literature. *Child's Nervous System*, *35*(11), 2219–2225. <https://doi.org/10.1007/s00381-019-04142-y>
24. Marrazzo, A., Cacchione, A., Rossi, S., Carboni, A., Gandolfo, C., Carai, A., Mastronuzzi, A., & Colafati, G. S. (2021). Intradural pediatric spinal tumors: An overview from imaging to novel molecular findings. *Diagnostics*, *11*(9). <https://doi.org/10.3390/diagnostics11091710>
25. Hsu, W., & Jallo, G. I. (2013). Pediatric spinal tumors. *Handbook of Clinical Neurology*, *112*, 959–965. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52910-7.00016-7>

26. Wiemels, J., Wrensch, M., & Claus, E. B. (2010). Epidemiology and etiology of meningioma. *Journal of Neuro-Oncology*, 99(3), 307–314. <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0386-3>
27. Vernooij, M. W., Ikram, M. A., Tanghe, H. L., Vincent, A. J. P. E., Hofman, A., Krestin, G. P., Niessen, W. J., Breteler, M. M. B., & van der Lugt, A. (2007). Incidental Findings on Brain MRI in the General Population. *New England Journal of Medicine*, 357(18), 1821–1828. <https://doi.org/10.1056/nejmoa070972>
28. Morris, Z., Whiteley, W. N., Longstreth, W. T., Weber, F., Lee, Y. C., Tsushima, Y., Alphas, H., Ladd, S. C., Warlow, C., Wardlaw, J. M., & Al-Shahi Salman, R. (2009). Incidental findings on brain magnetic resonance imaging: Systematic review and meta-analysis. *BMJ (Online)*, 339(7720), 547–550. <https://doi.org/10.1136/bmj.b3016>
29. Dangouloff-Ros, V., Roux, C. J., Boulouis, G., Levy, R., Nicolas, N., Lozach, C., Grevent, D., Brunelle, F., Boddaert, N., & Naggara, O. (2019). Incidental brain MRI findings in children: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Neuroradiology*, 40(11), 1818–1823. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A6281>
30. Braganza, M. Z., Kitahara, C. M., Berrington De González, A., Inskip, P. D., Johnson, K. J., & Rajaraman, P. (2012). Ionizing radiation and the risk of brain and central nervous system tumors: A systematic review. *Neuro-Oncology*, 14(11), 1316–1324. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos208>
31. Brenner, A. V., Sugiyama, H., Preston, D. L., Sakata, R., French, B., Sadakane, A., Cahoon, E. K., Utada, M., Mabuchi, K., & Ozasa, K. (2020). Radiation risk of central nervous system tumors in the Life Span Study of atomic bomb survivors, 1958–2009. *European Journal of Epidemiology*, 35(6), 591–600. <https://doi.org/10.1007/s10654-019-00599-y>
32. Sadetzki, S., Chetrit, A., Freedman, L., Stovall, M., Modan, B., & Novikov, I. (2005). Long-term follow-up for brain tumor development after childhood exposure to ionizing radiation for tinea capitis. *Radiation Research*, 163(4), 424–432. <https://doi.org/10.1667/RR3329>

33. Yamanaka, R., Hayano, A., & Kanayama, T. (2017). Radiation-Induced Meningiomas: An Exhaustive Review of the Literature. *World Neurosurgery*, *97*, 635-644.e8. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.09.094>
34. Raheja, A., & Satyarthee, G. (2017). Sphenoid wing en plaque meningioma development following craniopharyngioma surgery and radiotherapy: Radiation-induced after three decades. *Asian Journal of Neurosurgery*, *12*(03), 358–361. <https://doi.org/10.4103/1793-5482.180946>
35. Strojan, P., Popović, M., & Jereb, B. (2000). Secondary intracranial meningiomas after high-dose cranial irradiation: Report of five cases and review of the literature. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, *48*(1), 65–73. [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(00\)00609-X](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(00)00609-X)
36. Godlewski, B., Drummond, K. J., & Kaye, A. H. (2012). Radiation-induced meningiomas after high-dose cranial irradiation. *Journal of Clinical Neuroscience*, *19*(12), 1627–1635. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2012.05.011>
37. Claus, E. B., Calvocoressi, L., Bondy, M. L., Schildkraut, J. M., Wiemels, J. L., & Wrensch, M. (2011). Family and personal medical history and risk of meningioma: Clinical article. *Journal of Neurosurgery*, *115*(6), 1072–1077. <https://doi.org/10.3171/2011.6.JNS11129>
38. Hielscher, T., Sill, M., Sievers, P., Stichel, D., Brandner, S., Jones, D. T. W., von Deimling, A., Sahm, F., & Maas, S. L. N. (2023). Clinical implementation of integrated molecular-morphologic risk prediction for meningioma. *Brain Pathology*, *33*(3). <https://doi.org/10.1111/bpa.13132>
39. Pawloski, J. A., Fadel, H. A., Huang, Y. W., & Lee, I. Y. (2021). Genomic biomarkers of meningioma: A focused review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(19). <https://doi.org/10.3390/ijms221910222>
40. Claus, E. B., Calvocoressi, L., Bondy, M. L., Schildkraut, J. M., Wiemels, J. L., & Wrensch, M. (2012). Dental x-rays and risk of meningioma. *Cancer*, *118*(18), 4530–4537. <https://doi.org/10.1002/cncr.26625>
41. Claus, E. B., Calvocoressi, L., Bondy, M. L., Wrensch, M., Wiemels, J. L., & Schildkraut, J. M. (2013). Exogenous hormone use, reproductive factors, and risk of

intracranial meningioma in females. *Journal of Neurosurgery*, 118(3), 649–656.
<https://doi.org/10.3171/2012.9.JNS12811>

42. Claus, E. B., Walsh, K. M., Calvocoressi, L., Bondy, M. L., Schildkraut, J. M., Wrensch, M., & Wiemels, J. L. (2012). Cigarette smoking and risk of meningioma: The effect of gender. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 21(6), 943–950. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-11-1059>

43. Xu, P., Luo, H., Huang, G. L., Yin, X. H., Luo, S. Y., & Song, J. K. (2015). Exposure to ionizing radiation during dental X-rays is not associated with risk of developing meningioma: A meta-analysis based on seven case-control studies. *PLoS ONE*, 10(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113210>

44. Smirniotopoulos, J. G., & Jäger, H. R. (2020). Differential Diagnosis of Intracranial Masses. In J. Hodler (Eds.) et. al., *Diseases of the Brain, Head and Neck, Spine 2020–2023: Diagnostic Imaging*. (pp. 93–104). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38490-6_8

45. Magill, S. T., Vagefi, M. R., Ehsan, M. U., & McDermott, M. W. (2020). Sphenoid wing meningiomas. *Handbook of Clinical Neurology*, 170, 37–43. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822198-3.00026-4>

46. Samadian, M., Sharifi, G., Mousavinejad, S. A., Amin, A. A., Ebrahimzadeh, K., Tavassol, H. H., Borghei-Razavi, H., & Rezaei, O. (2020). Surgical Outcomes of Sphenoorbital En Plaque Meningioma: A 10-Year Experience in 57 Consecutive Cases. *World Neurosurgery*, 144, e576–e581. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.09.002>

47. Clynch, A., Richardson, G. E., Mustafa, M. A., Gillespie, C. S., Rathi, N., Bakhsh, A., Zakaria, R., Islim, A. I., Millward, C. P., & Jenkinson, M. D. (2023). Beyond the WHO classification of meningioma: using molecular diagnostics to guide management. *Advances in Clinical Neuroscience & Rehabilitation*. <https://doi.org/10.47795/wvjz9783>

48. Ahmad, Z., Rahim, S., Abdul-Ghafar, J., Chundriger, Q., & Din, N. U. (2023). Events in CNS Tumor Pathology Post-2016 WHO CNS: cIMPACT-NOW Updates and Other Advancements: A Comprehensive Review Plus a Summary of the Salient

Features of 2021 WHO CNS 5. *International Journal of General Medicine*, *16*, 107–127. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S394872>

49. Smith, H. L., Wadhvani, N., & Horbinski, C. (2022). Major Features of the 2021 WHO Classification of CNS Tumors. *Neurotherapeutics*, *19*(6), 1691–1704. <https://doi.org/10.1007/s13311-022-01249-0>

50. Fountain, D. M., Young, A. M. H., & Santarius, T. (2020). Malignant meningiomas. *Handbook of Clinical Neurology*, *170*, 245–250. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822198-3.00044-6>

51. Vagnoni, L., Aburas, S., Giraffa, M., Russo, I., Chiarella, V., Paolini, S., Tini, P., & Minniti, G. (2022). Radiation therapy for atypical and anaplastic meningiomas: an overview of current results and controversial issues. *Neurosurgical Review*, *45*(5), 3019–3033. <https://doi.org/10.1007/s10143-022-01806-3>

52. Maggio, I., Franceschi, E., Tosoni, A., Nunno, V. Di, Gatto, L., Lodi, R., & Brandes, A. A. (2021). Meningioma: Not always a benign tumor. A review of advances in the treatment of meningiomas. *CNS Oncology*, *10*(2). <https://doi.org/10.2217/cns-2021-0003>

53. Higgins, D., Shah, A. H., Komotar, R. J., & Ivan, M. E. (2023). Management of Atypical and Anaplastic Meningiomas. *Neurosurgery Clinics of North America*, *34*(3), 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2023.02.011>

54. Zouaoui, S., Darlix, A., Rigau, V., Mathieu-Daudé, H., Bauchet, F., Bessaoud, F., Fabbro-Peray, P., Trétarre, B., Figarella-Branger, D., Taillandier, L., Loiseau, H., & Bauchet, L. (2018). Descriptive epidemiology of 13,038 newly diagnosed and histologically confirmed meningiomas in France: 2006–2010. *Neurochirurgie*, *64*(1), 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2014.11.013>

55. Ammendola, S., Simbolo, M., Ciaparrone, C., Rizzo, P. C., Caffo, M., Pinna, G., Sala, F., Scarpa, A., & Barresi, V. (2022). Intraventricular Meningiomas: Clinical-Pathological and Genetic Features of a Monocentric Series. *Current Oncology*, *29*(1), 178–185. <https://doi.org/10.3390/curroncol29010017>

56. Karabagli, P., Karabagli, H., Mavi, Z., Demir, F., & Ozkeles, E. Y. (2020). Histopathological and Clinical Features as Prognostic Factors of Atypical

Meningiomas. *Turkish Neurosurgery*, 30(5), 746–757. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.31161-20.1>

57. Alafaci, C., Grasso, G., Granata, F., Salpietro, F. M., & Tomasello, F. (2016). Ossified spinal meningiomas: Clinical and surgical features. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 142, 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2016.01.026>

58. Hua, L., Zhu, H., Deng, J., Tian, M., Jiang, X., Tang, H., Luan, S., Wakimoto, H., Xie, Q., & Gong, Y. (2018). Clinical and prognostic features of spinal meningioma: a thorough analysis from a single neurosurgical center. *Journal of Neuro-Oncology*, 140(3), 639–647. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2993-3>

59. Zhang, H., Ma, L., Shu, C., Dong, L. qiang, Ma, Y. qun, & Zhou, Y. (2020). Spinal Clear Cell Meningiomas: Clinical Features and Factors Predicting Recurrence. *World Neurosurgery*, 134, e1062–e1076. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.11.093>

60. Islim, A. I., Mohan, M., Moon, R. D. C., Srikandarajah, N., Mills, S. J., Brodbelt, A. R., & Jenkinson, M. D. (2019). Incidental intracranial meningiomas: a systematic review and meta-analysis of prognostic factors and outcomes. *Journal of Neuro-Oncology*, 142(2), 211–221. <https://doi.org/10.1007/s11060-019-03104-3>

61. Nakasu, S., Notsu, A., & Nakasu, Y. (2021). Prevalence of incidental meningiomas and gliomas on MRI: a meta-analysis and meta-regression analysis. *Acta Neurochirurgica*, 163(12), 3401–3415. <https://doi.org/10.1007/s00701-021-04919-8>

62. Celtikci, E., Kaymaz, A. M., Akgul, G., Karaaslan, B., Emmez, O. H., & Borcek, A. (2018). Retrospective Analysis of 449 Intracranial Meningioma Patients Operated Between 2007 and 2013 at a Single Institute. *Turkish Neurosurgery*, 28(1), 1–6. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.17866-16.1>

63. Graillon, T., Regis, J., Barlier, A., Brue, T., Dufour, H., & Buchfelder, M. (2020). Parasellar Meningiomas. *Neuroendocrinology*, 110(9–10), 780–796. <https://doi.org/10.1159/000509090>

64. Zhang, R., Shen, Y., Bai, Y., Zhang, X., Wei, W., Lin, R., Feng, Q., Wang, M., Zhang, M., Nittka, M., Koerzdoerfer, G., & Wang, M. (2021). Application of magnetic resonance fingerprinting to differentiate grade I transitional and fibrous

meningiomas from meningothelial meningiomas. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 11(4), 1447–1457. <https://doi.org/10.21037/qims-20-732>

65. Tsuchida, T., Matsumoto, M., Shirayama, Y., Kasai, H., & Kawamoto, K. (1996). Observation of psammoma bodies in cultured meningiomas: Analysis of three-dimensional structure using scanning and transmission electron microscopy. *Ultrastructural Pathology*, 20(3), 241–247. <https://doi.org/10.3109/01913129609016321>

66. Kubota, T., Sato, K., Yamamoto, S., & Hirano, A. (1984). Ultrastructural study of the formation of psammoma bodies in fibroblastic meningioma. *Journal of Neurosurgery*, 60(3), 512–517. <https://doi.org/10.3171/jns.1984.60.3.0512>

67. Berghoff, A. S., Kresl, P., Rajky, O., Widhalm, G., Ricken, G., Hainfellner, J. A., Marosi, C., Birner, P., & Preusser, M. (2020). Analysis of the inflammatory tumor microenvironment in meningeal neoplasms. *Clinical Neuropathology*, 39(11), 256–262. <https://doi.org/10.5414/NP301156>

68. Devia, D. A., Devia, D. A. A., Meek, E., Rivera, D., & Feo-Lee, O. (2021). Fibroblastic meningioma mimicking an intracerebral hemorrhage: Case report. *Oxford Medical Case Reports*, 2021(8), 300–303. <https://doi.org/10.1093/omcr/omab065>

69. Singh, A., Mishra, A. K., Ylaya, K., Hewitt, S. M., Sharma, K. C., & Saxena, S. (2012). Wilms tumor-1, claudin-1 and ezrin are useful immunohistochemical markers that help to distinguish schwannoma from fibroblastic meningioma. *Pathology and Oncology Research*, 18(2), 383–389. <https://doi.org/10.1007/s12253-011-9456-x>

70. Yang, L., Ren, G., & Tang, J. (2020). Intracranial angiomatous meningioma: A clinicopathological study of 23 cases. *International Journal of General Medicine*, 13, 1653–1659. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S292202>

71. Ahmed, Z., & Prayson, R. A. (2015). Angiomatous meningioma in Sturge-Weber syndrome. *Journal of Clinical Neuroscience*, 22(6), 1066–1068. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2015.01.006>

72. Ito, S., Iizuka, Y., Aihara, M., Koshi, H., Mieda, T., Takasawa, E., Ishiwata, S., Tomomatsu, Y., Honda, A., Inomata, K., & Chikuda, H. (2021). Angiomatous

Meningioma in the Craniocervical Junction. *Case Reports in Orthopedics*, 2021, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2021/6651160>

73. Liu, X., Han, T., Wang, Y., Liu, H., Huang, X., & Zhou, J. (2023). Differentiating angiomatous meningioma from atypical meningioma using histogram analysis of apparent diffusion coefficient maps. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 13(6). <https://doi.org/10.21037/qims-22-1224>

74. Chen, R., & Aghi, M. K. (2020). Atypical meningiomas. *Handbook of Clinical Neurology*, 170, 233–244. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822198-3.00043-4>

75. Wilson, T. A., Huang, L., Ramanathan, D., Lopez-Gonzalez, M., Pillai, P., De Los Reyes, K., Kumal, M., & Boling, W. (2020). Review of Atypical and Anaplastic Meningiomas: Classification, Molecular Biology, and Management. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.565582>

76. Domingo, R. A., Tripathi, S., Vivas-Buitrago, T., Lu, V. M., Chaichana, K. L., & Quiñones-Hinojosa, A. (2020). Mitotic Index and Progression-Free Survival in Atypical Meningiomas. *World Neurosurgery*, 142, 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.06.189>

77. Hueng, D. Y., Yao-Feng, L. I., & Sytwu, H. K. (2014). Atypical meningiomas. *Journal of Neurosurgery*, 120(3), 781. <https://doi.org/10.3171/2012.1.JNS111904>

78. Champeaux, C., Jecko, V., Houston, D., Thorne, L., Dunn, L., Fersht, N., Khan, A. A., & Resche-Rigon, M. (2019). Malignant meningioma: An international multicentre retrospective study. *Clinical Neurosurgery*, 85(3), E461–E468. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyy610>

79. Maiuri, F., Mariniello, G., Barbato, M., Corvino, S., Guadagno, E., Chiariotti, L., & Del Basso De Caro, M. (2022). Malignant intraventricular meningioma: literature review and case report. *Neurosurgical Review*, 45(1), 151–166. <https://doi.org/10.1007/s10143-021-01585-3>

80. Di Nunno, V., Giannini, C., Asioli, S., Conti, A., Furtner, J., Balestrini, D., & Tosoni, A. (2022). Diagnostic and Therapeutic Strategy in Anaplastic (Malignant)

Meningioma, CNS WHO Grade 3. *Cancers*, 14(19).
<https://doi.org/10.3390/cancers14194689>

81. Alahmed, Y., Mohammed, M. H. A., Ismail, M., Omer, S., Alghamdi, A. A., & Abu-Sulaiman, R. (2022). Metastatic Malignant Meningioma Extending Into the Right Ventricle. *Case*, 6(10), 471–474. <https://doi.org/10.1016/j.case.2022.07.003>

82. Buerki, R. A., Horbinski, C. M., Kruser, T., Horowitz, P. M., James, C. D., & Lukas, R. V. (2018). An overview of meningiomas. *Future Oncology*, 14(21), 2161–2177. <https://doi.org/10.2217/fon-2018-0006>

83. Ersoz, S., Yilmaz, Z. S., Eyuboglu, I., & Yazar, U. (2019). Xanthomatous meningioma: A case report. *Turkish Neurosurgery*, 29(1), 141–144. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.19561-16.1>

84. Ng, J., Celebre, A., Munoz, D. G., Keith, J. L., & Karamchandani, J. R. (2015). Sox10 is superior to s100 in the diagnosis of meningioma. *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*, 23(3), 215–219. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000072>

85. Ramos, L. I. C., Coutinho, I., Cardoso, J. C., Garcia, H., & Cordeiro, M. R. (2015). Frontal cutaneous meningioma – Case report. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 90(3), S130–S133. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20153798>

86. Toland, A., Huntoon, K., & Dahiya, S. M. (2021). Meningioma: A Pathology Perspective. *Neurosurgery*, 89(1), 11–21. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyab001>

87. Solomon, D. A., & Pekmezci, M. (2020). Pathology of meningiomas. *Handbook of Clinical Neurology*, 169, 87–99. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804280-9.00005-6>

88. Miyagishima, D. F., Sundaresan, V., Gutierrez, A. G., Barak, T., Yeung, J., Moliterno, J., McGuone, D., Claus, E. B., & Günel, M. (2023). A systematic review and individual participant data meta-analysis of gonadal steroid hormone receptors in meningioma. *Journal of Neurosurgery*, 139(6), 1638–1647. <https://doi.org/10.3171/2023.3.JNS221838>

89. Agopiantz, M., Carnot, M., Denis, C., Martin, E., & Gauchotte, G. (2023). Hormone Receptor Expression in Meningiomas: A Systematic Review. *Cancers*, *15*(3). <https://doi.org/10.3390/cancers15030980>
90. Menke, J. R., Raleigh, D. R., Gown, A. M., Thomas, S., Perry, A., & Tihan, T. (2015). Somatostatin receptor 2a is a more sensitive diagnostic marker of meningioma than epithelial membrane antigen. *Acta Neuropathologica*, *130*(3), 441–443. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1459-3>
91. Anis, S. E., Lotfalla, M., Zain, M., Kamel, N. N., & Soliman, A. A. (2018). Value of SSTR2A and claudin-1 in differentiating meningioma from schwannoma and hemangiopericytoma. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *6*(2), 248–253. <https://doi.org/10.3889/OAMJMS.2018.062>
92. Graillon, T., Sanson, M., Campello, C., Idbaih, A., Peyre, M., Peyriere, H., Basset, N., Autran, D., Roche, C., Kalamarides, M., Roche, P. H., Fuentes, S., Tabouret, E., Barrie, M., Cohen, A., Honore, S., Boucekine, M., Baumstarck, K., Figarella-Branger, D., ... Chinot, O. L. (2020). Everolimus and octreotide for patients with recurrent meningioma: Results from the phase II CEVOREM trial. *Clinical Cancer Research*, *26*(3), 552–557. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-2109>
93. Fodi, C., Skardelly, M., Hempel, J. M., Hoffmann, E., Castaneda, S., Tabatabai, G., Honegger, J., Tatagiba, M., Schittenhelm, J., & Behling, F. (2022). The immunohistochemical expression of SSTR2A is an independent prognostic factor in meningioma. *Neurosurgical Review*, *45*(4), 2671–2679. <https://doi.org/10.1007/s10143-021-01651-w>
94. Liu, N., Song, S. Y., Jiang, J. B., Wang, T. J., & Yan, C. X. (2020). The prognostic role of Ki-67/MIB-1 in meningioma: A systematic review with meta-analysis. *Medicine (United States)*, *99*(9). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018644>
95. Mirian, C., Skyrman, S., Bartek, J., Jensen, L. R., Kihlström, L., Förander, P., Orrego, A., & Mathiesen, T. (2020). The Ki-67 proliferation index as a marker of time to recurrence in intracranial meningioma. *Neurosurgery*, *87*(6), 1289–1298. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyaa226>

96. Choi, Y., Lim, D. H., Yu, J. Il, Jo, K., Nam, D. H., Seol, H. J., Lee, J. Il, Kong, D. S., Suh, Y. L., & Nam, H. (2018). Prognostic Value of Ki-67 Labeling Index and Postoperative Radiotherapy in WHO Grade II Meningioma. *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*, *41*(1), 18–23. <https://doi.org/10.1097/COC.0000000000000224>
97. Moon, C. M., Lee, Y. Y., Kim, D. Y., Yoon, W., Baek, B. H., Park, J. H., Heo, S. H., Shin, S. S., & Kim, S. K. (2023). Preoperative prediction of Ki-67 and p53 status in meningioma using a multiparametric MRI-based clinical-radiomic model. *Frontiers in Oncology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1138069>
98. Kalamarides, M., & Peyre, M. (2017). Dramatic Shrinkage with Reduced Vascularization of Large Meningiomas After Cessation of Progestin Treatment. *World Neurosurgery*, *101*, 814.e7-814.e10. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.03.013>
99. Malaize, H., Samoyeau, T., Zanello, M., Roux, A., Benzakoun, J., Peeters, S., Zah-Bi, G., Edjlali, M., Tauziede-Espariat, A., Dezamis, E., Parraga, E., Chrétien, F., Varlet, P., Plu-Bureau, G., Oppenheim, C., & Pallud, J. (2021). Evolution of the neurosurgical management of progestin-associated meningiomas: a 23-year single-center experience. *Journal of Neuro-Oncology*, *152*(2), 279–288. <https://doi.org/10.1007/s11060-021-03696-9>
100. ter Wengel, P. V., Martin, E., Gooren, L., Den Heijer, M., & Peerdeman, S. M. (2016). Meningiomas in three male-to-female transgender subjects using oestrogens/progestogens and review of the literature. *Andrologia*, *48*(10), 1130–1137. <https://doi.org/10.1111/and.12550>
101. Apra, C., Peyre, M., & Kalamarides, M. (2018). Current treatment options for meningioma. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *18*(3), 241–249. <https://doi.org/10.1080/14737175.2018.1429920>
102. D'Ambrosio, A. L., & Bruce, J. N. (2003). Treatment of meningioma: An update. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, *3*(3), 206–214. <https://doi.org/10.1007/s11910-003-0080-3>
103. Goldbrunner, R., Stavrinou, P., Jenkinson, M. D., Sahm, F., Mawrin, C., Weber, D. C., Preusser, M., Minniti, G., Lund-Johansen, M., Lefranc, F., Houdart, E.,

Sallabanda, K., Le Rhun, E., Nieuwenhuizen, D., Tabatabai, G., Soffiatti, R., & Weller, M. (2021). EANO guideline on the diagnosis and management of meningiomas. *Neuro-Oncology*, 23(11), 1821–1834. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab150>

104. Qin, C., Huang, M., Pan, Y., Li, Y., Long, W., & Liu, Q. (2021). Brain-invasive meningiomas: molecular mechanisms and potential therapeutic options. *Brain Tumor Pathology*, 38(3), 156–172. <https://doi.org/10.1007/s10014-021-00399-x>

105. Pinzi, V., Bisogno, I., Prada, F., Ciusani, E., & Fariselli, L. (2018). Radiotherapy of meningioma: a treatment in need of radiobiological research. *International Journal of Radiation Biology*, 94(7), 621–627. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1478157>

106. Lee, G., & Shih, H. A. (2023). The Role of Radiotherapy in the Treatment of Higher-Grade Meningioma. *Neurosurgery Clinics of North America*, 34(3), 463–478. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2023.02.013>

107. Caruso, G., Elbabaa, S. K., Gonzalez-Lopez, P., Barresi, V., Passalacqua, M., & Caffo, M. (2015). Innovative therapeutic strategies in the treatment of meningioma. *Anticancer Research*, 35(12), 6391–6400.

108. Moskalenko R.A. Pathological biomineralization of soft tissue: monograph /R. A. Moskalenko, A. M. Romaniuk. – Sumy : Sumy State University, 2020. – 127. ISBN 978-966-657-829-0

109. de Faria, L. L., Babler, F., Ferreira, L. C., de Noronha Junior, O. A., Marsolla, F. L., & Ferreira, D. L. (2020). Soft tissue calcifications: A pictorial essay. *Radiologia Brasileira*, 53(5), 337–344. <https://doi.org/10.1590/0100-3984.2019.0100>

110. Yalcin, E., Ararat, E., & Yalcin, E. (2020). Prevalence of soft tissue calcifications in the head and neck region: A cone-beam computed tomography study. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 23(6), 759–763. https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_269_19

111. Black, A. S., & Kanat, I. O. (1985). A review of soft tissue calcifications. *Journal of Foot Surgery*, 24(4), 243–250.

112. Kirsch, T. (2012). Biomineralization-an active or passive process? *Connective Tissue Research*, 53(6), 438–445. <https://doi.org/10.3109/03008207.2012.730081>
113. Murshed, M., & McKee, M. D. (2010). Molecular determinants of extracellular matrix mineralization in bone and blood vessels. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 19(4), 359–365. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e3283393a2b>
114. Shroff, R. C., & Shanahan, C. M. (2007). The vascular biology of calcification. *Seminars in Dialysis*, 20(2), 103–109. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2007.00255.x>
115. Kirsch, T. (2006). Determinants of pathological mineralization. *Current Opinion in Rheumatology*, 18(2), 174–180. <https://doi.org/10.1097/01.bor.0000209431.59226.46>
116. Arnold, A., Dennison, E., Kovacs, C. S., Mannstadt, M., Rizzoli, R., Brandi, M. L., Clarke, B., & Thakker, R. V. (2021). Hormonal regulation of biomineralization. *Nature Reviews Endocrinology*, 17(5), 261–275. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00477-2>
117. Persy, V., & D’Haese, P. (2009). Vascular calcification and bone disease: the calcification paradox. *Trends in Molecular Medicine*, 15(9), 405–416. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2009.07.001>
118. Ruggeri, A. G., Fazzolari, B., Colistra, D., Cappelletti, M., Marotta, N., & Delfini, R. (2017). Calcified Spinal Meningiomas. *World Neurosurgery*, 102, 406–412. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.03.045>
119. Adams, L. C., Böker, S. M., Bender, Y. Y., Fallenberg, E. M., Wagner, M., Buchert, R., Hamm, B., & Makowski, M. R. (2017). Assessment of intracranial meningioma-associated calcifications using susceptibility-weighted MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 46(4), 1177–1186. <https://doi.org/10.1002/jmri.25614>
120. Undale, A. H., Westendorf, J. J., Yaszemski, M. J., & Khosla, S. (2009). Mesenchymal stem cells for bone repair and metabolic bone diseases. *Mayo Clinic Proceedings*, 84(10), 893–902. <https://doi.org/10.4065/84.10.893>

121. Abdelrazik, H., Giordano, E., Brodano, G. B., Griffoni, C., De Falco, E., & Pelagalli, A. (2019). Substantial overview on mesenchymal stem cell biological and physical properties as an opportunity in translational medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21). <https://doi.org/10.3390/ijms20215386>
122. Granero-Molto, F., Weis, J. A., Longobardi, L., & Spagnoli, A. (2008). Role of mesenchymal stem cells in regenerative medicine: Application to bone and cartilage repair. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 8(3), 255–268. <https://doi.org/10.1517/14712598.8.3.255>
123. Li, G., Wu, F., Huang, J., Du, F., Zhang, J., Zuo, Z., Jiang, R., Yun, H., & Wang, P. (2023). Multinodular intraventricular lymphoplasmacyte-rich meningioma with significant calcification: a case description. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 13(9), 6323–6328. <https://doi.org/10.21037/qims-22-1299>
124. Liu, J., Lin, Y., Li, J., Fan, J., & Yang, X. (2022). Spinal epidural angiolipoma with a special pattern of calcification misdiagnosed as meningioma. *Acta Neurologica Belgica*, 122(2), 575–577. <https://doi.org/10.1007/s13760-022-01881-9>
125. Kobayashi, K., Ando, K., Nakashima, H., Machino, M., Kanbara, S., Ito, S., Inoue, T., Yamaguchi, H., Koshimizu, H., Segi, N., & Imagama, S. (2021). Characteristics of cases with and without calcification in spinal meningiomas. *Journal of Clinical Neuroscience*, 89, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2021.04.019>
126. Horbinski, C., Berger, T., Packer, R. J., & Wen, P. Y. (2022). Clinical implications of the 2021 edition of the WHO classification of central nervous system tumours. *Nature Reviews Neurology*, 18(9), 515–529. <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00679-w>
127. Sahm, F., Schrimpf, D., Stichel, D., Jones, D. T. W., Hielscher, T., Schefzyk, S., Okonechnikov, K., Koelsche, C., Reuss, D. E., Capper, D., Sturm, D., Wirsching, H. G., Berghoff, A. S., Baumgarten, P., Kratz, A., Huang, K., Wefers, A. K., Hovestadt, V., Sill, M., ... von Deimling, A. (2017). DNA methylation-based classification and grading system for meningioma: a multicentre, retrospective analysis. *The Lancet Oncology*, 18(5), 682–694. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30155-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30155-9)

128. Bailo, M., Gagliardi, F., Boari, N., Spina, A., Piloni, M., Castellano, A., & Mortini, P. (2023). Meningioma and Other Meningeal Tumors. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1405, 73–97. https://doi.org/10.1007/978-3-031-23705-8_3
129. Hallinan, J. T. P. D., Hegde, A. N., & Lim, W. E. H. (2013). Dilemmas and diagnostic difficulties in meningioma. *Clinical Radiology*, 68(8), 837–844. <https://doi.org/10.1016/j.crad.2013.03.007>
130. Tyagi, R., Vasishta, R., Kakkar, N., Radotra, B., & Mukherjee, K. (2014). Secretory meningioma: A diagnostic pitfall. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 57(2), 183–186. <https://doi.org/10.4103/0377-4929.134659>
131. Kurokawa, G. A., Hamamoto Filho, P. T., Delafiori, J., Galvani, A. F., de Oliveira, A. N., Dias-Audibert, F. L., Catharino, R. R., Pardini, M. I. M. C., Zanini, M. A., Lima, E. de O., & Ferrasi, A. C. (2023). Differential Plasma Metabolites between High- and Low-Grade Meningioma Cases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1). <https://doi.org/10.3390/ijms24010394>
132. Nagai Yamaki, V., de Souza Godoy, L. F., Alencar Bandeira, G., Tavares Lucato, L., Correa Lordelo, G., Fontoura Solla, D. J., Santana Neville, I., Jacobsen Teixeira, M., & Silva Paiva, W. (2021). Dural-based lesions: is it a meningioma? *Neuroradiology*, 63(8), 1215–1225. <https://doi.org/10.1007/s00234-021-02632-y>
133. Vidavsky, N., Kunitake, J. A. M. R., & Estroff, L. A. (2021). Multiple Pathways for Pathological Calcification in the Human Body. *Advanced Healthcare Materials*, 10(4). <https://doi.org/10.1002/adhm.202001271>
134. Veis, A., & Dorvee, J. R. (2013). Biomineralization mechanisms: A new paradigm for crystal nucleation in organic matrices. *Calcified Tissue International*, 93(4), 307–315. <https://doi.org/10.1007/s00223-012-9678-2>
135. Daculsi, G., Bouler, J. M., & Legeros, R. Z. (1997). Adaptive crystal formation in normal and pathological calcifications in synthetic calcium phosphate and related biomaterials. *International Review of Cytology*, 172, 129–191. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(08\)62360-8](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(08)62360-8)

136. Brylka, L., & Jahnen-Dechent, W. (2013). The role of fetuin-A in physiological and pathological mineralization. *Calcified Tissue International*, 93(4), 355–364. <https://doi.org/10.1007/s00223-012-9690-6>
137. Aydin Ozturk, P., Yilmaz, T., Ozturk, U., & Aydin, K. (2020). Pediatric Orbital Roof Intradiploic Meningioma Operated by Eyebrow Incision. *Pediatric Neurosurgery*, 55(5), 309–312. <https://doi.org/10.1159/000511282>
138. Shah, D. S., Reddy, R. V., Doğruel, Y., Asfour, M. Z., Pour-Rashidi, A., Haider, A. S., Sharma, M., Aoun, S. G., Umana, G. E., & Palmisciano, P. (2023). Calcified spinal meningiomas: a systematic review of clinical characteristics, treatment strategies, and outcomes. *Journal of Neuro-Oncology*, 162(2), 295–305. <https://doi.org/10.1007/s11060-023-04291-w>
139. Paolini, F., Scalia, G., Graziano, F., Umana, G. E., Maugeri, R., Iacopino, D. G., & Nicoletti, G. F. (2022). Ossified metaplastic meningiomas: A systematic review on a rare subset of “brain stones.” *Brain and Spine*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.bas.2022.101189>
140. Matsumoto, H., Shimokawa, N., Sato, H., & Takami, T. (2023). Adjuvant multimodal treatment for spinal intradural extramedullary capillary hemangioma with subpial growth: illustrative case. *Journal of Neurosurgery: Case Lessons*, 5(15). <https://doi.org/10.3171/CASE2314>
141. CAMP, J. D. (1950). Significance of intracranial calcification in the roentgenologic diagnosis of intracranial neoplasms. *Radiology*, 55(5), 659–668. <https://doi.org/10.1148/55.5.659>
142. Dierssen, G., Figolls, J., Trigueros, F., & Vazquez, A. (1984). A pontine astrocytoma with radiological evidence of very extensive and dense calcification. Case report. *Neurochirurgia*, 27(6), 190–192. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1054218>
143. Matsuoka, T., Oya, N., Imai, A., Sun, W., Kitabayashi, Y., Akazawa, K., Yamada, K., Ikeda, K., Matoba, S., & Narumoto, J. (2024). Intracranial calcifications associated with factors related and unrelated to atherosclerosis in older people: A community dwelling cohort study. *Heliyon*, 10(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30011>

144. Yudhanto, H. P., Ferriastuti, W., & Mukherji, S. K. (2024). Calcified cystic lesion in cerebellum: A case report. *Radiology Case Reports*, 19(7), 2791–2796. <https://doi.org/10.1016/j.radcr.2024.03.061>
145. Lucci, C., Rissanen, I., Takx, R. A. P., van der Kolk, A. G., Harteveld, A. A., Dankbaar, J. W., Geerlings, M. I., de Jong, P. A., & Hendrikse, J. (2024). Imaging of intracranial arterial disease: a comparison between MRI and unenhanced CT. *Frontiers in Radiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fradi.2024.1338418>
146. Aydın, H. E., Kızmazoglu, C., Kaya, I., Husemoglu, B., Sozer, G., Havitcioglu, H., & Arslantas, A. (2019). Biomechanical properties of the cranial dura mater with puncture defects: An In Vitro study. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 62(4), 382–388. <https://doi.org/10.3340/jkns.2018.0130>
147. Kizmazoglu, C., Aydın, H. E., Kaya, I., Atar, M., Husemoglu, B., Kalemci, O., Sozer, G., & Havitcioglu, H. (2019). Comparison of biomechanical properties of dura mater substitutes and cranial human dura mater: An in vitro study. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 62(6), 635–642. <https://doi.org/10.3340/jkns.2019.0122>
148. Percy, Q., Tomlinson, J., Niestrawska, J. A., Möbius, D., Zhang, M., & Zwirner, J. (2022). Systematic review and meta-analysis of the biomechanical properties of the human dura mater applicable in computational human head models. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 21(3), 755–770. <https://doi.org/10.1007/s10237-022-01566-5>
149. Kemp, W. J., Tubbs, R. S., & Cohen-Gadol, A. A. (2012). The innervation of the cranial dura mater: Neurosurgical case correlates and a review of the literature. *World Neurosurgery*, 78(5), 505–510. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2011.10.045>
150. Yalcin, A., Ceylan, M., Bayraktutan, O. F., Sonkaya, A. R., & Yuce, I. (2016). Age and gender related prevalence of intracranial calcifications in CT imaging; data from 12,000 healthy subjects. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 78, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2016.07.008>
151. Sedghizadeh, P. P., Nguyen, M., & Enciso, R. (2012). Intracranial physiological calcifications evaluated with cone beam CT. *Dentomaxillofacial Radiology*, 41(8), 675–678. <https://doi.org/10.1259/dmfr/33077422>

152. Norman, D., Diamond, C., & Boyd, D. (1978). Relative detectability of intracranial calcifications on computed tomography and skull radiography. *Journal of Computer Assisted Tomography*, 2(1), 61–64. <https://doi.org/10.1097/00004728-197801000-00009>
153. Adeeb, N., Mortazavi, M. M., Tubbs, R. S., & Cohen-Gadol, A. A. (2012). The cranial dura mater: A review of its history, embryology, and anatomy. *Child's Nervous System*, 28(6), 827–837. <https://doi.org/10.1007/s00381-012-1744-6>
154. Adeeb, N., Deep, A., Griessenauer, C. J., Mortazavi, M. M., Watanabe, K., Loukas, M., Tubbs, R. S., & Cohen-Gadol, A. A. (2013). The intracranial arachnoid mater: A comprehensive review of its history, anatomy, imaging, and pathology. *Child's Nervous System*, 29(1), 17–33. <https://doi.org/10.1007/s00381-012-1910-x>
155. Hartmann, K., Stein, K. P., Neyazi, B., & Sandalcioglu, I. E. (2021). Optical coherence tomography of cranial dura mater: Microstructural visualization in vivo. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 200. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2020.106370>
156. Witten, A., Marotta, D., & Cohen-Gadol, A. (2021). Developmental innervation of cranial dura mater and migraine headache: A narrative literature review. *Headache*, 61(4), 569–575. <https://doi.org/10.1111/head.14102>
157. Ghorbanlou, M., Moradi, F., & Mehdizadeh, M. (2022). Frequency, shape, and estimated volume of intracranial physiologic calcification in different age groups investigated by brain computed tomography scan: a retrospective study. *Anatomy and Cell Biology*, 55(1), 63–71. <https://doi.org/10.5115/acb.21.137>
158. Nakamura, N., Iwasaki, Y., Hida, K., Abe, H., Fujioka, Y., & Nagashima, K. (2000). Dural band pathology in syringomyelia with Chiari type I malformation. *Neuropathology*, 20(1), 38–43. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1789.2000.00281.x>
159. Kostić, V. S., & Petrović, I. N. (2017). Brain Calcification and Movement Disorders. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 17(1). <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0710-9>
160. Taglia, I., Mignarri, A., Olgiati, S., Menci, E., Petrocelli, P. L., Breedveld, G. J., Scaglione, C., Martinelli, P., Federico, A., Bonifati, V., & Dotti, M. T. (2014).

Primary familial brain calcification: Genetic analysis and clinical spectrum. *Movement Disorders*, 29(13), 1691–1695. <https://doi.org/10.1002/mds.26053>

161. Whitehead, M. T., Oh, C., Raju, A., & Choudhri, A. F. (2015). Physiologic pineal region, choroid plexus, and dural calcifications in the first decade of life. *American Journal of Neuroradiology*, 36(3), 575–580. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4153>

162. Al Hajri, F., Sirasanagandla, S. R., Boudaka, A., Al Dhuhli, H., & Al Ajmi, E. (2023). Physiological Intracranial Calcifications in Children A computed tomography-based study. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 23(2), 227–232. <https://doi.org/10.18295/SQUMJ.9.2022.058>

163. Doyle, A. J., & Anderson, G. D. (2006). Physiologic Calcification of the Pineal Gland in Children on Computed Tomography: Prevalence, Observer Reliability and Association with Choroid Plexus Calcification. *Academic Radiology*, 13(7), 822–826. <https://doi.org/10.1016/j.acra.2006.04.004>

164. Gonçalves, F. G., Caschera, L., Teixeira, S. R., Viaene, A. N., Pinelli, L., Mankad, K., Alves, C. A. P. F., Ortiz-Gonzalez, X. R., Andronikou, S., & Vossough, A. (2020). Intracranial calcifications in childhood: Part 1. *Pediatric Radiology*, 50(10), 1424–1447. <https://doi.org/10.1007/s00247-020-04721-1>

165. Gonçalves, F. G. F. G., Caschera, L., Teixeira, S. R., Viaene, A. N., Pinelli, L., Mankad, K., Alves, C. A. P. F., Ortiz-Gonzalez, X. R., Andronikou, S., & Vossough, A. (2020). Intracranial calcifications in childhood: Part 2. *Pediatric Radiology*, 50(10), 1424–1447. <https://doi.org/10.1007/s00247-020-04716-y>

166. Ritchie, W. G. M., & Davison, A. M. (1974). Dural calcification: A complication of prolonged periodic haemodialysis. *Clinical Radiology*, 25(3), 349–353. [https://doi.org/10.1016/S0009-9260\(74\)80166-2](https://doi.org/10.1016/S0009-9260(74)80166-2)

167. Dorenbeck, U., Leingärtner, T., Bretschneider, T., Krämer, B. K., & Feuerbach, S. (2002). Tentorial and dural calcification with tertiary hyperparathyroidism: A rare entity in chronic renal failure. *European Radiology*, 12(SUPPL. 3). <https://doi.org/10.1007/s00330-002-1406-2>

168. Malecki, A., Pawloski, J., Anzalone, A., Shaftel, K., Fadel, H. A., & Lee, I. (2024). Compressive myelopathy from diffuse spinal dural calcifications in a patient with end-stage renal disease: illustrative case. *Journal of Neurosurgery: Case Lessons*, 7(9). <https://doi.org/10.3171/CASE23641>

169. Oyama, Y., Kazama, J. J., Fukagawa, M., Arakawa, Y., & Ezuka, I. (2010). Ectopic ossification in the cranial dura mater in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *NDT Plus*, 3(1), 64–67. <https://doi.org/10.1093/ndtplus/sfp115>

170. Zelasko, S., Hollingshead, M., Castillo, M., & Bouldin, T. W. (2008). CT and MR imaging of progressive dural involvement by nephrogenic systemic fibrosis. *American Journal of Neuroradiology*, 29(10), 1880–1882. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1225>

171. Pogorielov, M., Kravtsova, A., Reilly, G. C., Deineka, V., Tetteh, G., Kalinkevich, O., Pogorielova, O., Moskalenko, R., & Tkach, G. (2017). Experimental evaluation of new chitin–chitosan graft for duraplasty. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 28(2). <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5845-3>

172. Kiyoshi, T., Yoshihiro, M., Kazuya, Y., Kazu, K., Hirokazu, S., Kenichi, K., & Yasuharu, N. (2023). Dural reconstruction following resection of ventral and lateral spinal cord meningiomas: Fenestrated Durotomy with Oversized Graft technique. *Journal of Clinical Neuroscience*, 116, 120–124. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2023.09.003>

173. Arima, H., Hasegawa, T., Yamato, Y., Yoshida, G., Banno, T., Oe, S., Mihara, Y., Ide, K., Watanabe, Y., Nakai, K., Kurosu, K., & Matsuyama, Y. (2023). Postoperative neurological complications in intradural extramedullary tumors: A 10-year experience of a single center. *Neurochirurgie*, 69(5). <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2023.101476>

174. Ghadirpour, R., Nasi, D., Iaccarino, C., Romano, A., Motti, L., Sabadini, R., Valzania, F., & Servadei, F. (2019). Intraoperative neurophysiological monitoring for intradural extramedullary spinal tumors: Predictive value and relevance of D-wave amplitude on surgical outcome during a 10-year experience. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 30(2), 259–267. <https://doi.org/10.3171/2018.7.SPINE18278>

175. Guo, Z., Wan, J., & Zhao, B. (2021). Extensive craniospinal disseminated metastasis after the resection of intradural extramedullary ependymoma in the craniocervical junction: a case report and literature review. *International Journal of Neuroscience*, *131*(9), 919–926. <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1759585>

176. Balasa, A., Kunert, P., Dziedzic, T., Bielecki, M., Kujawski, S., & Marchel, A. (2021). Comparison of dural grafts and methods of graft fixation in Chiari malformation type I decompression surgery. *Scientific Reports*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94179-4>

177. Adeleye, A. O. (2021). Posttraumatic leptomeningeal cyst capsule as a cost-free autograft for its repair: case illustrated technical reports. *Neurosurgical Review*, *44*(3), 1775–1778. <https://doi.org/10.1007/s10143-020-01364-6>

178. Attenello, F. J., McGirt, M. J., Garcés-Ambrossi, G. L., Chaichana, K. L., Carson, B., & Jallo, G. I. (2009). Suboccipital decompression for Chiari I malformation: Outcome comparison of duraplasty with expanded polytetrafluoroethylene dural substitute versus pericranial autograft. *Child's Nervous System*, *25*(2), 183–190. <https://doi.org/10.1007/s00381-008-0700-y>

179. De Pedro-Cuesta, J., Almazán-Isla, J., Tejedor-Romero, L., Ruiz-Tovar, M., Avellanal, F., Rábano, A., Calero, M., & García López, F. J. (2021). Human prion disease surveillance in Spain, 1993-2018: an overview. *Prion*, *15*(1), 94–106. <https://doi.org/10.1080/19336896.2021.1933873>

180. Sakai, K., Hamaguchi, T., Sanjo, N., Murai, H., Iwasaki, Y., Hamano, T., Honma, M., Noguchi-Shinohara, M., Nozaki, I., Nakamura, Y., Kitamoto, T., Harada, M., Mizusawa, H., & Yamada, M. (2020). Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. *Journal of the Neurological Sciences*, *418*. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117094>

181. Iwasaki, Y., Imamura, K., Iwai, K., Kobayashi, Y., Akagi, A., Mimuro, M., Miyahara, H., Kitamoto, T., & Yoshida, M. (2018). Autopsied case of non-plaque-type dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease presenting with extensive amyloid- β deposition. *Neuropathology*, *38*(5), 549–556. <https://doi.org/10.1111/neup.12503>

182. Ma, H., Sun, Y., Tang, Y., Shen, Y., Kan, Z., Li, Q., Fang, S., Lu, Y., Zhou, X., & Li, Z. (2021). Robust Electrospun Nanofibers from Chemosynthetic Poly(4-hydroxybutyrate) as Artificial Dural Substitute. *Macromolecular Bioscience*, 21(7). <https://doi.org/10.1002/mabi.202100134>

183. Wang, Y., Guo, Q., Wang, W., Wang, Y., Fang, K., Wan, Q., Li, H., & Wu, T. (2022). Potential use of bioactive nanofibrous dural substitutes with controlled release of IGF-1 for neuroprotection after traumatic brain injury. *Nanoscale*, 14(48), 18217–18230. <https://doi.org/10.1039/d2nr06081g>

184. Nouri, M., Schneider, J. R., Shah, K. A., Katz, J. M., & Dehdashti, A. R. (2020). Sphenoid Wing Meningioma with Surgical Revascularization of an Injured Anterior Temporal Artery. *World Neurosurgery*, 140, 192. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.04.223>

185. Denysenko, A., Danilchenko, S., Stepanenko, A., Chivanov, V., & Moskalenko, R. (2024). A Comprehensive Study of Meningioma Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. *Microscopy and Microanalysis*. <https://doi.org/10.1093/mam/ozae020>

186. Denysenko, A. P., Piddubnyi, A. M., Tkachenko, I. A., Shubin, P. A., Tarabarov, S. I., & Moskalenko, R. A. (2023). A comprehensive study of dura mater biomineralization: morphological, crystallographic, and immunohistochemical aspects. *Reports of Morphology*, 29(4), 50–57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)

187. Denysenko, A. P., & Moskalenko, R. A. (2022). Bibliometric Analysis of the Scientific Literature on Meningiomas With Calcification. *Eastern Ukrainian Medical Journal*, 10(1), 98–108. [https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10\(1\):98-108](https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10(1):98-108)

188. Denysenko A., Moskalenko R. Pathological Biomineralization as a Prospective Marker for the Diagnosis of Meningioma. Transformation of medical sciences and education in the era of digitalization: Scientific monograph. Riga.Latvia: “Baltija Publishing”. 2024. 404 p. ISBN 978-9934-26-430-6 <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-430-6-13>.

189. Denysenko, A., Piddubnyi, A., Kuzenko, Y., Pylypenko, O., & Moskalenko, R. (2021). Composition and Structure of Meningioma Psammoma Bodies. *Proceedings of the 2021 IEEE 11th International Conference “Nanomaterials: Applications and Properties”*, NAP 2021. <https://doi.org/10.1109/NAP51885.2021.9568556>

190. Денисенко А.П., Кузенко Є.В., Карпенко Л.І., Москаленко Р.А. Морфологічні особливості псаммоматозних менінгіом з кальцифікацією. Всеукраїнська міждисциплінарна науково-практична конференція з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень»; 2021 жовтень 8; Полтава. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. С 42-44.

191. Denysenko A., Yekymenko V., Moskalenko R. Morphological analysis of meningiomas with calcification by using haematoxylin-eosin, Van Gieson, and von Kossa staining. *Biomedical Perspectives III: Abstract book of International Medical Conference*. Sumy. October 26-28. 2021. – Sumy: Sumy State University. 2021(3): 93.

192. Denysenko A., Moskalenko R. Morphological Analysis with Morphometry of Meningioma Calcifications. 34th European Congress of Pathology; 3-7 September 2022 (Basel, Switzerland); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2022; 481 (Suppl 1):S54.

193. Denysenko A., Moskalenko R. OPN overexpression in psammomatous meningiomas. 35th European Congress of Pathology; 09–13 September 2023 (Dublin, Ireland); Berlin, Germany: Springer. *Virchows Archiv*: 2023; 483 (Suppl 1): S325.

194. Денисенко А.П., Москаленко Р. А. Гістохімічні особливості менінгіом з ознаками біомінералізації. «Актуальні проблеми патологічної анатомії», 5-6 жовтня 2023 р., «Український науково-медичний молодіжний журнал», №4.

195. Denysenko, A., Pylypenko, O., Moskalenko, R., & Kuzenko, Y. (2022). Nanoscale Calcification of the Dura Mater. *Proceedings of the 2022 IEEE 11th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties”*, NAP 2022. <https://doi.org/10.1109/nap55339.2022.9934715>

196. Denysenko A., Moskalenko R. Nanoparticles in our brains. *The Book of abstracts / Twenty-third Annual Conference YUCOMAT 2022 & Twelfth World*

Round Table Conference on Sintering XII WRTCS 2022, Herceg Novi, Montenegro, August 29 - September 2, 2022. P. 47.

197. Denysenko A., Moskalenko R. The influence of calcification on the microelement composition in the dura mater. The Book of Abstracts / Twenty-fourth Annual Conference YUCOMAT 2023, Herceg Novi, Montenegro, September 4 - 8, 2023. P. 102.

198. Denysenko A., Moskalenko R. RANKL/OPG expression ratio in the dura mater tissue with biomineralization. Biomedical Perspectives IV: Abstract book of International Medical Conference. Sumy. April 24-25 2024. – Sumy: Sumy State University. 2024: 125.

199. Whittle, I. R., Smith, C., Navoo, P., & Collie, D. (2004). Meningiomas. *Lancet*, 363(9420), 1535–1543. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16153-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16153-9)

200. Elmaci, İ., Altinoz, M. A., Sav, A., Bolükbaşı, F. H., Önöz, M., Başkan, Ö., & Sari, R. (2017). Whorling-sclerosing meningioma. A review on the histological features of a rare tumor including an illustrative case. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 162, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2017.09.009>

201. Shibuya, M. (2014). Pathology and molecular genetics of meningioma: Recent advances. *Neurologia Medico-Chirurgica*, 55(1), 14–27. <https://doi.org/10.2176/nmc.ra.2014-0233>

202. Nassiri, F., Liu, J., Patil, V., Mamatjan, Y., Wang, J. Z., Hugh-White, R., Macklin, A. M., Khan, S., Singh, O., Karimi, S., Corona, R. I., Liu, L. Y., Chen, C. Y., Chakravarthy, A., Wei, Q., Mehani, B., Suppiah, S., Gao, A., Workewych, A. M., ... Zadeh, G. (2021). A clinically applicable integrative molecular classification of meningiomas. *Nature*, 597(7874), 119–125. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03850-3>

203. Hakyemez, B., Erdogan, C., Bolca, N., Yildirim, N., Gokalp, G., & Parlak, M. (2006). Evaluation of different cerebral mass lesions by perfusion-weighted MR imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 24(4), 817–824. <https://doi.org/10.1002/jmri.20707>

204. Tamada, T., Enatsu, R., Kikuchi, N., & Mikuni, N. (2018). Meningioma mimicking an intraparenchymal cystic tumor. *Nagoya Journal of Medical Science*, 80(3), 431–434. <https://doi.org/10.18999/nagjms.80.3.431>
205. Smirniotopoulos, J. G., Murphy, F. M., Rushing, E. J., Rees, J. H., & Schroeder, J. W. (2007). From the archives of the AFIP: Patterns of contrast enhancement in the brain and meninges. *Radiographics*, 27(2), 525–551. <https://doi.org/10.1148/rg.272065155>
206. Panyaping, T., Punpichet, M., Tunlayadechanont, P., & Tritanon, O. (2023). Usefulness of a Rim-Enhancing Pattern on the Contrast-Enhanced 3D-FLAIR Sequence and MRI Characteristics for Distinguishing Meningioma and Malignant Dural-Based Tumor. *American Journal of Neuroradiology*, 44(3), 247–253. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A7780>
207. Starr, C. J., & Cha, S. (2017). Meningioma mimics: five key imaging features to differentiate them from meningiomas. *Clinical Radiology*, 72(9), 722–728. <https://doi.org/10.1016/j.crad.2017.05.002>
208. Zhai, X., Zhou, M., Chen, H., Tang, Q., Cui, Z., Yao, Y., & Yin, Q. (2019). Differentiation between intraspinal schwannoma and meningioma by MR characteristics and clinic features. *Radiologia Medica*, 124(6), 510–521. <https://doi.org/10.1007/s11547-019-00988-z>
209. Winek, R. R., Scheithauer, B. W., & Wick, M. R. (1989). Meningioma, meningeal hemangiopericytoma (angioblastic meningioma), peripheral hemangiopericytoma, and acoustic schwannoma. A comparative immunohistochemical study. *American Journal of Surgical Pathology*, 13(4), 251–261. <https://doi.org/10.1097/00000478-198904000-00001>
210. Nilojan, J. S., Rajendra, S., & Naganathan, G. (2024). Abducens nerve palsy due to clivus metastasis in a patient with breast carcinoma: A rare case. *International Journal of Surgery Case Reports*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2024.109437>
211. Jozsa, F., & Das, J. M. (2022). Metastatic Lesions of the Clivus: A Systematic Review. *World Neurosurgery*, 158, 190–204. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2021.11.105>

212. Lee, A., Chang, K. H., Hong, H., & Kim, H. (2015). Sixth cranial nerve palsy caused by gastric adenocarcinoma metastasis to the clivus. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, *57*(3), 208–210. <https://doi.org/10.3340/jkns.2015.57.3.208>
213. Malloy, K. A. (2007). Prostate cancer metastasis to clivus causing cranial nerve VI palsy. *Optometry*, *78*(2), 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.optm.2006.08.015>
214. Pallini, R., Sabatino, G., Doglietto, F., Lauretti, L., Fernandez, E., & Maira, G. (2009). Clivus metastases: Report of seven patients and literature review. *Acta Neurochirurgica*, *151*(4), 291–296. <https://doi.org/10.1007/s00701-009-0229-1>
215. Lin, C. K., Tsai, W. C., Lin, Y. C., & Hueng, D. Y. (2012). Osteopontin predicts the behaviour of atypical meningioma. *Histopathology*, *60*(2), 320–325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.04085.x>
216. Tsai, W. C., Lee, H. S., Lin, C. K., Chen, A., Nieh, S., & Ma, H. I. (2012). The association of osteopontin and LMX1A expression with World Health Organization grade in meningiomas and gliomas. *Histopathology*, *61*(5), 844–856. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2012.04277.x>
217. Mahzouni, P., & Movahedipour, M. (2012). An immunohistochemical study of HER2 expression in meningioma and its correlation with tumor grade. *Pathology Research and Practice*, *208*(4), 221–224. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2012.01.009>
218. Arıkök, A. T., Önder, E., Seçkin, H., Kaçar, A., Fesli, R., Oğuz, A. S., & Alper, M. (2014). Osteopontin expressions correlate with WHO grades and predict recurrence in meningiomas. *Brain Tumor Pathology*, *31*(2), 94–100. <https://doi.org/10.1007/s10014-013-0152-2>
219. Riemenschneider, M. J., Perry, A., & Reifenberger, G. (2006). Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *Lancet Neurology*, *5*(12), 1045–1054. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70625-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70625-1)
220. Steitz, S. A., Speer, M. Y., McKee, M. D., Liaw, L., Almeida, M., Yang, H., & Giachelli, C. M. (2002). Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. *American Journal of Pathology*, *161*(6), 2035–2046. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64482-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64482-3)

221. Ohri, R., Tung, E., Rajachar, R., & Giachelli, C. M. (2005). Mitigation of ectopic calcification in osteopontin-deficient mice by exogenous osteopontin. *Calcified Tissue International*, 76(4), 307–315. <https://doi.org/10.1007/s00223-004-0071-7>
222. Giachelli, C. M. (2005). Inducers and inhibitors of biomineralization: Lessons from pathological calcification. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 8(4), 229–231. <https://doi.org/10.1111/j.1601-6343.2005.00345.x>
223. Jiang, J., Song, Y., Liu, N., Lin, C., Zhao, S., Sun, Y., Zhang, Z., Fang, X., & Qi, J. (2013). SPARC and Vav3 expression in meningioma: Factors related to prognosis. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 40(6), 814–818. <https://doi.org/10.1017/S0317167100015948>
224. Bozkurt, S. U., Ayan, E., Bolukbasi, F., Elmaci, I., Pamir, N., & Sav, A. (2009). Immunohistochemical expression of SPARC is correlated with recurrence, survival and malignant potential in meningiomas. *Apmis*, 117(9), 651–659. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2009.02516.x>
225. Amatya, V. J., Takeshima, Y., Sugiyama, K., Kurisu, K., Nishisaka, T., Fukuhara, T., & Inai, K. (2001). Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21WAF1, and p27KIP1 expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas. *Human Pathology*, 32(9), 970–975. <https://doi.org/10.1053/hupa.2001.27119>
226. Zhang, X., Dowd, D. R., Moore, M. C., Kranenburg, T. A., Meester-Smoor, M. A., Zwarthoff, E. C., & MacDonald, P. N. (2009). Meningioma 1 is required for appropriate osteoblast proliferation, motility, differentiation, and function. *Journal of Biological Chemistry*, 284(27), 18174–18183. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.001354>
227. Xing, L., & Boyce, B. F. (2005). Regulation of apoptosis in osteoclasts and osteoblastic cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 328(3), 709–720. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.11.072>
228. Sun, Y., Li, J., Xie, X., Gu, F., Sui, Z., Zhang, K., & Yu, T. (2021). Recent Advances in Osteoclast Biological Behavior. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.788680>

229. Vranic, A. (2013). Caspase-3 and Survivin Expression in Primary Atypical and Malignant Meningiomas. *ISRN Neuroscience*, 2013, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2013/626290>

230. Konstantinidou, A. E., Givalos, N., Gakiopoulou, H., Korkolopoulou, P., Kotsiakis, X., Boviatsis, E., Agrogiannis, G., Mahera, H., & Patsouris, E. (2007). Caspase-3 immunohistochemical expression is a marker of apoptosis, increased grade and early recurrence in intracranial meningiomas. *Apoptosis*, 12(4), 695–705. <https://doi.org/10.1007/s10495-006-0001-4>

231. Al-Khalaf, H. H., Lach, B., Allam, A., Hassounah, M., AlKhani, A., Elkum, N., Alrokayan, S. A., & Aboussekhra, A. (2008). Expression of survivin and p16INK4a/Cdk6/pRB proteins and induction of apoptosis in response to radiation and cisplatin in meningioma cells. *Brain Research*, 1188(1), 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.10.074>

232. Piddubnyi, A., Romaniuk, A., Radomychelski, I. M., Moskalenko, Y., & Moskalenko, R. A. (2019). Prostate cancer with intraluminal inclusions: The association of the immunophenotype with grade score. *Iranian Journal of Pathology*, 14(3), 212–222. <https://doi.org/10.30699/ijp.2019.91400.1884>

233. Piddubnyi, A., Kolomiiets, O., Danilchenko, S., Stepanenko, A., Moskalenko, Y., & Moskalenko, R. (2023). The Prospects of Using Structural Phase Analysis of Microcalcifications in Breast Cancer Diagnostics. *Diagnostics*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/diagnostics13040737>

ДОДАТКИ

Додаток А1



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор

Інна ШКОЛЬНИК

05 квітня 2024 р.

АКТ

**впровадження (використання) результатів
науково-дослідної роботи (етапу НДР)/ дисертаційної роботи у навчальний процес**

«Патоморфологічна характеристика біомінералізації менінгіом», яка виконана в період з 01 жовтня 2021 р. по 31 травня 2024 р.

У ході виконання дисертаційного дослідження було встановлено, що кальцифікати в твердій мозковій оболонці та менінгіомах мають подібний хімічний склад (за співвідношенням Ca/P відповідають зрілому гідроксиапатиту), проте різні за структурою та морфологією (на відміну від округлих псаммомних тілець шаруватої будови менінгіом, біомінерали в твердій мозковій оболонці більше коливаються у розмірах, мають неправильну форму, дифузно розташовані по всій тканині, іноді зливаються), що може слугувати раннім маркером виявлення пухлинного процесу в мозкових оболонках. Також, за допомогою імуногістохімічного дослідження, була встановлена важлива роль остеобластичних маркерів у процесі формування біомінералів.

Здобувач наукового ступеня доктора філософії:

Анастасія ДЕНИСЕНКО

Комісія в складі:

Голова комісії: голова ради з якості ННМІ

Вікторія ПЕТРАШЕНКО

Члени комісії:

- гарант освітньої програми ОНП 222, Медицина (доктор філософії), завідувач кафедри фізичної терапії, ерготерапії та спортивної медицини СумДУ Юрій АТАМАН
- завідувач кафедри патологічної анатомії СумДУ Анатолій РОМАНЮК
- директор ННМІ Андрій ЛОБОДА

Встановила, впровадження в навчальний процес результатів дисертаційного дослідження та використання їх при викладанні дисциплін «Методологія та методи наукових досліджень», «Сучасні тренди підготовки медичних наукових проєктів», «Методика підготовки наукових праць», «Біологічні та імунологічні методики в медицині за міжнародними стандартами», «Розробка матеріалів для медицини» та «Біоматеріали в медичних дослідженнях та практиці» у практичних заняттях для здобувачів вищої освіти ОНП 222 «Медицина» (доктор філософії).

“05” квітня 2024 р.

Голова комісії:

Вікторія ПЕТРАШЕНКО

Члени комісії:

Юрій АТАМАН

Анатолій РОМАНЮК

Андрій ЛОБОДА

Додаток А2

ЗАТВЕРДЖУЮ


 Проректор з наукової роботи
 Харківського національного
 медичного університету
 проф. Валерій М'ЯСОЄДОВ
 «05» листопада 2024 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ


1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): спосіб комплексного дослідження біомінералізації твердої мозкової оболонки та виявлення пухлинного процесу в мозкових оболонках.
2. **Ким і коли запропонований**: Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2), 2024 р.
3. **Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A.**, Pidubnyi A., Tkachenko I., Shubin P., Tarabarov S. & Moskalenko R.A. Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. **Reports of Morphology**. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)
4. **Де і коли впроваджено**: кафедра патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, 2024 р.
5. **Результати застосування методу за період з лютого 2024 р. по травень 2024 р.:** впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити знання студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань морфологічних особливостей твердої мозкової оболонки з ознаками біомінералізації, а також удосконалити діагностику менінгіом з біомінералізацією.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний(і) за впровадження

В.о. завідувача кафедри
 патологічної анатомії
 Харківського національного
 медичного університету,
 доктор медичних наук, професор

05.02.24
 (дата)

Ірина СОРОКІНА


 (підпис)

Додаток А4

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи Буковинського
державного медичного університету
доцент  Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ
« 04 » _____ 2024 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): у ході виконання дисертаційного дослідження було встановлено, що кальцифікати в твердій мозковій оболонці та менінгіомах мають подібний хімічний склад (співвідношення Ca/P), проте різні за структурою та морфологією, що може слугувати раннім маркером виявлення пухлинного процесу в мозкових оболонках.
2. **Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2), впродовж лютого-травня 2024 року
3. **Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A., Piddubnyi, A., Tkachenko, I., Shubin, P., Tarabarov, S. & Moskalenko R. A Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. Reports of Morphology. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)**
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної анатомії Буковинського державного медичного університету.
5. **Результати застосування методу за період з лютого 2024 року по травень 2024 року:** впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Буковинського державного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань патоморфологічних характеристик менінгіом з біомінералізацією.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
патологічної анатомії
Буковинського державного
медичного університету
доктор медичних наук, професор



Ігор ДАВИДЕНКО

Додаток А5

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор

з науково-педагогічної роботи Полтавського

державного медичного університету

Валентин ДВОРНИК

«18»

04 2024р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): у ході виконання дисертаційного дослідження було встановлено, що кальцифікати в твердій мозковій оболонці та менінгіомах мають подібний хімічний склад (співвідношення Ca/P), проте різні за структурою та морфологією, що може слугувати раннім маркером виявлення пухлинного процесу в мозкових оболонках.

2. Ким і коли запропонований: Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2).

3. Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A., Pidubnyi A., Tkachenko I., Shubin P., Tarabarov S. & Moskalenko R. A Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. Reports of Morphology. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)**

4. Де і коли введено: кафедра патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету.

5. Термін впровадження – січень – квітень 2024 року

6. Результати застосування методу за період з січня 2024 року по квітень 2024 року: впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): поглиблення знань студентів та лікарів-інтернів питань патоморфологічних характеристик менінгіом з біомінералізацією.

7. Зауваження, пропозиції: немає.

8. Результати впровадження розглянуті на засіданні кафедри патологічної анатомії та судової медицини № 15 від 18 квітня 2024 року.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
патологічної анатомії та судової
медицини
Полтавського державного
медичного університету
кандидат медичних наук, доцент



Олексій ПРИЛУЦЬКИЙ

Додаток А6



ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ
«СІ ЕС ДІ ЛАБ»
ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»

вул. Васильківська, 45, м. Київ, Україна, 03022, тел. 0 800 33 0075, www.csdlab.ua
Код ЄДРПОУ 42519264

ЗАТВЕРДЖУЮ
ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»
Віктор ГОЛОВКО
Ідентифікаційний код 42519264
« 15 » 02 2024р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): патоморфологічні характеристики біомінералізації твердої мозкової оболонки для ранньої та диференційної діагностики менінгіом.
- 2. Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2), впродовж лютого-травня 2024 року
- 3. Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A., Piddubnyi, A., Tkachenko, I., Shubin, P., Tarabarov, S. & Moskalenko R. A Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. Reports of Morphology. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)**
- 4. Впроваджено:** у діагностичну роботу патологоанатомічного відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
- 5. Включено:** у практичну роботу патологоанатомічного відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
- 6. Результати застосування методу:** впроваджено у роботу патологоанатомічного відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
- 7. Термін впровадження:** лютий-травень 2024 року.
- 8. Базова установа, яка проводить впровадження:** патологоанатомічне відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
- 9. Зауваження, пропозиції:** немає.

Медичний директор
ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»
Доктор медичних наук, професор
Член ASCP

Оксана СУЛЯСВА

Додаток А7

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор КНП СОР «Сумської
обласної клінічної лікарні»

Володимир ГОРОХ


«02» _____ 2024р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): патоморфологічні характеристики біомінералізації твердої мозкової оболонки для ранньої та диференційної діагностики менінгіом.
- 2. Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2), впродовж лютого-травня 2024 року
- 3. Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A., Piddubnyi, A., Tkachenko, I., Shubin, P., Tarabarov, S. & Moskalenko R. A Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. Reports of Morphology. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)**
- 4. Впроваджено:** у діагностичну роботу патологоанатомічного відділення КНП СОР «Сумської обласної клінічної лікарні».
- 5. Включено:** у практичну роботу патологоанатомічного відділення КНП СОР «Сумської обласної клінічної лікарні».
- 6. Результати застосування методу:** впроваджено у роботу патологоанатомічного відділення КНП СОР «Сумської обласної клінічної лікарні».
- 7. Термін впровадження:** лютий-травень 2024 року.
- 8. Базова установа, яка проводить впровадження:** патологоанатомічне відділення КНП СОР «Сумської обласної клінічної лікарні».
- 9. Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач патологоанатомічного
відділення КНП СОР «Сумська
обласна клінічна лікарня»


Петро ПОПОВ

Додаток А8

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор КНП "Сумський
обласний госпіталь ветеранів
війни" СОР
Інесса САВЕНКО

« 01 » 02 2024р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): патоморфологічні характеристики біомінералізації твердої мозкової оболонки для ранньої та диференційної діагностики менінгіом.
2. **Ким і коли запропонований**: Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2), впродовж лютого-травня 2024 року.
3. **Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A., Piddubnyi, A., Tkachenko, I., Shubin, P., Tarabarov, S. & Moskalenko R. A Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. Reports of Morphology. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)**
4. **Впроваджено**: у діагностичну роботу неврологічного відділення КНП "Сумський обласний госпіталь ветеранів війни" СОР.
5. **Включено**: у практичну роботу неврологічного відділення КНП "Сумський обласний госпіталь ветеранів війни" СОР.
6. **Результати застосування методу**: впроваджено у роботу неврологічного відділення КНП "Сумський обласний госпіталь ветеранів війни" СОР.
7. **Термін впровадження**: лютий-травень 2024 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження**: неврологічне відділення КНП "Сумський обласний госпіталь ветеранів війни" СОР.
9. **Зауваження, пропозиції**: немає.

Відповідальна за впровадження:
Завідувачка неврологічного
відділення КНП "Сумський
обласний госпіталь ветеранів війни"
СОР

Юлія КИДИК

Додаток А9

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор КНП "Центральна
міська клінічна лікарня" СМР
Валентина ДОМІНАС

2024р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): патоморфологічні характеристики біомінералізації твердої мозкової оболонки для ранньої та диференційної діагностики менінгіом.
- 2. Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2), впродовж лютого-травня 2024 року.
- 3. Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A., Piddubnyi, A., Tkachenko, I., Shubin, P., Tarabarov, S. & Moskalenko R. A Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. Reports of Morphology. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)**
- 4. Впроваджено:** у діагностичну роботу нейрохірургічного відділення КНП "Центральної міської клінічної лікарні" СМР.
- 5. Включено:** у практичну роботу нейрохірургічного відділення КНП "Центральної міської клінічної лікарні" СМР.
- 6. Результати застосування методу:** впроваджено у роботу нейрохірургічного відділення КНП "Центральної міської клінічної лікарні" СМР.
- 7. Термін впровадження:** лютий-травень 2024 року.
- 8. Базова установа, яка проводить впровадження:** нейрохірургічне відділення КНП "Центральної міської клінічної лікарні" СМР.
- 9. Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:Завідувач нейрохірургічного
відділення КНП "Центральної
міської клінічної лікарні" СМР

Володимир КОЛЕСНИК

Додаток А10



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор медичного центру
хірургічного профілю «НАДІЯ»
Андрій КУРОЧКІН

« 8 » 02 2024р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): структурні та морфологічні характеристики біомінералізації твердої мозкової оболонки для ранньої та диференційної діагностики менінгіом.
2. **Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, асп. Денисенко А.П., проф. Москаленко Р.А. (40007, м. Суми, вул. Марко Вовчок, 2), впродовж лютого-травня 2024 року
3. **Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): **Denysenko A., Piddubnyi, A., Tkachenko, I., Shubin, P., Tarabarov, S. & Moskalenko R. A Comprehensive Study of Dura Mater Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. Reports of Morphology. 2023. 29(4), 50-57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07)**
4. **Впроваджено:** у діагностичну роботу медичного центру хірургічного профілю «НАДІЯ».
5. **Включено:** у практичну роботу відділення хірургії медичного центру хірургічного профілю «НАДІЯ».
6. **Результати застосування методу:** впроваджено у роботу відділення хірургії медичного центру хірургічного профілю «НАДІЯ».
7. **Термін впровадження:** лютий-травень 2024 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** медичний центр хірургічного профілю «НАДІЯ».
9. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач відділення хірургії
медичного центру хірургічного
профілю «НАДІЯ».



Дмитро МУРАВСЬКИЙ

ДОДАТОК Б

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Denysenko, A., Danilchenko, S., Stepanenko, A., Chivanov, V., & Moskalenko, R. (2024). A Comprehensive Study of Meningioma Biomineralization: Morphological, Crystallographic, and Immunohistochemical Aspects. *Microscopy and Microanalysis*. <https://doi.org/10.1093/mam/ozae020> (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним, гістохімічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
2. Denysenko, A. P., Piddubnyi, A. M., Tkachenko, I. A., Shubin, P. A., Tarabarov, S. I., & Moskalenko, R. A. (2023). A comprehensive study of dura mater biomineralization: morphological, crystallographic, and immunohistochemical aspects. *Reports of Morphology*, 29(4), 50–57. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(4\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(4)-07) (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним, гістохімічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
3. Denysenko, A. P., & Moskalenko, R. A. (2022). Bibliometric Analysis of the Scientific Literature on Meningiomas With Calcification. *Eastern Ukrainian Medical Journal*, 10(1), 98–108. [https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10\(1\):98-108](https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10(1):98-108) (здобувачем проведено пошук літературних джерел та їх бібліометричний аналіз, інтерпретація результатів).
4. Denysenko A., Moskalenko R. Pathological Biomineralization as a Prospective Marker for the Diagnosis of Meningioma. Transformation of medical sciences and education in the era of digitalization: Scientific monograph. Riga.Latvia: “Baltija Publishing”. 2024. 404 p. ISBN 978-9934-26-430-6 <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-430-6-13> (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним, гістохімічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).

5. Denysenko A., Piddubnyi A., Kuzenko Y., Pylypenko O. & Moskalenko R. (2021). Composition and Structure of Meningioma Psammoma Bodies. *Proceedings of the 2021 IEEE 11th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties”, NAP 2021.* <https://doi.org/10.1109/NAP51885.2021.9568556>. (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
6. Denysenko, A., Pylypenko, O., Moskalenko, R., & Kuzenko, Y. (2022). Nanoscale Calcification of the Dura Mater. *Proceedings of the 2022 IEEE 11th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties”, NAP 2022.* <https://doi.org/10.1109/nap55339.2022.9934715> (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
7. Денисенко А.П., Кузенко Є.В., Карпенко Л.І., Москаленко Р.А. Морфологічні особливості псаммоматозних менінгіом з кальцифікацією. Програма та матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень»; 2021 жовтень 8; Полтава. Полтава: Полтавський державний медичний університет; 2021. С 42-44 (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).
8. Denysenko A., Yekymenko V., Moskalenko R. Morphological analysis of meningiomas with calcification by using haematoxylin-eosin, Van Gieson, and von Kossa staining. *Biomedical Perspectives III: Abstract book of International Medical Conference. Sumy. October 26-28. 2021. – Sumy: Sumy State University. 2021(3): 93* (здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).

9. Denysenko A., Moskalenko R. Nanoparticles in our brains. The Book of abstracts / Twenty-third Annual Conference YUCOMAT 2022 & Twelfth World Round Table Conference on Sintering XII WRTCS 2022, Herceg Novi, Montenegro, August 29 - September 2, 2022. P. 47 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).*

10. Denysenko A., Moskalenko R. Morphological Analysis with Morphometry of Meningioma Calcifications. 34th European Congress of Pathology; 3-7 September 2022 (Basel, Switzerland); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2022; 481 (Suppl 1):S54 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та морфометричним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).*

11. Denysenko A., Moskalenko R. The influence of calcification on the microelement composition in the dura mater. The Book of Abstracts / Twenty-fourth Annual Conference YUCOMAT 2023, Herceg Novi, Montenegro, September 4 - 8, 2023. P. 102 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та морфометричним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).*

12. Denysenko A., Moskalenko R. OPN overexpression in psammomatous meningiomas. 35th European Congress of Pathology; 09–13 September 2023 (Dublin, Ireland); Berlin, Germany: Springer. Virchows Archiv: 2023; 483 (Suppl 1): S325 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).*

13. Денисенко А.П., Москаленко Р. А. Гістохімічні особливості менингіом з ознаками біомінералізації. «Актуальні проблеми патологічної анатомії», 5-6 жовтня 2023 р., «Український науково-медичний молодіжний журнал», №4 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та гістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).*

14. Denysenko A., Moskalenko R. RANKL/OPG expression ratio in the dura mater tissue with biomineralization. Biomedical Perspectives IV: Abstract book of International Medical Conference. Sumy. April 24-25 2024. – Sumy: Sumy State University. 2024: 125 *(здобувачем проведено підготовку зразків, дослідження гістологічним та імуногістохімічним методами, аналіз та інтерпретація результатів, формулювання та обґрунтування висновків).*

ДОДАТОК В

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. Міжнародна конференція «Nanomaterials: Applications and Properties (NAP-2021)» (м. Одеса, Україна, 5-9 вересня 2021 року) – стаття, постерна доповідь.
2. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень» (м. Полтава, Україна, 8 жовтня 2021 року) – тези, усна доповідь.
3. Міжнародна науково-практична конференція «Biomedical Perspectives III» (м. Суми, Україна, 26-28 жовтня 2021 року) – тези, постерна доповідь.
4. Міжнародна конференція Yucomat 2022 & XII WRTCS (м. Герцег-Нові, Чорногорія, 29 серпня – 2 вересня 2022 року) – тези, усна доповідь.
5. 34-й Європейський конгрес патологів (м. Базель, Швейцарія, 3-7 вересня 2022 року) – тези, усна доповідь.
6. Міжнародна конференція «Nanomaterials: Applications and Properties (NAP-2022)» (м. Краків, Польща, 11-16 вересня 2022 року) – стаття, усна доповідь.
7. Міжнародний конкурс аспірантів UKRAINET PhD Thesis Presentation Contest (м. Ганновер, Німеччина, 30 вересня – 1 жовтня 2022 року) – усна доповідь.
8. Міжнародна конференція YUCOMAT 2023 (м. Герцег-Нові, Чорногорія, 4-8 вересня 2023 року) – тези, постерна доповідь.
9. 35-й Європейський конгрес патологів (м. Дублін, Ірландія, 9-13 вересня 2023 року) – тези, електронний постер.
10. Науково-практична конференція «Актуальні проблеми патологічної анатомії» (м. Київ, Україна, 5-6 жовтня 2023 року) – тези.
11. 7-й Паннонійський конгрес патології (м. Відень, Австрія, 7-9 березня 2024 року) – постерна доповідь.

12. Міжнародна науково-практична конференція «BIOMEDICAL PERSPECTIVES IV» (м. Суми, Україна, 24-25 квітня 2024 року) – тези, постерна доповідь.
13. Дисертаційну роботу заслухано на міжкафедральному семінарі Навчально-наукового медичного інституту СумДУ 7 червня 2024 року (протокол №2).