

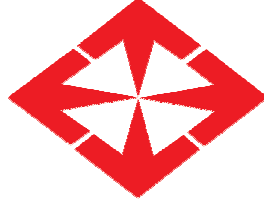
**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**İNTRAKRANİYAL MENİNGİOMLARDA MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-2 VE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-2 DOKU İNHİBİTÖRÜ GEN
POLİMORFİZMLERİNİN VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İlker ÇÖVEN

Ankara, 2010



**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**İNTRAKRANİYAL MENİNGİOMLARDA MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-2 VE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-2 DOKU İNHİBİTÖRÜ GEN
POLİMORFİZMLERİNİN VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İlker ÇÖVEN

**Tez Danışmanı:
Prof. Dr. M. Nur ALTINÖRS**

Ankara, 2010

04.03.2009 tarih ve KA09/56 sayı

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.



Sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal
Başkent Üniversitesi Kurucusu ve Rektörü

TEŞEKKÜR

Nitelikli bir uzmanlık eğitimimi almamı sağlayan tüm imkanları bize sunan üniversitemizin kurucusu ve rektörümüz Sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal'a ve dekanımız Sayın Prof. Dr. Haldun Müderrisoğlu'na saygı ve şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimlerini tüm içtenlikleriyle bana ve tüm asistan arkadaşlarıma eşit olarak paylaştıran, anlayış ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, Nöroşirürji Anabilim Dalı çatısı altında "aile olma" ruhunu aşıl原因an değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. M. Nur Altınörs'e ve Sayın Prof. Dr. Hakan Caner'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimime katkıları yanı sıra her konuda yardımlarını esirgemeyen, tecrübelerini ve bilgilerini paylaşan değerli ağabeylerim Yrd. Doç. Dr. Cem Yılmaz'a ve Yrd. Doç. Dr. Salih Gülşen' e çok teşekkür ederim. Mesleki bilgi ve becerimde çok emeği olan Yrd. Doç. Dr. Tarkan Çalışaneller'e ve Yrd. Doç. Dr. Özgür Özdemir'e çok teşekkür ederim.

Eğitimimin bir döneminde çalışma fırsatı bulduğum Sayın Prof. Dr. Selçuk Palaoğlu'na, Doç. Dr. Bülent Erdoğan'a, Doç. Dr. Orhan Şen ve Doç. Dr. Başar Atalay'a, Yrd. Doç. Dr. Doğa Gürkanlar'a, Yrd. Doç. Dr. Melih Çekinmez'e, Yrd. Doç. Dr. Kadir Tufan'a, Yrd. Doç. Dr. Serdar Kabataş'a eğitimime olan katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Tezimin hazırlanmasında çok emek sarfeden Sayın Prof. Dr. Feride Şahin ve Doç. Dr. Özlem Özen'e, değerli arkadaşım Dr. Özge Özer'e çok teşekkür ederim.

Asistanlık yıllarımızın beraber geçtiği ve her konuda birbirimize destek olduğumuz dostlarım Dr. Fatih Aydemir ve Dr. Erkin Sönmez' e teşekkür ederim. Birlikte çalıştığımız Uzm. Dr. Aşkın Hastürk'e, Uzm. Dr. Özkan Özger'e, Uzm. Dr. Cemal Gökçe'ye, Uzm. Dr. Eralp Çetinalp'e teşekkür ederim. Tanıdığım günden bugüne kadar neşeli sohbetlerini unutmayacağım asistan arkadaşlarım Dr. Aydın Gerilmez'e, Dr. Berkay Köksoy'a, Dr. Aykan Akar'a, Dr. Serhat Cömert'e ve Dr. Fikret Şahintürk'e çok teşekkürler.

Varlığımı borçlu olduğum, her konuda yanımda olan, desteklerini ve sevgilerini asla esirgemeyen sevgili anneme ve babama şükranlarımı sunarım. Bütün zorlukları birlikte aştığımız ve aşacağımız canım'a, eşim Burcu'ya sonsuz teşekkürler.

Dr. İlker ÇÖVEN

ÖZET

Meningiomlar araknoid membranın dış tabakasını oluşturan cap hücrelerinden köken alırlar. Erişkin yaş grubundaki tüm primer intrakranial tümörlerin % 12-20'sini oluştururlar ve en sık görülen benign intrakranial tümörlerdir. Meningiomların sınıflandırılmasında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından geliştirilmiş histopatolojik sistem kullanılmaktadır. Rekürrens sıklığı, agresif büyüme potansiyeli, hücre tipi ve buna paralel klinik, biyolojik aktivite esas alınarak yapılan bu sınıflamaya göre meningiomlar 3 gruba ayrılırlar.

Genetik ve diğer tıp bilimleri tarafından meningiomların biyolojik aktivitesi ve dolayısıyla intrakranial meningiomu olan hastaların yaşam süreleri hakkında yeni bilgiler edinilmesi için çeşitli araştırmalar yürütülmektedir. Tüm hücrelerin beyin parankimine invaze etmesi için gerekli olan enzimler matriks metalloproteinazlardır (MMP). Bu nedenle MMP'lerin inhibisyonu tümör infiltrasyonunu önlemekte geçerli bir tedavi yöntemi olabilir.

Çalışma kapsamında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde opere edilmiş 50 meningiom olgusuna ait 30 µm kalınlıkta keşilmiş parafin blok doku kesiti ve 100 adet aile öyküsünde meningiom, başka benign ve malign tümör öyküsü bulunmayan sağlıklı yaş ve cinsiyet uyumlu bireylerden alınan periferik kan örneğinden DNA eldesini takiben MMP-2 geni promotor bölgesine ait 735C>T, 1575G>A, 1306C>T polimorfizmleri ve TIMP-2 geni promotor bölgesine ait 418G>A, 303C>T polimorfizmleri belirlenmiştir. Hastaların doku kesitlerinde immünohistokimyasal olarak MMP-2 ve TIMP-2 ekspresyonu ayrıca beyin invazyonu ve Ki-67 indeksi incelenmiştir.

Çalışmamızda Ki-67 indeksinin meningiom derecesi ile orantılı olarak yüksek olduğu, ama Ki-67 indeksinin, beyin invazyonu ile korelasyon göstermediği bulunmuştur. MMP-2 polimorfizmi; Ki-67 indeksi ve meningiomların derecesinden bağımsız olmak üzere MMP-2'nin üçlü polimorfizmi saptananlarda beyin invazyonu ile korelasyon göstermiştir. MMP-2 ve TIMP-2 tüm polimorfizmleriyle immünohistokimyasal olarak patolojik boyanma artışı arasında paralellik gözlemlendi.

Tümör gelişiminde rol oynadığı bilinen MMP-2 ve TIMP-2'nin polimorfizmlerinin belirlenmesinin meningiom patogenezindeki genetik mekanizmalara ışık tutacağı inancındayız.

Anahtar kelimeler: beyin invazyonu, Ki-67, matriks metalloproteinazlar, matriks metalloproteinaz inhibitörleri, meningiom, polimorfizm.

ABSTRACT

Meningiomas are considered as benign neoplasms affecting the coverings of the central nervous system. They constitute approximately %12-20 of all intracranial tumors. Meningiomas are classified into three grades based on the WHO classification of central nervous system tumors. Although various histopathological features have been associated with recurrence or aggressive behaviour. Several studies have been undertaken concerning the proliferation potential, biological activity and the survival of the patients that have intracranial meningiomas.

Matrix metalloproteinases are proteolytic enzymes that can destruct the basal membrane and connective tissues. Such enzymes are important for tissue breakdown in the process of invasive growth. The inhibition of MMPs can be a treatment alternative for preventing brain invasion.

The study group consisted of 50 operated meningioma patient's paraffin-embedded tissue sections (30 µm) in University of Başkent Faculty of Medicine Department of Neurosurgery and 100 healthy person's blood samples without any history of familial malignant or benign tumors to analyze promoter region's MMP-2 gen 735C>T, 1575G>A, 1306C>T polymorphisms and promoter region's TIMP-2 gen 418G>A, 303C>T polymorphisms. The expression of MMP-2 and TIMP-2 immunohistochemically analyzed in patients tissues, brain invasion and Ki-67 labelling index were examined.

In our study, the statistical results showed that, Ki-67 labelling index is highly correlated with meningiomas grade but it did not show a correlation with brain invasion. The patients that have three nucleotide MMP-2 polymorphism showed a correlation with brain invasion independent of meningioma's grade and Ki-67 labelling index. Another finding was the association between all polymorphisms of MMP-2 and TIMP-2. and increase in immunostaining.

It can be said that better understanding of the polymorphisms of MMP-2 and TIMP-2 can be beneficial for genetic mechanism of meningiomas pathogenesis.

Key words: brain invasion, inhibitors of matrix metalloproteinase,, matrix metalloproteinase, meningioma, polymorphism.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
TABLolar	x
ŞEKİLLER	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Meningiomlar	3
2. 1. 1. Epidemiyoloji.....	3
2. 1. 2. Etiyoloji	4
2. 1. 3. Genetik Değişikler	5
2. 1. 4. Patoloji	6
2. 1. 5. Yerleşim Yerleri ve Klinik Bulgular	9
2. 1. 6. Radyoloji.....	16
2. 1. 7. Tedavi	19
2. 2. Matriks Metalloproteinazlar ve İnhibitörleri	20
2. 2. 1. Metalloproteinazların Regülasyonu.....	24
2. 2. 2. Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP)	25
2. 2. 3. Metalloproteinazlar ve Anjiyogenez	27
2. 2. 4. Matriks Metalloproteinazlar ve Hücre Büyümesi, Apoptozis	27
2. 2. 5. Merkezi Sinir Sistemi ve Metalloproteinazlar	28

2. 2. 6. Farklılaşma ve Polimorfizm	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3. 1. Mikroskopik İnceleme	29
3. 2. Ki-67 İndeksi.....	30
3. 3. İmmünohistokimyasal İnceleme.....	30
3. 4. MMP2 ve TIMP2 gen polimorfizmlerinin belirlenmesi	32
3. 5. İstatiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
7. KAYNAKLAR.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AgNOR	: Silver staining nuclear organisation region
AMP-1	: Antimicrobial peptides 1
BudR	: Bromodeoksiürüdin
DDC	: Apoptosis-associated gene
DTIC	: Adriamisin/Dakarbazin
ECM	: Ekstrasellüler matriks
EGF	: Epidermal growth faktör
GK	: Gamma knife
LINAC	: Lineer akseleratör
MADH2	: Mothers against decapentaplegic homolog 1
MADH4	: Mothers against decapentaplegic homolog 4
MMP-2	: Matriks metalloproteinaz-2
MMP-3	: Matriks metalloproteinaz-3
MMP-9	: Matriks metalloproteinaz-9
MMP-10	: Matriks metalloproteinaz-10
MMP-11	: Matriks metalloproteinaz-11
MMP-12	: Matriks metalloproteinaz-12
MMP-14	: Matriks metalloproteinaz-14
MT-MMP	: Membran tipi metalloproteinazlar
NF2	: Nörofibromatozis 2
PAS	: Periodik asid schiff
PBS	: Fosfat buffered saline
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyon
PDGF	: Platelet-derived growth factor
PDGF-R	: Platelet-derived growth factor reseptörü
SV-40	: Simian vacuolating virüs 40
TAg	: Tümör antijeni
TIMP-1	: Matriks metalloproteinaz inhibitörü-1
TIMP-2	: Matriks metalloproteinaz inhibitörü-2
TIMP-3	: Matriks metalloproteinaz inhibitörü-3
TNF- β	: Tümör büyüme faktörü

TPA : Responsive element
TRE : Transcription factor
WHO : Dünya Sağlık Örgütü
VEGF : Vasküler endotelial büyüme faktörü

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	Yaşargil 1966 yılı menengiömların yerleşim yerleri sınıflaması	10
Tablo 2.2.	İnsanlarda metalloproteinaz ailesinin üyeleri	22
Tablo 3.1.	Çalışılan polimorfizmlerin primer dizileri ve ürün uzunlukları	39
Tablo 4.1.	Gen polimorfizmlerinin tümü için allel ve genotip sıklıkları ve fark kontrol özeti	42
Tablo 4.2.	Beyin invazyonu ile MMP2 polimorfizmleri arasındaki ilişki.....	44
Tablo 4.3.	Beyin invazyonu ile TIMP2 polimorfizmleri arasındaki ilişki	48
Tablo 4.4.	MMP2 polimorfizm ile patolojik olarak MMP2 ifadenmesi ilişkisi	49
Tablo 4.5.	TIMP2 polimorfizm ile patolojik olarak TIMP2 ifadenmesi ilişkisi	50
Tablo 4.6.	Tüm heterozigot polimorfizmlerin beyin invazyonu açısından değerlendirilmesi	51
Tablo 4.7.	Ki-67 indeksi ile menengiömlar tipleri arası ilişki	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Tuberkulum sella meningiomu sagittal ve aksiyel MR görüntüsü	11
Şekil 2.2.	Serebellapontin açığı meningiomu koronal ve aksiyel MR görüntüsü	12
Şekil 2.3.	Petroklival meningiom sagittal ve aksiyel MR görüntüsü	12
Şekil 2.4.	Sfenoid kanat meningiomu sagittal ve aksiyel MR görüntüsü	13
Şekil 2.5.	Parasagittal meningiom koronal ve aksiyel MR görüntüsü	14
Şekil 2.6.	Falks meningiomu sagittal MR görüntüsü	14
Şekil 2.7.	İntraventriküler meningiom aksiyel T1 kontrastlı MRG	15
Şekil 2.8.	Direkt kafa grafilerinde meningiom	16
Şekil 2.9.	Sfenoid kanat meningiomu 3D CT anjiografi görüntüsü	17
Şekil 2.10.	Falks meningiomu sagittal MR anjiografi görüntüsü	18
Şekil 3.1.	1306 C>T polimorfizmi için PZR sonrası elde edilen ürünlerin agaroz jel elektroforezinde görüntüsü.	40
Şekil 3.2.	PZR sonrası enzim kesimlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü	41
Şekil 3.3.	MMP-2 1306 C>T polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı.....	45
Şekil 3.4.	MMP-2 735 C>T polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı.....	45
Şekil 3.5.	MMP-2 1575 G>A polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı.....	46
Şekil 3.6.	TIMP-2 418G>C polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı	46
Şekil 3.7.	TIMP-2 303C>T polimorfizminin hasta sayısı ve beyin 55invazyonu dağılımı	47

1. GİRİŞ

Meningiömlar yavaş büyüyen, biyolojik davranışları genellikle benign ekstraaksiyel tümörlerdir. Bazı meningiömlar histopatolojik olarak benign olmalarına rağmen agresif bir progresyon gösterebilirler (1,2,3).

Bu tümörlerin prognozunda yaş, cinsiyet, tümörün yerleşim yeri, çevre dokulara invazyonu (beyin, dura, kemik), histopatolojik grade, cerrahi rezeksiyon derecesi önemli faktörlerin başında gelmektedir.

Meningiömlar Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1979, 1997 ve 2000 yıllarında üç kez sınıflandırılmıştır. 2000 yılı sınıflamasında rekürrens derecesi, agresif büyüme potansiyeli, hücre tipi ve klinik, biyolojik aktivite esas alınmıştır. Buna göre grade I rekürrens riski az olan yavaş büyüme gösteren grup iken grade II ve III rekürrens riski yüksek ve/veya agresif davranış gösteren gruptur. Bu son sınıflandırma diğer iki sınıflandırmaya göre daha nitelikli olmasına rağmen meningiömların davranışlarını tam olarak göstermemektedir. Meningiömların histopatolojisinde kullanılan en yeni sınıflama Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2007 yılında revize ettiği sınıflamadır.

Bütün bunlar tümörlerin davranış biyolojisi kavramını ortaya çıkarmış ve çalışmalar başlatmıştır. Son yıllarda teknolojik ve biyolojik gelişmeler olayı daha geniş anlamda inceleme olanağı vermiştir. Elektron mikroskopisinin yaygınlaşması, DNA eldesinin ve çoğaltılmasının gelişmesi, immünohistokimyasal tekniklerin ilerlemesi sonucu intrasellüler ve ekstrasellüler matriks içeriği ve yapısı, proteinlerin yapısı ve fonksiyonları daha iyi anlaşılmıştır. Matriks metalloproteazlar ve inhibitörlerinin tanımlanması daha sonrası için bu enzimler ile tümör gelişimi arasında bağlantı kurulup çalışmalar ilerletilmiştir.

Meningiömların davranış karakterini anlamak için matriks metalloproteazları MMP-2, MMP-9, MMP-11, MMP-12, MMP-14, matriks metalloproteaz inhibitörleri TIMP-

1, TIMP-2, interstitial kollajenler, proteinler, vasküler endotelial büyüme faktörleri (VEGF), tümör büyüme faktörleri (TNF β) ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.

Matriks metalloproteinazlar ve inhibitörleri birçok kanser ile meme, gastrointestinal tümörler, ürogenital ve jinekolojik tümörler ile ilişkili bulunmuş ve malignleşen lezyonlarla korelasyon göstermiştir.

Planladığımız çalışmada Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalında ameliyat edilerek kesin histopatolojik tanısı meningiom olarak saptanan 50 hastanın parafin blok doku kesitlerinde immünohistokimyasal olarak MMP-2 ve TIMP-2 polimorfizmleri, ayrıca beyin invazyonu ve Ki-67 indeksi incelenerek metallo matriksproteinlerinin meningiomların biyolojik davranışlarında rol alıp almadığı incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meningiomlar

2.1.1. Epidemiyoloji

Meninkslerden köken alan yavaş büyüyen, araknoid hüclerinin bulunduğu her yerde görülebilen, genellikle benign karakterde olan tümörlerdir.

Araknoid membranın dış tabakasını oluşturan Cap hüclerinden orijin alırlar. Primer beyin tümörlerinin % 13-26' sını ve spinal tümörlerin % 25' ini oluştururlar. İlk kez Harvey Cushing tarafından 1922 yılında isimlendirilmiştir (4).

Popülasyonda 6/100. 000 oranında görülürler, kadınlarda erkeklere oranla 2 kat sıklıktadır ve yaşamın 5. dekadında en sık insidansa ulaşırlar. Çoklu görülme oranı % 8 dolaylarında olup, bunların çoğunluğunu nörofibromatozis tip 2 (NF2) hastaları oluşturur (3,5). Nörofibromatozis hastalığı dışında Gorlin/nevoid basal cell karsinoma sendromu, Li-Fraumeni sendromu, van Hippel-Lindau sendromu, Werner sendromu, Gardner Sendromu, Cowden hastalığında da meningiom olguları birliktelik göstermektedir. Sayılamayacak kadar çok meningiom olmasına meningiomatozis denir (3).

Toplumda, insidental olarak % 2-3, otopsilerde % 1,5 oranında saptanırlar (7).

Çocuklarda ve genç erişkinde daha az sıklıkta görülüp, pediatrik grupta tüm intrakranial tümörlerin % 1-2' sini oluştururlar, daha agresif seyrederler, intraventriküler ve spinal yerleşimli olup, kistik komponent içeriği daha yüksek olabilir. Erkek çocuklarda daha sık rastlanılır. Çocuklarda % 25 oranında nörofibromatozis tip 1 veya 2 ile birliktelik gösterebilirler. Konjenital olgular nadirdir (8).

2.1.2. Etiyoloji

Meningiom etyolojisinde bilinen en önemli predispozan faktör radyasyondur. İyonize radyasyon kromozomlarda kırıklara sebep olarak tümör oluşumuna neden olmaktadır. İsrailde 1949-1960 yılları arasında göç eden ve tinea kapitis nedeniyle radyoterapi alan yaklaşık 11000 çocuk retrospektif olarak baş ve boyun tümörü insidansı yönünden incelenmiştir. Meningiom insidansının radyoterapi alan grupta kontrol grubuna göre 4 kat fazla olduğu saptanmıştır. Radyasyon tedavisiyle tümörün ortaya çıkışı arasında geçen süre yaklaşık 16-21 yıl arasında değişiyordu (9). Sellar ve parasellar yerleşimli lezyonların radyasyon tedavisi sonucunda temporal yerleşimli meningiomların geliştiği farklı zamanlı çalışmalarda bildirilmiştir. Radyasyon kaynaklı meningiomlar nadir olmakla beraber konveksitede yerleşmekte, cerrahi sonrası rekürrens riski daha yüksek olmaktadır. (10)

İmmünohistokimyasal tekniklerin ilerlemesi ile meningiomların % 30'unda BK virüs DNA'sı saptanmış, simian vacuolating virüs 40 (SV-40 papovovirüslerin bir alt grubu) ve adenovirüslerin meningiomlarla ilişkisi bildirilmiştir (11,12,13). Papovavirüsler insanlarda mevcuttur ve birçok yetişkinde bunlara karşı antikor bulunur. Papovavirüs tümör antijenine karşı (TAg) antikorları insanda saptamak zor olmuştur. İmmünohistokimyasal teknikler ile meningiomlarda papovavirüs geniş TAg mevcudiyeti gösterilmiştir. Bu mevcudiyetin tümör oluşumundaki yeri net değildir (11,12).

Cushing 1930'lu yıllarda kafa travmasının önemli bir etyolojik faktör olduğunu öne sürmüştü, daha sonra Anneger ve arkadaşları 2953 kafa travmalı hastada prospektif izlem çalışmasında meningiomlar da dahil olmak üzere herhangi bir intrakranial tümör görülmesi açısından risk faktörü olmadığını bildirmişlerdir (14).

Kadın erkek arasındaki insidans farkının görülmesi meningiom patogenezinde seks hormonlarının ve reseptörlerinin etkili olduğunu düşündürmüştü, bunun nedeninin seks kromozomları üzerindeki genlerden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür.

Özellikle meme kanseri ile birlikte görülme insidansının artması, gebelikte ve menstrasyonun luteal fazında meningiom hacminde artış bulunmuştur (15,16). Meningiomlarda östrojen, progesteron, androjen reseptörleri ile ilgili çalışmalar yapılmış, progesteron reseptör pozitifliği % 40-100 arasında bulunmuştur. Hayvan deneylerinde yapılan progesteron reseptör antagonistinin (mifepriston) tümör hacminde azalmayı sağladığı gösterilmiştir (5). Progesteron tümör büyümesinde önemli rol almakla birlikte özellikle benign meningiomlarda daha sık görülür. Tümör diferansiasyonu ile ilişkili olduğu belirlendikten sonra, progesteron reseptör varlığının iyi prognostik faktör olduğu kabul görmüştür. Androjen ve östrojen reseptörleri ile ilgili anlamlı herhangi bir sonuç elde edilememiştir (17).

Meningiomlarda genetik yatkınlık için birçok çalışma yapılmış, sporadik olgularda dahi NF tip 2 ile ilişkili 22. kromozomda bulunan tümör baskılayıcı gende kayıp saptanmıştır (5,18).

Literatürde; 1p, 6q, 9p, 10q, 14q, 18q kromozom kayıpları, 1q, 6q, 12q, 17q, 20q gen apmfilikasyonları gibi genetik anomalilerin meningiomlarla ilişkisi gösterilmiştir. Bunlardan 22q kaybı, NF2 mutasyonları benign meningiomlarda görülürken, 1q, 9q, 12q, 15q, 17q, 20q gen apmfilikasyonu ile 1p, 6q, 14q, 18q kromozom kayıpları atipik meningiomlarda görülmektedir (18).

Otokrin büyüme faktörlerinden Platelet-derived growth factor (PDGF) ve reseptörü (PDGF-R); epidermal growth factor (EGF) ve reseptörü (EGFR), transforming growth factor- α meningiomlarda saptanan büyüme faktörlerinin bir bölümüdür (19,20). Tümör angiogenezinde ve etrafındaki perilezyonel ödeme neden olabilecek vasküler endotelial growth faktör-A ve reseptörü bununla beraber endotelin 1 ve endotelin reseptör tip A bildirilmektedir (21,22).

2.1.3. Genetik Değişiklikler

Yapılan genetik çalışmalarda meningiomlarda en sık görülen genetik değişiklik biallelik NF2 süpresör geninin inaktivasyonu ile birlikte kromozom 22q 'nun heterozigosite kaybıdır, bu değişiklik % 40-70 oranında tespit edilmiştir (23,24). Kromozom 1p delesyonunun meningiomlarda önemli prognostik faktör olduğu

bildirilmiştir. Tümör süpresör genlerin 1p36, 1p34-p32, 1p21-p22 bölgelerinde bulunduğu ve bu bölgenin hedef bölge olduğu bildirilmiştir. (25)

14q delesyonununda bağımsız olarak histolojik grade ve yaş ile birlikte değerlendirilmeye alınmasıyla rekürrens riski olan olguların saptanmasında faydalanılabileceği bildirilmiştir. 9p21 kromozomu üzerindeki D10S179 ve D10S169 daki LOH'ların yüksek tümör grade'i ve kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yine başka bir çalışmada 1p, 10q ve 9p 'de heterozigosite kaybı ve telomeraz aktivitesi ile rekürrens arasında yakınlık bulunmaktadır. 17q23 amplifikasyonu grade II ve grade III meningiomlarda rastlanılan diğer değişiklikler olup grade II 'den III 'e geçişte rol oynayabilir (25). 18q21 de lokalize MADH2, MADH4, AMP-1 ve DDC tümör süpresör genlerin meningiom patogenezinde etkin rol oynadığı bildirilmektedir (26). NF2 mutasyonu sporadik meningiom olgularının yaklaşık %60' ında tespit edilmiştir (18,27). Meningiomalarda kromozom 22q üzerindeki birçok farklı genle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada 22q11. 21 bölgesindeki CLH-22 geninde %80 oranında ifadenme kaybı tespit edilmiştir (28). 1, 9, 10, 11, 14, 15, 17 ve seks kromozomundaki değişiklikler ayrıca kromozom 22 kazanımı olan tümörlerin prognozunun kötü, rekürrensine de artma eğiliminde olduğu gösterilmiştir.

Başka bir çalışmada da 1p36 delesyonu grade I meningiomların %45'inde, grade II-III meningiomların %50 sinde saptanmıştır. Yine aynı çalışmada kombine 1p36 ve 22q delesyonu tüm hastaların %40'ında saptanmıştır (2).

Kromozom 14 deki kayıplar kromozom 22 ve 1 den sonra en sık görülen üçüncü genetik değişikliktir. Benign meningiomlarda 14q kaybının rekürrensde belirleyici olabileceği gösterilmiştir (29).

2.1.4. Patoloji

Meningiomlar meningotelial hücrelerden oluşan yavaş büyüyen genel olarak benign sayılan iyi sınırlı elastik kıvamlı ve/veya sert tümörlerdir. Epitelial hücreler bir bariyer fonksiyonu görürler. Makroskopik olarak iyi sınırlı lobular formda bulunurlar. Ara sıra tümörler kama şeklinde bombeli uzanan, durada diffüz olarak

büyüyen meningiom olarak isimlendirilir. Seyrek olarak dura ile bağlantısı olmayan meningiomlar da bulunmaktadır (30). Meningotelyal araknoid cap hücreleri en çok araknoid villuslarında bulunurlar. İntrakraniyal ve intraspinal araknoid membranlarda ve tela koroideada bulunurlar, bu nedenle intaventriküler de görülürler.

Meningiomların histopatolojisinde kullanılan en yaygın sınıflama Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2000 yılında revize ettiği sınıflamadır. Bu sınıflamayı WHO 2007 yılında yayımladığı yeni sınıflamada aynen kullanmıştır.

Bu sınıflamaya göre meningiomlar benign (WHO Grade I), atipik (WHO Grade II) ve malign (WHO Grade III) olmak üzere üç grupta incelenmiştir.

En son WHO (Dünya Sağlık Örgütü) 2007 sınıflaması aşağıdaki gibidir.

Grade I Grade II Grade III

Meningotelyal Atipik Anaplastik

Fibröz Kordoid Papiller

Transizyonel Berrak Hücreli Rabdoid

Psammamatöz

Anjiomatöz

Mikrokistik

Sekretuar

Lenfoplasmositten zengin

Metaplastik

Benign meningiomlar yavaş büyüyen ve tüm meningiomların %80'ninden fazlasını kapsar ve % 4 oranında da beyin invazyonu yapabilirler (31). Meningiomların alt tiplerinin birçoğu ortak klinik davranışta bulunurlar. Meningotelyal, fibroblastik ve

transizyonel tipler diğer alt tiplere göre daha sık görülürler. Benign meningiomların total cerrahi rezeksiyon sonrası beş yılda tekrarlama olasılığı yaklaşık %5 civarındadır (32).

Atipik meningiomlar yaklaşık %15-20'lik bir kısmı kapsamaktadır (31). Histopatolojik olarak atipik meningiom tanısı on büyük büyütme alanında (0. 16 milimetrekare) 4 veya daha fazla mitoz ve/veya artmış sellülarite, artmış nükleus sitoplazma oranı yüksek küçük hücreler, makronükleol, lobüler patern kaybı ve nekroz kriterlerinden üç veya daha fazlasının bulunmasıyla konur (33). Atipik meningiomların beş yıllık rekürrens riski yaklaşık % 40 olarak belirtilmektedir (32).

Şeffaf hücreli meningioma berrak sitoplazmalı ve poligonal hücrelerden oluşan, sitoplazmasında glikojen vakuelleri bulunan, genelde serebellopontin açığı ve kauda ekuinada görülen tümörlerdir. Hücre sitoplazmasında PAS (Periodik asid schiff) + materyal bulunur. Kordoid meningiomlarda vakuollu hücrelerin bulunması, hücrelerin sıralanarak eosinofilik diziler yapması ve lobüler paternin bulunması ile kordomaya benzeyen tümörlerdir.

Anaplastik meningiomlar tüm meningiomların yaklaşık %1-3 ünü oluşturmaktadır (31). Bu tümörler, 'de novo' malign olarak ortaya çıkabilir, ayrıca, önceki bir benign meningiomanın yada atipik bir meningiomun malign transformasyonu ile oluşur. Malign meningiom tanısı ise, atipik meningiom kriterlerine ek olarak sarkom, karsinom veya melanom benzeri sitolojik özellikler ve on büyük büyütme sahasında 20 veya daha fazla mitoz olmasıyla konur (33). Anaplastik meningiomlar cerrahi sonrası %50-80 oranında rekürrens gösterirler ve yaşam süresi ortalama iki yıldır (32).

Papiller meningiomlar hipersellüler olup tümörün bir kısmında da olsa perivasküler psödopapiller yapılar oluşturur. Çocuklarda sık görülürler ve beyin invazyonu, lokal invazyon sık yaparlar, rekürrens yüksektir (31).

Histopatolojik incelemede beyin invazyonu tek başına kriter olarak ele alınmalıdır. Beyin invazyonu gösteren benign meningiom morfolojisindeki tümörler biyolojik davranış ve prognoz gibi parametreler açısından grade II atipik

meningiomlar gibi davranmakta, kesinlikle anaplastik meningiomun prognostik özelliklerini ve genetik değişikliklerini göstermemektedir.

Meningiomlar oldukça nadir olarak ekstrakranial metastaz yaparlar. Ekstrakranial metastaz oranı 1/1000 olarak bildirilmiştir. Çoğunlukla metastaz akciğere olur ve malign meningiomların metastaz yapma olasılığı ve sıklığı daha fazladır. Nadir olarak primer ekstrakranial meningiomlara rastlanır. Skalpde, orbitada, paranasal sinüslerde, orta kulakta, kraniumda yerleşmiş meningiomlar bildirilmiştir. Daha nadir olarak parotiste, boyunda, parafaringeal bölgede ve mediastende yerleşmiş meningiomların varlığı bildirilmiştir (34,35).

Ektopik meningiom oluşumunun nedeninin multipotent mezenkimal hücreler olduğu veya embriyonogenezde kafatasının füzyon bölgelerindeki araknoidin aşırı migrasyonu olduğu düşünülmüştür.

Meningiomlarda çeşitli tümör proliferasyon indeksleri kullanılmaktadır. Klasik histolojik sınıflama ile tümörün proliferasyon potansiyelini ortaya koymak çok mümkün olmamaktadır. Bromodeoksiüridin bir timidin analogu olup, tümör dokusunda immünohistokimyasal olarak boyanan hücrelerin oranına göre hesaplanır ve S fazındaki hücre miktarını gösterir. Buna BudR indeksi denir. BudR indeksinin %1'in üzerinde olması rekürrensi artırır (36). Ki-67 hücre siklusunda proliferasyon aşamasında bulunan nükleer bir protein olup, yüksekliği ile rekürrens arasında anlamlı bir ilişki vardır (37). Meningiomlarda akım sitometri, AgNOR (Silver staining nuclear organisation region) miktarı, telomeraz aktivitesi yönündende araştırılmaktadır. Ayrıca integrinlerin aşırı ekspresyonun iyi, VEGF, katepsin B ve L, MMP-2,9,11 ve ets-1 transkripsiyon faktörünün aşırı ekspresyonun kötü prognoz açısından önemli olduğu saptanmıştır (38,39,40,41,42,43).

2.1.5. Yerleşim Yerleri ve Klinik Bulgular

Meningiomların yerleşim yeri, büyüklüğü ve peritümöral ödemin miktarı semptomların erken, geç, kısa yada uzun interval göstermesini doğrudan etkilemektedir. Genelde yavaş büyüyen tümörler olduğu için geç semptom

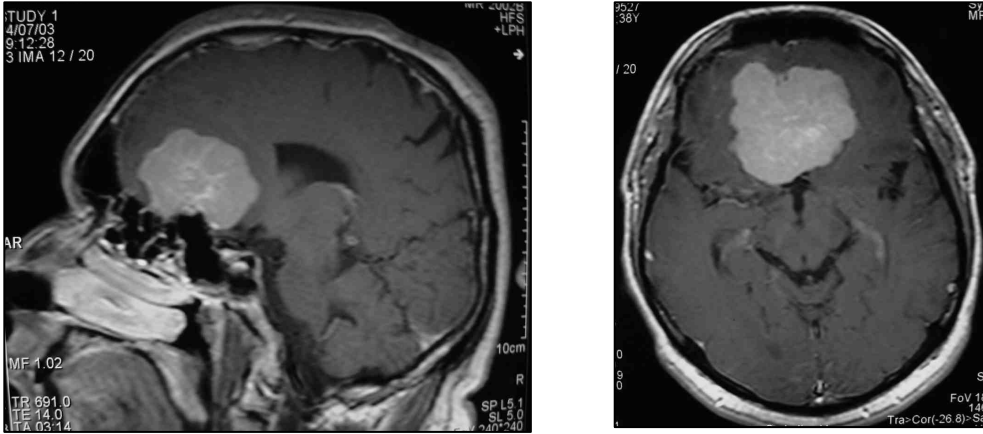
verebilir. Hayat boyu asemptomatik kalabilirler. Lokalizasyonlarına göre dağılımı yaklaşık olarak %35 konveksite, %20 sfenoid kanat, %20 parasagittal, %13 infratentorial, %5 intraventriküler, %3 tuberkulum sella ve %4 diğer bölgelerdedir (44). Yaşargil 1966 yılında menenjiomları yerleşim yerlerine göre adlandırmıştır (45).

Tablo 2. 1. Yaşargil'in 1966 yılı menenjiomların yerleşim yerleri sınıflaması

A. Bazal menenjiomlar		
1. Median Olfaktör oluk Tuberkulum sella Dorsum sella Klivus Foramen magnum	2. Paramedian Orbital tavan İç sfenoid kanat İntrakavernöz Kavum mekkel Serebellopontin	3. Lateral Dış sfenoid kanat Sfenoorbital Sfenotemporal Sfenofrontal Sfenosilvian
B. Fissüral menenjiomlar		
Falsin Tentorial Falkotentorial Silvian		
C. Dorsal menenjiomlar		
1. supratentorial		2. infratentorial
a. Parasagittal Frontal Santral Parietal Oksipital	b. Paramedian Frontal Santral Parietal Oksipital Temporal	Median Paramedian Lateral
D. İnaventriküler	E. Orbital	F. Kalvarial
Lateral ventriküller 3. ventrikül 4. ventrikül	Foraminal Kanaliküler İnfraorbital	

Intrakranial basınç artışına bağlı baş ağrısı, bulantı, kusma, papil stazı, bilinç bulanıklığı, geçici iskemik atak benzeri nörolojik tablo, intrakranial hemoraji, stupor, koma, epileptik nöbet (% 37 parsiyel, % 8 kompleks parsiyel, % 60 jeneralize) ve kranial sinir parazisi semptomlarına yol açabilirler (6,46,47,48). Kafatasına yakın yerlerde, kemik erozyonu, osteoblastik aktivite artışına bağlı olarak ekzositoz yada hiperostozis yapabilir. Subfrontal bölgeye, olfaktör oluğa yerleşimli meningiomlarda ipsilateral veya bilateral anosmi,görme kaybı,mental ve psişik bozukluklar ortaya çıkabilir. Foster-Kenedy sendromu (ipsilateral anosmi, optik atrofi, kafa içi basınç artışı) olfaktör oluk meningiomlarında görülebilir (3,6).

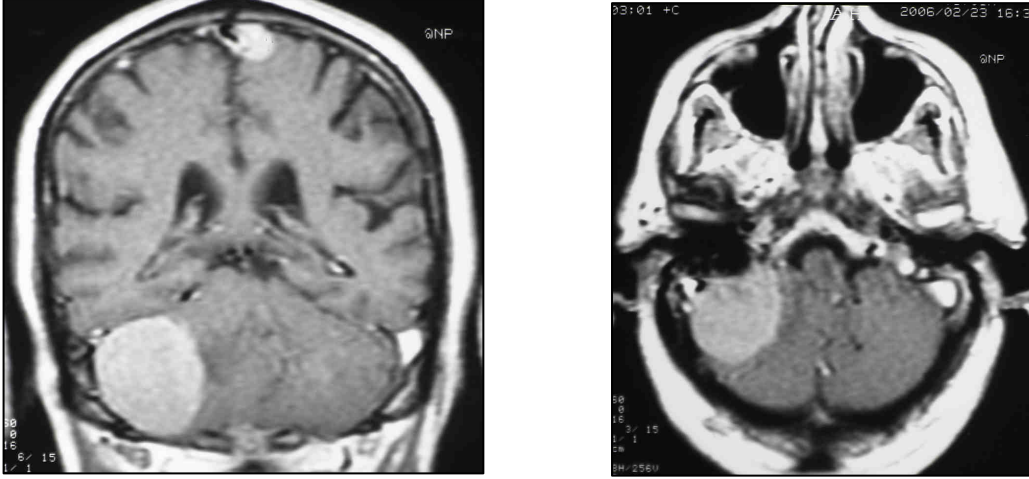
Tüberkulum sella meningiomları (Şekil 1) planum sfenoidale veya diyafragma selladan kaynaklanabilirler. Optik sinir basısına bağlı optik atrofi nedeni ile oluşan tek veya çift taraflı görme kaybı ve görme alan defektleri, yavaş ilerleyen bitemporal hemianopsi sık karşılaşılan bulgulardır. Meningiomun sellanın posterioruna doğru büyümesiyle pitüiter bozukluklar ve bazen de okulomotor sinir lezyonu ortaya çıkabilir (19).



Şekil 2. 1. Tüberkulum sella meningiomu sagittal ve aksiyel MR görüntüsü

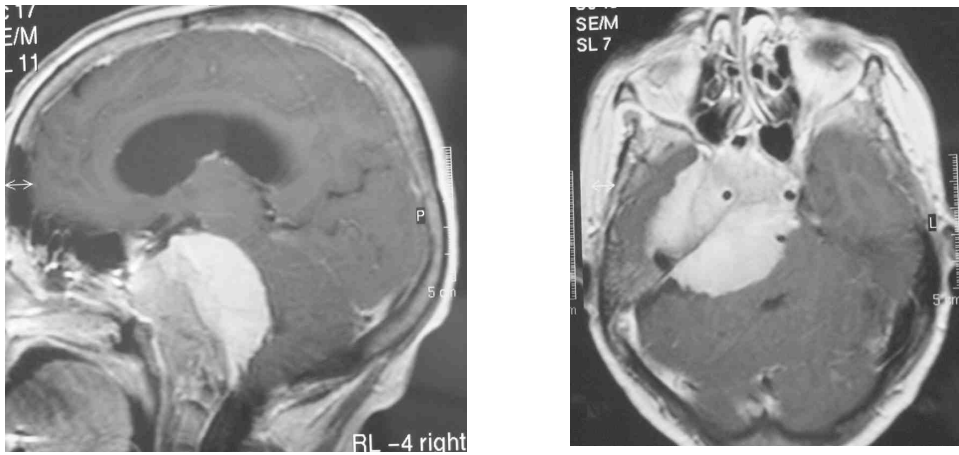
Kavernöz sinüs meningiomları sinüs içinden başlayıp dışarı yayılabilecekleri gibi, kavernöz sinüsü dışarıdan da invaze edebilirler. Klinik bulguları 3, 4, 6 ve 5. kranial sinirin 1. ve 2. dallarının basıya bağlı denervasyon bulguları, yavaş gelişen tek taraflı egzoftalmi, temporal kemikte ekzositoz, Talosa Hunt Sendromu (kavernöz sinüz trombozu, veya lezyonlarına bağlı oftalmopleji, alın kısmında duyu kaybı) nadirde olsa saptanabilir (6).

Serebellopontin açığı meningiomları (Şekil 2.2) genellikle BOS sirkülasyonunu bozarak obstrüktif hidrosefaliye neden olabilirler. Anteromedial yerleşimli olanlar 5. ve 8. kranial sinir basısına bağlı olarak işitme kaybı, tinnitus ve trigeminal nevraljiye neden olabilirler. Posterolateral PSA meningiomlar alt kranial sinirlere, serebellum ve pons basısına bağlı olarak da dengesizlik, yutma güçlüğü, baş dönmesi, ataksi gibi klinik bulgulara yol açabilirler.



Şekil 2.2. Serebellopontin açığı meningiomu koronal ve aksiyel MR görüntüsü

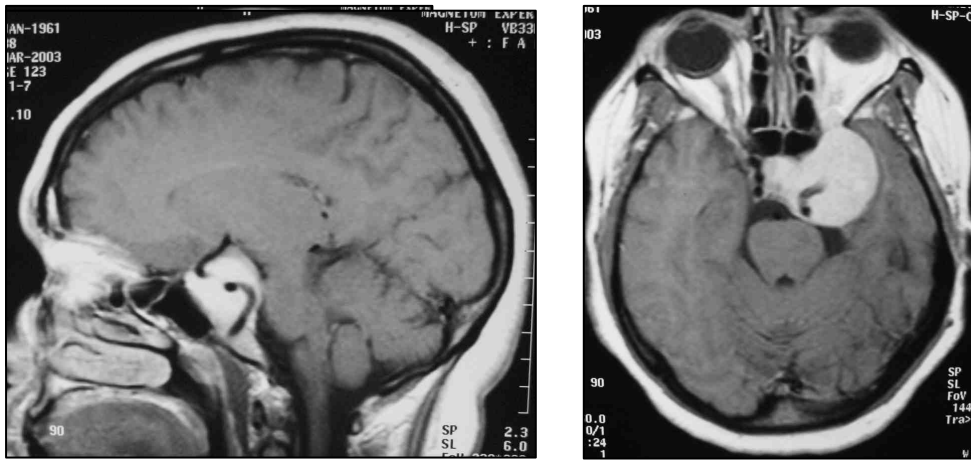
Klivus yerleşimli meningiomlar (Şekil 2.3.) obstrüktif hidrosefaliye, beyin sapı, ventral pons basısı yaparak da spastik parezi, kranial sinir paralizlerine, yol açabilirler (3).



Şekil 2.3. Petroklival meningeom sagittal ve aksiyel MR görüntüsü

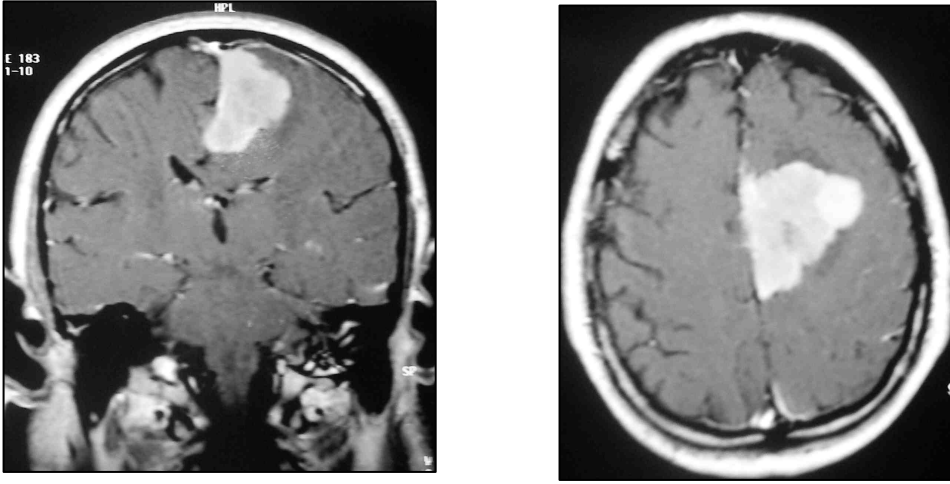
Foramen magnum meningiolarında tek taraflı boyun ağrısı, Lhermitte fenomeni, 11. sinir tutulumuna bağlı soğuk dizestezi, ilerleyici motor ve duyuşsal kayıplar, el intrinsek kaslarında atrofi, karşılaşılan semptomlardır. Daha nadir olarakta alt kranial sinir parezileri, Horner sendromu, sfinkter tonus kusurları, solunum güçlüğü ve nistagmus da görülebilir (49).

Sfenoid kemiğın ala minör yerleşimli meningioları (Şekil 2. 4) kavernöz sinüsü mediale, orbitayı anteriora doğru itebilir. Bununla birlikte pitüiter stalk ve hipotalamusa bası yapabilir ve buna bağılı semptomlar oluşur.



Şekil 2.4. Sfenoid kanat meningiomu sagittal ve aksiyel MR görüntüsü

Parasagittal meningiolar (Şekil 2. 5) superior sagittal sinüsle ilişkilidirler ve konveksite durası ile falks arasında bulunurlar. Sinüs lümeni sıklıkla invazedir. Yerleşimlerinin süperior sagittal sinüsün 1/3 ön, 1/3 orta ve 1/3 arkasında oluşuna göre kendi içinde üç gruba ayrılırlar. Ön kısımda yerleşenler genellikle kafa içi basınç artışı bulguları ile beraber bilinç değışiklikleri, kişilik değışikliği, nöbet, ataksi ve idrar inkontinansı ile semptom verirlerken, orta kısımda yerleşenler karşı taraf alt ekstremiteden başlayan jacksonien nöbetler ve ilerleyici karakterde hemiparezi ile ortaya çıkarlar. 1/3 arka kısımda lokalize olanlarda görme bozuklukları, kafa içi basınç artışı belirtileri daha sık, epileptik nöbetler ise nispeten daha az görülür.



Şekil 2.5. Parasagittal meningiom koronal ve aksiyel MR görüntüsü

Falks meningioları (Şekil 2. 6) köken aldığı bölgeye göre anterior, middle ve posterior olarak adlandırılırlar. Falksın krista gali ve koroner sütün arasındaki kısımdan köken alan anterior falks meningioları büyük boyutlara ulaşana kadar bulgu vermezler. En sık görülen bulgular baş ağrısı, görme kaybı, kişilik değişimleri, ilerleyici demansiyel tablo ve apati sık görülebilen bulgulardır. Middle falks meningioları ise koroner ve lambdoid sütün arasındaki alandan köken alır ve tipik belirtisi fokal motor veya jacksonien tipinde nöbetlerdir. Lambdoid sütün ile torkuler herofili arasından çıkan meningiomalara posterior falks meningioları denir ve genellikle baş ağrısı ve görme alanı defektleri ile klinik verirler.

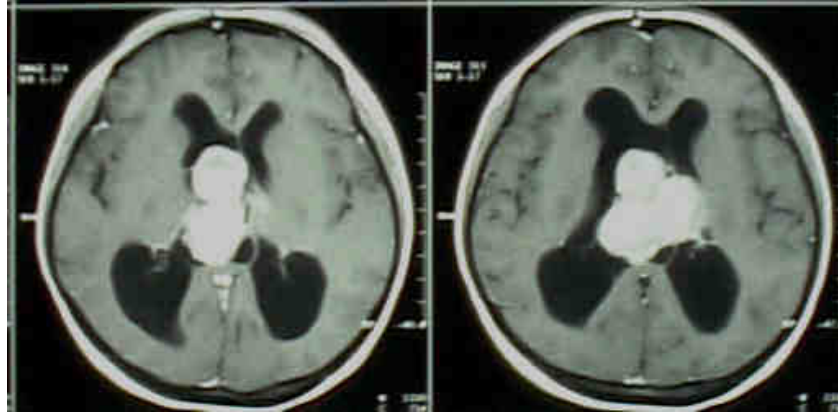


Şekil 2.6. Falks meningiomu sagittal MR görüntüsü

Konveksite meningiomları kafa kaidesi durası ile ilişkisiz, venöz sinüsleri invaze etmemiş meningiomlardır, olguların % 15 'ini oluştururlar. Baş ağrısı, nöbet ve mental bozukluklar ile klinik verir.

Orbital meningiomlar optik sinir kılıfından kaynaklananlar primer optik meningiomlar olarak, orbita çevresindeki dural yapılardan köken alan orbita içine doğru büyüyenler ise sekonder orbital meningioma olarak adlandırılırlar. Çocukluk çağında daha sık görülürler ve en sık semptom görme kaybıdır. Tüm orbital tümörlerin % 9 'unu oluştururlar (50).

İntraventriküler meningiomlar, tüm meningiomlar içinde % 5 den daha az görülürler. Koroid pleksus veya tela koroidea'dan orijin alırlar. İntraventriküler meningiomların % 80 'i lateral ventrikül orijinlidir, ve sıklıkla lateral ventrikülün trigonuna yerleşir. Trigon yerleşimlerinde baş ağrısı, kusma, konuşma bozuklukları, homonim hemianopsi ve sensorimotor hemipareziler görülürken, 3. ventrikül meningiomalarında ise papil ödemi, kusma, hipotalamik bozukluklar görülür. 4. ventrikül meningiomalarında BOS akımının engellenmesine bağlı hidrosefali bulguları ortaya çıkar. İntraventriküler meningiomalar çoğunlukla fibroblastik tiptedirler (5,6).



Şekil 2.7. İntraventriküler meningiom aksiyel T1 kontrastlı MRG

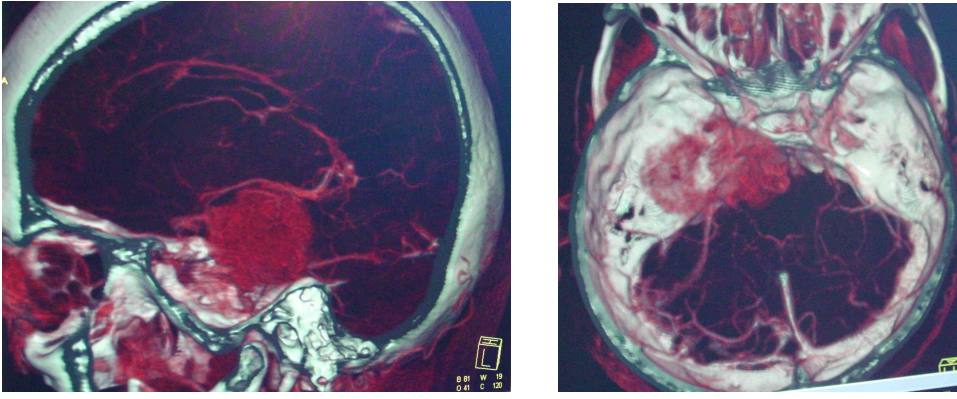
2.1.6 Radyoloji

Meningiom tanısında direkt grafi, bilgisayarlı tomografi (BT),magnetik rezonans görüntüleme (MRG),selektif serebral anjiyografi radyolojik olarak kullanılan tetkiklerdir. Beyin BT ve beyin MRG ile %90 'nın üzerinde doğru tanı konur. Direkt kafa grafilerinde meningiomlarda kalvarial vasküler gölgelenmede artış, hiperostozis ve kalsifikasyon başlıca bulgulardır. Hiperostozis en sık bulgudur ve % 38-61 oranında direkt grafide saptanabilir. Vasküler gölgelenmedeki artış ikinci olarak görülür. Tipik olarak vaskülarizasyonu iyi olan bu tümörlerin beslenmesi dural dallardan olur. Bu arterlerin genişlemesi iç tabuladaki kanalların genişlemesine ve direkt grafide görülmesine neden olur. Bu bulgu daha çok orta serebral arter ile beslenen konveksite meningiomlarında görülür. Üçüncü sıklıkta ise kalsifikasyon görülmekte olup non spesifik bir bulgudur (51).



Şekil 2.8. Direkt kafa grafilerinde meningiom

Bilgisayarlı beyin tomografisinde kontrastsız tetkiklerde parankime göre hafif hiperdens (% 70-75), izodens (% 5-25), ve de % 1-5 arasında hipodens saptanır (52). Dural yüzeye doğru geniş tabanlı, yuvarlak, düzgün kenarlı geniş kaide ile oturmuşlardır. Beyin BT de tümör içi kalsifikasyon alanları ve tümörün kemikle olan ilişkisi net gösterilebilmekte ve % 90 nın üzerinde yoğun ve uniform kontrastlanma göstermektedir.



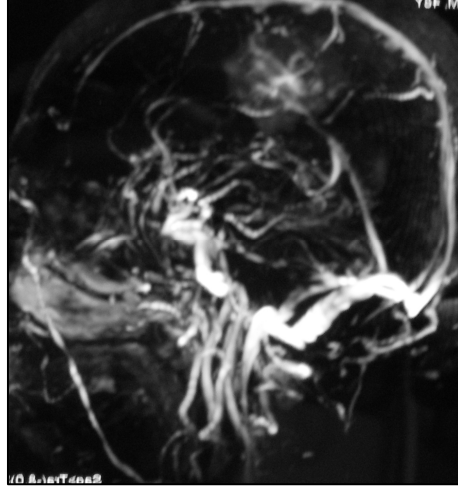
Şekil 2.9. Sfenoid kanat meningiomu 3D CT anjiografi görüntüsü

Peritümöral ödem % 60 oranında görülür (3,52). Tümör içi nekroz ve kistik alanlar bulunması heterojen boyanmaya neden olabilir. Ödem miktarı ile tümörün büyüklüğü arasında doğrudan bir korelasyon yoktur. Yoğun ödem olması meningioma daha agresif davranışlı olduğunu gösterebilir.

Magnetik rezonans görüntüleme meningoimlar tüm sekanslarda çoğunlukla korteksle izointens, T1 ağırlıklı incelemelerde de gri cevhere göre % 60 izointens,% 30 hipointens görülürler. Meningioma çevresinde beyin parankimi ile tümör sınırını belirleyen peritümöral rim diye tanımlanan beyin omurilik sıvısı (BOS) birikimi vardır. BT'de olduğu gibi intravenöz (IV) kontrast madde tulumu meningoimlarda MR'da da % 95 'in üzerinde sıklıkla heterojen olarak izlenmektedir (53). MR'da meningoimlar için karakteristik olduğu kabul edilmekle birlikte patognomonik olmayan başka intrakranial patolojilerdede görülebilen dural kuyruk (dural tail) görünümüne olguların % 35-80 'inde rastlanılır.

Rutin MRG'nin 3 ayrı anatomik planda yapılabilmesi, kemik artefaktının bulunmaması ve doku rezolüsyonunun diğer tetkiklerden daha yüksek olması, tümör lokalizasyonunun ve etraf dokular ile ilişkisini net olarak ortaya koymaktadır.

Beyin MR anjiografi ve venografi tümörün vaskülarizasyonunu ve komşu venöz sinüslerle olan ilişkisini göstermek açısından çok önemli görüntüleme yöntemleridir.



Şekil 2.10. Fals meningiomu sagittal MR anjiografi görüntüsü

MR spektroskopide meningiomlarda alanin, glutamat/glutamin ve kolin artışı, buna karşın kreatinin ve N-asetil taşıyan bileşiklerde ve lipidlerde azalma saptanmıştır. Kolin/Kreatinin oranı proliferatif potansiyeli yansıtabilmekte ve de spektroskopideki 1. 5 ppm'deki Ala piki meningiom olma olasılığını düşündürmektedir (54).

Digital selektif anjiyografilerde (DSA) bu tümörlerin vasküler özelliklerine bağlı olarak arteriel ve venöz fazdaki görüntülerde tümör boyanması ve kitle etkisine bağlı olarak fizyolojik damarlardaki yer değiştirmeler görülür, genişlemiş dural besleyicilerin 'güneş ışınları' paterni tipiktir. Anjiografinin venöz sinüsleri göstermesi, sinüsün tümör tarafından basılanmış ya da invaze edildiği durumların değerlendirilmesinde önemli yer almaktadır (55).

Ayrıca DSA büyük ve hipervaskülerize meningiomlarda embolizasyon amacıyla uygulanabilir. Tümörün besleyicileri endovasküler olarak kapatılarak yapılacak cerrahi girişimin süresini kısaltmakta ve peroperatif kan kaybını azaltmaktadır (55).

2.1.7. Tedavi

Meningiomlarda cerrahi rezeksiyon ilk tedavi yöntemidir. Meningiom tedavisindeki hedef tümörün mümkün olduğunca rezeke edilip mevcut bası etkisinin ortadan kaldırılması ve rekürrensin en aza indirilmesidir.

Nörolojik bulgu vermeyen kitle etkisi yapabilecek boyutta olmayan tesadüfen saptanan meningiomlar klinik ve görüntüleme yöntemleri ile takip edilebilir. Seçilmiş olgularda radyocerrahi uygulanabilir. İlk tedavi seçeneği olarak meningiomun anatomik lokalizasyonuna uygun cerrahi yaklaşım seçilmeli ve amaç tümörün total çıkarılması olmalıdır. Cerrahi tedavinin yeterliliği nüksü etkileyen en önemli faktördür. Bu nedenle tümör dokusu ile gelişen dura ve infiltrate kemik yapıların tamamen çıkarılması gerekmektedir. Total eksizyonun mümkün olmadığı lokalizasyonda bulunan meningiomlarda nüks oranı artmaktadır. En önemli rekürrens belirleyici tümörün histomorfolojisidir. Benign meningiomlarda rekürrens 5 yılda % 3, 25 yılda % 21, atipik meningiomlarda 5 yılda % 38-50, malign meningiomlarda ise 5 yılda % 78 oranındadır (18,56). Yeni çalışmalarda nüksü belirlemede beyin invazyonu, mitoz oranı ve histopatolojik derecenin önemi artmakta, hipervaskülarite, nekroz, kemik invazyonu ve hemosiderin birikiminin prognostik önem taşımadığı görülmektedir (56,57).

Gerçek rekürrens tümörün total rezeksiyonunun radyolojik olarak da gösterilmesine karşın tümörün tekrar ortaya çıkmasıdır. Rekürrensde izlenecek başlıca yöntemler hastanın klinik ve radyolojik takibi, reoperasyon veya radyasyon tedavisidir.

Konvansiyonel radyoterapinin uygulanmasının komplikasyon oranının yüksek olması yerini LINAC (lineer akseleratör) veya Gamma Knife (GK) formlarıyla uygulanan stereotaktik radyoşirürjiye bırakmaktadır. Konvansiyonel radyoterapi endikasyonları rekürrens, rezidü kitle ve malign olgulardır. GK tedavisi kullanımı için kriterler; MR'da gösterilen tümör büyümesi, yüksek cerrahi riskli lokalizasyon, hastanın cerrahi istememesi, tümör volümünün < 20 cm³ oluşu ve kranial sınırlara 2 mm. 'den daha yakın olmamasıdır (58,59).

Günümüzde meningiomlar için kullanılan bir kemoterapi protokolü yoktur. Malign meningiomlarda immunokemoterapi olarak alfa interferon, hidroksi üre, tamoksifen, mifepristone (RU-486), adriamisin, vinkristin veya adriamisin/dakarbazin (DTIC) kullanılmıştır. Meningiomları tedavisinde cerrahi halen ilk seçenek olmayı sürdürmektedir. Radyoşirürjinin kullanımı ise artarak yaygınlaşmaktadır.

2.2. Matriks Metalloproteinazlar ve İnhibitörleri

Matriks metalloproteinazları (MMP);ekstrasellüler matriks ile bazal membran komponentlerini parçalayabilen ve aktif bölgesinde çinko içeren pro enzim formunda sekrete edilip sonra aktive edilen zymogenlerdir. Latent formda salgılanırlar, proteolitik aktivasyon için aktive olmaları gerekmektedir. Spesifik doku inhibitörleri ile inhibe olurlar, Zn iyonu içerdikleri için şelatlayıcı ajanlardada inhibe olabilirler (60,61,62). Bu enzimler dokunun yeniden oluşturulması, morfogenezis, yara iyileşmesi ve fizyolojik durumlarda önemli rol oynamaları yanı sıra tümör hücreleri invazyonu, anjiogenezis ve metastaz gibi patolojik olaylarda yer alırlar. Ekstrasellüler matriksin ve bazal membranın parçalanması, nonneoplastik yeni doku oluşumunda olduğu gibi kanser invazyonunda da önemli rol alır. MMPler başlıca santral sinir sistemi,mide,kolon,pankreas,böbrek,deri ve prostatın malign tümörlerinin invazyonunda önemli rol alırlar.

Daha önceden tanımlanmış 7 üyesine şimdi yeni metalloproteinazların eklenmesi ile 17 den fazla enzim alt grubu bildirilmektedir. Bu enzimleri inhibe eden bazı faktörler vardır, bunlar metalloproteinazların spesifik doku inhibitörleri olan doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) tarafından regüle edilmektedir. MMP'ler substrat spesifikliğine göre kollejenazlar, stromelizinler, jelatinazlar, membran türü MMP ve diğer MMP'ler olmak üzere 5 sınıfa ayrılır. MMPlerin primer yapısı incelendiğinde bu proteinlerin birkaç farklı bölge içerdiği görülür (63).

- a) Predominan: İlk bölge predominant olarak adlandırılan, molekülü sekresyon için hedefleyen, sonra uzaklaştıran ve latent enzimde bulunmayan sinyal peptid dizisi olup 80-90 aminoasit içeren aminoterminal propeptiddir (63,64).
- b) Prodomain: Enzim aktive olunca çıkarılır ve yoğun olarak korunmuş PRCGVDPV dizini içerir. Aminoasit olan sisteinin rezidüsünün enzimin latent formunu korumada yer aldığı düşünülmektedir(24). Enzimin aktif hale gelmesi prodomainin ayrılması ile olur (64,65).
- c) Katalitik bölge: Çinko iyonunun bulunduğu, fonksiyonel stabilitenin korunduğu, histidin rezidüleri bulduran ve bakteriyel termolizine analog olan bölgedir (64).
- d) Prolinden zengin bölge: Katalitik bölge ile son bölge arasında bulunur.
- e) Hemopeksin benzeri bölge: Bu bölge son kısım, N ve C terminal kısımları bağlayan disülfid bağı içerir ve de katalitik bölgeye 5-10 aminoasitlik prolinden yoğun bölge ile bağlanır. Bu bölge MMP-7 (matrilysin) hariç tüm metalloproteinazlarda bulunur. Bölgenin tam fonksiyonu bilinmemekle birlikte, substrat spesifitesini veya plazminojen aktivatör ürokinaz sistemine analog olma özelliği ile hücre yüzeyi reseptör alanını tanıma fonksiyonu yaptığı düşünülmektedir (63). Bu alanın substrat bağlamada ve TIMP ile etkileşimde fonksiyonel öneme sahiptir (64).

Bunların dışında MMP-2 (Gelatinaz A), MMP-9 (Gelatinaz B) katalitik bölgelerinde diğer matriks metalloproteinaz enzimlerinde olmayan, sisteinden zengin jelatin bağlayan ekstra bir domaine sahiptirler (63). MMP-11 (Stromelysin 3) ve membran tipi metalloproteinazlar (MT-MMP) 10 aminoasitlik Fürin benzeri enzimlerin tanımlama sekanslarına homolog kısım içerirler (65). MMP-9 (Gelatinaz B) ve MT-MMP 'lerin hepsi; tip IV kollajenin α zincirine benzer kısım bulunur (66).

Metalloproteinazların öneminin giderek artması ve yeni üyelerin keşfi karışık bir adlandırma sistemine neden olmuş Uluslar arası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği spesifik enzim numaraları vermeyi önermiştir (62,64,65). MMPler substrat spesifitesine göre 4 grupta ele alınmıştır.

1) Kollajenazlar: MMP1, MMP8, MMP13

2) Gelatinazlar: MMP2, MMP9

3) Stromelysinler: MMP3, MMP10, MMP11

4) Bunlara ek olarak membran tip metalloproteinaz

Tablo 2.2. İnsanlarda metalloproteinaz ailesinin üyeleri (67)

GRUP	MMP	MA Latent (kDa)	MA Aktif (kDa)	Etki ettiği substrat
Kollejenazlar				
İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	55	43	Kollajen tip 1,2,3,7,10
Nötrofil kollajenaz	MMP-8	75	58	Kollajen tip 1,2,3
Kollajenaz 3	MMP-13	65	55	Kollajen tip 1,2,3,4,gelatin
Gelatinazlar				
Gelatinaz A	MMP-2	72	66	Gelatin,elastin,fibronektin,kollajen tip 4,5,7,10
Gelatinaz B	MMP-9	92	84	Gelatin,elastin,fibronektin,kollajen tip 4,5,1,3
Stromelysinler				
Stromelysin 1	MMP-3	57	46	Kollajen tip 3,4,5,9 laminin,fibronektin,proteoglikanlar
Stromelysin 2	MMP-10	57	46	Gelatin,kollajen 3,4,5 fibronektin
Stromelysin 3	MMP-11	51	44	α 1 proteinaz inhibitörleri
MT-MMPs				
MT1-MMP	MMP-14	64	54	ProMMP-2,MMP-13,kollajenler,fibronektin
MT2-MMP	MMP-15	72	61	MT1-MMP ile benzer
MT3-MMP	MMP-16	66	55	Pro MMP-2
MT4-MMP	MMP-17	-	54	Pro MMP-2
MT5-MMP	MMP-24	63	62	Pro MMP-2
Diğerleri				
Matrilysin	MMP-7	28	19	Gelatin,fibronektin,elastin,kollajen tip 4
Metalloelastaz	MMP-12	54	45	Elastin,fibronektin,kazein

1-5 (MT-MMPs) (64)

İnterstisyel kollajenaz (MMP 1, Fibroblast kollajenaz)

Prototip üyedir. 1962 yılında kurbağa yavrusunun kuyruk kısmının kaybolmasını sağlayan bir proteaz olarak bulunmuştur. Latent formu 55 kDa ağırlığında, aktif şekli 43 kDa molekül ağırlığındadır (64). İnterstisyel tip 1,2,3 kollajeni parçalar, interstisyel kollajenler bazal membrandaki tip 4 kollajenden farklıdır (60).

Nötrofil kollajenaz (MMP 8)

75 kDa molekül büyüklüğünde proenzim, aktif formda 58 kDa büyüklüğündedir. Nötrofiller tarafından salgılanır tip 1,2,3 interstisyel kollajeni yıkar.

Kollajenaz 3 (MMP 13)

Tip 1 kollajeni yıkar

Gelatinaz A (MMP 2)

Latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığındadır. (64)

Bu enzim tip 4,5,7,10 kollajeni, gelatini, elastin ve fibronektini, laminini yıkar (65,66,68).

Gelatinaz B (MMP 9, 92kDa kollajenaz)

Latent formu 92 kDa, aktif formu 46 kDa ağırlığındadır. Gelatin ve tip 4 bazal membran kollajeni için spesifik enzimdir (65).

Stromelysin 1 (MMP 3, Transin)

Latent formu 57 kDa, aktif formu 46 kDa ağırlığındadır. Stromelysin oluşumunda fibroblast growth faktörler, sitokinler ve tümör promoterleri rol oynar (65,66).

Enzim proteoglikanlar, laminin, fibronektin, gelatinler, kollajen tip 3,4,5,9 yıkımda yer alır (65,66).

Stromelysin 2 (MMP 10)

Latent formu 57 kDa, aktif formu 46 kDa ağırlığındadır. Stromelysin 1 ile benzer özellikler taşır. Fibronektin, gelatin ve tip 3,4,5 kollajenleri yıkar (66).

Stromelysin 3 (MMP 11)

α 1-proteaz inhibitörüdür. Uterus, plasenta, ve insan embriyosunda bulunur (64).

Matrilysin (MMP 7)

Latent formu 28 kDa, aktif formu 19 kDa ağırlığındadır. Stromelysinlere benzer geniş substrat spesifitesi gösterirler (28).

Metalloelastaz (MMP 12)

Elastin, fibronektin ve kazeini yıkar.

2.2.1 Metalloproteinazların Regülasyonu

1. Transkripsiyonel Regülasyon:

MMP genlerinin yapısı net olarak bilinmemekle birlikte mRNA'larının sitokinler, tümör promoterleri, büyüme faktörü gibi ajanlarla indüklendiği bilinmektedir. MMP'lerin transkripsiyonel olarak düzenlenişi, onkogenlerin ve büyüme faktörünün bu düzeneği ne şekilde kontrol edebildiği açıklığa kavuşmuştur. MMP gen ekspresyonunun pozitif regülasyonu transkripsiyonel aktivasyon düzeyinde ortaya çıkmaktadır (63). Çeşitli çalışmalar sonucunda c-fos ve c-jun metalloproteinaz gen ekspresyonunun önemli regülatörleridir. Metalloproteinaz gen ekspresyonunun indüksiyonu; c-fos, c-jun'un primer rol aldığı intrasellüler üçüncü mesajcı yolunu kullanır. Kollajenaz gen ekspresyonunun glukokortikoidler ile inhibisyonu, TRE (TPA responsive element)/AP-1 (aktivatör protein 1) bağlayan bölümde etki eder ve c-fos yada c-jun bu etkileşimde aracılık eder (63).

2. Metalloproteinaz Aktivitesinin Regülasyonu:

MMP mRNA'sı kodlandıktan sonra translasyon gerçekleşir ve enzim proenzim formunda sekrete edilir. Latent formda sekrete edilmiş MMP, organik civa bileşenleri, şelasyon yapıcı ajanlar ve proteazlar gibi invitro ajanlarla aktive olabilir ve aktivasyon sonucunda proteolitik sindirimle sınırlandırılabilir (63). Latent formdaki molekül, prodomaini etrafında katlanmış ve korunmuş olarak bulunan PRCGVDPV bölgesindeki sistein rezidüleri Zn ile kompleks oluşturur. Bu formdaki metalloproteinazların aktivatörleri molekülde Zn ile etkileşimi bozarak ve çinkoyu serbestleştirerek, MMP latent molekülünde bir konformasyonel değişiklik oluşturur. Aktif formdaki MMP de PRCGVDPV bölgesini içeren aminoterminal prodomainin uzaklaştırılması otoproteoliz yeteneğini açığa çıkarır. Plasminojen prekürsörlerinden oluşan plasmin MMP 'ın endojen aktivatörüdür. Plasmin hem prokollajenazı hemde prostromelysini aktive eder ve bunun sonucunda stromelysin proteolitik yıkımla interstisyel kollajenazı aktive eder. MMP ve plasminojen aktivatörlerinin sinerji göstermesi ile ekstrasellüler matriksin parçalanması ile sonuçlanır. Aktivitenin regülasyonunda yer alan diğer endojen faktörler ise, katepsin B,G,elastaz, sitokinler, hormonlar, protoonkogenler, streoidler ve büyüme faktörleridir (63).

Bu regülasyon mekanizmasında önemli diğer bir faktör de MMP inhibitörleridir.

2.2.2 Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP)

Matriks-metalloproteinazları inhibe eden faktörlerden biri genel proteinaz inhibitörü olan yüksek molekül ağırlığı ile doku içine girmesi zor olan α 2-makroglobulin diğeri ise antikollajenaz aktivitesi olan serum C-reaktif proteindir. Daha sonraları spesifik MMP doku inhibitörleri (TIMP) tanımlanmıştır. MMP aktivasyonunun regülasyonunda invivo koşullarda TIMP'lar önemli rol alırlar (69,70,71,72,73,74).

TIMP'ların aktif olması için yapısının bozulmaması gerekir. TIMP aktivitesi EGF, TGF- β , IL-1 β , IL-6, retinoik asit, onkostatin, forbol esterleri, sitokinler ile arttırılabilir. Tümör nekroz faktörün TIMP aktivitesinde rolü olduğu, TNF- α 'nın düşük konsantrasyonda TIMP-1 üretimini arttırırken, yüksek konsantrasyonda TIMP-1

üretimini azaltmaktadır. TIMP'ler MMP'lerin aktivitesini hem proenzim aktivasyonu aşamasında hemde substrat yıkımı sırasında düzenler. Spesifik lokalizasyonlarda etkili olurlar (70).

MMP ve TIMP arasındaki oran çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarla değişmektedir. Bazı araştırmacılar intrakranial tümörlerin invazyon potansiyeli ile TIMP-1 miktarı arasında ters orantı saptamışlardır. İnvazyon yapma potansiyeli yüksek tümörlerin daha az oranda TIMP içerdiği ve tümörlerin hepsinin farklı düzeyde TIMP-1 içerdiği ve bununla bölgesel farklılık gösterdiği bulunmuştur (69).

TIMP-1: X kromozomu üzerinde, 20 kDa molekül ağırlığında protein yapısında altı adet disülfid bağı olan, glikolizasyon ile aktive olan, aktif formu 28 kDa ağırlığında siyaloglikoproteindir (69,74). Başta makrofajlar olmak üzere pek çok hücrede üretilir, sekrete edilir ve trombositlerde depolanabilir (69,70,74). TIMP-1 spesifik metalloproteinazlara karşı etki eder, diğer metalloendopeptidazlar üzerinde inhibitör etkisi yoktur (70). TIMP-1'ler MMP'lerin aktif şekillerine yüksek afiniteli nonkovalant bağlarla irreversibl olarak bağlanırlar (70). Gelatinaz B 'nin proformuna bağlanabilir ve de MMP-9 ile ilişkili sekrete edilir (74).

TIMP-2: 21 kDa ağırlığında glikolize olmamış bir proteindir. TIMP-1 ile homolog 12 sistein rezidüsü vardır (69). TIMP-1 ve TIMP-2 arasında % 40 oranında aminoasit dizilim benzerliği vardır, ayrıca aktif formdaki MMP'lere bağlanma yönüyle de TIMP-1 ile benzerlik gösterir (70). TIMP-2 TIMP-1 den farklı olarak regüle edilir, folbol esterleri ile üretimi etkilenmez ve TGF- β ile inhibe olmaz. Ayrıca TIMP-2 nin kan beyin bariyerinde de rolü olduğu saptanmıştır (69). ProMMP 2 ve aktif MMP 2 yi inhibe eder.

TIMP-3: 21 kDa ağırlığında non glikolize MMP inhibitörüdür. TIMP-1 ve 2 den farklı yapısal özelliktedir. Ekstrasellüler matriksten transforme olmuş hücrelerin ayrılmasını sağlar ve morfolojik değişiklikleri başlatır (69).

Son çalışmalarda insan glioma hücre kültürlerinden üç yeni MMP inhibitörü bulunmuştur. Bunlar, IMP-1, IMP-2, IMP-3 olarak tanımlanmışlardır (69).

TIMP'lar kemik remodelling, meme bezlerinin küçülmesi, hamileliğin devamı gibi birçok fizyolojik düzenlemelerde önemli rol oynadığı bilinmektedir. TIMP'ler doku hasarı, anjiogenezisi içeren benign hastalıklarda da yer alır. TIMP in tümör invazyonu ve metastazında baskılayıcı olarak görev yaptığı görülmektedir.

2.2.3 Metalloproteinazlar ve Anjiyogenez

MMP 'ler anjiyogenezde pozitif düzenleyicidirler. Hücre dışı matriksi yıkarak epitel hücrelerinin stromaya girmesini sağlarlar. Özellikle MMP-2, MMP-9 ve MMP-14 anjiyogenezde doğrudan rol alırlar. Tümör invazyonu ve anjiyogenezi birçok yönden benzerdir. Anjiyogenezi oluşturan faktörler, tip 4 ve tip 5 kollajen içeren bazal membranı yıkmak için MMP üretimini artırır. İnvaze eden hücreler bazal membranı aştıktan sonra olan hücre proliferasyonu ve invazyon yeni damar oluşumu ya da yeni bir metastatik odak ile sonuçlanır. Bu aşamada yeni damar oluşumunu engellemek için MMP inhibitörleri kullanılabileceği ile ilgili çalışmalar mevcuttur (75).

Bir çalışmada TIMP-1 ve TIMP-2 nin topikal olarak verilmesi civciv koriyoallantoik membranında spermin ile indüklenmiş damar oluşumunu inhibe etmiştir (76).

Ortaya çıkan anjiyogenezisin inhibisyonu ile TIMP'lerin tümör invazyonu ve metastazında sınırlayıcı olarak kullanılabilecekleridir.

2.2.4 MMP'ler ve Hücre Büyümesi, Apoptozis

Matriks metalloproteinazlar hücre çoğalmasını ve büyümesini üç farklı şekilde etkiler. İlk olarak MMP'ler hücre zarında bağlı bulunan büyüme faktörlerini mobilize ederler (56). Peptit yapısındaki büyüme faktörleri örneğin IGF, MMP'ler tarafından aktive edilir (26). Hücre dışındaki integrinler ile etkileşerek hücre çoğalmasını tetikler (77). Bununla birlikte apoptozis ve anti apoptozis üzerine etkisi vardır. Örneğin meme dokusunda MMP-3, MMP-7 ve MMP-11 laminini parçalayarak

apoptozisi düzenlerler (8). MMP-7 hücre zarındaki FASL serbestleştirerek apoptozisi etkiler (78).

2.2.5 Merkezi Sinir Sistemi ve Metalloproteinazlar

Primer intrakranial tümörlerde morbitide ve mortalite primer tümör dokusuna bağlı ortaya çıkmaktadır. Malign beyin tümörlerinin invazyon ve yayılımına MMP'ler aracılık ederler. Bunların arasında gelatinazlar, interstisyel kollajenaz, stromelysinler bulunmaktadır. Benign meningiomlarda tümör dokusundaki kollajenaz aktivitesi düşük, invaze olmuş dura ve kemikte yüksek saptanmıştır. Glioma hücrelerinin in vitro koşullarda MMP-1, MMP-2, MMP-3 sekresyonu ve glioblastoma, akciğer metastazlarında MMP-9 artışı bildirilmiştir (79).

2.2.6. Farklılaşma ve Polimorfizm

Hücrenin çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki dengenin bozulması ile kanser oluşur. DNA onarımında görevli genlerin polimorfizmi protein işlevleri ve hasarlı DNA yapılarını onarma becerisini değiştirebilmektedir. Genetik çeşitlilik tipi ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak tanımlanır. DNA onarım genlerindeki polimorfizmler kanser riskini tek başlarına açıklamak için yeterli olmamaktadır. Transformasyona uğramış hücrelerin metastaz potansiyeli yeni damar oluşumundan, stroma-tümör ilişkisinden ve ortamdaki sitokin içeriğinden etkilenebilir (80).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu ve Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir. 2000-2009 yılları arasında Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesinde opere edilen ve patolojik tanısı meningiom olan 50 hasta incelenmiştir. Hastaların 24'ü grade I, 21'i grade II ve 5'i grade III meningiom saptandı. Olgulara ait patolojiler parafin bloklardan hastanemiz patoloji bölümünde 3 mikron kalınlığında bloklar alınarak MMP-2 ve TIMP-2 immünohistokimyasal ekspresyonu, ayrıca beyin invazyonu ve Ki-67 indeksi incelenmiştir. Aile öyküsünde meningiom veya başka benign veya malign tümör öyküsü bulunmayan 100 sağlıklı yaş ve cinsiyet uyumlu bireylerden periferik kan örneği alınarak, parafin blok doku kesitlerinden ve periferik kan örneklerinden DNA eldesini takiben MMP-2 geni promotor bölgesine ait -735C>T, -1575G>A, -1306C>T polimorfizmleri ve TIMP-2 geni promotor bölgesine ait 418G>C ve 3. eksonuna ait 303C>T polimorfizmleri hedef bölgelere özgü primerler ile PCR reaksiyonunu takiben restriksiyon enzim kesimi yöntemi ile belirlenmiştir.

3.1. Mikroskopik İnceleme

Hematoksilen eozin boyalı tümör kesitleri, mitoz, pleomorfizm, nekroz, psammoma cisimciği ve beyin invazyonu varlığı yönünden değerlendirildi. Tümör dokularının tiplmesi Dünya Sağlık Örgütü (WHO 2007) sınıflamasına göre yapıldı.

Benign sitoloji parametreleri ile meningotelyal, fibroblastik, anjiomatöz, psammomatöz, transizyonel, paterni olanlar WHO grade I meningiom olarak

değerlendirildi. Kordoid, atipik, berrak hücreli olgular WHO grade II olarak değerlendirildi. Atipik meningiom tanısı; 10 büyük büyütme alanında 4-20 arası mitoz ve/veya sellülarite, artmış nukleus/sitoplâzma oranı, belirgin nukleol varlığı ve nekroz alanlarına göre verildi. Mitotik aktivitenin 0-3 arasında olması grade I, 4-20 arasında ise grade II, 20'nin üzerinde ise grade III olarak kabul edildi. Anaplastik meningiom tanısı WHO 2007 kriterlerine dayanılarak verildi. Buna göre anaplastik meningiom tanısı büyük büyütme alanında 20'den fazla mitoz ve karsinom, sarkom, ya da melanom benzeri anaplastik morfolojiye göre değerlendirilmiştir. Tümör kesitleri incelenerek beyin dokusu varlığına bakıldı. Tümör komşu beyin parankim dokusuna infiltrasyon yapıyor ve tümör ile beyin parankimi arasında leptomeninks yoksa invazyon olarak kabul edildi.

3.2. Ki-67

Işık mikroskopunda $\times 100$ 'lük büyütme ile tümör alanları incelenerek immünohistokimyasal olarak en yoğun boyanan alanlar belirlendi. Bu alanlar $\times 1000$ lik büyütmede oküler mikrometri ile hücreler sayıldı. Nükleer boyanma gösteren neoplastik hücrelerin sayısı, toplam neoplastik hücre sayısına oranlanarak boyanma yüzdesi belirlendi.

3.3. İmmünohistokimyasal İnceleme:

Tümör alanları olan örneklerden MMP-2 ve TIMP-2 ekspresyonlarını immünohistokimyasal olarak değerlendirmek için kesitler hazırlandı. İmmünohistokimyasal boyama streptavidin-biyotin 3'lü indirekt immünoperoksidaz yöntemi kullanılarak yapıldı. Doku bloklarından 3 mikron kalınlığında kesitler yapıp adhezivli lamlara alındı.

Kesitlerde rutin deparafinizasyon işlemi aşağıdaki şekilde uygulandı:

1. Bir gece boyunca 37 °C 'de etüvde ve sabah 1,5 saat 56 °C'de etüvde inkübe edildi.
2. Üç kez 6 dakika ksilen banyosu yapıldı.
3. Altışar dakika sırayla 96, 80, 70 derece etil alkol banyosu yapıldı.
4. Distile su banyosu uygulandı.

Deparafinizasyon işlemi sonrası immünohistokimyasal inceleme işlemi için aşağıdaki işlemler yapıldı:

1. antijenin yeniden kazanılması için antikorun uygulanacağı kesitler bir litre sitrat solüsyonu içinde mikrodalgada 20 dakika kaynatıldı.
2. Mikrodalgadan çıkarılan lamlar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.
3. Çeşme suyu ile 30 saniye yıkandı.
4. Endojen peroksidaz aktivitesi % 3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletilerek giderildi.
5. Beş dakika PBS banyosu uygulandı.
6. Blokaj yıkanmadan lamların üzerine MMP-2,TIMP-2 antikor damlatıldı.
7. Primer antikorda 60 dakika bekletildikten sonra PBS' e alınarak 5 dakika yıkandı.
8. Biotinlenmiş sekonder antikor ile 15 dakika inkübe edildi.
9. PBS ile 5 dakika yıkandı.
10. Streptavidin-Horseradish peroksidaz ile 15 dakika inkübe edildi.
11. PBS ile 5 dakika yıkandı.

12. AEC kromojen ile 10-15 dakika süren inkübe edildi.
13. Distile su ile yıkama yapıldı.
14. Zemin boyaması için hematoksilende 1 dakika bekletildi.
15. Musluk suyu ile 5 dakika yıkandı.
16. Havada kurutma işleminden sonra ksilen banyosu ve su bazlı kapama maddesi (AEC solüsyonu) ile kapatıldı.

MMP-2 ve TIMP-2 antikorları ile boyanma derecesi (şiddeti ve yaygınlığı) semikantitatif olarak 1:düşük, 2:orta ve 3:yüksek olarak değerlendirildi.

3.4. MMP2 ve TIMP2 gen polimorfizmlerinin belirlenmesi

MMP-2 ve TIMP-2 genleri promotor bölge polimorfizmleri (MMP-2 -735C>T, -1575G>A, -1306C>T ve TIMP-2 418G>C ve 3. eksonuna ait 303C>T) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile belirlendi.

Kullanılan cihazlar

1. Distile su cihazı (Millipore, Fransa)
2. Masa Üstü Santrifuj Cihazı (Beckman-Coulter, ABD)
3. Minisantrifuj (Labnet, Kore)
4. Çalkalayıcı (Nüve, Türkiye)
5. Spektrofotometre (Eppendorf, Almanya)
6. Manyetik karıştırıcı (SBS, Güney Afrika Cumhuriyeti)
7. Ph metre (Consort P500, Belcika)
8. Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
9. Derin dondurucu (Arçelik, Türkiye)
10. Termal Cycler (Applied Biosystems 2720, ABD)

11. Mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye)
12. Yatay elektroforez sistemi (Cleaver Scientific, İngiltere)
13. Jel görüntüleme sistemi (Syngene, İngiltere)
14. Güç kaynağı (Consort, Belçika)

Kullanılan Kimyasallar

1. Kandan DNA izolasyon kiti (NucleospinBlood Isolation Kit, Machery-Nagel, Almanya)
2. Dokudan DNA izolasyon kiti (NucleospinTissue Isolation Kit, Machery-Nagel, Almanya)
3. PZR tamponu (Finnzymes, Finlandiya)
4. Taq polimeraz (Hot Start Taq DNA polimerase, Qiagen, ABD)
5. dNTP (10x) Herbir deoksiribonükleotidden (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 10 mM (Jena Bioscience, Almanya)
6. BspH1, TspR1, Hinf1, BsoB1, Acc1 Restriksiyon Enzimleri (New England Biolabs, ABD)
7. Agaroz (Sigma, ABD)
8. Yüksek çözünürlüklü agaroz (Sigma, ABD)
9. Trizma Baz (Sigma, ABD)
10. Borik Asit (Sigma, ABD)
11. EDTA disodium disulfate (Sigma, ABD)
12. Etidyum Bromür (Sigma, ABD)
13. 50 baz çifti molekül ağırlık belirteci (Fermentas, İngiltere)
14. 100 baz çifti molekül ağırlık belirteci (Fermentas, İngiltere)
15. Etanol (Merck, Almanya)
16. Xylene (Merck, Almanya)

Kullanılan tampon ve çözeltiler

- Agaroz (%2)

0,5 gr agaroz, 100 ml 0. 5xTBE içinde mikrodalga fırında kaynatılarak eritildi.

- Yüksek çözünürlüklü agaroz (%2)

0,5 gr yüksek çözünürlüklü agaroz 100 ml 0. 5xTBE içinde mikrodalga fırında kaynatılarak eritildi.

- 10xTBE

108 gr Tris baz, 55 gr Borik asit, 9. 3 gr EDTA toplam hacim 1000 ml olacak

şekilde distile su içinde çözüldü.

- 0,5xTBE

50 ml 10x TBE tamponuna distile su eklenerek 1000 ml toplam hacime tamamlandı.

- Etidium bromür konsantrasyonu 10 mg/ml olacak şekilde hazırlandı.

Parafin Bloktan DNA İzolasyonu

Hasta grubuna ait parafine gömülmüş doku örneklerinden NucleospinTissue Isolation Kit (Machery-Nagel, Almanya) ile genomik DNA izolasyonu aşağıdaki basamaklar uygulanarak gerçekleştirildi.

1. Dokunun üzerine 1 ml xylene eklendi, kuvvetli bir şekilde vorteks yapılarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
2. 13000 rpm'de 3 dk santrifüj edildi, süpernatant kısmı atılarak 1 ml absolute ethanol eklendi ve ters düz edilerek karıştırıldı.
3. 13000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmı atıldı.
4. Ethanol ile yıkama işlemi bir kez daha tekrarlandı ve 13000 rpm'de 3 dk santrifüj yapıldıktan sonra üst fazdaki ethanolün tamamı pipetle çekildi.

5. Tüplerin ağızı açık olarak yatay konumda etanol tamamen uçuncaya kadar beklendi.
6. 180 µl buffer T1 eklendi ve 25 µl proteinaz K koyularak tüpler vortekslendi. 56°C'de 1- 3 saat inkübe edildi.
7. İnkübasyon süresi sonunda örnekler vortekslendi, 200µl B3 eklenerek kuvvetlice vortekslendi, 70°C'de 10 dakika bekletildi. Süre sonunda hafifçe vorteks yapıldı.
8. Örneklere 210 µl etanol eklenerek kuvvetlice vortekslendi.
9. Filtre tüpü toplama tüpünün içine yerleştirildi. Örnek filtre tüpüne pipetlendi. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi, toplama tüpündeki sıvı dökülerek tüp tekrar filtre tüpüne takıldı.
10. 500 µl buffer BW eklendi, 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek süzülen sıvı döküldü.
11. 600 µl buffer B5 eklendi 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Alttaki sıvı döküldü.
12. Etanolu uzaklaştırmak için tüp 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
13. Spin kolon yeni bir 1,5'luk ependorfa takıldı 100 µl önceden ısıtılmış elution buffer (70°C) eklendi. 1 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra. 13000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi
14. Elde edilen DNA örnekleri PZR öncesi +4 °C' de saklandı.

Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Kontrol grubunda EDTA'lı periferik kan örneklerinden NucleospinBlood Isolation Kit (Machery-Nagel, Almanya) kullanılarak "spin colon" yöntemi ile genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. İşlem sırasında aşağıdaki basamaklar uygulandı.

1. Kontrol grubuna ait EDTA' lı peiferik kan örnekleri vortekslendi
2. 1,5 ml'lik ependorf tüpe 200 µl pıhtısız kan, 200 µl Buffer B3, 25 µl proteinase K koyuldu, pipetaj yapıldı ve vortexlendi.
3. 30 dakika kapağı açık olarak 70 C^olik su banyosunda bekletildi.
4. Süre sonunda kanlara 210 µl etanol eklendi. Pipetaj yapıldıktan sonra vortekslendi
5. Tüpteki bu karışımın tümü spin kolona pipetlendi.

6. 13000 g'de 2 dakika santrifüj edildi, toplama tüpü atılıp, yenisi kondu.
7. 500 µl Buffer BW spin kolona eklendi. 13000 g'de 2 dakika santrifüj edildi.
8. Toplama tüpü içeriği döküldü ve spin kolon tekrar yerleştirildi. 600 µl Buffer B5 spin kolona eklendi, 13000 g'de 2 dakika santrifüj edildi.
9. Spin kolonlar 1,5ml'lik tüpler içine yerleştirildi ve toplama tüpleri atıldı.
10. Elution buffer'dan 100 µl spinlere eklenerek oda sıcaklığında 1 dakika bekletildikten sonra 13000 g'de 2 dakika santrifüj edildi.
11. Kolonlar atılarak tüplerin kapakları kapatıldı, PZR öncesinde +4 C^o de saklandı.

Gen polimorfizlerinin belirlenmesi için PZR ve Enzim kesimi

Hasta ve kontrol gruplarına ait örneklerden elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları spektrofotometre cihazında ölçülerek herbir polimorfizm için ayrı ayrı hazırlanan reaksiyona yaklaşık 250 ng olacak şekilde sulandırılarak eklendi. PZR karışımları herbir örnek için aşağıdaki şekilde hazırlandı:

PZR tamponu 1: 2. 5 µl

PZR tamponu 2: 2. 5 µl

Primer F: 0. 2 µl (1 µM)

Primer R: 0. 2 µl (1 µM)

dNTP: 1 µl (0. 5mM)

MgCl₂: 1 µl

Hot Start Taq Polimeraz: 0. 2 µl (0,4 U)

DNA örneği: 5 µl (250 ng)

Son hacim steril distile su ile 25 µl'ye tamamlandı. Aşağıda verilen koşullarda PZR cihazına koyuldu.

MMP2 1306 C>T polimorfizmi için PZR koşulları

95°C 15 dk
94 °C 1 dk
53 °C 1 dk
72 °C 1 dk
72 °C 6 dk

} 35 döngü

MMP2 1575 G>A polimorfizmi için PZR koşulları

95°C 15 dk
94 °C 1 dk
66 °C 1 dk
72 °C 1 dk
72 °C 10 dk

} 35 döngü

MMP2 735 C>T polimorfizmi için PZR koşulları

95°C 15 dk
94 °C 1 dk
65 °C 1 dk
72 °C 1 dk
72 °C 6 dk

} 35 döngü

TIMP2 303 C>T polimorfizmi için PZR koşulları

95°C 15 dk
94 °C 1 dk
58 °C 1 dk
72 °C 1 dk
72 °C 6 dk

35 döngü

TIMP2 418 G>C polimorfizmi için PZR koşulları

95°C 15 dk
94 °C 1 dk
60 °C 1 dk
72 °C 1 dk
72 °C 6 dk

35 döngü

Tablo 3.1. Çalışılan polimorfizmlerin primer dizileri ve ürün uzunlukları

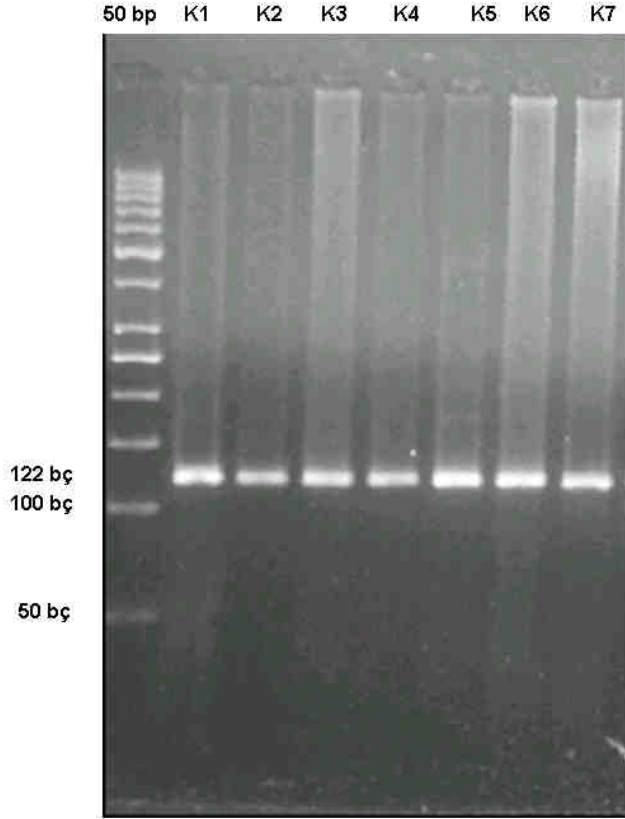
Polimorfizmler		Primer dizileri	Ürün uzunluğu	Restriksiyon Enzimi
MMP2 1306 C>T	F	5' ATATTCCCCACCCAGCAGTC 3'	122 bç	AccI
	R	5' TTGGGAACGCCTGACTTCAG 3'		
MMP2 1575 G>A	F	5' ACCAGACAAGCCTGAACTTGTCTGA 3'	542 bç	BspHI
	R	5' TGTGACAACCGTCTCTGAGGAATG 3'		
MMP2 735 C>T	F	5' ATAGGGTAAACCTCCCCACATT 3'	300 bç	HinI
	R	5' GGTAATGAGGCTGAGACCTG 3'		
TIMP2 303 C>T	F	5' TAGGAACAGCCCCACTTCTG 3'	119 bç	TspRI
	R	5' CCTCCTCGGCAGTGTGTG 3'		
TIMP2 418 G>C	F	5' CGTCTTTGTTGGCTGGTCA 3'	304 bç	BsoBI
	R	5' CCTTCAGCTCGACTCTGGAG 3'		

F: Forward, R: Reverse, bç: baz çifti

Elde edilen PZR ürünleri %2 agaroz jel elektroforezinde (90 voltta 50 dakika) yürütülerek kontrol edildi. Enzim kesimi için alınacak PZR ürünü miktarı, ürünün jeldeki parlaklığı değerlendirilerek belirlendi (5-20 µl). PZR ürünleri 5 U restriksiyon enzimi ile inkübe edildi. Enzim kesimi sonrasında ürünler %2'lik yüksek çözünürlüklü agaroz jel elektroforezinde (90 voltta 2 saat) yürütülerek kontrol edildi.

MMP2 1306 C>T Polimorfizmi

PCR



Şekil 3.1. 7 kontrol olgusunda 1306 C>T polimorfizmi için PZR sonrası elde edilen ürünlerin %2'lik yüksek çözünürlüklü agaroz jel elektroforezinde görüntüsü.

Enzim Kesimi



Şekil 3.2. 7 örneğe ait T315I PZR sonrası enzim kesimlerinin %2'lik yüksek çözünürlüklü agaroz jel elektroforezi görüntüsü. 50 bp: 50 bç DNA ağırlık belirteci, H28, H29, H30, H31, H33 hasta örnekleri ve Kesilmemiş PZR ürünü. H33 no'lu hasta örneğinde 122 ve 103 bç büyüklüğünde iki bant 1306C>T polimorfizmi varlığını göstermiştir.

3.5. İstatiksel Analiz

Veriler Pearson ki-kare testi, bağımsız değişkenler testi ve ANOVA istatistiksel yöntemleri ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 13. 0 istatistik paket programı (SPSS 13. 0, Chicago IL, USA) ile yapılmıştır. Sonuçlar n, % olarak ifadelendirilmiş ve $p < 0. 05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya 100 (50/50, K/E) bireyli kontrol grubu ve 50 (27/23, K/E) hasta alınmıştır.

Tablo 4.1. Gen Polimorfizmlerini Tümü İçin Allel Ve Genotip Sıklıkları Ve Fark Kontrol Özet Tablosu (Not: Pearson ki-kare testine göre $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.) (*: İstatiksel olarak anlamlı farklılık)

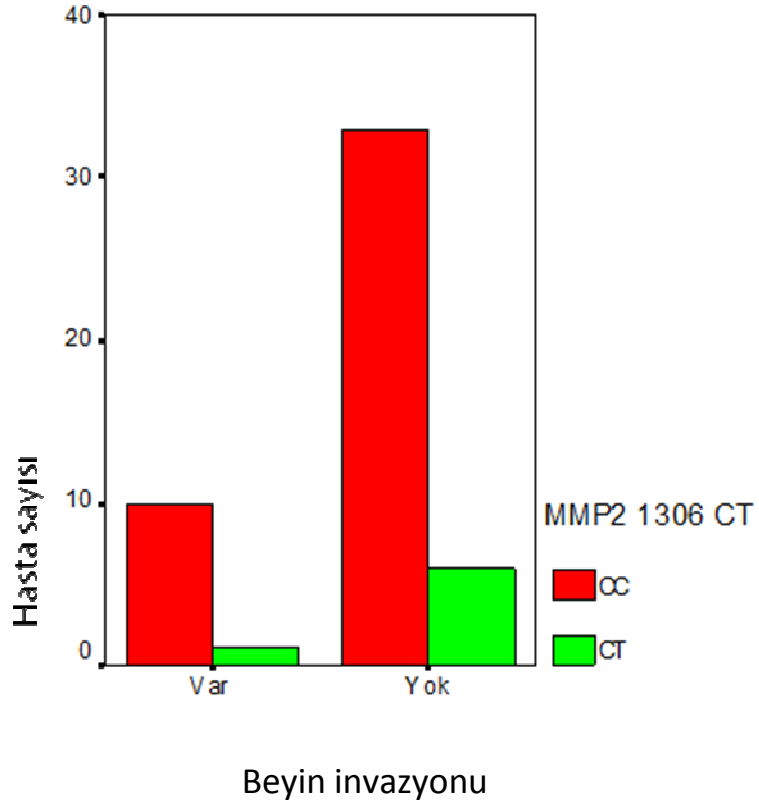
	Kontrol		Meningiom		p	Hasta - Kontrol OR (95% CI)
	n	%	n	%		
MMP2						
1306 C>T	99		50			
CC	98	99,0	43	86,0	0,001*	
CT			7	14,0		
TT	1	1,0				
C	196	99,0	93	93,0	0,001*	7,4 (1,5 - 36,2)
T	2	1,0	7	7,0		
735 C>T	81		33			
CC	65	80,2	24	72,7	0,342	
CT	14	17,3	9	27,3		
TT	2	2,5				
C	144	88,9	57	86,4	0,59	1,3 (0,5 - 3,0)
T	18	11,1	9	13,6		
1575G>A	84		30			
GG	39	46,4	21	70,0	0,071	
GA	35	41,7	6	20,0		
AA	10	11,9	3	10,0		
G	113	67,3	48	80,0	0,06	1,9 (1,0 - 4,0)
A	55	32,7	12	20,0		
TIMP2						
303 C>T	89		49			
CC	66	74,2	33	67,3	0,395	
CT	23	25,8	16	32,7		
TT						
C	155	87,1	82	83,7	0,44	1,3 (0,7 - 2,6)
T	23	12,9	16	16,3		
418G>C	83		48			
GG	81	97,6	47	97,9	0,904	
GC	2	2,4	1	2,1		
CC						
G	164	98,8	95	99,0	0,90	0,9 (0,1 - 9,6)
C	2	1,2	1	1,0		

MMP2 1306 C>T polimorfizmi açısından hasta grubunun % 86'sı CC, % 14'ünde CT genotipi saptandı. Kontrol grubunun ise % 99'unun CC genotipi, % 1'inin ise TT genotipinde olduğu belirlendi. MMP2 735 C>T polimorfizminin incelenen hasta grubunun % 72. 7'sinde CC, %27. 3'ünde CT genotipinde olduğu belirlendi. Kontrol grubunda da CC genotipi % 80. 2, CT genotipi % 17. 3, TT genotipi ise % 2. 5 olarak saptandı. MMP2 1575G>A polimorfizmi bakılan hastalarda AA genotipi % 10, GA %20, GG %70 olarak belirlendi. Kontrol grubunda da % 46. 4'ünde GG, % 41. 7'sinde GA, % 11. 9'unda AA genotipi belirlendi.

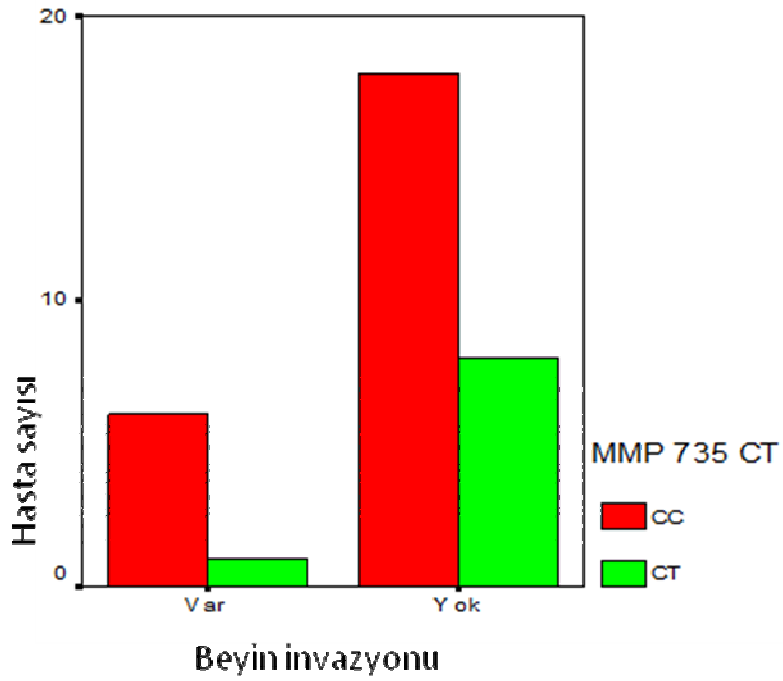
Hasta grubunda incelenen TIMP2 303 C>T polimorfizminde ise grubun % 67. 3'ünde CC, % 32. 7'sinde CT genotipi izlendi. Kontrol grubunda da CC genotipi % 74. 2, CT genotipi % 25. 8 olarak belirlendi. TIMP2 418 G>C polimorfizmi açısından hasta grubunun % 97. 9'unda GG genotipi, % 2. 1'inde GC genotipi saptandı. Kontrol grubunun ise % 97. 6'sında GG, % 2. 4'ünde GC genotipi belirlendi.

Tablo 4.2. Beyin İnvazyonu İle MMP2 Polimorfizmleri Arasındaki İlişki

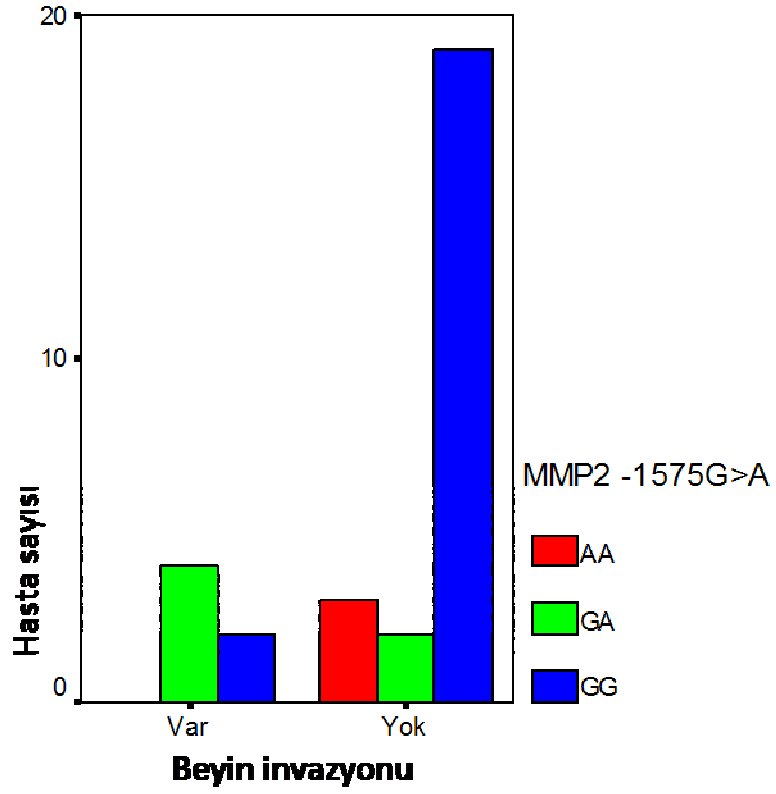
	Beyin İnvazyonu					
	Var			Yok		p
	n	%	n	%		
MMP2						
1306C>T	11		39			
CC	10	90,9	33	84,6		0,595
CT	1	9,1	6	15,4		
TT						
735C>T	7		26			
CC	6	85,7	18	69,2		0,385
CT	1	14,3	8	30,8		
TT						
1575G>A	6		24			
GG	2	33,3	19	79,2		0,006
GA	4	66,7	2	8,3		
AA	0	-	3	12,5		
TIMP2						
303C>T	11		38			
CC	7	63,6	26	68,4		0,766
CT	4	36,4	12	31,6		
TT						
418G>C	11		37			
GG	11	100,0	36	97,3		0,582
GC	0	-	1	2,7		
CC						



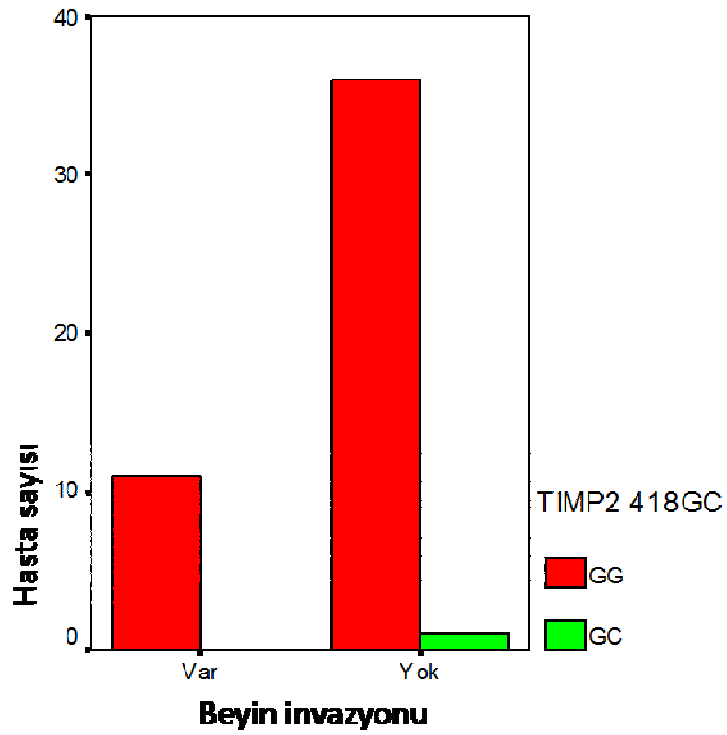
Şekil 3.3. MMP-2 1306C>T polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı



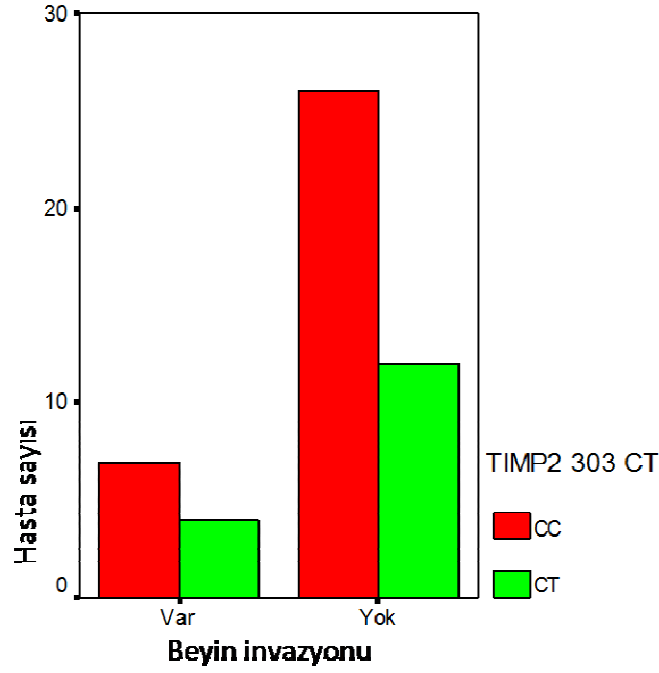
Şekil 3.4. MMP-2 735C>T polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı



Şekil 3.5. MMP-2 1575G>A polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı



Şekil 3.6. TIMP-2 418G>C polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı



Şekil 3.7. TIMP-2 303C>T polimorfizminin hasta sayısı ve beyin invazyonu dağılımı

Beyin invazyonu olan 11 hastanın MMP2 1306 C>T polimorfizminin % 90. 9'unda CC, % 9. 1'inde CT; MMP2 735 C>T polimorfizminin % 85. 7'sinde CC, % 14. 3'ünde CT; MMP2 1575 G>A polimorfizminin % 33. 3'ü GG, % 66. 7'si GA genotipinde olduğu saptandı ($p < 0. 01$). TIMP2 303 C>T polimorfizminin % 63. 6'sı CC, % 36. 4'ü CT; TIMP2 418 G>C polimorfizminin % 100'ü GG saptandı. MMP2 Polimorfizmi İle Beyin invazyonu İlişkisi: Ki Kare Testine Göre Anlamlı Farklılık Yoktu.

Tablo 4.3. Beyin İnvazyonu İle TIMP2 Polimorfizmleri Arasındaki İlişki

		Beyin İnvazyonu			
			Var (%)	Yok (%)	Toplam (%)
TIMP2 303 C>T	CC	sayı	7 - 21,2%	26 - 78,8%	33 - 100%
	CT	sayı	4 - 25%	12 - 75%	16 - 100%
Toplam		sayı	11 - 22,4%	38 - 77,6%	49 - 100%
TIMP2 418G>C GG		sayı	11- 23,4 %	36 - 76,6%	47 - 100%
GC			0- 0%	1 - 100%	1 - 100%
		sayı	11 - 22,9%	37 - 77,1%	
Toplam					48 - 100%

TIMP2 Polimorfizm İle Beyin invazyonu ilişkisi: Pearson Ki Kare Testine göre anlamlı fark yoktu.

Tablo 4.4. MMP2 Polimorfizm İle patolojik olarak MMP2 İfadenmesi İlişkisi

			MMP-2			
			1 (%)	2 (%)	3 (%)	Toplam (%)
MMP2 1306 C>T	CC	sayı	2 - 5,3%	17 - 44,7%	19 - 50,0%	38 - 100%
	CT	sayı	0 - 0%	4 - 57,1%	3 - 42,9%	7 - 100%
Toplam		sayı	2 - 4,4%	21 - 46,7%	22 - 48,9%	45 - 100%
<hr/>						
MMP 735 C>T	CC	sayı	1 - 4,8%	12 - 57,1%	8 - 38,1%	21 - 100%
	CT	sayı	1 - 11,1%	4 - 44,4%	4 - 44,4%	9 - 100%
Toplam		sayı	2 - 6,7%	16 - 53,3%	12 - 40%	30 - 100%
<hr/>						
MMP2 1575G>A	AA	sayı	0 - 0%	2 - 66,7%	1 - 33,3%	3 - 100%
	GA	sayı	0 - 0%	4 - 66,7%	2 - 33,3%	18 - 100%
GG	sayı	1 - 5,6%	9 - 50%	8 - 44,4%	18 - 100%	
Toplam		sayı	1 - 3,7%	15 - 55,6%	11 - 40,7%	27 - 100%

MMP2'nin üç polimorfizminin de bir arada saptandığı 17 hastada patolojik olarak MMP2 immünohistokimyasal boyanma derecesi arasında korelasyon bulunmuştur.

Tablo 4.5. TIMP2 Polimorfizm ile patolojik olarak TIMP2 İfadelenmesi İlişkisi

			TIMP-2			
			1 (%)	2 (%)	3 (%)	Toplam (%)
TIMP2 303 C>T	CC	sayı	4 - 13,8%	12 - 41,4%	13 - 44,8%	29 - 100%
	CT	sayı	4 - 26,7%	9 - 60%	2 - 13,3%	15 - 100%
Toplam		sayı	8 - 18,2%	21 - 47,7%	15 - 34,1%	44 - 100%
TIMP2 418G>C GG		sayı	8 - 19%	20 - 47,6%	14 - 33,3%	42 - 100%
GC		sayı	0 - 0%	1 - 100%	0 - 0%	1 - 100%
Toplam			8 - 18,6%	21 - 48,8%	14 - 32,6%	43 - 100%

TIMP2'nin bakılan iki polimorfizminin de birlikte saptandığı olgularda patolojik olarak TIMP2 immünohistokimyasal boyanma derecesi yüksek bulunmuştur.

Tablo 4.6. Tüm heterozigot polimorfizmlerin beyin invazyonu açısından değerlendirilmesi

	n	ortalama	Std. sapma	Std. hata
Beyin İnvazyonu	26	1,73	,452	,089

Tek örneklemeli istatistiksel analiz (Odds score)

	Test Value = 0					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
Beyin İnvazyonu	19,510	25	,000	1,73	1,55	1,91

Tüm polimorfizmler olan hastaların beyin invazyonu ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. MMP2'nin çalışılan üç polimorfizminde birliktelik gösterdiği olgularda beyin invazyonu vardır.

Tablo 4.7. Ki-67 indeksi ile meningiom tipleri arası ilişki

Meningiom tipi	Ki-67 indeksi
Anaplastik	6,875
Anjiomatöz	1,250
Atipik	3,156
Berrak Hücreli	2,000
Fibroblastik	2,000
Kordoid	,850
Malign	1,500
Meningoteliyal	1,750
Psammomatöz	1,000
Transizyonel	2,418
Total	2,705

Anova istatistiksel analize göre Ki-67 indeksi ortalaması bakımından meningiom tipleri arasında fark vardır.

5. TARTIŞMA

Tümör oluşumunda onkogenler; genom kararlılığını sağlayan genlerdeki ve tümör baskılayıcı genlerdeki varyasyon ve mutasyonlar ile etkilenmektedir. (81). Metastazla ilgili genler; metastazı baskılayanlar ve metastazı destekleyenler olarak ikiye ayrılır. E1A ve metastazı baskılayan matriks metalloproteinaz inhibitörleri TIMP-1 ve 2 metastazı aktive eden ras onkogenini baskılar. MMP varyasyonları MMP miktarı ve aktivitesi metastaz oluşumu üzerinde etkilidir. İnvaziv meme kanserinin gelişimi ile MMP-3 promotor bölgesinde 5A polimorfizmi arasında ilişki bulunmuştur (82). MMP-7 181G promotor polimorfizminin kolorektal kanser invazyon ve metastazında etkisi gösterilmiştir (83). Başka bir çalışmada ise invaziv meningiomlarda TIMP-1 seviyesi non invaziv meningiomlara oranla daha düşük saptanmış, metastatik potansiyel ile TIMP ekspresyonu arasında korelasyon bulunmuştur (77,84).

MMP'lerin dokudaki görevleri hücre dışı matriksin (ECM) kollajen, elastin ve jelatin gibi bileşenleri yıkmaları ve dolaylı olarak metastaz basamağı olan hücre migrasyonuna katkı sağlamasıdır (85). Doku endotelial hücrelerinden sentezlenen MMP'ler plazminojen'in anjiyostatin'e dönüşümünü indüklemekte ve böylece dokuda anjiyostatin miktarı artmakta ve tümör hücrelerinin endotel proliferasyonu baskılanarak neoanjiyogenez sürecinin inhibe olmasını sağlamaktadır (44). Güncel çalışmalarda MMP-2 ekspresyonu kanser hücrelerinin agresifliği ile yakın ilişkilidir. TIMP-2 ile MMP-2 spesifik bir kompleks oluşturup, bu molekülün proteaz aktivitesini inhibe eder. Bu mekanizma ile tümör hücrelerinin büyümesi, invazyonu ve metastazı engellenebilmektedir. MMP-2 ve TIMP-2 ekspresyon dengesi tümör invazyonu ve metastazı etkileyen kriterler olarak değerlendirilebilir (86,87).

Miyake ve ark. fareler üzerinde genetik olarak MMP-2 ve TIMP-2 ekspresyonu ile metastaz arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bu çalışmada; böbrek hücreli tümörlerde MMP-2/TIMP-2 oranının invazyon ve metastaz açısından kritik bir

öneme sahip olduğu ve metastaz riskinin de arttığı gösterilmiştir (88). Başka bir çalışmada; MMP-7, MMP-10 ve MMP-11 ekspresyonun astrositik tümörlerin prognozuna olumsuz etki yaptığı gösterilmiştir. MMP-2 ve MMP-9 da neo-anjiogenez ve tümör vaskülarizasyonunda rol oynamaktadır. GBM'deki neoplastik oligodendrositler, anaplastik oligodendrositlere göre daha yüksek MMP-2 düzeylerine sahiptir, bu da invazyonu artırıcı ve hayatta kalımı azaltıcı etki yapar (89).

Nakagawa ve ark. çalışmalarında immünohistokimyasal olarak MMP-9'un ekspresyon seviyesinin hastaların çoğunluğunda MMP-2'den daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, MMP-9 seviyesi meningiomlarda, GBM'de ve metastazlarda, immünohistokimyasal yöntemle yüksek oranda tespit edilmiştir (92). Rooprai ve ark. 'larının yaptıkları çalışmada Nakagawa'nın çalışmasından farklı olarak, insan beyin tümörlerinde MMP-2 seviyesi MMP-9 seviyesinden daha yüksek bulunmuştur. ProMMP-2 seviyesi schwannomalarda, meningiomlarda ve GBM'de, diğer tümörlere göre daha yüksek düzeyde saptanmıştır (93). Malign meningiomlarda, anaplastik astrositlerde ve metastazlarda MMP-2'nin aktif formu bulunmuştur. Aktif MMP-2'nin bu tümörlerin yayılmasında potansiyel bir rol oynadıklarını düşündürmüştür. MMP-12 seviyesi anaplastik astrositlerde ve GBM'de meningiomlardan ciddi oranda yüksek bulunmuş, bunun da yine tümörlerin invazyonunda rol oynadığı düşünülmüştür. İn situ beyin tümörlerinde MMP-9'ların pluripotent kan hücrelerinde lokalize olurken MMP-2'lerin mikrovasküler ve tümör hücrelerinde lokalize olduğu görülmüştür. MMP-9'ların neovaskülarizasyonda primer rol oynarken, MMP-2'nin invazyon ve anjiogenezde rol oynadığını göstermiştir (90). Nakagawa ve ark. meningiomların % 90'ında TIMP-1'in yüksek oranda eksprese olduğunu gösterdiler (92). Başka bir çalışmada ise MMP-2 ve 9'un gliomların rekürrensinde rol oynayabilecekleri belirtilmiştir (93).

Grade I schwannomaların, meningiomların ve pilositik astrositlerin çoğunluğunda TIMP-2 ekspresyonu tespit edilmiştir. TIMP ekspresyonu ile tümör derecesi arasında korelasyon gösterilmiştir (91,92,93).

Meninkslerden kaynaklanan meningiomlar mezankimal ve epitelyal farklılaşma potansiyeline sahiptir. Komşu beyin dokusuna infiltrasyon yerine daha çok baskı oluşturarak büyürler. Matriks metalloproteinazlarının ekstrasellüler matriksin yıkılmasındaki rolleri beyin invazyonu ile ilişkili olabilir. Bununla birlikte diğer hastalıkların sürecinde, örneğin: Bakteriyel menenjit ve ensefalomyelitte MMP-9 ekspresyonunun saptanması fakat normal meninks dokusunda saptanmaması ekstrasellüler matriks proteinlerinin etkilerinin araştırılmasını gerektirmektedir (30,94). MMP'ler ekstrasellüler matriksi parçalanmasında ve anjiyogenezin inhibisyonunda rol alır. MMP'nin dokudaki ana inhibitörü olan TIMP-2 bu mekanizmayla MMP'nin anjiyogenezini azaltıcı etkisini inhibe ederek tümörün kendine daha büyük bir damar yatağı oluşturmaya ve böylece daha erken metastaz yapmasına paradoksik olarak yardımcı olabilir (95). İnvaziv meme kanserinde (MMP-3) ve kolorektal kanserlerde (MMP-7 181G) görülen promotör polimorfizminin, metastazı kolaylaştırıcı etkisi olduğu bulunmuştur (78,96).

MMP-2 ekspresyonu kanser hastalarında kontrol grubuna göre daha fazla saptanmıştır (97). MMP-2 promotör bölgesindeki 1306 C>T ve 735 C>T polimorfizmlerinin bir transkripsiyon faktörü olan Specificity protein 1'in (SP-1) bağlanma bölgesini yok ederek transkripsiyonu azalttığı ve kanser gelişiminde önemli olduğu bulunmuştur (89). MMP-2 promotör polimorfizmleri farklı kanser gelişme riskleriyle ilişkilendirilebilir. MMP-2 ve 9 meningiomların hacimsel büyümesi yanı sıra, dura, kemik ve beyin dokusuna infiltrasyonda etkili olabilir (90,98). Jealinoja ve ark. çalışmalarında tümör hücrelerindeki MMP-2 ekspresyonunun hasta yaşam süresi ile korelasyonunu belirlemiş. Kontrol grubu olarak aldığı benign meningiomlarda bu ekspresyonun daha az olduğunu belirtmiştir (98). Meningiomlarda MMP-2 ve 9 ekspresyon derecesi ile meningiomların beyin invazyonu arasında korelasyon bulunmuştur. Buna ek olarak, artmış MMP-2 ve 9 ekspresyonu agresif seyir gösteren meningiomlarda radyoterapi ve medikal tedaviye cevabın etkinliğini azaltır (90).

Çalışmamızda 50 meningiom hastası ve 100 sağlıklı erişkin kontrol grubu MMP-2 geni promotör bölgesine ait -735C>T, -1575G>A, -1306C>T polimorfizmleri ve TIMP-2 geni promotör bölgesine ait 418G>C ve 3. eksonuna ait 303C>T polimorfizmleri hedef bölgelere özgü primerler ile PCR reaksiyonunu takiben

restriksiyon enzim kesimi yöntemiyle belirlenmiştir. MMP-2 ve TIMP-2 geni promotor bölgelerine ait homozigot polimorfizmlerin tümör derecesinden bağımsız olarak beyin invazyonuyla ilişkisi saptanmamıştır. Şimdiye kadar bakılan MMP'lerin ekspresyon derecesi ve polimorfizmleri yol gösterici olmakta ve yeni çalışmalara zemin hazırlamaktadır.

Literatürde meningiomlar ile ilgili matriks metalloproteinaz ve inhibitörlerinin ekspresyonları ve polimorfizmlerine paralel olarak bizim çalışmamızda MMP-2 ve TIMP-2'ye ait 3 ve 2 bölge polimorfizm ile birlikte bunların patolojik olarak ifadenmesini incelenmiştir. Diğer çalışmalarda bulunan sonuçlarda meningiom grade ile MMP'lerin ekspresyon derecesinin, immünohistokimyasal boyanma derecesinin ve polimorfizminin korelasyon göstermiş olması tümör grade'i arttıkça ekspresyon derecesinin arttığı, invazyon ve metastaz kabiliyetinin yükseldiği belirtilmiştir (98). Bulgularımız literatür ile paralellik göstermektedir. Literatürden farklı olarak, serimizde menengiomin tüm alt tip ve gradeleri vardır. Diğer çalışmalarda, anaplastik ve malign meningiomlarda (beyin invazyonu olan olgularda) MMP ekspresyonunun yüksek olduğu belirtilmiştir (90). MMP-2 geni promotor bölgesine ait -735C>T, -1575G>A, -1306C>T polimorfizmlerinden 3'nün birlikte saptandığı olgularda meningiomin histolojik tipinden ve derecesinden bağımsız olarak beyin invazyonu görüldüğü ve bu olguların immunohistokimyasal çalışmada doku kesitlerinde MMP2'nin ifadenmesinin yüksek olduğu saptanmıştır.

Literatürde meningiomlarda Ki-67 indeksinin rekürrens, metastaz ve invazyonda derecesi incelenmiş, rekürrens gösteren meningiom olgularında rekürrensi olmayan olgulara oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur (99). Ki-67 indeksi hücre proliferasyon belirleyicisi olarak meningiom rekürrensi ile ilişkisi incelenmiştir. İlk cerrahi sırasında Ki-67 indeksi nüks cerrahisinden daha yüksek bulunurken, bazı araştırmalarda ise Ki-67 indeksinin rekürrens açısından farkı bulunmamıştır. Ki-67 indeksi WHO klasifikasyonuna uygunluk göstermekte olup değişik gruplar içinde biyolojik davranışlarıyla korele olma eğilimindedir (37).

Çalışmamızda Ki-67 indeksinin meningiom derecesi ile orantılı olarak yüksek olduğu, ama Ki-67 indeksinin, beyin invazyonu ile korelasyon göstermediği bulunmuştur. MMP-2 polimorfizmi; Ki-67 indeksi ve meningiomların derecesinden

bağımsız olmak üzere MMP-2'nin üçlü polimorfizmi saptananlarda beyin invazyonu ile korelasyon göstermiştir. MMP-2 ve TIMP-2 tüm polimorfizmleriyle immünohistokimyasal olarak patolojik boyanma artışı arasında paralellik gözlemlendi. Metallomatriksproteinazlar ve inhibitörlerinin kanser gelişiminde, yayılımında ve prognozunda rol oynadığı, bunların promotor bölgelerine ait polimorfizmlerinin önemli olduğu ve tümörün seyrini değiştirdiği söylenebilir. İlerdeki çalışmalarda metalloproteinazların spesifik inhibitörleri ya da sentetik inhibitörleri ile tümör seyrini değiştirebileceği ve tedavide yeni bir yöntem olabileceği düşünülebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda 50 menenjiom saptanan MMP-2 ve TIMP-2 polimorfizmleri, Ki-67 indeksi ve beyin invazyonu birlikte incelenmiştir. MMP-2 ve TIMP-2 polimorfizmleri gösteren olguların immünohistokimyasal olarak boyanması derecelendirilmiş, üçlü ve ikili polimorfizmlerin belirlendiği olgularda boyanma derecesi artmıştır.

MMP-2' nin üçlü polimorfizmi bulunanlarda Ki-67 indeksinden, menenjiom grade ve alt tipinden bağımsız olarak beyin invazyonu ile korelasyon bulunmuştur

TIMP-2 polimorfizmleri ile Ki-67 indeksi ve beyin invazyonu arasında korelasyon saptanmamıştır.

Matriksmetaloproteinazlar ve inhibitörlerinin polimorfizm açısından incelenmesinde çoklu polimorfizmlerin birlikte değerlendirilmesi daha anlamlı sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- 1) Ozen O, Demirhan B, Altinörs N. Correlation between histological grade and MIB-1 and p53 immunoreactivity in meningiomas. Clin Neuropathol. Sep-Oct; 24(5):219-24, 2005.
- 2) Yilmaz Z, Sahin F, Atalay B, Ozen O, Caner H, Bavbek M, Demirhan B, Altinörs N. Chromosome 1p36 and 22qter deletions in paraffin block sections of intracranial meningiomas. Pathol Oncol Res. Dec 31;11(4):224-8, 2005.
- 3) Whittle Ian R, Smith C, Navoo P, Collie D. Meningiomas. Lancet 363; 1535-43, 2004
- 4) Cushing H, Eisenhardt L. :Meningiomas: Their classification, regional behavior, life history and surgical end results. Springfield, IL: Hafner publishing co. 1938.
- 5) Claus E, Bondy, ML, Schildkraut JM, Wiemels JL, Wrensch M, Black P : Epidemiology of intracranial meningioma. Neurosurgery. Dec;57(6):1088-95; discussion 1088-95, 2005.
- 6) Altinörs N, Gürses L, Arda N, Turker A, Senveli E, Donmez T, Sanli M, Bavbek M, Caner H. Intracranial meningiomas. Analysis of 344 surgically treated cases. Neurosurgery Rev. ; 21(2-3):106-10, 1998.
- 7) Nakasu S, Hirona A, Shimura T, Llena JF. Incidental meningiomas in autopsy study. Surg Neurol. Apr;27(4):319-22, 1987.
- 8) Longstreth WT, Dennis LK, McGuire VM, Drangsholt MT, Koepsell TD. Epidemiology of intracranial meningiomas. Cancer. Aug 1;72(3):639-48, 1993.
- 9) Modan B, Baidatz D, Mart H, Steinitz R, Levin SG. Radiation-induced head and neck tumours. Lancet. Feb 23;1(7852):277-9, 1974

- 10) Al-Mefty O, Topsakal C, Pravdenkova S, Sawyer JR, Harrison MJ. Radiation-induced meningiomas: clinical, pathological, cytogenetic and cytogenetic characteristics. *J Neurosurg.* Jun;100(6):1002-13, 2004.
- 11) Weiss AF, Zang KD, Birkmayer GD, Miller F. SV 40 related papova -viruses in human meningiomas. *Acta Neuropathol.* Mar 15;34(2):171-4, 1976.
- 12) Tabuchi K, Kirsch W, Low M, Gaskin D, Van Buskirk J, Maa S. Screening of human brain tumors for SV-40 related T antigen. *Int J Cancer.* Jan 15;21(1):12-7, 1978.
- 13) Black PM. Meningiomas. *Neurosurgery.* Apr;32(4):643-57 4, 1993.
- 14) Annegers JF, Laws ER Jr, Kurland LT, Grabow JD. Head trauma and subsequent brain tumors. *Neurosurgery.* Mar;4(3):203-6, 1979.
- 15) Michelson JJ, New PF. Brain tumor and pregnancy. *J Neurol Neurosurgery Psychiatry.* Aug;32(4):305-7, 1969.
- 16) Rubinstein AB, Schein M, Reichenrhal E. The association of carcinoma of the breast with meningiomas. *Surg Gynecol Obstet.* Oct;169(4):334-6, 1989.
- 17) Adams EF, Schrell UMF, Fahlbusch R. Hormonal dependence of human meningiomas part III. In vitro effect of steroids, bromochriptine and epidermal growth factor. *Neurosurgery.* 73;750-55, 1990.
- 18) Riemenschneider MJ, Perry A, Reifenberger G. Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *Lancet Neurol.* Dec;5(12):1045-54, 2006. Review. Erratum in: *Lancet Neurol.* Feb;6(2):105, 2007.
- 19) Simon M, Boström JP, Hartmann C. Molecular genetics of meningiomas: from basic research to potential clinical applications. *Neurosurgery.* May;60(5):787-98, 2007.
- 20) Todo T, Adams EF, Fahlbusch R, Dingermann T, Werner H. Autocrine growth stimulation of human meningioma cells by platelet-derived growth factor. *J Neurosurg.* May;84(5):852-8, 1996.

- 21) Goldman CK, Bharara S, Palmer CA, Vitek J, Tsai JC, Weiss HL, Gillespie GY. Brain edema in meningiomas is associated with increased vascular endothelial growth factor expression. *Neurosurgery*. Jun;40(6):1269-77, 1997.
- 22) Pagotto U, Arzberger T, Hopfner U, Sauer J, Renner U, Newton CJ, Lange M, Uhl E, Weindl A, Stalla GK. Expression and localization of endothelin-1 and endothelin receptors in human meningiomas: Evidence for a role in tumoral growth. *J Clin Invest*. Oct;96(4):2017-25, 1995.
- 23) Seizinger BR, de la Monte S, Atkins L, Gusella JF, Martuza RL. Molecular genetic approach to human meningioma: Loss of genes on chromosome 22. *Proc Natl Acad Sci U S A* Aug;84:5419-23, 1987.
- 24) Dumanski JP, Carlbom E, Collins VP, Nordenskjold M. Deletion mapping of a locus on human chromosome 22 involved in the oncogenesis of meningioma. *Proc Natl Acad Sci U S A* Dec;84: 9275-79, 1987.
- 25) Bello MJ, de Campos JM, Vaquero J, Kusak ME, Sarasa JL. High-resolution analysis of chromosome arm 1p alterations in meningioma. *Cancer Genet. Cytogenet*. Jul 1;120(1): 30-6, 2000.
- 26) Buschges R, Bostrom J, Wolter M, Blaschke B, Weber RG, Lichter P, Collins VP, Reifenberger G. Analysis of human meningiomas for aberrations of the MADH2, MADH4, APM-1, and DCC tumor suppressor genes on the long arm of chromosome 18. *Int J Cancer*. May 21;92(4): 551-4, 2001.
- 27) Türk Nöroşirürji Dergisi, 2006, Cilt: 16, Sayı: 1, 13-14 Ali Arslantaş; Benign, atipik ve malign meningiomlardaki genomik değişiklikler. Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- 28) Kedra D, Peyrard M, Fransson I, et al. Characterization of a second human clathrin heavy chain polypeptide gene (CLH-22) from chromosome 22q11. *Hum Mol Genet*. May;5(5):625-31, 1996.
- 29) Zang KD. Meningioma: A cytogenetic model of a complex benign human tumor, including data on 394 karyotyped cases. *Cytogenet Cell Genet*. ; 93(3-4):207-20, 2001.

- 30) Kieseier BC, Kiefer R, Clements JM, Miller K, Wells GM, Schweitzer T, Gearing AJ, Hartung HP. Matrix metalloproteinase-9 and -7 are regulated in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain*. Jan;121 (Pt 1):159-66, 1998.
- 31) Riemenschneider MJ, Perry A, Reifenberger G. Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *Lancet Neurol*. Dec;5(12):1045-54, 2006.
- 32) Perry A, Scheithauer BW, Stafford SL, Lohse CM, Wollan PC. "Malignancy" in meningiomas: a clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications. *Cancer*. May 1;85(9):2046-56, 1999.
- 33) Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC, Cavenee WK. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*. Mar;61(3):215-25; discussion 226-9, 2002.
- 34) Falleni M, Roz E, Dessy E, Del Curto B, Braidotti P, Gianelli U, Pietra GG. Primary intrathoracic meningioma: histopathological, immunohistochemical and ultrastructural study of two cases. *Virchows Arch*. Aug;439(2):196-200, 2001.
- 35) Thomson LD, Bouffard JP, Sandberg GD, Mena H. Primary ear and temporal bone meningiomas: a clinicopathological study of 36 cases with a review of the literature. *Mod Pathol*. Mar;16(3):236-45, 2003.
- 36) Shibuya M, Hoshino T, Ito S, Wacker MR, Prados MD, Davis RL, Wilson CB. Meningiomas: clinical implications of a high proliferative potential determined by bromodeoxyuridine labeling. *Neurosurg*. Apr;30(4):494-7, 1992.
- 37) Maes L, Lippens E, Kalala JPO, Ridder L. The hTERT-protein and Ki-67 labelling index in recurrent and non-recurrent meningiomas. *Cell Prolif*. Aug 2;38:3-12, 2005.
- 38) Kılıç T, Bayri Y, Özdoğan K, Acar M, Diren S, Kurtkaya Ö, Ekinci G, Bugra K, Sav A, Özek MM, Pamir MN. Tenascin in meningioma: expression is correlated with anaplasia, vascular endothelial growth factor expression, and peritumoral edema but not with tumor border shape. *Neurosurgery*. Jul;51(1):183-92; discussion 192-3, 2002.

- 39) Perret AG, Duthel R, Fotso MJ, Brunon J, Mosnier JF. Stromelysin-3 is expressed by aggressive meningiomas. *Cancer*. Feb 1;94(3): 765-72, 2002.
- 40) Schiffer D. *Brain tumors: Pathology and biological correlates*, Springer Verlag, Berlin, 235-323, 1993.
- 41) Strojnik P, Zidanik B, Kos J, Lah TT. Cathepsins B and L are markers for clinically invasive types of meningiomas. *Neurosurgery*. Mar;48(3):598-605, 2001.
- 42) Trinkaus M, Vranic A, Dolenc VV, Lah TT. Cathepsins B and L and their inhibitors stefin B and cystatin C as markers for malignant progression of benign meningiomas. *Int J Biol Markers*. Jan-Mar;20(1):50-9, 2005.
- 43) Yamasaki F, Yoshioka H, Hama S, Sugiyama K, Ariata K, Kurisu K. Recurrence of meningiomas. *Cancer*. Sep 1;89(5):1102-10, 2000.
- 44) Cornelius LA, Nehring LC, Harding E, Bolanowski M, Welgus HG, Kobayashi DK, Pierce RA, Shapiro SD. Matrix metalloproteinases generate angiostatin: effects on neovascularization. *J Immunol*. Dec 15;161(12):6845-52, 1998.
- 45) Yasargil MG. *Microneurosurgery of CNS tumors*. New York Georg Thieme Verlag. 134-185, 1966.
- 46) Lieu AS, Howng SL. Intracranial meningiomas and epilepsy: incidence, prognosis and influencing factors. *Epilepsy Res*. Jan;38(1):45-52, 2000.
- 47) Cameron EW. Transient ischaemic attacks due to meningioma: report of 4 cases. *Clin Radiol*. ;49: 416-18, 1994.
- 48) Roux-Vaillard S, Mercier P, Fournier HD, Hayek G, Menei P, Guy G. Intracranial meningiomas revealed by hemorrhage. Report of three cases and literature review. *Neurochirurgie*. Dec;45(5):407-12, 1999.
- 49) Dodge HW, Love JG, Gottlieb CM. Benign tumors at the foramen magnum; surgical considerations. *J Neurosurg*. Nov;13(6):603-17, 1956.
- 50) Henderson JW: *Orbital tumors*, 2nd ed. New York BC Decker, 472-496, 1980.

- 51) Pieper DR, Al-Mefty O, Hanada Y, Buechner D. Hyperostosis associated with meningioma of the cranial base: secondary changes or tumor invasion. *Neurosurgery*. Apr;44(4):742-6; discussion 746-7, 1999.
- 52) Awada A, Scherman B, Palkar V. Cystic meningiomas, a diagnostic and pathogenic challenge. *Eur J Radiol*. Jul;25(1):26-9,1997.
- 53) Osborn AG. *Diagnostic Neuroradiology*(ed) Mosby-Year Book, ch:14, pp:579-675, 1994.
- 54) Domingo Z, Rowe G, Blamire AM, Cadoux-Hudson TA. Role of ischaemia in the genesis surrounding meningiomas assessed using magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Br J Neurosurgery*. Oct;12(5):414-8, 1998.
- 55) Sindou MP, Alaywan M. Most intracranial meningiomas are not cleavable tumors: anatomic-surgical evidence and angiographic predictability. *Neurosurgery*. Mar;42(3):476-80, 1998.
- 56) Mirimanoff R, Dosoretz DE, Linggood RM, Ojemann RG, Martuza RL. Meningioma : analysis of recurrence and progression following neurosurgical resection. *J Neurosurg*. Jan;62(1):18-24, 1985.
- 57) Palma L, Celli P, Franco C, Cervoni L, Cantore G. Long-term prognosis for atypical and malignant meningiomas: a study of 71 surgical cases. *J Neurosurg*. May;86(5):793-800, 1997.
- 58) Pollock BE, Stafford SL, Link MJ. Gamma Knife radiosurgery for skull base meningiomas. *Neurosurg Clin N Am*. Oct;11(4):659-66, 2000.
- 59) Flickinger JC, Kondziolka D, Maitz AH, Lunsford LD. Gamma knife radiosurgery of imaging-diagnosed intracranial meningioma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. Jul 1;56(3):801-6, 2003.
- 60) Ennis BW, Matrisian LM. Matrix degrading metalloproteinases. *J Neurooncol*. ;18(2):105-9, 1994.
- 61) Gordon JL, Drummond AH, Galloway WA. Metalloproteinase inhibitors as therapeutics. *Clin Exp Rheumatol*. Mar-Apr;11 Suppl 8:S91-4, 1993.

- 62) Nagase H, Fields GB. Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides. *Biopolymers Rev.* ;40(4):399-416, 1996.
- 63) Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends Genet. Apr*;6(4):121-5, 1990.
- 64) Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NHV. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol.* Jun;84(6):654-66, 2000.
- 65) Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of Matrix Metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion Rev.* ;58(6):520-8, 1997.
- 66) Welgus HG. Stromelysin: Structure and function. *Agents Actions Suppl Rew.* ;35:61-7, 1991.
- 68) Hewitt R, Dano K. Stromal cell expression of components of matrix degrading protease systems in human cancer. *Enzyme Protein Rev.* ;49(1-3):163-73, 1996.
- 67) Saliha AA, Dilek Ö, Oya B. Metalloproteinazlar, İnhibitörleri ve İlişkili Fizyolojik ve Patolojik Durumlar. *T Klin Tıp Bilimleri.* 21: 332-342, 2001.
- 69) Thorgeirsson UP, Lindsay CK, Cottam DW, Gomez DE. Tumor invasion, proteolysis and angiogenesis. *J Neurooncol Rev.* ;18(2):89-103, 1994.
- 70) Murphy G. The regulation of connective tissue metalloproteinases by natural inhibitors. *Agents Actions Suppl Rev.* ;35:69-76, 1991.
- 71) Evans CH. The role of proteinases in cartilage destruction. *Agents Actions Suppl Rev.* ;32:135-52, 1991.
- 72) Nagase H, Suzuki K, Itoh Y, Kan CC, Gehring MR, Huang W, Brew K. Involvement of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPS) during matrix metalloproteinase activation. *Adv Exp Med Biol.* ; 389: 23-31, 1996.
- 73) Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta.* Mar 7;1477(1-2): 267-83, 2000.

- 74) Tanaka H, Miyazaki N, Oashi K, Tanaka S, Ocmichi M, Abe S. Sputum Matrix Metalloproteinase-9:Tissue inhibitor of Metalloproteinase-1 ratio in acute asthma. *J Allergy Clin Immunol*. May; vol. 105 no: 5, 2000.
- 75) Moses MA. The regulation of neovascularization by matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Stem Cells Rev.* ;15(3):180-9, 1997.
- 76) Khokha R, Waterhouse P. The role of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in specific aspects of cancer progression and reproduction. *J Neurooncol Rev.* ;18(2):123-7, 1994.
- 77) Halaka AN, Bunning RAD, Bird C, Gibson M, Reynolds JJ. Production of collagenase and inhibitor (TIMP) by intracranial tumors and dura in vitro. *J Neurosurg*. Sep;59(3):461-6, 1983.
- 78) Ghilardi G, Biondi ML, Erario M, Guagnellini E, Scorza R. Colorectal carcinoma susceptibility and metastases are associated with matrixmetalloproteinase-7 promoter polymorphisms. *Clin Chem*. Nov;49(11):1940-2, 2003.
- 79) Chintala SK; Tonn JC, Rao JS. Matrix metalloproteinases and their biological function in human gliomas. *Int J Dev Neurosci*. Aug- Oct;17(5-6): 495-502, 1999.
- 80) Hunter KW. Host genetics and tumour metastasis. *Br J Cancer*. Feb 23;90(4):752-5, 2004.
- 81) Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med*. Aug;10(8):789 -99, 2004.
- 82) Ghilardi G, Biondi ML, Caputo M, Leviti S, DeMonti M, Guagnellini E, Scorza R. A single nucleotide polymorphism in the matrixmetalloproteinase-3 promoter enhances breast cancer susceptibility. *Clinical Cancer Res*. Dec;8(12):3820-3, 2002.
- 83) Ghilardi G, Biondi ML, Erario M, Guagnellini E, Scorza R. Colorectal carcinoma susceptibility and metastases are associated with matrixmetalloproteinase-7 promoter polymorphisms. *Clinic Chem*. Nov;49 (11):1940-2, 2003.

- 84) Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Kleiner DE Jr. Extracellular matrix 6: role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *FASEB J.* Dec;7(15):1434-41, 1993.
- 85) Kugler A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Anticancer Res.* Mar-Apr;19(2C):1589-92, 1999.
- 86) Stetler-Stevenson WG. Type-IV collagenases in tumor invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* ;9: 289-303, 1990.
- 87) DeClerck YA, Perez N, Shimada H, Boone TC, Langley KE, Taylor SM. Inhibition of invasion and metastasis in cells transfected with an inhibitor of metalloproteinases. *Cancer Res.* Feb 1;52(3): 701-8, 1992.
- 88) Miyake H, Hara I, Gohji K, Yamanaka K, Hara S, Arakawa S, Nakajima M, Kamidono S. Relative expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in Mouse renal cell carcinoma cells regulates their metastatic potential. *Clin Cancer Res.* Oct;5(10):2824-9, 1999.
- 89) Price SJ, Greaves DR, Watkins H. Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation. *J Biol Chem.* Mar 9;276(10):7549-58, 2001.
- 90) Nordqvist AC, Smurawa H, Mathiesen T. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in meningiomas associated with different degrees of brain invasiveness and edema. *J Neurosurg.* Nov;95(5):839-44, 2001.
- 91) Zarin K, Edith B, Louis D, Nathalie M, France B, Robert M, Rolando Del M, Richard B. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human brain tumors. *Clin Exp Metastasis.* ;17: 555-566, 1999.
- 92) Nakagawa T, Kubota T, Kabuto M, Sato K, Kawano H, Hayakawa T, Okada Y. Production of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 by human brain tumors. *J Neurosurg.* Jul;81(1):69-77, 1994.

- 93) Rooprai HK, Van Meter T, Rucklidge GJ, Pilkington GJ. Comparative analysis of matrix metalloproteinases by immunocytochemistry, immunohistochemistry and zymography in human primary brain tumours. *Int J Mol Med*. Dec;12(6):977-81, 2003.
- 94) Leppert D, Leib SL, Grygar C, Miller KM, Schaad UB, Hollander GA. Matrixmetalloproteinase (MMP)-8 and MMP-9 in cerebrospinal fluid during bacterial meningitis: association with blood-brain barrier damage and neurological sequelae. *Clin Infect Dis*. Jul;31(1):80-4, 2000.
- 95) Gürocak ÖS, Sözen S, Üre İ, Erdem Ö, Akyol G, Alkibay T. Doku matriks metalloproteinaz ve inhibitörlerinin böbrek hücreli kanserin hastalık seyrine etkisi. *Türk Üroloji Dergisi*; 34(2): 149-154, 2008.
- 96) Ghilardi G, Biondi ML, Caputo M, Leviti S, DeMonti M, Guagnellini E, Scorza R. A single nucleotide polymorphism in the matrixmetalloproteinase-3 promoter enhances breast cancer susceptibility. *Clin Cancer Res*. Dec;8(12):3820-3, 2002.
- 97) Cotignola J, Reva B, Mitra N. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) polymorphisms in patients with cutaneous malignant melanoma. *BMC Med Genet*. Mar 8;8:10, 2007.
- 98) Okada M, Miyake K, Matsumoto Y, Kawai N, Kunishio K and Nagao S. Matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 expressions correlate with the recurrence of intracranial meningiomas. *J Neurooncol*. Jan;66(1-2):29-37, 2004.
- 99) Üzüm N, Ataoğlu GAO. Histopathological parameters with Ki-67 and bcl-2 in the prognosis of meningiomas according to WHO 2000 classification. *Tumori*. May-Jun;94(3):389-97, 2008.