



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI GRADE'LERDEKİ MENENJİYOMLU HASTALARDA
NESTİN EKSPRESYONU VE GLİOBLASTOMALI HASTALARLA
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Arzu YAY**

**Danışman
Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR**

Doktora Tezi

**Mayıs 2011
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI GRADE'LERDEKİ MENENJİYOMLU
HASTALARDA NESTİN EKSPRESYONU VE
GLİOBLASTOMALI HASTALARLA KARŞILAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Arzu YAY**

**Danışman
Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR**

Doktora Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından TSD-09-759 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Mayıs 2011
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Arzu YAY

İmza:

“Farklı Grade’lerdeki Menenjiyomlu Hastalarda Nestin Ekspresyonu ve Glioblastomalı Hastalarla Karşılaştırılması” adlı doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Arzu YAY

Danışman

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR danışmanlığında **Arzu YAY** tarafından hazırlanan “**Farklı Grade’lerdeki Menenjiyomlu Hastalarda Nestin Ekspresyonu ve Glioblastomalı Hastalarla Karşılaştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ:

Danışman : Prof Dr. Saim ÖZDAMAR

Üye : Prof Dr. Enver OZAN

Üye : Prof. Dr. Birkan YAKAN

Üye : Prof.Dr. Hamiyet ALTUNTAŞ

Üye : Doç. Dr. M. Fatih SÖNMEZ

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun kararı ile onaylanmıştır.

tarikh ve

sayılı

..... / /

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince yardım ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle daima yol gösterici olan Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı başkanı ve aynı zamanda danışman hocam Prof. Dr. Saim Özdamar'a, çalışmamda bilgi ve önerilerini esirgemeyen bölüm hocalarımız Prof. Dr. Birkan Yakan ve Doç. Dr. M. Fatih Sönmez'e,

Eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutlu olduğum, dostluklarını ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim bölüm arkadaşlarım Esra Balcıoğlu, Derya Akkuş, Yasemin Savranlar, Ayça Kara ile diğer yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma, dostluğunu hiçbir zaman unutamayacağım Funda Selvi'ye ve tüm Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Hoşgörüsü ve sabrı dolayısıyla çalışmamda katkıda bulunan Patoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Özlem Canöz'e, tezimin immünohistokimyasal çalışmaları sırasında güler yüzleri, sevgi ve hoşgörüsü ile bana yol gösteren arkadaşlarım Münevver Baran ve Zeynep Ayvalı'ya ve bütün Patoloji çalışanlarına, Nöroşirurji Anabilim dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Bülent Tucer'e ve Biyoistatistik Anabilim dalı öğretim elemanlarına,

Uzakta da olsa bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyip, mesleki deneyimime katkı sağlayan Celal Bayar Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Seda Vatansever'e,

Hayatımın her aşamasında manevi olarak yanımda olan aileme, ilerlediğim bütün yollarda her zaman yanımda olacağını bildiğim canım eşim'e ve çalışmalarımın bitmesini sabırla bekleyen çocuklarım Emre ve Eren'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Arzu YAY

Kayseri, Mayıs 2011

**Farklı Grade’lerdeki Menenjiyomlu Hastalarda Nestin Ekspresyonu ve
Glioblastomalı Hastalarla Karşılaştırılması**

Arzu YAY

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Mayıs 2011

Danışman: Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

KISA ÖZET

Nestin, gelişen ve yenilenen dokuların progenitör hücrelerinde eksprese olan bir tip VI ara filament proteinidir. Son zamanlarda nestinin, gliom, melanom, ependimom, rabdomyosarkom, gastrointestinal stromal tümör (GIST) ve testiküler stromal tümör gibi bazı tümör dokularında eksprese edildiği gösterilmiştir. Nestinin bu şekilde ekspresyon modelleri sergilemesi kanser dereceleri ile ilişkisinde önemli olduğunu düşündürür. Bu çalışmada, farklı grade’lerdeki menenjiyomlu hastalardan alınan tümör dokularında nestin ekspresyonunun gösterilmesi ve glioblastomalı hastalarla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda 28 menenjiyom (10 grade I, 10 grade II ve 8 grade III) ve 10 glioblastoma tanısı almış hastaya ait tümör dokuları kullanıldı. Parafin bloklardan alınan kesitlere nestin ekspresyonunu belirlemek için immunohistokimya ve İmmunofluoresan boyama yöntemleri uygulandı. Çalışmada, her bir gruba ait dokulardan alınan kesitler kendi içinde değerlendirilerek histoskorlaması yapıldı.

Gruplar boyanma yoğunluklarına göre değerlendirildiğinde, kontrol grubu olarak kullanılan glioblastomalar en yoğun nestin ekspresyonu gösteren gruptu. Farklı grade’lerdeki menenjiyom gruplarına ait tümör dokuları karşılaştırıldığında, menenjiyom grade I grubu en zayıf nestin ekspresyonu gösteren gruptu. Menenjiyom grade II ve menenjiyom grade III gruplarına ait tümör dokularında menenjiyom grade I grubuna göre daha yoğun nestin ekspresyonu görüldü.

Sonuç olarak bu çalışmada, en malign astrosit tümör olarak bilinen glioblastomalarda yoğun nestin ekspresyonunun görüldüğü ve menenjiyom grade II ve menenjiyom grade III gruplarında düşük dereceli grade I grubuna göre yoğun nestin ekspresyonu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Nestin, menenjiyom, glioblastoma, immunohistokimya

Nestin Expression in Patients with Meningioma in Different Grades and Comparison of Patients with Glioblastoma

Arzu YAY

**Erciyes University, Faculty of Medicine
Department of Histology and Embryology
Ph.D. Thesis, May 2011
Supervisor: Prof.Dr. Saim Özdamar**

ABSTRACT

Nestin is a type VI intermediate filament protein expressing in the progenitor cells of the developing and renewed tissues. In recent studies, it has been shown that nestin is expressed in some tumor tissues such as glioma, melanoma, ependymoma, rhabdomyosarcoma, gastrointestinal stromal tumor (GIST) and testicular stromal tumor. Such expression patterns of nestin may suggest that it is important in its relation with the degrees of cancer. In this study, the aim was to show the expression of nestin in the brain tumors of the meningioma patients with different grades and to compare it with glioblastoma patients.

In the study, tumor tissues of patients were used who were diagnosed with 28 meningioma (10 grade I, 10 grade II and 8 grade III) and with 10 glioblastoma at Erciyes University Faculty of Medicine Department of Pathology. Hematoxylin-eosin, immunohistochemistry and immunofluoresan staining methods were applied to the sections of paraffin blocks to determine the nestin expression . In the study, the sections from the tissues of each group were evaluated and histoscore within themselves.

When groups were evaluated considering their staining intensities. Glioblastomas used as a control group showed the most intense expression of nestin. When the tumor tissues of meningioma groups in different grades were compared, meningioma grade I group showed the weakest nestin expression. Nestin expression in tumor tissues of grade II and grade III meningioma groups was more intense than in grade I meningioma.

In conclusion it was determined in this study that intense nestin expression was seen in glioblastomas known as the most malignant astrocytes tumor and according to the group of low-grade meningioma grade I, meningioma grade II and meningioma grade III groups were intense expression of nestin.

Key Words: Nestin, meningioma, glioblastoma, immunohistochemistry

İÇİNDEKİLER

İç Kapak	I
Bilimsel Etiğe Uygunluk Sayfası	II
Yönergeye Uygunluk Sayfası.....	IV
Kabul ve Onay Sayfası	V
Teşekkür	VI
Kısa Özet	VII
Abstract	VIII
İçindekiler	IX
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi	X
Tablolar Listesi.....	XI
Şekiller Listesi	XII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sinir Sisteminin Gelişimi	3
2.2. MSS Histolojisi.....	6
2.3. Beyin Zarları (Meninksler)	12
2.4. MSS Tümörleri	13
2.5. Ara Filamentler	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA-SONUÇ	45
6. KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

ER : Endoplazmik Retikulum

GER : Granüler Endoplazmik Retikulum

MSS : Merkezi Sinir Sistemi

PSS : Periferik Sinir Sistemi

GFAP : Glial Fibril Asidik Protein

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

GBM : Glioblastoma multiforme

PBS : Phosphate buffered solution

GIST : Gastrointestinal stromal tümör

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Hücre kökenine göre primer intrakranial tümörler	13
Tablo 2.2. 2007 WHO meninks tümörleri sınıflandırması	18
Tablo 2.3. Ara filament proteini ailesi.....	20
Tablo 3.1. Parafin doku takip yöntemi aşamaları.	25
Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi.....	26
Tablo 3.3. İmmunohistokimyasal boyama prosedürü	27
Tablo 4.1. Glioblastoma grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri.....	31
Tablo 4.2. Grade I Menenjiyom grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri.....	31
Tablo 4.3. Grade II Menenjiyom grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri.....	32
Tablo 4.4. Grade III Menenjiyom grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri.....	32
Tablo 4.5. Tüm olgulardaki ortalama nestin ekspresyon yoğunluklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	33

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Nöral tüp oluşumunda nöral plağın kıvrılmasının ve nöral krest hücrelerinin oluşumunun diyagramı	5
Şekil 2.2. Sinir hücresi ve ilgili yapıların genel görünüşü	6
Şekil 2.3. Astrosit tipleri; Fibröz ve Protoplazmik astrosit.....	8
Şekil 2.4. Beyin Tabakaları; Serebral Korteks ve Medulla.....	11
Şekil 2.5. Ara filamentler ve yapıları	20
Şekil 2.6. Ara filamentlerin yapılanması	21
Şekil 4.1. Glioblastomadaki tümör hücrelerinin ışık mikroskopik görünümü	35
Şekil 4.2. Glioblastoma (who grade IV) grubu negatif kontrol boyaması	36
Şekil 4.3. Glioblastomada yoğun nestin ekspresyonu	36
Şekil 4.4. Menenjiyom grade I normal ışık mikroskopik görünümü	37
Şekil 4.5. Menenjiyom grade I grubunda zayıf nestin ekspresyonu	37
Şekil 4.6. Menenjiyom grade I grubunda kapiller endotelinde pozitif, tümör hücrelerinde negatif nestin ekspresyonu	38
Şekil 4.7. Menenjiyom grade II normal ışık mikroskopik görünümü	38
Şekil 4.8. Menenjiyom grade II grubunda tümör hücrelerinde orta yoğunlukta boyanmış ve kapillerlerde kuvvetli boyanmış nestin ekspresyonu	39
Şekil 4.9. Menenjiyom grade II grubunda yoğun nestin ekspresyonu.....	39
Şekil 4.10. Menenjiyom grade III grubu normal ışık mikroskopik görünümü	40

Şekil 4.11. Menenjiyom grade III grubuna ait yoğun nestin ekspresyonu gösteren tümör hücreleri	40
Şekil 4.12. Glioblastoma grubunda nestin ekspresyonunun immunofluoresan görüntüsü	41
Şekil 4.13. Menenjiyom grade I grubuna ait zayıf boyanmış nestin ekspresyonuna sahip tümör hücrelerinin immunofluoresan görüntüsü	42
Şekil 4.14. Menenjiyom grade II grubunda orta derecede boyanmış nestin ekspresyonuna sahip tümör hücrelerinin immunofluoresan görüntüsü.....	43
Şekil 4.15. Menenjiyom grade III grubunda yoğun nestin ekspresyonu gösteren tümör alanının immunofluoresan görüntüsü.....	44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser yüksek mortalite oranı ile oldukça önemli bir sağlık sorunudur. Dünya sağlık örgütüne (WHO) göre 5 yaşından sonra kanser, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde ilk üç ölüm nedeninden biridir. Dünyada her yıl 6.4 milyon yeni kanser vakası ortaya çıkmakta ve 4.8 milyon kişi de kanser nedeni ile ölmektedir (1,2).

Intrakranial tümörler, bütün kanserlerin yaklaşık olarak % 1,5'inden ve bütün kansere bağlı ölümlerin % 2'sinden sorumludur. Nadir görülen tümörler olmakla birlikte, intrakraniyal tümörler kansere bağlı ölümlerde, ilk beş nedenden biridir. Tüm çocukluk çağı kanserlerinin % 20'sini beyin tümörleri oluşturur (3,4). Glioblastoma multiforme erişkinlerde görülen en sık ve en hızlı seyirli primer beyin tümörüdür (1,2). Glioblastoma herhangi bir yaşta görülebilir. Fakat en yüksek insidans yaşı 55'tir (5). Yaklaşık olarak tüm intrakraniyal tümörlerin %12-15'ini oluşturur. Glioblastomalar özellikle komşu beyin yapılarına hızlı invazyonlar yaparlar (6). Glioblastoma multiforme en az diferansiye olan ve en kötü prognozlu glial tümördür, 1 yıldan kısa sürede ölümle sonuçlanır (7).

Menenjiyom ise yavaş büyüyen, kapsüllü, çoğunlukla benign yapıda, aroknoidi kuşatan meningotelial hücrelerden köken alan tümörlerdir. Primer intrakranial tümörlerin yaklaşık %20'sini oluştururlar. Menenjiyomların görülme sıklığı yaşla birlikte artış gösterir. Menenjiyomlar yavaş büyüyen kitlesel tümörlerdir ve çoğunlukla benign karakterli olmalarına rağmen malign davranış gösteren tipleri de vardır (5).

Ara filament proteinleri homolojilerine göre Tip I, Tip II, Tip III, Tip IV, Tip V ve Tip VI olmak üzere 6 sınıfa ayrılır ve bu ara filament proteinleri dokuya özgü ekspresyon

kalıbı sergilerler (8). Nestin intrauterin dönemde, çoğalan ve gelişen hücreler ile endotel hücrelerinde eksprese olan bir tip VI ara filament proteinidir. Nestinin görevi ve düzenlenişi hakkında çok az bilgi mevcuttur. Bu protein, merkezi sinir sisteminin (MSS) gelişimi boyunca nöral kök veya progenitör hücre belirteci olarak tanımlanır (9,10). Farklılaşma devam ederken nestin ekspresyonu baskılanır ve dokuya özgü diğer ara filament proteinleri ile yer değiştirir. Nörogenез ve oligogeneз sırasında nestin, nörofilamentler ve glial fibriler asidik protein (GFAP) gibi, hücre tipine özgü ara filamentler ile yer değiştirir. İlginçtir ki nestin ekspresyonu, erişkinde MSS hasarından sonra glial skar dokunun şekillenmesi ve hasar görmüş kas dokusunun yenilenmesi sırasında yeniden indüklenir. Ara filament proteinlerinin dinamik yapılarının mitoz, farklılaşma ve farklı patolojik olaylarda intrasellüler organizasyonların değişim mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır (11,12). Son zamanlarda nestinin glioma, melanoma, ependimoma, melanoma, rabdomyosarkoma, gastrointestinal stromal tümör (GIST) ve testiküler stromal tümör gibi bazı tümör dokularında da ekspresyonu gösterilmiştir. Ayrıca, nestinin ekspresyon yoğunluğunun kanser dereceleri ile ilişkisinde önemli olabileceği de düşünülmektedir (13). Nestinin tümör dokularındaki ekspresyonları ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlı olmasına rağmen, en malign astrositik tümör olarak bilinen glioblastomalarda nestinin yoğun ekspresyonu birçok çalışmada gösterilmiştir (14,15). Glioblastomalarda bu şekilde belirgin nestin ekspresyonunun görülmesi çalışmada kontrol grubu olarak kullanılması açısından önemlidir. Ayrıca, Menenjiyomların nestin ile ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamamış olmamız bu çalışmanın önemini ortaya koymaktadır.

Kanser riskinin önceden belirlenebilir nitelik kazandırılmasında, hastalığı indükleyen mekanizmaların aydınlatılmasında, hastalığın erken teşhis edilmesi sonucu hasta sağ kalımlarının uzatılmasında, etkin ve ekonomik tedavi protokollerinin geliştirilmesi mortalite ve morbititenin azalmasında çok önemlidir. Bu konuda yapılan çalışmalara ışık tutması amacıyla bu çalışmada, farklı gradelerdeki menenjiyomlu hastaların beyin tümörlerinde nestin ekspresyonunu belirlemek ve glioblastomalı hastalara ait beyin tümörlerindeki nestin ekspresyonu ile karşılaştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sisteminin Gelişimi

Embriyonik gelişim, döllenmeden itibaren bütün canlıların türe özgü şekillerini alıncaya kadar geçirdikleri birbirini takip eden bir gelişim sürecidir. Sinir dokusunun gelişimi (nörulasyon) için kritik dönem intrauterin hayatın 3. haftasının başıdır. Gastrulasyonun tamamlanması ve embriyogenezisin başlamasıyla embriyonel disk ektoderm, mezoderm ve endoderm olmak üzere üç germ tabakasından oluşur. Üçüncü haftada embriyonel yapı baş bölgesinde geniş, kuyruk bölgesinde dar bir disk şeklindedir. Nörulasyon ilk olarak primitif çukurun önünde orta-dorsal bölgede yerleşmiş, altındaki notokord tarafından büyüme ve farklılaşmaya yönelik olarak harekete geçirilen, ektodermal bir plak olan nöral plağın şekillenmesiyle başlar. Nöral plağın lateral kenarları bir süre sonra nöral kıvrımları meydana getirmek üzere yükselir. Gelişimin 20. gününde, nöral kıvrımlar yanlarından biraz daha yükselerek orta hatta birbirine yaklaşır ve sonuçta nöral tüpü oluşturmak üzere kaynaşırlar. İnsanda nöral tüpün kapanması gelecekte boyun bölgesi olacak olan üçüncü ve altıncı somitler arasında başlar ve hem kranial hem de kaudal yöne doğru devam eder. Ancak kaynaşma embriyonun kaudal ve kranial uçlarında daha geç meydana geldiğinden, nöral tüp belli bir süre kranial ve kaudal nöroporlar yoluyla amnion boşluğuyla geçici olarak ilişkisini sürdürür (16) (Şekil 2.1). Kranial nöropor 25. günde, kaudal nöropor ise 27. günde kapanmasını tamamlar. Kranial ve kaudal nöroporların kapanması ile nörulasyon tamamlanmış olur (16,17). Nöral katlantıların birleşmesi sırasında nöral ektoderm olarak adlandırılan ektodermal yapı yüzey ektoderminden ayrılır. Nöral katlantıların en yüksek noktasında kalan hücre grubuna nöral krest (krista nöralis) adı verilir (Şekil 2.1). Bu hücreler nöral tüpün

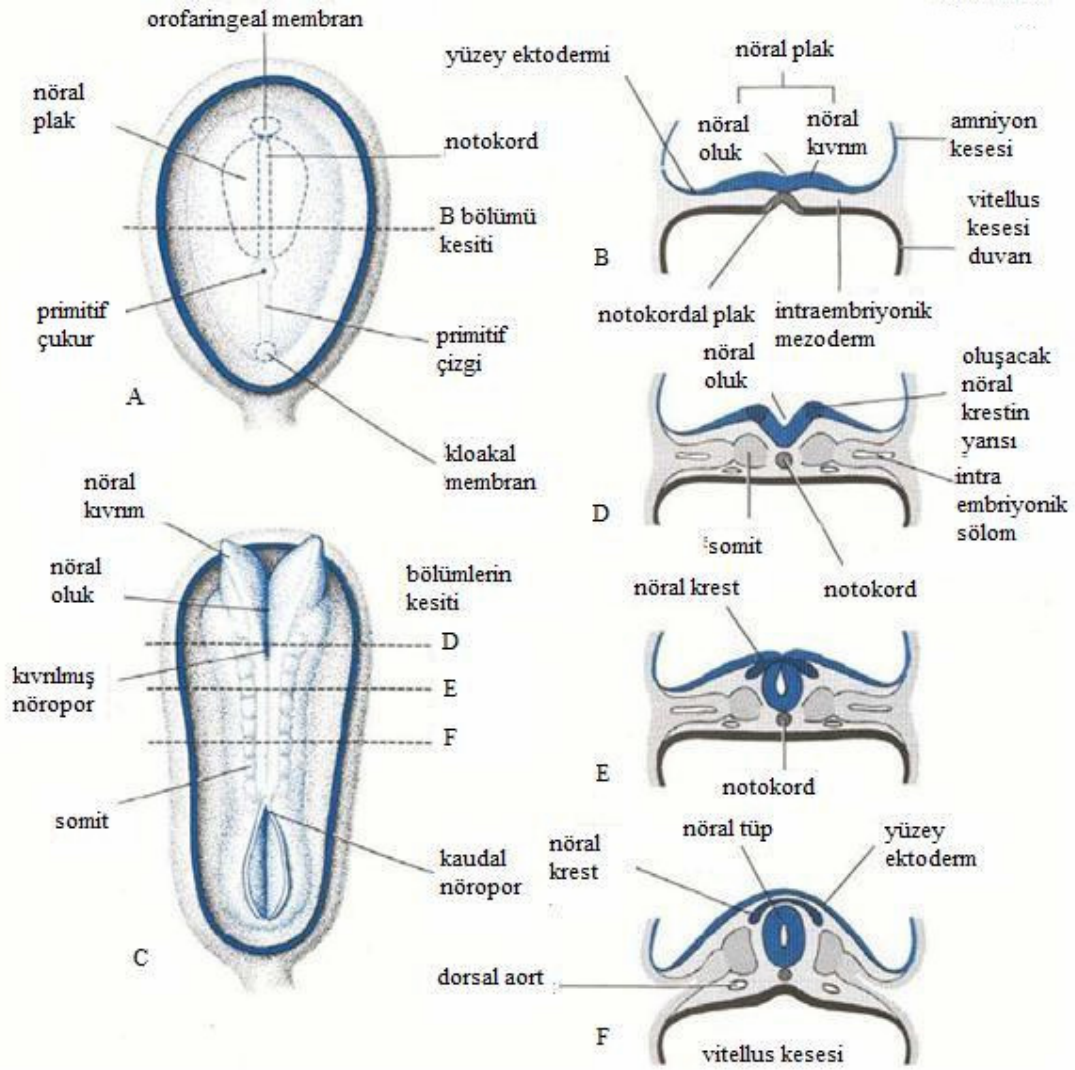
oluşması sırasında epitel özelliklerini kaybedip mezenşimal hücrelere dönüşürler ve nöral tüpün her iki yanında mezoderm içine göç ederler. Nöroektodermden göç eden nöral krest hücrelerinden, spinal ve kranial (V, VII, IX, X.) sinirler, otonom sinir sistemi ganglionları, dermisin pigment hücreleri (melanositler), farengial arklardan gelişen kemik, bağ dokusu ve kaslar, adrenal medulla, beyin ve omuriliği kaplayan meninksler köken alır (16). Nöral tüpün 4. çift somit hizasından başlayan kranial kısmından beyin gelişir. Nöral tüpün sefalik ucunda primer beyin vezikülleri adı verilen üç genişleme bölgesi vardır; (a) prozensefalon veya ön beyin, (b) mezensefalon veya orta beyin ve (c) rombensefalon veya arka beyin. Ön beyinden serebral hemisferler, talamus ve hipotalamus; orta beyinden Sylvius kanalı; arka beyinden ise serebellum, pons ve medulla gelişir (18).

Nöral tüp kapandıktan sonra, nöral tüp duvarını oluşturan nöroepitelyal hücrelerden primitif sinir hücreleri olan nöroblastlar, glioblastlar oluşur. Glioblastlardan, protoplazmik ve fibriler astrositler ile oligodendrositler; nöroblastlardan ise nöronlar meydana gelir. Nöroepitel hücreleri, nöroblastları ve glioblastları oluşturduktan sonra, medulla spinalisin santral kanalını döşeyen ependim hücrelerine farklırlar. Mikroglia hücreleri ise mezenşimal hücrelerden köken alırlar. Mikroglia hücreleri, fetal dönemin daha geç evrelerinde yani kan damarlarının görülmesi ile birlikte MSS'ne yayılırlar. Mikroglia hücreleri, kemik iliğinden köken alan ve mononükleer fagositik sisteme dahil olan hücrelerdir (18-21).

2.1.1. Meninkslerin Gelişimi

Döllenmenin 22-24. günlerinde nöral tüp etrafında nöral krest kaynaklı monosellüler hücre tabakası gelişir. Nöral tüpü saran mezenşim, primordiyal meninks ya da meninks denilen bir zarı oluşturur. Gelişimin 33-41. günlerinde tüm MSS çok tabakalı mezenkimal hücrelerle çevrilir. Bu tabakadan araknoid ve dura mater gelişir. Dura mater 41. günde bazal bölgelerde görülürken, spinal kord ve beyin yüzeyindeki pia mater embriyonik gelişimin 24. gününde görülmeye başlar. Araknoid 57. günde dura materden ayrılmaya başlar (19). Araknoid yüzeyi tek katlı yassı epitelle (basit skuamöz) örtülmüştür ve iki grup hücreden oluşur; birinci grup duraya yakın olarak devam eder ve araknoid bariyer hücrelerini oluşturur. İkinci grup pia matere yakın olan araknoid trabeküler ve köprüler oluşturan hücreler içerir. Subaraknoid bölgeden pia matere geçişi sağlar. Araknoid yer yer durayı delerek dura materde bulunan venöz sistemlerde

sonlanan araknoid villusları yaparlar (20). Araknoid ve dura matere ortak olarak leptomeninksler de denir.



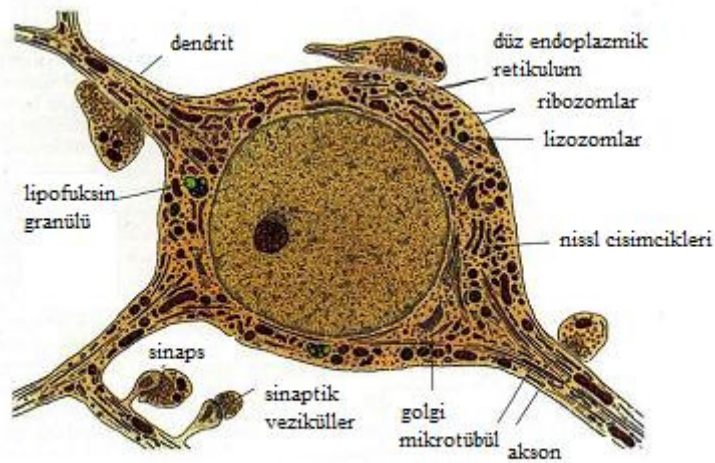
Şekil 2.1. Nöral tüp oluşumunda nöral plağın kıvrılmasının ve nöral krest hücrelerinin oluşumunun diyagramı. A, yaklaşık 18. günde embriyonun dorsal görünümü. B, embriyonun transvers görünümünde erken nöral oluk oluşumu ve nöral plak. C, embriyonun yaklaşık 22. gündeki dorsal görünümü. Nöral oluk, karşıt somitler hizasında birleşir ve nöral oluğun her iki ucuna doğru birleşme ilerler. Nöral tüpün ilk kapanma bölgesi gelecekte beyin ve omuriliğin bağlantı noktasına denk gelir. D, E, F, nöral tüpün oluşum evreleri ve yüzey ektodermine ayrılması (21).

2.2. Merkezi Sinir Sisteminin Histolojisi

Sinir sistemi insan vücudunun en karmaşık yapısıdır ve sinir hücrelerinin oluşturduğu bir iletişim ağından oluşmuştur. Sinir sistemi hücreleri, sinir sisteminin motor ve duyuşal fonksiyonlarından sorumlu olan nöronlar ve bu nöronları koruma ve desteklemeden sorumlu olan nöroglia hücreleridir (22).

2.2.1. Nöron ve Özellikleri

Nöronlar sinir dokusunun asıl görevini üstlenen hücrelerdir, karmaşık yapısal özellik gösteren, anatomik ve fonksiyonel birimlerdir. Uyarıları almak, iletmek ve iletirmek, belli hücre aktivitelerini başlatmak, nörotransmitterleri ve diğer bilgi moleküllerini salgılamaktan sorumludurlar (23). Sinir sisteminin fonksiyonel ve yapısal ünitesi olan nöronlar, bir hücre gövdesi, dendritler ve akson olmak üzere üç bölümden oluşur (24). Hücre gövdesi (perikaryon) sitoplazmanın merkezine yerleşik ve belirgin bir çekirdekçiğe sahip ökromatik bir çekirdek içeren kısımdır (Şekil 2.2). Perinükleer sitoplazma protein sentezi ile ilgili bol miktarda serbest ribozoma ve granüler endoplazmik retikulum (GER) sahiptir. Ribozomal bölgeler bazik boyalarla yoğun olarak boyanır ve ışık mikroskopunda koyu bölgeler olarak görülen Nissl cisimcikleri olarak isimlendirilir. Perinükleer sitoplazma ayrıca çok sayıda mitokondrion, büyük bir Golgi kompleksi, lizozomlar, taşıyıcı veziküller ve inklüzyonlar da içerir (22,24).



Şekil 2.2. Sinir hücresi ve ilgili yapıların genel görünüşü (22).

Nöron hücre gövdesinde çeşitli organellerin yanı sıra 3 farklı filament yapısı görülür: mikrotübüller, nörofilamentler ve mikrofilamentler. Nörofilamentler yaklaşık 10 nm çapındadırlar, perikaryonda ve hücre uzantılarında bol miktarda bulunurlar. Belli fiksatiflerin etkisi ile nörofilamenlerin gruplar oluşturduğu görülür ve gümüşle muamele edildiğinde ışık mikroskobu ile gözlenebilen nörofibrilleri oluştururlar. Bu oluşumlar hücreyi desteklemekle ve madde iletimi ile görevlidirler (22). Mikrotübüller 20-30 nm çapındadırlar ve mikrofilamentlerin arasına serpilmişlerdir, hücrenin gövdesi ve uzantıları boyunca uzanırlar. Bunların hücre gövdesinden hücre uzantılarının distal uçlarına doğru madde taşınmasında görevli oldukları düşünülmektedir (25).

Diğer sinir hücrelerinden uyarıyı alan dendritler, hücre gövdesinden çıkan çok sayıdaki uzantılardır (22,24). Dendritin uzantılarının yüzeyi aksonlarla sinaptik bağlantı sağlayan dendrit dikenleri (spina veya gemmül) ile örtülüdür (24). Dendritlerin hücresel içeriği, hücre gövdesi ile benzer olup, ribozom ve GER gibi hücre gövdesi organelleri dendrit içinde özellikle dendrit tabanında bulunurlar (22,24). Dendritin hücre gövdesinden çıkan kısmından başlayarak son kısımlarına doğru organeller azalır veya yok olur (22).

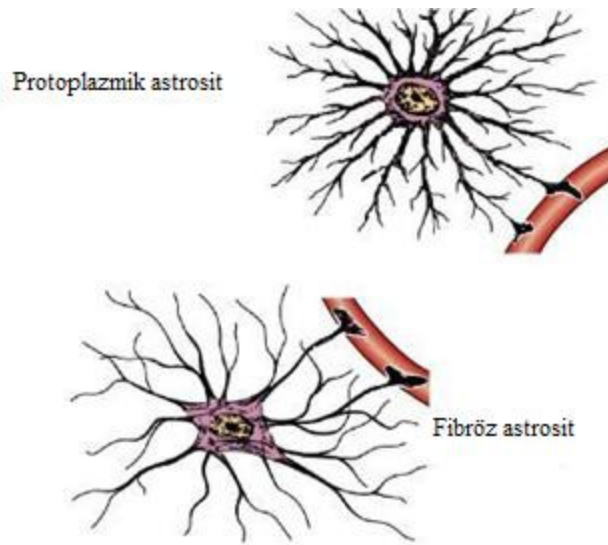
Aksonlar, bezler ve kaslar gibi hedef yapılara veya diğer nöronlara uyarıların iletilmesinde rol oynarlar. Akson hücre gövdesinden çıkan ve dendritten daha uzun olan tek bir uzun uzantıdır. Bir akson, hücre gövdesinden çıkan akson tepeciğine (hillock) sahiptir. Akson tepeciği piramit şeklindedir ve ribozom içermez. Aksonun plazma zarına aksolemma, içeriğine ise aksoplazma denir. Aksoplazma birkaç mitokondrion, mikrotübül, nörofilament ve granülsüz endoplazmik retikulum (ER) sarnıçları içerir. Poliribozomların ve GER'in olmaması aksonun gereksinimlerini karşılama konusunda perikaryona bağlı olduğunu gösterir (24).

2.2.2. Nöroglia ve Özellikleri

Nöronlar sinir dokusunun esas hücreleri olmasına karşın, glia hücreleri nöronlara metabolik ve mekanik destek sağlayan hücrelerdir. Beyinde bu hücrelerin sayısı nöronlardan 10 kat daha fazladır. Nöron aralıklarında yerleşerek hem perikaryonu hem de akson ve dendrit uzantılarını sararlar. Sinir dokusunun hücreler arası maddesi çok azdır, glia hücreleri nöron etkinliği için gerekli mikro çevreyi sağlar (25). Nöroglia hücreleri, MSS'ne yerleşmiş olan astrositler, oligodendrositler, mikroglia hücreleri, ependimal hücreler ile PSS'ne yerleşmiş olan Schwann hücreleri ve satellit hücrelerinden oluşur.

2.2.2.1. Astrositler: Nöroglia hücreleri içinde sayıca en fazla olandır. Çok sayıdaki uzantıları nedeni ile yıldız şeklinde izlenen hücrelerdir. Yapısal destek sağlarlar, onarım işlemlerinde, metabolik değişimlerde ve kan-beyin bariyerinde görev alırlar. Astrositler nöronları kılcal kan damarlarına ve pia matere bağlar. Gri madde içinde yer alan, çok sayıda kısa uzantılara sahip protoplazmik astrositler ve beyaz madde içinde yer alan, az sayıda uzun uzantılara sahip fibröz astrositler olmak üzere iki tipi vardır (Şekil 2.3).

Astrositler küçük çaplı hücrelerdir. Astrosit çekirdekleri geniş, yuvarlak veya oval şekillidir. Sitoplazmalarında hücre uzantılarına doğru ilerleyen, GFAP'den oluşan glial lif demetleri mevcuttur. Beynin parankimal hasarında astrositler yoğun hücresel çıkıntılardan meydana gelmiş bir ağ oluşturur. Astrositler sitoplazmik incinmeye cevap olarak kendisinin başlıca hücre iskelet proteini olan GFAP sentezinin artışı eşliğinde şişebilir. Böyle hücrelerin sitoplazması çekirdek çevresinde rutin kesitlerde kolaylıkla gözlenebilen eozinofilik boyanma özelliğindedir (7, 23, 26).



Şekil 2.3. Astrosit tipleri; Protoplazmik astrosit ve fibröz astrosit (23).

2.2.2.2. Oligodendrositler: MSS'ndeki nöronların elektriksel yalıtımında, miyelinin üretiminde ve sürekliliğinde rol oynayan hücrelerdir. Hem beyaz hem de gri maddede bulunurlar. Bu hücrelerin aksonların etrafına sarılan birkaç küçük uzantısı bulunmaktadır (23).

2.2.2.3. Mikroglia Hücreleri: Nöroglia hücrelerinin en küçükleridir. Kısa uzantılara sahip, uzun, küçük hücrelerdir. Sinir dokusunda mononükleer fagositik sistem kapsamına giren fagositik hücrelerdir ve kemik iliğindeki öncül hücrelerden köken alırlar. Nötral proteazlar ve oksidatif radikaller üretilip salgılayarak inflamasyon ve onarımda görev alırlar. Mikroglia hücreleri etkinleştiklerinde, uzantılarını geri çeker makrofajların morfolojik görünümüne bürünerek, fagositik ve antijen sunan hücreler olarak davranırlar (23).

2.2.2.4. Ependim Hücreleri: Beynin ventriküllerini ve omuriliğin merkezi kanalını (kanalis sentralis) döşeyen ve beyin omurilik sıvısı (serebrospinal sıvı) ile ilişkili olan hücrelerdir. Her bir ependim hücresi küçük oval ve bazal bir çekirdeğe sahiptir. Hücreler baskın desmozomlar tarafından her biri diğeri ile sıkı bağlantılı ve silialara ek olarak apikal mikrovilluslara sahiptir. Bu hücreler, sıvı taşınmasında görev alan hücrelerin morfolojik ve fizyolojik özelliklerine sahiptir (23,27). Beyin ventrikül sisteminde serebrospinal sıvıyı absorbe eden apikal yüzey, kapillerden gelen materyallerin sekresyonunu ve taşınmasını sağlayan serebrospinal sıvıyı üretebilmek için daha fazla gelişmiştir. Bu apikal yüzeyi oluşturan ependimal hücreler kapillerle birlikte koroid pleksusu oluşturur (22,28).

2.2.2.5. Schwann Hücreleri: Oligodendrositler gibi benzer işleve sahip olan hücrelerdir ve PSS'de aksonların yalıtımından sorumlu olan miyelini oluştururlar. Bir oligodendrosit birden fazla aksona miyelin kılıf oluşturma yeteneğine sahipken, bir Schwann hücresi sadece bir aksona miyelin kılıf oluşturur (23). Ayrıca schwann hücreleri oluşturdıkları girintileriyle birden fazla miyelinsiz sinir lifini sarabilir (29).

2.2.2.6. Satellit Hücreleri: PSS'de duyu ve otonomik gangliyonlardaki hücre gövdelerini çevreleyen hücrelerdir. Satellit hücreleri gangliyonlarda perikaryonların etrafında yassılaştırmış bir tabaka oluşturarak bunları çevre bağ dokusundan izole ederler (23).

2.2.3. Merkezi Sinir Sistemi (MSS) ve Özellikleri:

Beyin, beyincik ve omurilikten oluşan MSS içindeki her bir organ beyaz ve gri cevherden oluşur. Beyaz cevher; miyelinli ve miyelinsiz lifler ile nöroglial hücrelerinden oluşurken, gri cevher; nöron hücre gövdeleri, dendritler, nöroglia hücreleri ve miyelinsiz akson içerir. Miyelinli aksonların varlığından dolayı beyaz

cevher canlı dokuda beyaz görünürken, miyelinli akson barındırmayan gri cevher canlı dokuda gri görünür.

Gri cevher beyin ve beyinciğin periferine yerleşmiştir. Serebral hemisferin periferindeki gri cevher serebral korteks olarak isimlendirilir. Beynin bu kısmı öğrenme, hafıza, duyuşsal katılım, bilgi analizi ve motor cevapların başlamasından sorumludur. Serebral korteks altı tabakadan oluşur (Şekil 2.4) ve her bir tabaka kendine has morfolojiye sahip nöronlardan oluşur (22). Tabaka kalınlıkları, hücre sayıları hemisferin değişik kısımlarında farklılık gösterir. Korteksten medullaya doğru;

I.Lamina zonalis: En ince tabakadır. Az sayıda horizontal hücre ve çok sayıda horizontal seyirli nöron uzantısı (alt tabakadaki nöron dendritleri, stellat hücre ve Martinotti nöronlarının aksonları) bulunur. Bu sinir fibrilleri arasında tek tük Cajal'ın yassı horizontal hücreleri bulunur. Korteksin bu en yüzeyel tabakası, farklı nöronlar arasında çok sayıda sinapsın olduğu yerdir.

II.Lamina granülaris eksterna: Bu tabakada küçük piramidal nöronlar ve stellat (granüler) nöronlar bulunur. Komşu tabakalardan gelen akson ve dendritlerle bu tabakadaki akson ve dendritler yoğun bir ağ oluşturur. Beş tabakadaki piramidal nöronların apikal dendritleri ile assenden afferent fibriller arasında çok sayıda sinaps vardır.

III.Lamina piramidalis eksterna: Orta çapta piramidal hücreler ve iki tabakaya yakın yerleşmiş küçük piramidal nöronlar ile horizontal ve vertikal konumdaki fuziform nöronlar yer alır. Apikal dendritler moleküler tabakaya girerken aksonlar beyaz cevhere girerler.

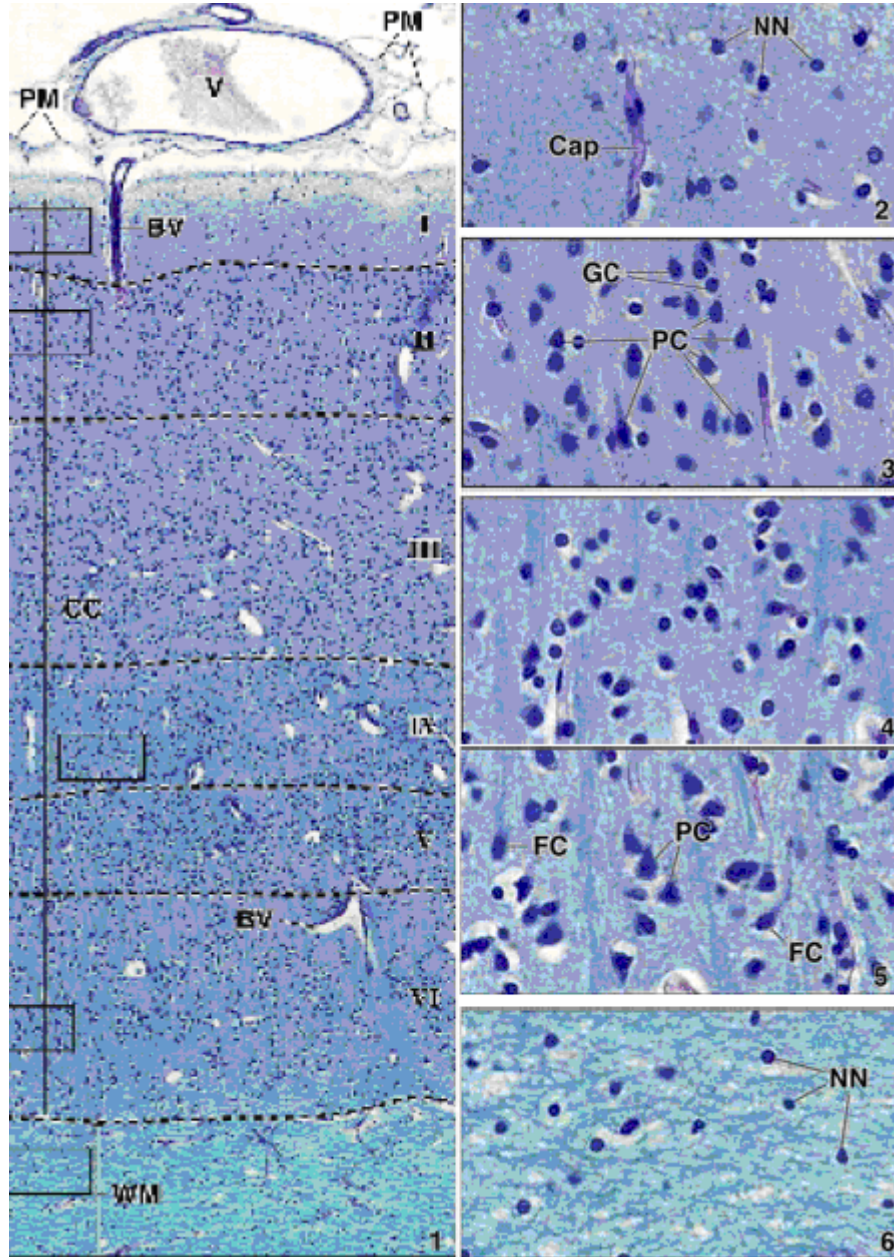
IV.Lamina granülaris interna: Moleküler tabakadan sonraki en ince tabakadır. Başlıca stellat nöron ve küçük piramidal nöronlar bulunur. Hücreler yoğun yerleşimlidir.

V.Lamina piramidalis interna: En büyük piramidal nöronlar ve az sayıda da stellat hücreler vardır. Motor merkezlerde ayrıca dev pramidal hücreler bulunur. Piramidal hücrelerin aksonları beyaz cevhere geçer.

VI.Lamina multiformis: Değişik nöron tipleri ve uzantılarından oluşan en derindeki tabakadır. Martinotti nöronları en belirgin hücrelerdir. Bu tabakada alttaki beyaz cevhere giren veya çıkan çok sayıda sinir lifi bulunur (30).

İkinci ve üçüncü tabakaya beraberce supranükleer tabaka, beşinci ve altıncı tabakaya infranükleer tabaka denir. İnsanda supranükleer tabaka en son gelişir ve en ileri farklılaşma gösteren tabakadır.

Beynin beyaz cevheri (medulla), miyelinli sinir demetlerinden, nöroglia ve kan damarlarından oluşmuştur. Beyaz cevherde nöron hücre gövdeleri bulunmaz.



Şekil 2.4. Beyin (cerebrum) BV, kan damarı; Cap, kapiller; CC, serebral korteks; FC, fuziform hücreler; GC, granüler hücreler; NN, nöroglial nükleuslar; PC, piramidal hücreler; PM, pia mater; V, ven; WM, beyaz cevher (28).

2.3. Beyin Zarları (Meninksler)

MSS kafatası ve omurga ile korunur. Aynı zamanda beyin ve omuriliği dışardan saran ve meninks adı verilen üç bağ doku tabakası ile sarılmış durumdadır. Meninkslerin en dış tabasına dura mater, orta tabakasına araknoid ve en iç tabakasına da pia mater denir.

2.3.1. Dura mater

Meninkslerin en dış tabakası olan dura mater, sıkı kollagenöz bir bağ dokudur ve kafatasının periosteumu ile devam eder (23). Dura mater iki katmandan oluşur. Bu iki katmandan dıştaki periosteal dura mater'dir. Osteoprogenitor hücrelerden, fibroblastlardan, kollajen fibril demetlerinden oluşan periosteal dura mater kafatasına gevşek bir şekilde tutunur. Kraniyal boşlukta, dura materi oluşturan kalın bağ doku tabakası, dış tarafında kafatasının periosteumu ile devam eder. Dura mater içerisinde, beyinden gelen kan için ana kanal olarak görev yapan, endotel ile çevrelenmiş boşluklar vardır. Duranın içteki tabakası meningeal dura materdir. Bu tabaka fibroblastlardan oluşur ve bu fibroblastlar desmozomlar ve gap junctionlarla birbirine bağlı uzun uzantılar bulundurlar. Bu tabaka kollajen fibrillerden yoksundur ve bunların yerine ekstrasellular, amorf bir madde bulunur. Bu ara madde fibroblastları çevreler ve meningeal dura ile sınırlayıcı tabaka arasında uzanır (23,28).

2.3.2. Araknoid

Meninkslerin orta tabakası olan araknoidin iki bileşeni vardır. Biri dura materle temas halindeki tabaka, diğeri ise pia mater ile bu tabakayı birbirine tutturarak trabekül sistemidir. Trabeküller arasındaki boşluklar beyin omurilik sıvısı ile dolu olan ve dura altı aralıktan tamamen ayrı olan araknoid altı aralığı yapar. Bu aralık merkezi sinir sistemini travmadan koruyan hidrolik bir yastık oluşturur.

Bazı bölümlerde araknoid dura mater içindeki venöz sinüslerde sonlanan kıvrımlaşmalar oluşturacak şekilde dura materi delerek geçer. Bu kıvrımlaşmalar venlerin endotel hücreleri ile örtülüdür ve araknoid villuslar adını alır (23).

2.3.3. Pia mater

Pia mater çok sayıda kan damarı içeren gevşek bir bağ dokusudur. Sinir dokusuna oldukça yakın yerleşmesine karşın sinir hücreleri ya da sinir fibrilleri ile temas etmez. Beyin ve omuriliğin direkt yüzeyinde uzanır. Araknoidin her iki yüzeyi, pia materin iç yüzeyi ve trabeküller ince, yassı bir epitel tabakasıyla çevrelenmiştir (23,28)

2.4. MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ TÜMÖRLERİ

2.4.1. Genel Özellikler

MSS tümörleri yeni tanı konulan tüm malignitelerin %2'sini, çocukluk çağı malignitelerinin ise %20'sini oluştururlar. MSS tümörleri içinde, primer tümörlerin yaklaşık %40-45'i erişkin yaş grubunda olup bunların %50-60'ını astrositer kökenli tümörler oluşturmaktadır. MSS tümörlerinin yaşa göre dağılımı incelendiğinde, çocukluk çağına daha sıklıkla görülmektedir. Yirmi yaşlarından 70 yaşına kadar giderek artan bir sıklık göstererek 70 yaşından sonra tekrar sıklığında azalma saptanır. Hemen hemen tüm yaş gruplarında erkeklerde kadınlara göre hafif bir fazlalık saptanmaktadır. Histopatolojik tiplerine göre görülme sıklığı incelendiğinde, çocukluk çağı ile erişkinlerde belirgin farklılık gözlenmiştir. Çocukluk çağına astrositoma ve medulloblastomalar diğer tümörlerden daha sık görülürken, erişkin yaş grubunda glial tümörler ve menenjiyomlar belirgin olarak daha sık görülmektedir (31,32). Hücre kökenine göre primer intrakranial tümörler Tablo 2.1'de görülmektedir (33).

Tablo 2.1: Hücre kökenine göre primer intrakranial tümörler

Köken aldığı hücre	Tümör tipi
Astrositler	Astrositoma
	Glioblastoma Multiforme
Epandositler	Epandimoma
Oligodendrositler	Oligodendroglioma
Araknoidal fibroblastlar	Menengioma
Nöroblastlar veya sinir hücreleri	Ganglionöroma
	Nöroblastoma
	Retinoblastoma
Eksternal granüler hücreler veya Nöroblastlar	Medullablastoma
Schwan hücreleri	Schwannoma

2.4.2. Glioblastoma multiforme

Kötü diferansiye astrositlerden oluşan en malign astrositik tümördür. Sıklıkla serebral hemisferler tutulur. Dünya sağlık örgütü (WHO) sınıflamasına göre grade IV'tür. 1863 yılında Virchow tarafından glial kökenli tümör olarak belirlenmiştir. 1914 yılında Mallory tarafından spongioblastoma multiforme terimi kullanılmıştır. 1929 yılında Bailey ve Cushing bu terimi glioblastoma multiforme olarak değiştirmiştir (34). Günümüzde glioblastoma, glioblastoma multiforme ile eşanlamli kullanılmaktadır.

Glioblastoma, en sık görülen beyin tümörüdür. Yaklaşık olarak tüm intrakranial tümörlerin %12-15'ini ve astrositik tümörlerin %50-60'ını oluşturur (35). Çoğu Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde insidans 100.000 kişide her yıl 2-3 yeni vakadır (34). Glioblastoma herhangi bir yaşta görülebilir. Fakat özellikle erişkinlerde görülür. İnsidans piki 45-70 yaş arasındadır. Biyopsilerde ortalama yaş 53 olup erkekler daha sık olarak etkilenmektedir (erkek/kadın oranı, 1.5/1 şeklindedir). Benzer olarak Dohrman, glioblastomaların % 8.8'inin çocuklarda görüldüğünü bildirmiştir. Konjenital vakalar nadirdir. Ultrasonografi ile en erken gebeliğin 29. haftasında tespit edilebilmektedir (34).

Tümör infiltrasyonu sıklıkla komşu korteks, bazal ganglia ve karşı taraf hemisfere ilerler. İntraventriküler glioblastomalar ve beyin sapı glioblastomu nadirdir. Beyin sapı glioblastomu (malign beyin sapı gliomu) sıklıkla çocuklarda görülür. Serebellum ve spinal kordon bu tümör için nadir lokalizasyonlardır (35).

Histolojik yapı; sellüler pleomorfizm, nükleer atipi, belirgin mitotik aktivite, vasküler trombozis, mikrovasküler proliferasyon ve nekroz içerir. Glioblastoma tipik olarak erişkinlerde görülür (34).

Makroskopik olarak, glioblastomalar kötü sınırlıdır. Kesit yüzeyi değişik renklindedir. Eski ve yeni kanama alanları, santral nekroz, tüm tümör kitlesinin %80 kadarını oluşturabilir. Yaygın hemoraji görülebilir. Lezyon genellikle tek taraflıdır ama beyin sapı ve korpus kallozumda bilateral olabilir. Glioblastomaların çoğu serebral hemisferlerde belirgin olarak intraparakimaldır. Sıklıkla kollajenden zengindir. Glioblastoma olgularının çoğunda semptomlar kısa süreli olmasına rağmen, tümörler sıklıkla büyüktür ve lobun büyük bir bölümünü işgal edebilir (34,35).

İnfiltratif yayılım tüm astrositik diffüz tümörlerin yaygın bulgusudur. Glioblastomalar özellikle komşu beyin yapılarına hızlı invazyonlar yaparlar. Tümörün korpus kallosum boyunca ilerleyerek karşı hemisfere girmesi, bilateral görüntü ve simetrik lezyon oluşumu yaygın bir bulgudur. İnfiltratif büyüme hızlı olmasına rağmen glioblastoma, subaraknoidal boşluğa uzanmaz. Bu nedenle beyin-omurilik sıvısı yoluyla metastaz nadirdir. Glioblastoma, perivasküler boşluklar boyunca da yayılırlar. Fakat vasküler lümen invazyonu nadirdir. Ekstranöral dokulara hematojen yayılım, daha önce cerrahi işlem görmemiş hastalarda nadirdir. Duraya, venöz sinüslere ve kemiğe penetrasyon nadirdir (34).

Glioblastoma sıklıkla pleomorfik, belirgin nükleer atipi ve mitotik aktivite içeren astrositik hücrelerden oluşur. Belirgin mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekroz esas tanısal işaretlerdir. Glioblastoma multiforme terimi tümörün histopatolojisinin çeşitliliğini ifade eder. Glioblastomadaki bölgesel heterojenite, özellikle stereotaktik biyopsiye dayanan tanılarda histopatolojik ciddi zorluklara neden olmaktadır (35,36).

Glioblastomada tanı ana hücre tipinin belirlenmesinden çok, doku paternine bağlıdır. Oldukça anaplastik glial hücrelerin, mitotik aktivitenin, vasküler proliferasyonun ve/veya nekrozun varlığı gereklidir. Bu anahtar yapıların tümör içinde dağılımı çeşitlidir. Ancak geniş nekrotik alan, genellikle tümörün merkezindedir. Tümör hücreleri periferde toplanma eğilimindedir. Vasküler proliferasyon esas olarak nekroz çevresinde ve periferel infiltrasyon zonunda olmakla birlikte tüm lezyon içinde görülür.

Glioblastomalar seyrek olarak glandüler ve şerit şeklinde epitelyal odaklar içerir. Bu hücreler büyük, oval bir çekirdeğe ve yuvarlak, iyi sınırlı sitoplazmaya sahiptir (34).

Glioblastoma heterojen bir tümördür. Kötü diferansiye alanlarda fuziform, yuvarlak ve pleomorfik hücreler hâkim iken daha diferansiye neoplastik astrositler fokal olarak farkedilebilir. Bu, özellikle diffüz astrositom grade II' nin progresyonu sonucunda oluşan glioblastomalarda görülür (34,35).

Büyük multinükleer tümör hücreleri sıklıkla glioblastomanın işareti olarak kabul edilir. Malign görünümüne rağmen bu hücreler regresif değişiklikler sonucunda oluşmaktadır. Histopatolojik olarak dev hücreler baskınsa dev hücreli glioblastoma tanımlaması yapılır.

Glioblastomada çeşitli yoğunlukta gemistositler ve fibriler astrositler vardır. Gemistositler bol, parlak, fibriler olmayan sitoplazmaya; koyu, periferik yerleşimli çekirdeğe sahiptir. Radial tarzda her yöne uzanan kısa ve künt uzantıları vardır (34).

PAS pozitif sitoplazmalı granüler, büyük hücreler, glioblastoma içinde dağınık olarak görülebilirler. Granüler hücrelerin histiositik kökenli olduğu düşünülmektedir.

Köpüksü sitoplazmalı lipidize hücreler glioblastomalarda seyrek olarak görülür. Nadir olarak lipidize hücreler dominant olabilir. Bu lezyonlar, yoğun lipidize köpüksü tümör hücreleri içeren malign gliom olarak adlandırılır (34).

Işık mikroskopunda tipik olarak glomeruloid yumaklar şeklinde görülür. Sıklıkla nekrozun çevresinde yerleşiktir. Glioblastomada mikrovasküler proliferasyonlar tipik olarak çok tabakalı, mitotik olarak aktif, endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve perisitlerle birlikte (35).

Nekroz 2 major tipe ayrılır. Bunlardan biri makroskopik olarak görülen nekroz, diğeri ise, nöroradyolojik olarak kontrast tutmayan merkez olarak görülen nekrozdur. Nekroz alanı mikroskopik olarak sarı ya da beyaz granüler alan olarak görülür. Nekroz içinde gliom hücreleri hayal şeklinde seçilir. Bu geniş nekrozun yetersiz kan akımına bağlı olduğu kabul edilir. Geniş likefaksiyon nekrozu primer glioblastomun işareti ve kötü prognoz ile birlikte (34).

2.4.3. Menenjiyom

Neoplastik araknoidal “cap” hücrelerinden köken alan menenjiyomlar, erişkin yaş grubundaki primer intrakranial tümörlerin %12-20’sini oluştururlar. Araknoidal “cap” hücreleri araknoid granülasyonların tepesinde bulunur ve venöz sinüs duvarını döşeyen endotel ile direkt temas ederek, vasküler sistemi subaraknoid mesafe ile ilişkilendirirler.

Menenjiyomlar ilk kez 1922 yılında Harvey Cushing tarafından adlandırılmıştır (37). Primer beyin tümörlerinin %15’ini, spinal kord tümörlerinin ise %25’ini oluştururlar (38). Menenjiyomlar erkeklerdeki primer beyin tümörlerinin %20’sini bayanlardakinin %38’ini oluşturur. Sıklıkla 40 ila 60 yaşlar arasında ve özellikle kadınlarda daha sık görülürler (39).

Menenjiyomların görülme sıklığı yaşla artmakla beraber, çocukluk çağı menenjiyomları sıklıkla ilk dekadın sonları ve ikinci dekadın başlarında görülmektedir. Konjenital veya

infantil menenjiyomlar çok daha nadir olmakla birlikte tek olgu sunumları şeklinde literatürde yerini almıştır (40,41).

Erişkin popülasyonda kadınlarda daha sık görülmesine rağmen, literatürde çocukluk döneminde her iki cinsten eşit oranda ve hatta erkeklerde biraz daha sık rastlandığı şeklinde farklı değerler bildirilmektedir (42). Çocukluk çağı menenjiyomları, erişkinler ile karşılaştırıldığında daha yüksek malignite insidansına sahiptirler (43).

Menenjiyomlar meninkslerin bulunduğu her bölgede görülse de parasagittal, falks, konveksite, olfaktör oluk, tuberkulum sellae, sfenoid kanat, serebellopontin açısı, klivus, foramen magnum gibi bölgelerde de görülebilir (44).

Menenjiyomlar genellikle sert, dura matere yapışmış, lobüllü lezyonlar olarak izlenirler. Genel histolojik tipler sinsitial ve fibroblastik tipleri içerir. Bazı menenjiyomlar; hücresel artış, nükleer pleomorfizm, mitotik aktivite, nekroz papiller yapı ve en önemlisi alttaki beyin parankimasına invazyonu içine alan histolojik malignite kriterlerine sahip olabilir (7).

Menenjiyom etyolojisinde travma, viral sebepler, bazı malignensilerin predispozisyonu ve radyasyon yer alır. Olguların 1/3'ünde geçmişte yaşanmış ciddi bir travma dikkat çekici olmakla beraber, travmanın kesin rolü saptanmamıştır. Bilinen en önemli etyolojik faktör radyasyondur. Kranial radyoterapi alan kişilerde menenjiyom görülme oranı, normal kişilere göre dört kat fazla olduğu gözlenmiştir (31).

Klinik olarak semptomları tümörün yerleşim yerine, büyüklüğüne, peri tümöral ödem miktarına ve büyüme hızına göre değişir. Yavaş büyüdükleri için başlangıcı ile tanı konulması arasında geçen süre çoğu kez birkaç yılı bulmaktadır. Bazı malign tiplerde bu süreç 5 aya inmektedir (45). Hayat boyu asemptomatik seyreden menenjiyomlar da vardır. Menenjiyomlar diğer kafa içi yer tutan lezyonlar gibi kafa içi basıncının artmasına bağlı olarak baş ağrısı, bulantı, kusma, papil stazı, şuur düzeyi değişiklikleri, epileptik nöbet gibi genel bulgularla ortaya çıkabildiği gibi yerleşim yerine bağlı değişen fokal nörolojik bulgularla da ortaya çıkabilir. Epilepsi, hastaların %50'sinde görülür. Fokal ya da generalize nöbet tarzında olabilir. Generalize nöbetler sıklıkla frontal ve oksipital lob tümörlerinde, fokal nöbet en sık orta parasagittal bölge tümörlerinde görülmektedir (46).

Menenjiyomlar nadiren ekstrakranial metastaz yaparlar ve buna bağlı klinik bulgu verebilirler. Malign menenjiyomda uzak metastazlar sıklık sırasına göre akciğer, plevra, karaciğer, kemik, böbrek ve kalp olarak bildirilmektedir (47).

Menenjiyomların diğer tümörlerle ilişkisi net olarak açıklanamamıştır. Ancak menenjiyomların meme kanseri ile birlikteliği birçok çalışmada rapor edilmiştir. Ayrıca glioma ve hipofiz adenomu ile birlikte, tripl intrakranial tümör olarak bir olguda rastlanmıştır. Bunun yanında oligodendrogliom, glioblastoma ve astrositom da menenjiyomla birlikteliği görülen intrakranial tümörlerdendir (48).

2.4.3.1 Menenjiyomların Histolojik Sınıflandırılması

WHO'nun 2007 yılında yapmış olduğu MSS tümörlerinin sınıflandırılmasına göre meninks tümörleri iki büyük gruba ayrılmıştır. Birinci grupta meningotelyal hücrelerden köken alanlar, ikinci grupta ise mezenşimal nonmeningotelyal hücrelerden köken alanlar bulunmaktadır (Tablo 2.2) (39).

Tablo 2.2: 2007 WHO meninks tümörlerinin sınıflandırması

1. Meningotelyal hücre tümörleri	2. Mezenkimal meningotelyal hücre kökenli olmayan tümörler
a. Menenjiyom	a. Lipom
b. Meningotelyal	b. Anjiolipom
c. Fibröz	c. Hibernom
d. Transisyonal	d. Liposarkom
e. Psammatöz	e. Soliter fibröz tümör
f. Anjiyomatöz	f. Fibrosarkom
g. Mikrokistik	g. Malign fibröz histiositom
h. Sekretuar	h. Leiomyom
i. Metaplastik	i. Leiomyosarkom
j. Lenfoplazmasit zengin	j. Rabdomyom
k. Clear cell	k. Rabdomyosarkom
l. Kordoid	l. Kondrom
m. Atipik	m. Kondrosarkom
n. Papiller	n. Osteom
o. Rabdoid	o. Osteosarkom
p. Anaplastik meningiom	p. Osteokondrom
	q. Hemanjiyom
	r. Epiteloid hemanjiyoendotelyom
	s. Hemanjiyoperisitom
	t. Anjiyosarkom
	u. Kaposi sarkomu

Geçmiş yıllarda menenjiyomların değişik sınıflandırılmaları yapılmıştır. En son yapılan sınıflandırma 2007 yılına aittir. Ancak bu sınıflandırılma üzerinde de bir değişiklik yapılmıştır. Bu da menenjiyomların biyolojik davranışlarına göre 3 gruba ayrılmalarıdır. Bunlar bening, atipik ve malign olarak belirtilmişlerdir. Atipik menenjiyomlar sık mitoz gösterirler, artmış sellülarite taşırlar, nükleus sitoplazma oranı yükselmiştir ve nekroz alanları içerirler. Malign menenjiyomlarda ise belirgin malign sitoloji mevcut olup mitotik indeks yükselmiştir ve belirgin nekroz vardır. Derin kortikal beyin invazyonu gösterirler (49).

Menenjiyomların %88' ini grade I menenjiyomlar, % 8,5' ini grade II, % 3,5'ini grade III menenjiyomlar oluşturur. Grade I menenjiyomların % 66,1'i kadın, % 33,9'u erkek, kadın erkek oranı yaklaşık olarak 2/1, grade II menenjiyomların % 67'si kadın, % 33'ü erkek, kadın erkek oranı yaklaşık olarak 2/1 ve grade III menenjiyomların %17'si kadın, % 87'si erkek, erkek kadın oranı yaklaşık olarak 5/1'dir. Grade I ve grade II menenjiyomlarda kadın baskınlığı, grade III menenjiyomlarda erkek baskınlığı vardır (50).

2.5. Ara Filamentler

Hücre iskeleti hücrelerin sadece bütünsel hareketlerini değil, aynı zamanda organellerin ve diğer bazı yapıların (mitotik kromozom gibi) sitoplazma içinde taşınması, fagositoz, sitokinez, hücre şeklinin değişimi, hücrenin polaritesinin belirlenmesi ve hatta hücre-hücre ve hücre-hücre dışı matriks yapışmasından sorumlu temel yapılardır. Hücre iskeleti elemanlarından olan ara filamentler 10 nm çapında olan esnek ancak oldukça güçlü olan polimerlerdir. Aktin filamentleri ve mikrotübüllerin tersine ara filamentler hücre hareketlerine doğrudan katılmazlar. Bunun yerine mekanik olarak baskıyla karşılaşan hücrelere (epitel hücreleri, kas hücreleri, sinir aksonları gibi) yapısal destek sağlarlar (51-53).

Bugüne kadar elliden fazla farklı ara filament tipi tanımlanmıştır. Ara filamentler hücre iskeleti elemanlarının en az anlaşılan bölümünü oluştururlar. Amino asit dizileri arasındaki ve protein yapılarındaki benzerliklere göre altı grupta sınıflandırılmışlardır (Tablo 2.3) (7,42).

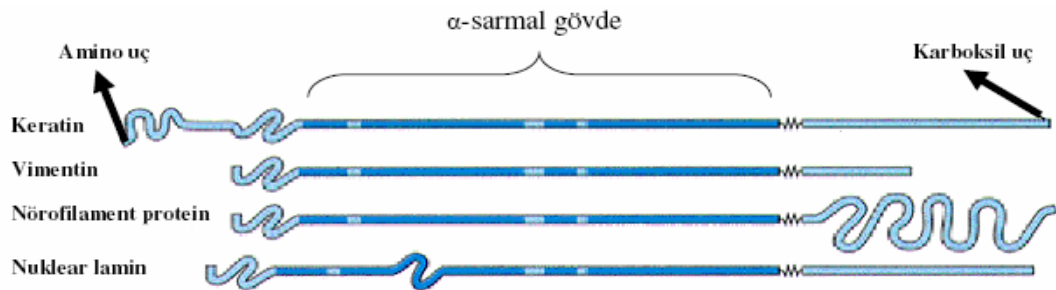
2.5.1. Ara Filamentlerin Yapılanması

Boyut ve amino asit diziliminde önemli farklılıklar olmasına karşın, ara filamentleri oluşturan protein monomerlerinin yapısal organizasyonu aynıdır. Bu monomerleri,

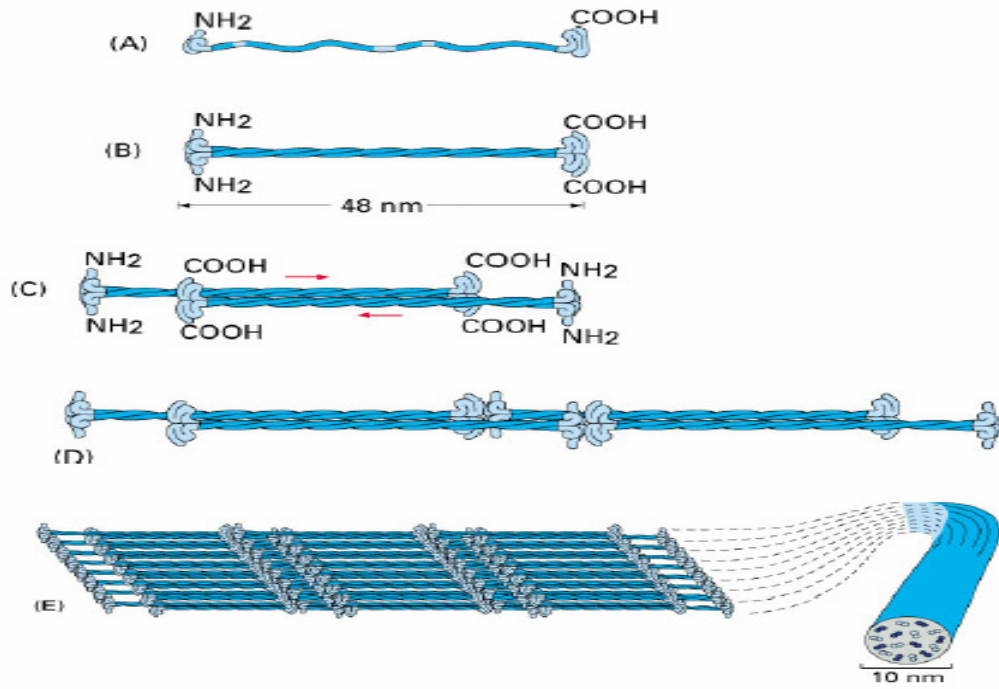
amino uç (baş), karboksil uç (kuyruk) ve merkezi bölge (gövde) olmak üzere üç kısımdan oluşurlar (53) (Şekil 2.5).

Tablo 2.3: Ara filament proteini ailesi

Tip	İsim	Bulunduğu yer
I	Asidik keratinler (40□60kDa)	20 alt türü var. Sitoplazmik plaklar, desmozom ve
II	Nötral ve bazik keratinler (50□70kDa)	hemidesmozom
III	Vimentin (54 kDa)	Mezenşim kökenli hc
	Desmin (53 kDa)	İskelet kası ve düz kas
	Gliyal Fibrilli Asidik Protein (51 kDa)	Astrositler ve Schwann
	Periferin (57 kDa)	PSS'deki nöronlar
IV	Nörofilaman'lar (60□160 kDa) (NF□L, NF□M, NF□H)	Akson ve dendritlerde
	Alfa□internexsin (66 kDa)	Medulla spinalis, optik sinir
V	Lamin'ler (A, B, C)	Çekirdek iç zarı
VI	Nestin (200 kDa)	MSS kök hücrelerinde



Şekil 2.5. Arafilamentler ve yapıları (54).



Şekil 2.6. Ara filamentlerin yapılanması (54).

2.5.2. Nestin

Çoğunlukla gelişen ve yenilenen dokuların progenitör hücrelerinde, nöral gelişimin erken dönemlerinde ve MSS kök hücrelerinde eksprese olan bir Tip VI ara filament proteinidir. Nestin kelimesi neuroepithelial stem cell protein kelimelerinin baş harflerinden oluşur. (55).

Nestin yapısal olarak diğer ara filamentlere benzeyen büyük bir proteindir. C-terminal bölgesi 1306 amino asit içerir. Ancak nestinin amino ucu diğer ara filament proteinlerinkine göre çok daha kısadır. Ara filament proteinlerin amino- ve karboksi uçlarındaki varyasyon bir dizi yapısal protein için bağlanmaya izin verir (56). İnsan nestin proteini, sıçan ve fare nestin proteinlerinden çok daha kısadır. Uzunluktaki farklılık karboksi-ucundaki tekrarlayan birimlerin sayısındaki varyasyondan dolayıdır (57).

Yapısal olarak nestin, bütün ara filament proteinlerinin en kısa baş domainine (N-terminus) ve en uzun kuyruk domainine (C-terminus) sahip üyesidir. 240 kDa ağırlığında olup yüksek moleküler ağırlığa sahiptir (56).

Nestin ekspresyonunun genellikle geçici olması ve erişkin dönemde kalıcı olmamasına rağmen gelişim sürecinde birçok doku tipinde eksprese olur. Nestin özellikle MSS, PSS, miyojenik ve diğer bazı dokularda gelişimin erken dönemlerinde, bölünebilen hücrelerde eksprese olan bir ara filament proteinidir. Farklılaşma süreci devam ederken nestin ekspresyonu azalmaya başlar ve dokuya özgü ara filament proteinleri ile yer değiştirir. Nörogenез ve gliogenез süresince nestin, nörofilamentler ve GFAP gibi hücre tipine özgü ara filamentler ile yer değiştirir. İlginç olarak nestin, erişkinde MSS hasarı, glial skar oluşumu ve hasarlanan kas dokusunun rejenerasyonu gibi patolojik durumlarda tekrar indüklenir (58).

Nestinin çoğalan ve göç eden hücrelerin bir belirteci olduğunun düşünülmesine rağmen, görevi ve düzenlenişi hakkında çok az şey bilinmektedir. Mitotik olarak aktif hücrelerde nestin dağılımı ve ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalar, hücrenin yeniden şekillenmesine iştirak eden diğer yapısal proteinlerle birlikte ara filamentlerin birleşiminin ve dağılımının düzenlenmesinde kompleks bir role sahip olduğunu göstermiştir (58).

Nestin, son zamanlarda yeni şekillenen endotel hücrelerini belirlemek için de kullanılan bir belirteç olarak dikkat çekmektedir. Teranishi ve ark. (59) yaptıkları çalışmalarında nestinin kolorektal kanser dokusunun çoğalan endotelyal hücrelerinde yeni bir anjiogenез belirteci olduğu sonucuna varmışlardır.

Nestinin, hem erişkinde hemde embriyonel dönemde çeşitli dokularda ekspresyonu gösterilmiştir. Terling ve ark. (60) yaptıkları çalışmalarında, nestinin mineralizasyonun erken aşamasında ameloblastların apikal bölümünde eksprese olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, hem odontogenезis hemde diş çıktıktan sonra odontoblastlar nestin eksprese etmiştir. Bu şekilde nestinin erken ve geç gelişim aşamalarındaki ekspresyonundan dolayı, odontoblastlar için spesifik bir belirteç olarak kullanılabileceği sonucunu bulmuşlardır. Farelerin gelişen ve erişkin böbrek dokusunda nestin ekspresyonunun belirlenmesini amaçlayan bir çalışmada (61), embriyonel dönemde metanefrik mezenşimden gelişen glomerüler endotelyal hücrelerde ve böbrek progenitör hücrelerinde nestin ekspresyonu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, erişkin böbrek dokusunda nestin ekspresyonunun farklılaşan podositlerle sınırlı olduğunu ve buna bağlı olarak da, nestinin podositlerin yapısal bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır. Soria ve ark. (62), nestinin insülin

salgılayan hücrelerin diferansiasyonu sırasında kök hücrelerin gösterilmesinde önemli bir belirteç olduğunu bildirmiştir. Bir ara filament proteini olan nestin, geçici olarak çeşitli organların doku rejenerasyonunun erken dönemlerinde eksprese olur. Lumelsky ve ark. (63) maymundan nestin pozitif embriyonik kök hücreyi izole ettiler ve bu hücrelerin yapısal ve fonksiyonel olarak pankreas adacık hücrelerine benzeyen insülin salgılayan adacık hücrelerini oluşturduğunu bildirdiler. Zulewski ve ark. (64), 2001 yılında yetişkin pankreasından nestin pozitif kök hücreyi izole etti ve bunun insülin salgılayan hücreler için varsayılan kök hücre olduğunu rapor etti. Bu çalışmalar, nestinin embriyonik dokuların dışında tam differansiye pankreas dokusunda da insülin salgılayan hücrelerin differansiye olduğu pankreatik kök hücrenin belirlenmesinde bir kök hücre belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir (65-67).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, TSD-09-759 no'lu proje olarak Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir ve Erciyes Üniversitesi Etik Kurulundan onay alınmıştır.

Çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda menenjiyom ve glioblastoma tanısı almış hastalara ait tümör dokuları kullanılmıştır. Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı'ndan cerrahi yöntemlerle çıkarılıp Patoloji Bölümü'ne gelen tümör dokuları, rutin histolojik yöntemlerle (tablo 3.1) takip edildikten sonra parafin bloklara gömülü olarak muhafaza edilmektedir. Hastaların patoloji raporlarına bakılarak menenjiyom grubundan Grade I için 10, Grade II için 10 (2007-2009 yılları arası) ve Grade III (2003-2010 yılları arası) için de 8 örnek alınmıştır. Çalışmada kontrol grubu olarak kullanılacak olan glioblastomalı hastalardan da (2009-2010 yılları arası) 10 örnek olmak üzere toplam 38 olgu kullanılmıştır. Hastalara ait patoloji raporlarından yaş, cinsiyet ve tümörün tipi hakkında veriler toplandı. Vakaların daha önce tümör olarak kaydedilmiş patoloji raporunda belirtilen bloklar içinden, tümör ve peritümöral alanların en iyi görüldüğü bloklar tercih edildi. %10'luk formalin fiksasyonu sonrası rutin takip ile hazırlanmış parafine gömülü dokulardan 5µm'lık kesitler dökülmemesi için poli-L-lizinle kaplı lamlara alındı. Alınan kesitlere rutin hematoksil-eozin, nestin immunohistokimyasal boyama ve nestin immunofluoresan boyama protokolleri uygulanmıştır. Hemetoksilen-eozin boyama protokolü tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Parafin doku takip yöntemi aşamaları.

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	%10'luk formalin	Bir gece
2	Akarsu	Bir saat
3	% 50'lik etil alkol	Bir saat
4	% 70'lik etil alkol	Bir saat
5	% 90'lık etil alkol	Bir saat
6	% 96'lık etil alkol-I	Bir saat
7	% 96'lık etil alkol-II	Bir saat
8	Absolu alkol-I	Bir saat
9	Absolu alkol-II	Bir saat
10	Ksilen	Bir saat
11	57 °C'de etüvde eriyik parafin	Bir gece
12	Gömme	

3.1. İmmunohistokimya

İmmünohistokimyasal boyama için %10'luk formalin fiksasyonu sonrası rutin takip ile hazırlanmış parafine gömülü dokulardan 3-5µ'luk kesitler yapıldı.

Kesitler dokuların dökülmemesi için poli-L-lizinle kaplı lamlara alındı. Kesitler, 60°C'lik etüvde 1 saat bekletildikten sonra 15 dakika ksilen ile deparafinize, daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edildi ve distile suda yıkandı. Kesitler 1mM sitrat buffer ile mikrodalga fırında 20 dakika kaynatılarak oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Dokular fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) ile 10 dakika yıkandı. Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için endojen peroksidaz aktivitesi hidrojen peroksit ile bloke edildi. 10 dakika PBS da yıkandı. Primer antikör olarak nestin (*Rb X nestin AB 5922 Millipore*) kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyamada streptavidin-biotin kiti kullanarak avidin-biotin peroksidaz metodu uygulandı. İmmünohistokimyasal boyama işlemine tablo 3.3'de

ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Azalan alkol serilerinden geçirilen dokular 15 dakika ksilende bekletildikten sonra kapatma solüsyonu ile kapatıldı. İşlemlerin tamamı oda ısısında ve kesitlerin kurumaması için nemli ortamda gerçekleştirildi. Hazırlanan kesitler araştırma mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi.

Tablo 3.2: Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Ksilen-I	15 dak
2	Ksilen-II	15 dak
3	Absolu alkol-I	10 dak
4	Absolu alkol-II	10 dak
5	% 96 Alkol	10 dak
6	% 80 Alkol	10 dak
7	%70 Alkol	10 dak
8	% 50 Alkol	10 dak
9	Akarsu	5 dak
10	Hematoksilen	7-8 dak
11	Akarsu	5 dak
12	Eozin	4-5 dak
13	Akarsu	5 dak
14	% 50 Alkol	10 dak
15	%70 Alkol	10 dak
16	% 80 Alkol	10 dak
17	% 96 Alkol	10 dak
18	Absolu alkol-I	10 dak
19	Absolu alkol-II	10 dak
20	Ksilen-I	15 dak
21	Ksilen-II	15 dak
22	Kapatma	

Tablo 3.3: İmmunohistokimya boyama prosedürü

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat	18	PBS	10 dk
2	Ksilen I	5 dk	19	Streptavidin Horse Radish Peroksidaz	10 dk
3	Ksilen II	5 dakika	20	PBS	5 dk
4	Ksilen III	5 dakika	21	DAB kromojen	10 dk
5	Absolü Alkol	10 dk	22	Distile su	Yıka
6	%96 Alkol	10 dk	23	Mayer hemotoksileni	1 dk
7	%80 Alkol	10 dk	24	Musluk suyu	5 dk
8	%70 Alkol	10 dk	25	Distile su	Yıka
9	Distile Su	3 kez yıka	26	%70 Alkol	5 dk
10	%5 Sitrat Buffer	20 dk	27	%80 Alkol	5 dk
11	PBS	10 dk	28	%96 Alkol	5 dk
12	%3 H ₂ O ₂	10 dk	29	Absolü Alkol	5 dk
13	PBS	10 dk	30	Ksilen I	5 dk
14	Normal Serum	10 dk	31	Ksilen II	5 dk
15	Primer Antikor	1 saat	32	Ksilen III	5 dk
16	PBS	10 dk	33	Kapatma	
17	Sekonder Antikor	10 dk			

3.2. İmmunofluoresan Boyama

Kesitler deparafinizasyon için 1 saat 60 °C'lik etüvde bekletildikten sonra 1 gece 37 °C'lik etüve alındı. Ertesi sabah 2 defa 10'ar dakika ksilende bekletildikten sonra, azalan alkol serilerinden (%100, %96, %80, %70, %50) geçirilerek deiyonize su ile rehidrate edildikten sonra 1/10 sitrat buffer içinde 25 dk antijen geri kazanımı yapıldı.

Preparatlara oda ısısında 30 dk % 0.2 Triton X 100 içeren PBS uygulandı. Non-spesifik bağlanma için oda ısısında 45 dk normal goat serum uygulandıktan sonra % 0.2 Triton X 100 içeren PBS’de dilüe edilen kesitler poliklonal rabbit anti-human von Willebrand faktör ile +4 °C’de 1 gece inkübe edildi. Daha sonra kesitler goat R-phycoerythrin-konjugeli anti rabbit Ig G antikoruna ile oda sıcaklığında 45 dk reaksiyona maruz bırakıldı. Nükleuslar Hoechst 33342 ile zıt boyanıp kesitler, +4 °C’de 1 gece monoklonal mause anti-human nestin antikoruna ile inkübe edildikten sonra oda ısısında goat Cy3-konjugeli anti mause Ig G antikoruna 45 dk bekletildi ve kesitler %50 buffer glycerol ile nemli tutulup immunofluoresan mikroskop altında incelendi.

3.3. Histoskorlama

Boyanan kesitler Patoloji Anabilim Dalı’nda uzman patolog gözleminde yoğunluk derecelerine göre değerlendirildi. Boyanma yoğunlukları 0 (boyanmamış), 1 (zayıf boyanmış), 2 (boyanmış) ve 3 (çok güçlü boyanmış) olarak sınıflandırıldı. Her gruba ait preparatlardan rastgele toplam 10 alan bakıldı ve nestin eksprese eden hücrelerin yüzdesi ile ekspresyon yoğunlukları çarpılarak histoskorlama yapıldı. Histoskorlama özetle 1 x % zayıf pozitif tümör hücreleri + 2 x % orta derecede pozitif tümör hücreleri + 3 x % yoğun boyanmış tümör hücreleri şeklinde hesaplandı (13). Buna göre yoğun boyanmış tümör hücresinde maksimum histoskor 3 iken, sadece %50’si zayıf boyanmış tümör hücrelerinde (1 x 0,5) histoskor 0,5 olarak değerlendirildi. Nestin kapiller endotelinde de kuvvetli ekspresyon gösteren bir ara filamentdir. Ancak çalışmada, endotelde ve nekroz alanlarında görülen boyanma alanları histoskorlamaya dahil edilmedi. Sadece nestin ekspresyonu gösteren tümör hücreleri üzerinden histoskorlama yapıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.00 programı ile yapıldı. Karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Ayrıca grade dereceleri ile ortalama boyanma dereceleri arasındaki ilişkinin değerlendirilebilmesi için Nonparametrik korelasyon analizi (Spearman’s) yapıldı ve P değeri 0.05 altındaki değerler anlamlı kabul edildi.

3.5. Kontroller

Çalışmada pozitif kontrol için glioblastoma grubuna ait doku kesitleri kullanılmıştır. Negatif kontrol için glioblastoma grubundan seçilen kesitlere primer antikor yerine PBS damlatılarak diğer immunohistokimyasal boyama basamakları uygulanmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmada 10 menenjiyom grade I, 10 menenjiyom grade II, 8 menenjiyom grade III olmak üzere 28 olgu menenjiyom grubundan ve kontrol grubu olarak seçilen 10 glioblastoma grubu olmak üzere toplam 38 olgu kullanılmıştır. Çalışmada değerlendirmeye glioblastoma grubuna ait olguların ise 4'ü erkek, 6'sı kadındı ve olguların 5'i 60 yaş altında kalan 5'i ise 60 yaşın üstündeydi (Tablo 4.1). 28 menenjiyom grubu olgunun 11'i erkek, 17'si kadın hastaydı. Menenjiyom grade I grubunda olguların 7'si 60 yaşın altında, 3'ü 60 yaşın üstündeydi ve hastaların 4'ü erkek 6'sı kadındı. Grade I menenjiyom grubu hastaların çoğu transizyonel tip menenjiyom tanısı almıştı (Tablo 4.2). Menenjiyom grade II grubunda olguların 6'sı 60 yaşın altında 4'ü ise 60 yaşın üstündeydi ve hastaların 5'i erkek 5'i kadındı (Tablo 4.3). Bu gruptaki hastaların çoğu atipik menenjiyom tanısı almıştı. Menenjiyom grade III grubunda olguların 4'ü 60 yaşın altında 4'ü 60 yaş üstünde olup hastaların 1'i erkekti ve papiller menenjiyom tanısı almıştı, kalan 7 hasta ise kadındı ve çoğu malign menenjiyom tanısı almıştı (Tablo 4.4).

Tablo 4.1: Glioblastoma grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri

Sıra	Yaş	Cinsiyet	Tanı
1	66	E	Glioblastoma (WHO grade IV)
2	25	K	Glioblastoma (WHO grade IV)
3	18	K	Glioblastoma (WHO grade IV)
4	62	E	Glioblastoma (WHO grade IV)
5	46	K	Glioblastoma (WHO grade IV)
6	57	K	Glioblastoma (WHO grade IV)
7	43	E	Glioblastoma (WHO grade IV)
8	62	E	Glioblastoma (WHO grade IV)
9	61	K	Glioblastoma (WHO grade IV)
10	68	E	Glioblastoma (WHO grade IV)

Tablo 4.2: Grade I Menenjiyom grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri

Sıra	Yaş	Cinsiyet	Tanı
1	34	E	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)
2	68	K	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)
3	56	K	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)
4	46	K	Sekretuar Menenjiyom
5	21	E	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)
6	80	E	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)
7	46	E	Psammatöz Menenjiyom
8	68	K	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)
9	49	K	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)
10	43	K	Tipik Menenjiyom (Transizyonel Tip)

Tablo 4.3: Grade II Menenjiyom grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri

Sıra	Yaş	Cinsiyet	Tanı
1	56	K	Atipik Menenjiyom
2	66	K	Atipik Menenjiyom
3	56	E	Fibroblastik Menenjiyom
4	65	E	Atipik Menenjiyom
5	61	K	Atipik Menenjiyom
6	10	E	Atipik Menenjiyom
7	48	E	Kordoid Menenjiyom
8	50	E	Atipik Menenjiyom
9	40	K	Atipik Menenjiyom
10	65	E	Atipik Menenjiyom

Tablo 4.4: Grade III Menenjiyom grubuna ait örneklerin temel patolojik bilgileri

Sıra	Yaş	Cinsiyet	Tanı
1	62	E	Papiller Menenjiyom
2	32	K	Malign Menenjiyom
3	79	K	Malign Menenjiyom
4	28	K	Rhabdoid Menenjiyom
5	77	K	Malign Menenjiyom
6	52	K	Rhabdoid Menenjiyom
7	68	K	Malign Menenjiyom
8	46	K	Malign Menenjiyom

İmmünohistokimyasal boyama yapılan preparatlarda her bir gruba ait dokulardan alınan kesitlerin kendi içinde histoskorlaması yapılarak sonuçlar değerlendirildi. Her bir preparatta yaklaşık 10 farklı alan bakıldı. Buna göre nestin eksprese eden tümör hücrelerinin yüzdesi ile ekspresyon yoğunlukları çarpılarak bir histoskorlama yapıldı ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi (tablo 4.5).

Tablo 4.5:Tüm olgulardaki ortalama nestin ekspresyon yoğunluklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması (P <0,05)

Menenjiyom grade I	Menenjiyom grade II	Menenjiyom gradeIII	Glioblastoma
X±SS Ort. (%25,75)	X±SS Ort. (%25,75)	X±SS Ort. (%25,75)	X±SS Ort. (%25,75)
0,87±0,63 1,06 (0,00-1,42)	1,74±0,93 1,67 (0,92-2,55)	1,19±1,06 1,27 (0,07-1,97)	2,76±0,33 3,00 (2,36-3,00)

Glioblastomada, hemotoksilen-eozin boyama ile hücre morfolojisi ve doku yapılanmasında ileri derecedeki değişkenlik gözlenebilmektedir. Tümör hücreleri hiperkromatik özellikte farklı büyüklüklerde nükleus içeriyordu ve hücrelerin tipi tam olarak seçilememekteydi (Şekil 4.1). Glioblastoma grubuna ait farklı kesit alanlarında ayrıca, yoğun selülarite (hücrelerin morfolojik ve sayısal yönden artışı), damar endotel proliferasyonu ve glioblastomanın tipik karakteristik özelliği olan koagulatif nekroz alanları da mevcuttu. Nestin, glioblastoma gibi yüksek malign özelliğe sahip tümör dokularında kuvvetli ekspresyon gösterdiği bilinen bir ara filament proteindir. Glioblastoma grubuna ait bir preparata uygulanan negatif nestin immunohistokimyasal boyamasında tümör hücrelerinde hiç nestin ekspresyonu görülmedi (Şekil 4.2). Glioblastoma grubuna ait pozitif kontrol kesitlerine uygulanan nestin immunohistokimyasal boyamasında, bütün tümör hücrelerinde yoğun nestin ekspresyonu gözlemlendi. Nestin yoğunlukla tümör hücrelerinin sitoplazmasında eksprese olurken bazı tümör hücrelerinin çekirdeğinde de nestin ekspresyonu mevcuttu ve belirgindi (Şekil 4.3).

Menenjiyom grade I histopatolojisi, sitoplazmik ve nüklear inklüzyonların şekillendiği ve oval nükleusları ile genelde aynı şekilli tümör hücreleri ile karakterizedydi. Tümör hücreleri lobüllü veya sarmal şekilli olup bazı bölgelerde kan damarları içeren ince kollagen septumlar ile ayrılmıştı (Şekil 4.4). Menenjiyom grade I grubunda nestin ekspresyonu yoğunlukla tümör hücrelerinin sitoplazmasında gözlemlendi. Nestinin zayıf ve orta derecedeki ekspresyonu çoğu tümör bölgesinde mevcuttu. Grade I menenjiyom grubundaki nestin ekspresyonu, glioblastoma grubuna ait tümör hücrelerinin yoğun nestin ekspresyonuna oranla daha zayıftı (Şekil 4.5) ve bazı preparatlarda, nestin ekspresyonu sadece kapiller endotelinde görülmesine rağmen tümör hücreleri negatif

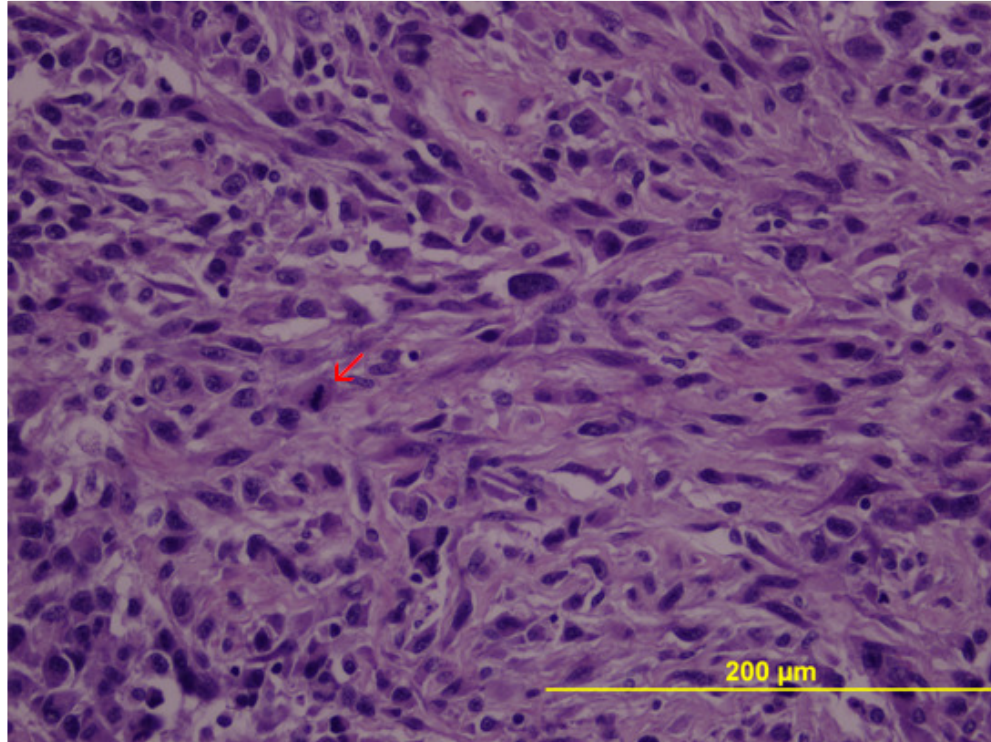
boyanma gösterdi (şekil 4.6). İki grup arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($P<0,05$).

Atipik menenjiyom histopatolojisi ise grade I grubuna göre daha farklıdır. Grade II menenjiyom sınıfına ait bu grup, yoğun pleomorfizm (hücreler veya nükleuslar arası farklı boyut) ve hiperselüleritenin (hücreden zengin) yanı sıra lobüler pattern kaybı ve yer yer mitotik figürler ile karakterizedydi. Tümör hücreleri sitoplazmaya oranla daha büyük nükleusa sahiptir, hatta bazı hücrelerde nükleolus da kolaylıkla ayırt edilebilmekteydi (Şekil 4.7). Zayıf ekspresyon alanları sınırlı tümör alanlarında lokalize olmuşken (Şekil 4.8), aynı tümör dokusuna ait başka bölgelerde negatif alanlarda mevcuttu. Menenjiyom grade II grubunda nestin ekspresyonu glioblastomadaki nestin ekspresyonuna biraz daha yakın olup genellikle orta ve yoğun boyanmalar şeklindeydi (Şekil 4.9). Örneklerin hepsi genel olarak değerlendirildiğinde genellikle zayıf ve orta şiddetli ekspresyon alanlarının yanında yoğun boyanan ve hiç boyanmayan negatif tümör alanları da mevcuttu. Ancak örnekler farklı boyanma yoğunlukları göstermelerine rağmen hiç boyanma göstermeyen preparat yoktu. Bu grupta az da olsa nestin pozitif boyanma gösterdi. Menenjiyom grade II ile glioblastoma grubundaki boyanma yoğunlukları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($P<0,05$).

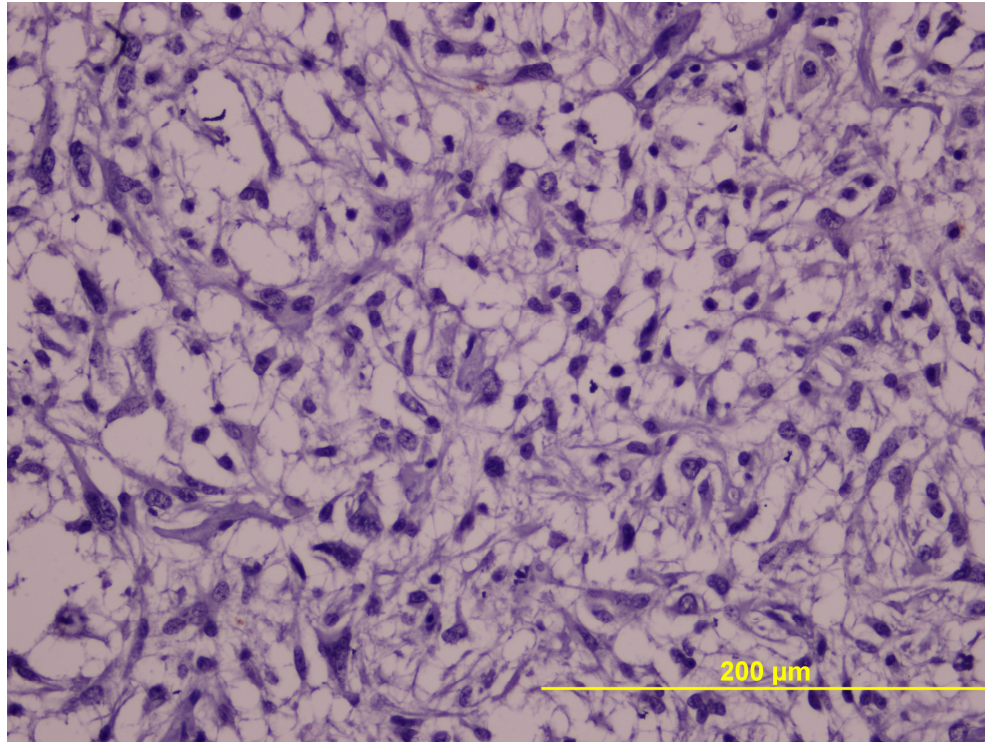
Rabdoid tip grade III menenjiyomda rutin hematoksilin eozin ile yapılan histopatolojik incelemede, bu grupta da belirgin pleomorfizm ve mitotik figürlerin yanı sıra değişik yönlere uzanan ve girdap yapıları oluşturan fibroblastik bir stroma içinde geniş eozinofilik sitoplazmalı ve ekzantrik yerleşimli nükleusa sahip tümör hücreleri belirgindi (Şekil 4.10). Ayrıca farklı tümör alanlarında konsantrik dizilim gösteren iğsi hücrelerin oluşturduğu whorl yapıları ve psammom cisimciği halen seçilmekteydi. Menenjiyom grade III grubu immunohistokimyasal boyamasında ise, bazı örneklerde glioblastoma grubundaki nestin ekspresyonu kadar yoğun boyanmış tümör alanları mevcutken (Şekil 4.11), bu gruptaki 2 preparatta hiç nestin ekspresyonu görülmedi. Nestin ekspresyonu görülmeyen her iki grupta malign menenjiyom tip tümör dokularıydı. Menenjiyom grade III grubunda glioblastoma grubuna göre zayıf-orta ve yoğun ekspresyon alanlarının yanı sıra negatif tümör alanları da mevcuttu. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($P>0,05$).

Glioblastoma ve farklı gradelerdeki menenjiyom gruplarına uygulanan nestin immunofluoresan boyamasında, aynı gruplarda yapılan nestin immunohistokimyasal boyamalarıyla uyumluydu. Kontrol grubu olarak kullanılan glioblastoma grubunda, nestin eksprese eden tümör hücreleri floresan ışıktaki belirgin yeşil floresan yansımalar gösterdi (Şekil 4.12) ve en belirgin floresan boyanma bu gruptaydı. Menenjiyom grade I grubunda bazı kesitlerde nestin ekspresyonu zayıf ve orta derecede yeşil floresan yansımalar gösterebilir, bu grupta hiç yansıma görülmeyen nestin negatif tümör alanları da mevcuttu (Şekil 4.13). Menenjiyom grade II grubunda ise, genellikle zayıf ve orta şiddette (Şekil 4.14) nestin ekspresyonu gösteren tümör alanları ve yoğun floresan yansımaların yanı sıra, hiç floresan yansıma göstermeyen negatif tümör alanları da mevcuttu. Menenjiyom grade III grubunda ise, nestin immunohistokimyasal boyamalarına benzer şekilde bazı örneklerde glioblastoma grubundaki nestin ekspresyonu kadar yoğun floresan yansımalar gösteren tümör alanları mevcuttu (Şekil 4.15). Nestin immunohistokimyasal boyamasında hiç ekspresyon göstermeyen 2 preparatta floresan yansımalar da negatifti.

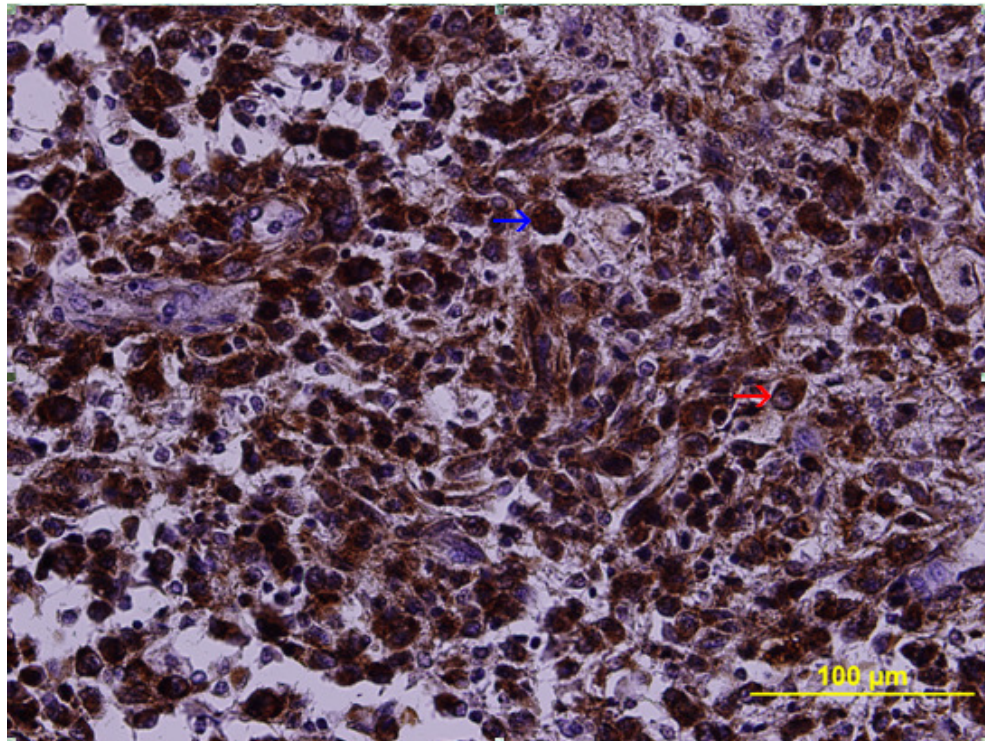
Nonparametrik korelasyon analizinde, grade dereceleri ile ortalama boyanma değerleri arasında orta güçte anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($r_s = 0,590$, $P < 0,001$).



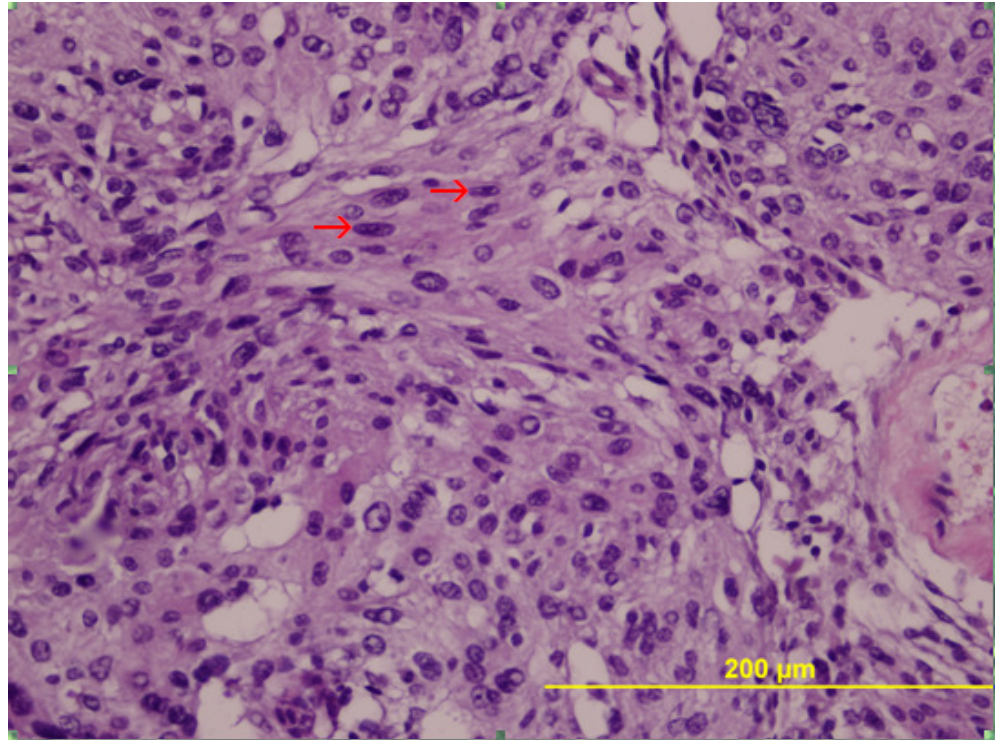
Şekil 4.1: Glioblastoma grubundaki tümör hücrelerinin normal ışık mikroskopik görünümü, mitotik aktivite gösteren tümör hücresi (→), (X40, HE)



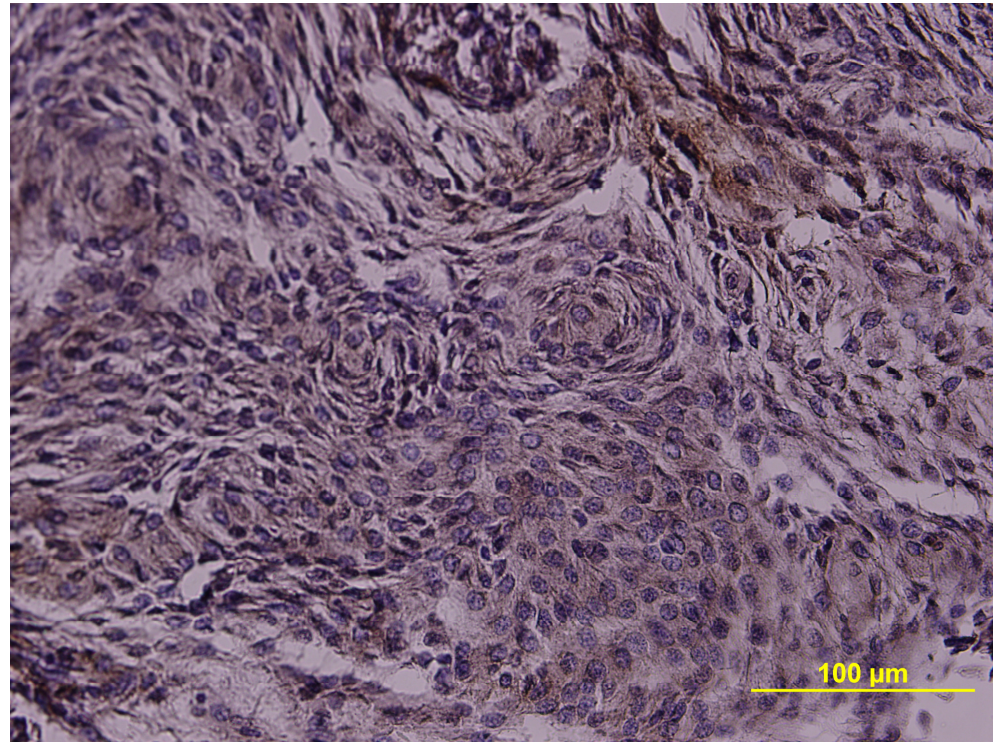
Şekil 4.2: Glioblastoma who grade IV grubu negatif kontrol boyaması (X40).



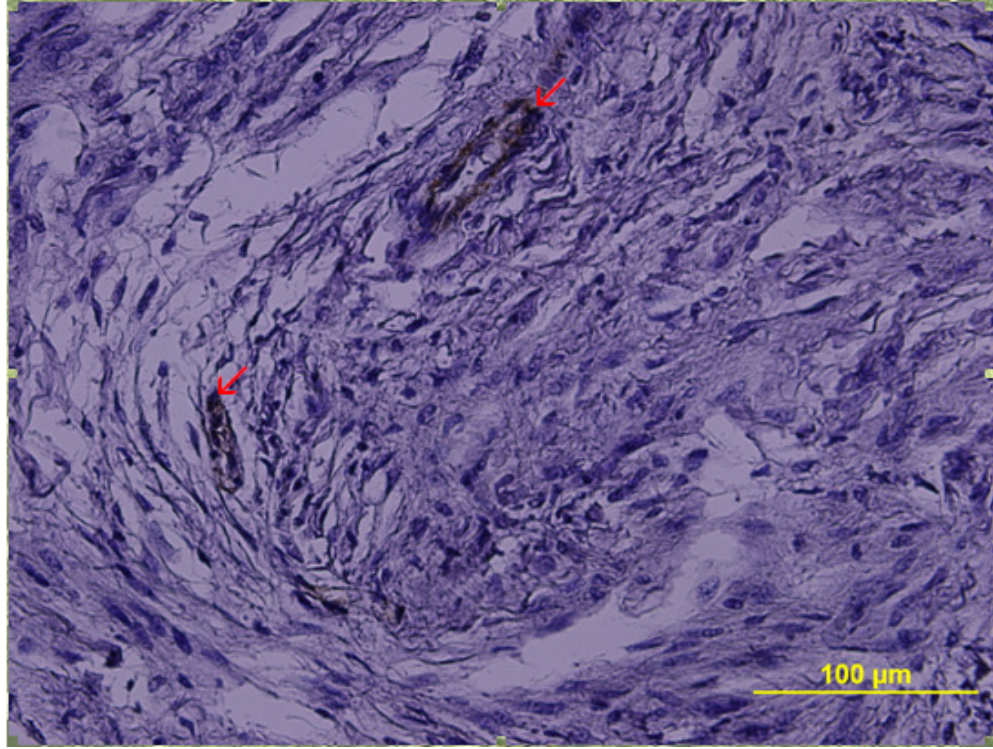
Şekil 4.3: Yoğun nestin ekspresyonu gösteren glioblastoma grubuna ait immuno-histokimya boyaması. Bazı hücrelerin sitoplazmasındaki nestin ekspresyonu (→) ve bazı hücrelerde de hem sitoplazmasında hemde nükleusunda nestin ekspresyonu(→) (X40).



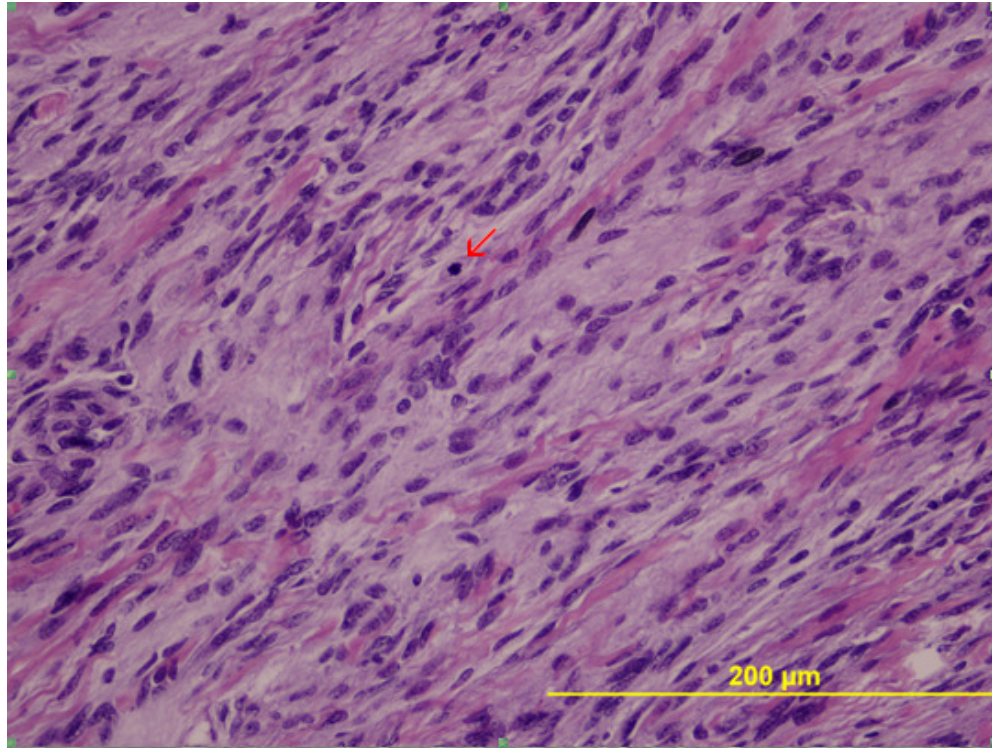
Şekil 4.4: Menenjiyom grade I normal ışık mikroskopik görünümü. Oval çekirdekli tümör hücreleri (→)(X40, HE).



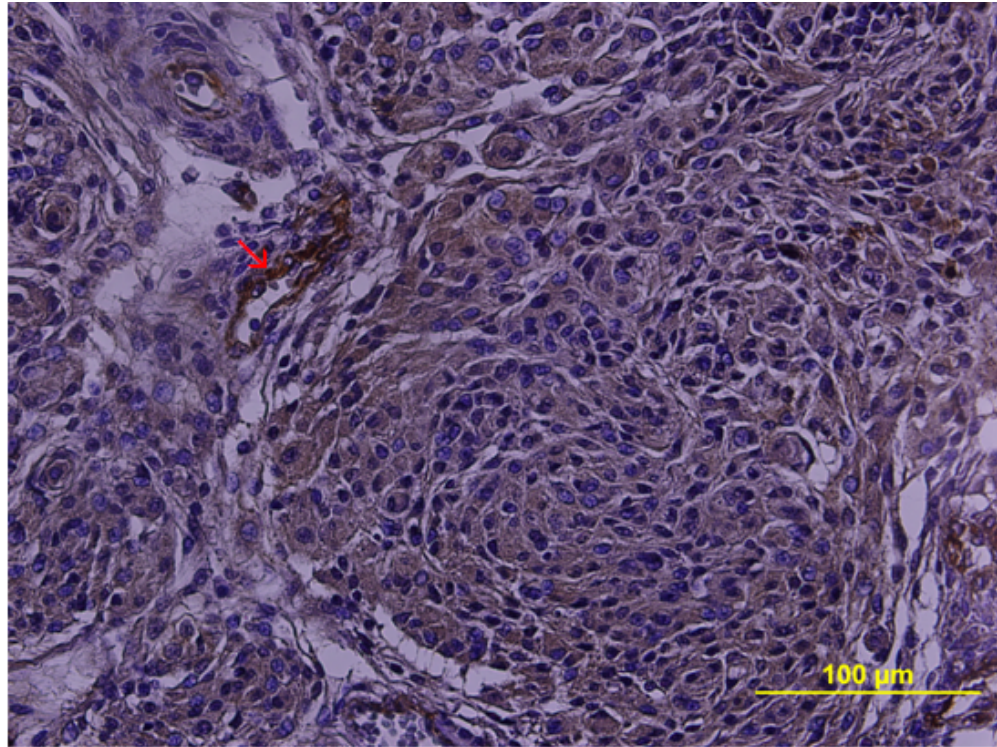
Şekil 4.5: Menenjiyom grade I grubunda tümör hücrelerinin zayıf nestin ekspresyonu (x40).



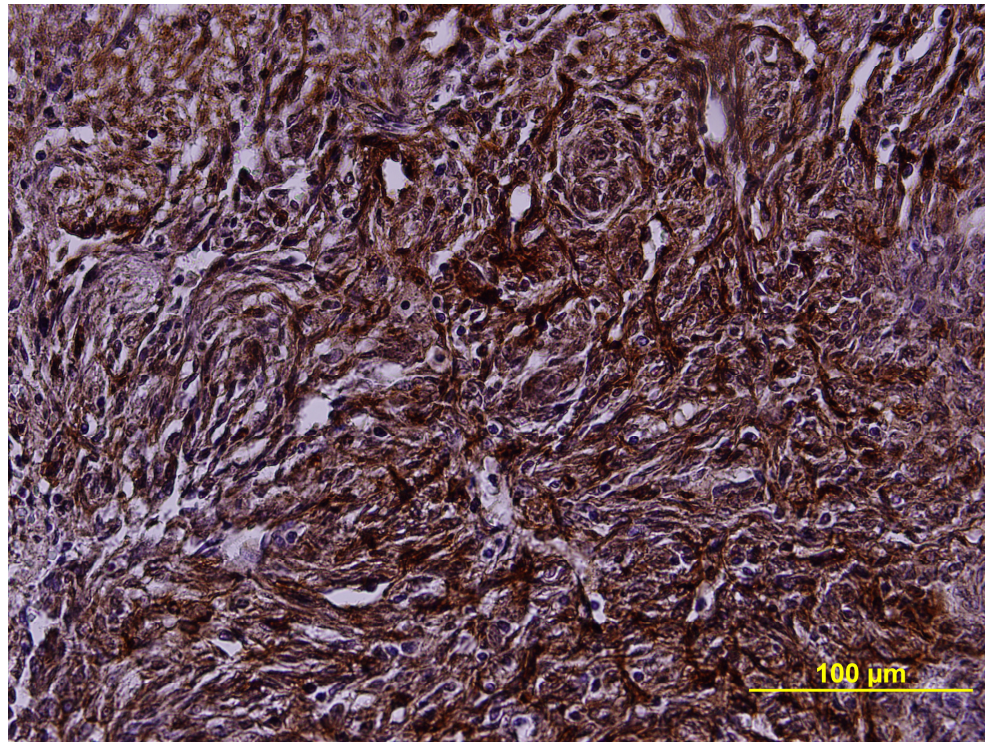
Şekil 4.6: Menenjiyom grade I grubunda kapiller endotelinde pozitif (→) ancak tümör hücrelerinde negatif nestin ekspresyonu (X40).



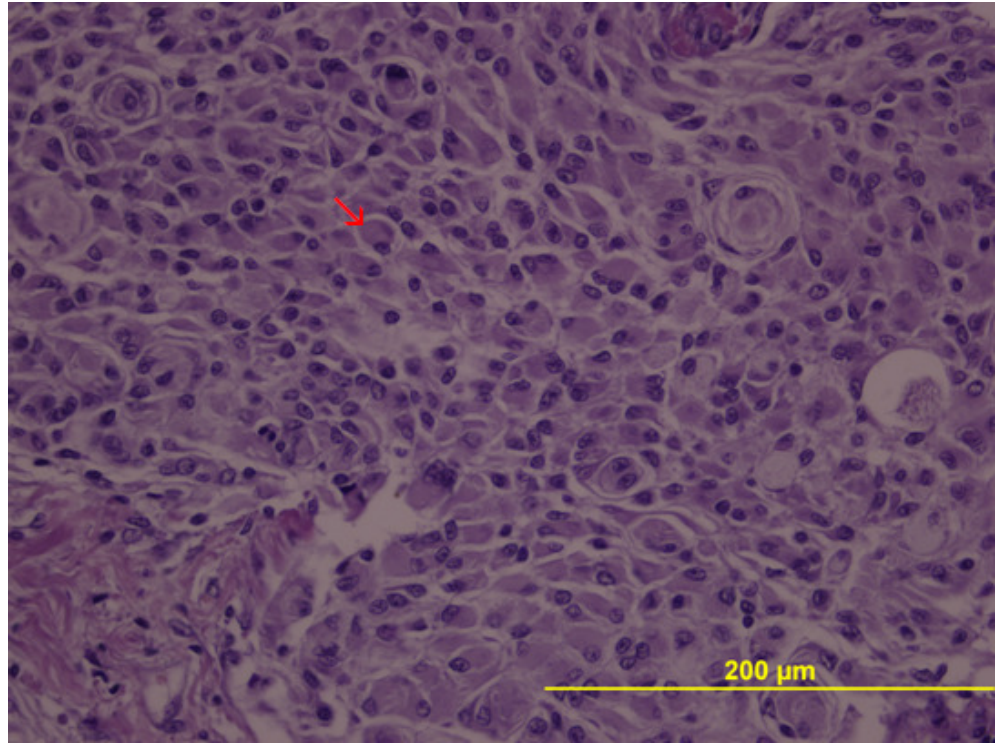
Şekil 4.7: Atipik menenjiyom (grade II) normal ışık mikroskopik görünümü. Mitotik aktivite gösteren tümör hücresi (→) (X40, HE).



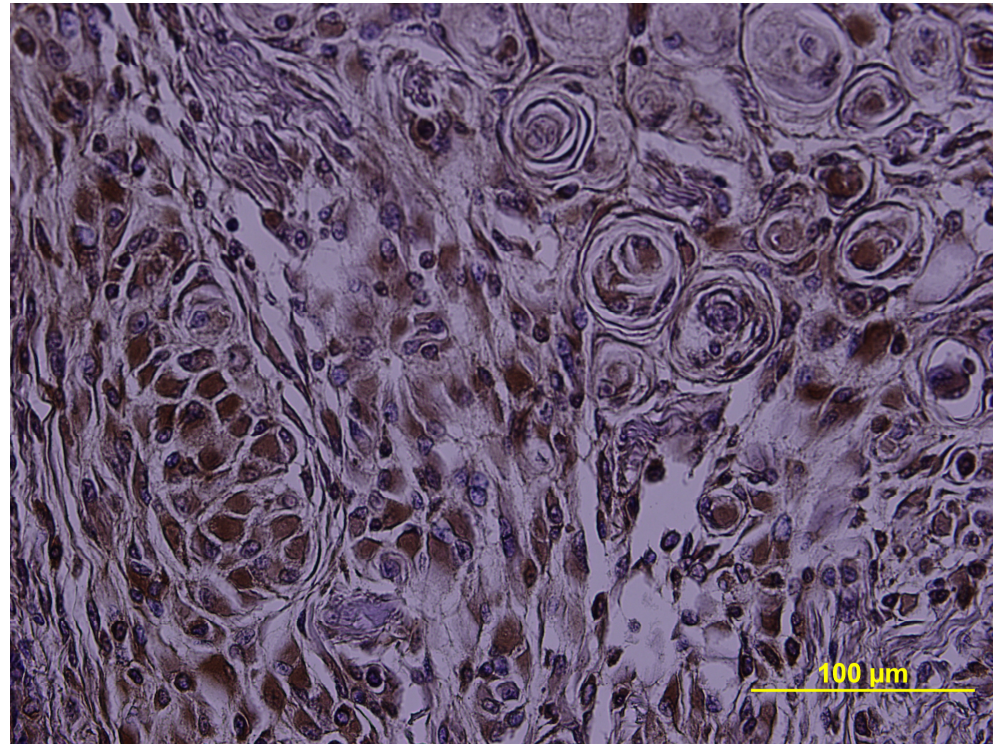
Şekil 4.8: Menenjiyom grade II grubunda kapillerlerde kuvvetli (→), tümör hücrelerinde orta yoğunlukta boyanmış nestin ekspresyonu (X40).



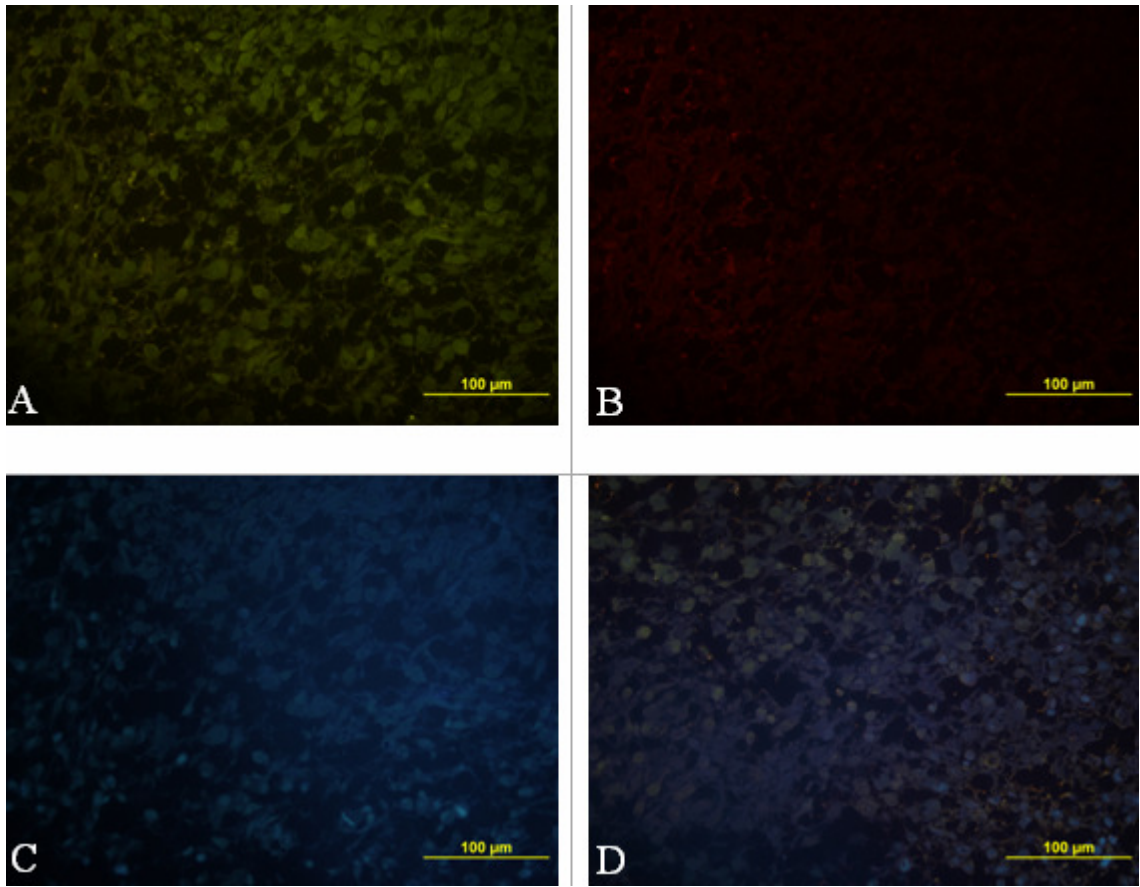
Şekil 4.9: Menenjiyom grade II grubunda tümör hücrelerinin yoğun nestin ekspresyonu (X40)



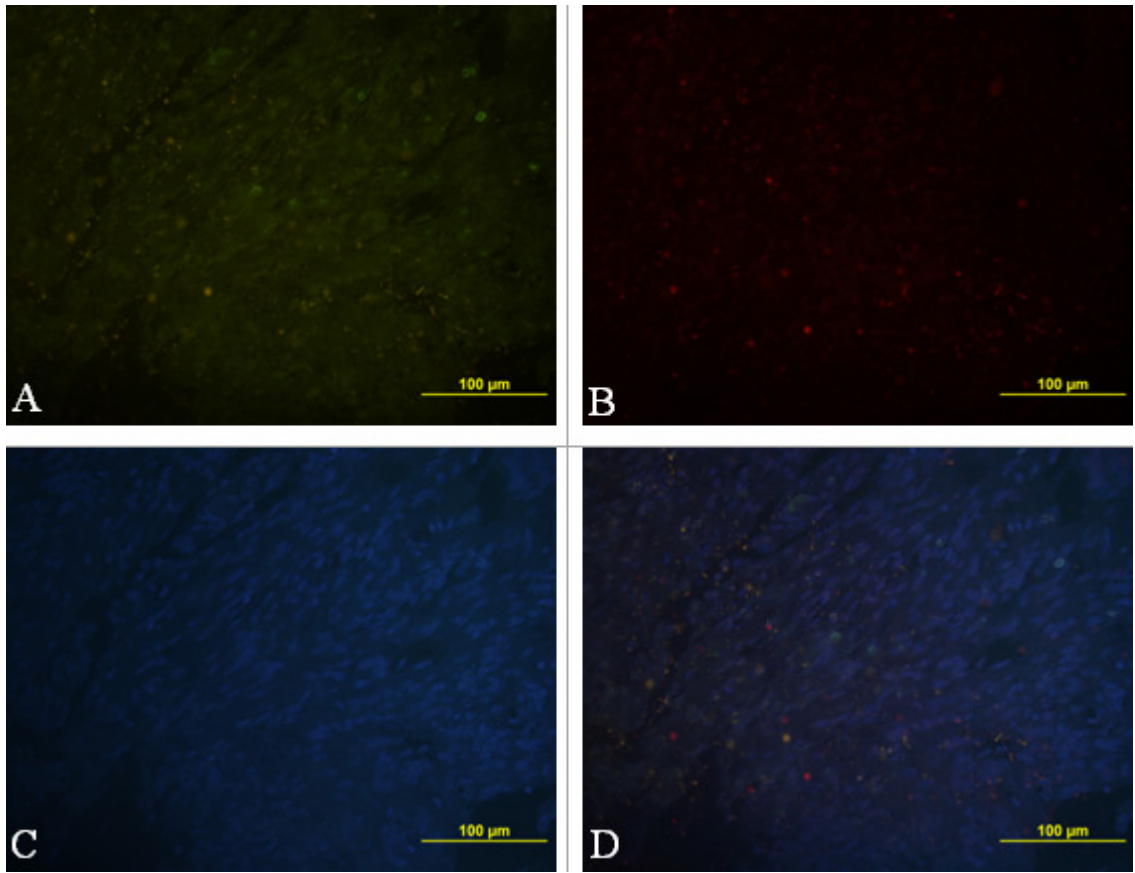
Şekil 4.10: Menenjiyom grade III grubu normal ışık mikroskopik görünümü. Geniş amfofilik sitoplazmalı ve ekzantrik nükleuslu rabdoid hücreler (→) (X40, HE).



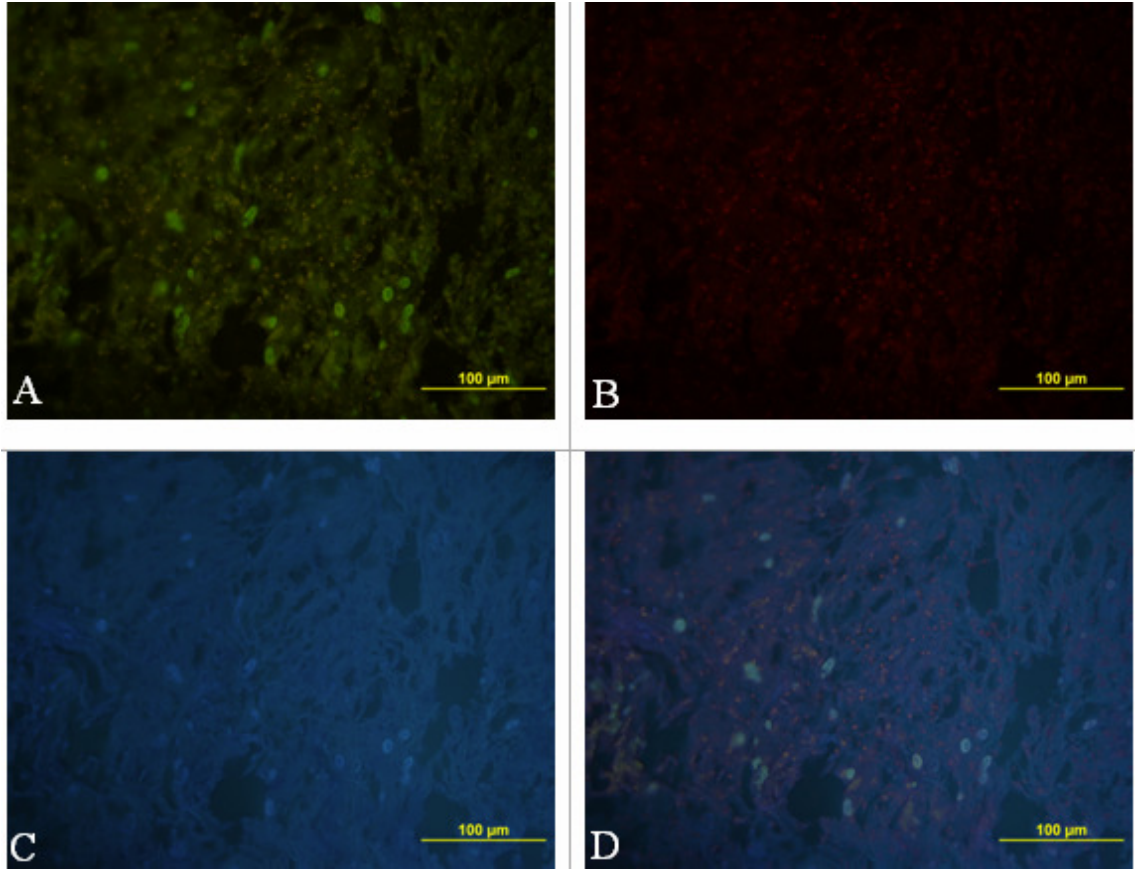
Şekil 4.11: Menenjiyom grade III grubuna ait yoğun nestin ekspresyonu gösteren tümör hücreleri (X40)



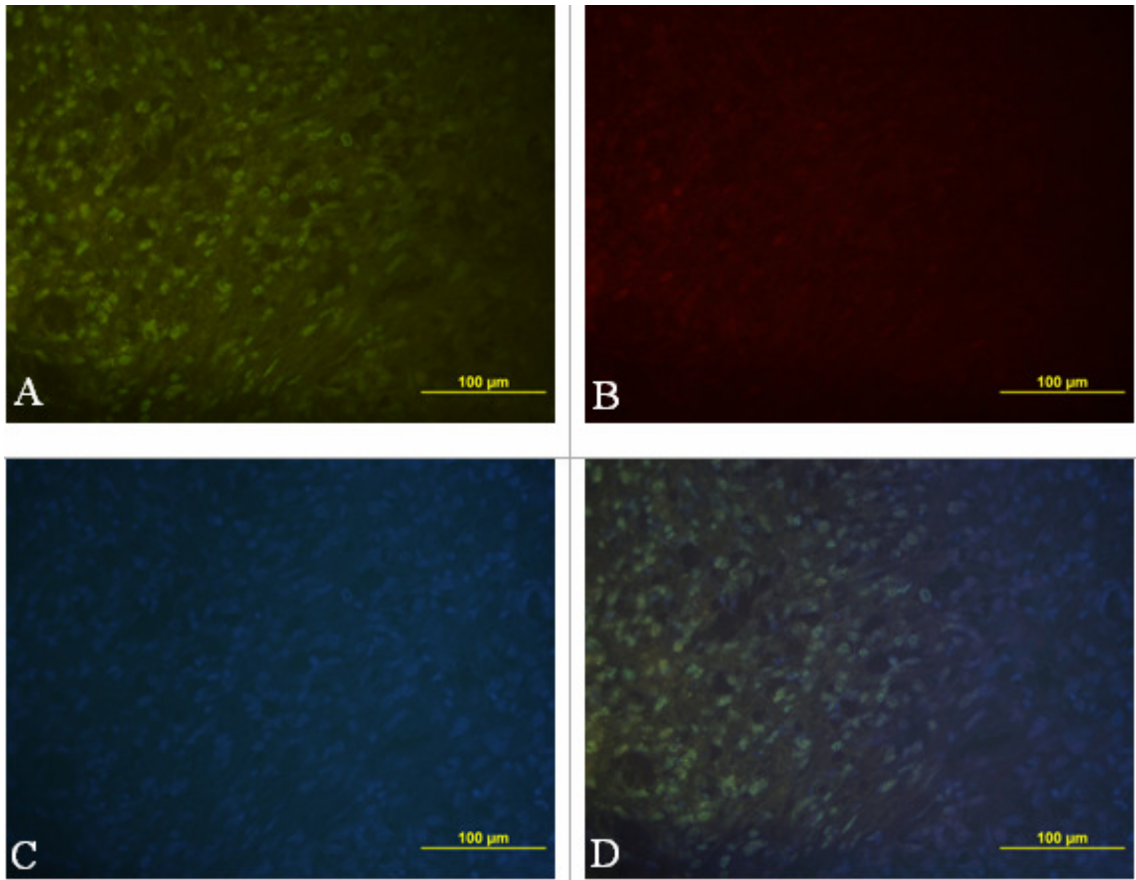
Şekil 4.12: A) Glioblastoma grubuna ait tümör hücrelerinde nestin ekspresyonunun immunofluoresan görüntüsü, B) Aynı alandaki tümör bölgesinde von willebrand faktör ekspresyonu, C) Hoecht boyası ile boyanmış bütün alandaki hücre çekirdeklerinin immunofluoresan yansıması, D) Üç ayrı filtredeki görüntülerin çakıştırılmış şekli (X40).



Şekil 4.13: A) Menenjiyom grade I grubuna ait zayıf boyanmış nestin ekspresyonuna sahip tümör hücrelerinin immunofluoresan görüntüsü, B) Aynı alandaki tümör bölgesinde von willebrand faktör ekspresyonu, C) Hoecht boyası ile boyanmış bütün alandaki hücre çekirdeklerinin immunofluoresan yansıması, D) Üç ayrı filtredeki görüntülerin çakıştırılmış şekli (X40).



Şekil 4.14: A) Menenjiyom grade II grubunda orta derecede boyanmış nestin ekspresyonuna sahip tümör hücrelerinin immunofluoresan görüntüsü, B) Aynı alandaki tümör bölgesinde von willebrand faktör ekspresyonu, C) Hoecht boyası ile boyanmış bütün alandaki hücre çekirdeklerinin immunofluoresan yansıması, D) Üç ayrı filtredeki görüntülerin çakıştırılmış şekli (X40).



Şekil 4.15: A) Menenjiyom grade III grubunda yoğun nestin ekspresyonu gösteren tümör alanının immunofluoresan görüntüsü, B) Aynı alandaki tümör bölgesinde von willebrand faktör ekspresyonu, C) Hoecht boyası ile boyanmış bütün alandaki hücre çekirdeklerinin immunofluoresan yansıması, D) Üç ayrı filtredeki görüntülerin çakıştırılmış şekli (X40).

5. TARTIŞMA

Beyin tümörleri, tüm hastalıklar içinde en dramatik prognoza sahip hastalık grubudur. Primer beyin tümörleri çocukluk çağının en sık rastlanan ikinci malignitesi olup, erişkinlerde en sık rastlanılan altıncı malignite olarak karşımıza çıkmaktadır. Amerika Birleşik devletleri'nde tüm kansere bağlı ölümlerin ise % 2'si primer beyin tümörlerinden kaynaklanmaktadır (4). Türkiyede 16 merkezde yapılan bir çalışmaya göre, beyin tümörleri tüm kanser olguları içinde, erkek kanser hastalarının % 2.9'unu, kadın kanser hastalarının %2.6'sını oluşturmaktadır. Türkiye'de beyin tümörleri, sıklık sırasına göre ilk 10'a giren kanserler arasında olup; kadınlarda 9, erkeklerde 10. sırayı almaktadır (68). Primer merkezi sinir sistemi tümörleri, histolojik olarak bazıları iyi huylu olsalar bile hayati bölgelere bası yaparak ölüm nedeni olabilmektedirler.

Glioblastoma multiforme (GBM) primer merkezi sinir sistemi tümörleri içinde en öldürücü olan ve en az kontrol edilebilen tümörlerdendir. Erkeklerde daha sık görülür. E/K oranı 1,6'dır ve her yaşta görülebilirler. İnsidensi artış gösteren fatal seyirli bir hastalık olarak, tüm modern tedavi yöntemlerine karşın ortalama beklenen yaşam süresi 1 yıl civarındadır. En uygun tedavi koşullarında bu süre iki yıla uzatılabilmektedir (69).

Meninkslerin tümörleri menenjiyomlar olarak bilinir. Menenjiyomlar, araknoidi kuşatan meningotelyal hücrelerden kaynaklanırlar. Bununla uyumlu olarak lezyonların çoğu beyin parankimi dışında oluşur (7). Menenjiyom araknoidal cap hücrelerinden köken alan, genellikle yavaş büyüyen, büyük kısmı benign olan, ekstraaksiyel yerleşimli neoplazilerdir. Tüm primer beyin tümörlerinin % 15-20'sini oluşturur. Bu tümörler benign (grade I), atipik (grade II), anaplastik (malign, grade III) olarak üç gruba

ayrılmışlardır. Biyolojik davranışlarını önceden bilmenin her zaman mümkün olmadığı, genelde durada bulunan ve benign kabul edilen tümörlerdir (39).

Tümörün agresivitesini tespit etmede faydalı belirgin kriterler mevcuttur. Tümör hücresinin nükleus özellikleri, mitotik ve proliferatif aktivitesi, nekroz ve mikrovasküler proliferasyon varlığı ve tümör hücrelerinin yayılım paterni en önemli prognostik belirleyicilerdir (35). Son yıllardaki çalışmalar, klinik ve radyolojik özelliklerden çok moleküler genetik ve moleküler biyoloji üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu çalışmada, beyin tümörlerinin önemli bir bölümünü oluşturması, büyük çoğunluğu benign olmasına karşın biyolojik davranışını önceden bilmenin her zaman mümkün olmadığı, olası nüks potansiyeli nedeniyle önem kazanan farklı gradelerdeki menenjiyomlarda nestin ekspresyonunun immunohistokimyasal ve immunofluoresan olarak belirlenmesi ve kuvvetli nestin ekspresyonu gösterdiği bilinen glioblastoma tümör hücrelerindeki boyanma yoğunluğu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Ara filament proteinlerinin dinamik yapılarının mitoz, farklılaşma ve farklı patolojik olaylar gibi çeşitli durumlarda hücre içi organizasyonlarının değişme mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır (11). 1985 yılında tanımlanan nestin (70), çoğunlukla embriyonik ve fetal süreç boyunca dokularda bulunabilen ancak erişkin dokularda bulunmayan progenitor hücreler için bir belirteçdir. İnsan dokusu ve deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar, MSS gelişiminde özellikle de nöroepitelyal kök hücreler ve gliomalarda nestinin güçlü ekspresyonunu göstermiştir (9,10). Nestin ve vimentin gibi ara filament proteinleri sitoplazmik transporta iştirak yoluyla hücre bölünmesi, proliferasyon ve migrasyonda önemli rol oynar. Nestinin fonksiyonu hakkında çok az şey bilinmesine rağmen hücre çoğalması, hayatta kalma ve farklılaşmayı düzenleyen önemli hücresel faktörlerin dağılımı ve organizasyonunda görev aldığı düşünülür (71,72). Ayrıca nestinin kinaz aktivitesini düzenleyen bir yapı proteini olarak hareket ettiği de gösterilmiştir. Dolayısıyla nestin canlılığı belirleyici sinyal moleküllerinin potansiyel bir organizatörüdür (72).

Nestin gelişim süreci boyunca çeşitli embriyonik ve fetal dokularda çoğalan hücrelerdeki ekspresyonunun yanı sıra aynı zamanda yeni oluşan vasküler endotelial hücreler (73-75), iskelet kası prokürsör hücreleri (76), kıl folikülü prokürsör hücreleri (77) ve karaciğer hücreleri (78) gibi bazı kök/progenitor hücre popülasyonlarında da eksprese edilir. Nestin gelişen MSS ve embriyonik dönemde kemirgenlerin somitlerinde

çokça üretilen bir ara filamenttir (79,80). Gelişen fare embriyolarının beyinlerinde nestin ekspresyonu yüksektir, 15. günde pik yapar ve ilerleyen büyüme ile azalır (80). Nestin normal erişkin beyinde az bulunmuş fakat endotel hücrelerinde oldukça belirgin olup beyin tümörlerinde anjiojenik endotelial hücrelerinde ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (81,82). Son çalışmalarda, nestinin hem kültüre edilen hem de insan nöroepitelyal tümörlerinin büyüyen endotel hücrelerinde güçlü bir ekspresyon sergilediği gösterilmiştir (83). Bu durum nestinin hızlı büyüme sırasında endotel hücreleri için potansiyel bir belirteç olduğunu gösterir (84-86). Nestin ekspresyonunun endotelde belirlenmesi, yeni şekillenen insan kan damarlarında nestinin aktive edici özellikte olabileceğini gösterir (86,87).

İnsan embriyosunda vimentin ve nestin ekspresyonu gebeliğin 6-11. haftalarında spinal kordun radial glial hücreleri ve primitif nöroepitelyal hücrelerinde sınırlı iken gebeliğin 17-20. haftalarında telensefalon duvarının germinal matriksi ve ependiminde sınırlı kalmıştır (81). MSS gelişiminde, ara filamentlerin sıralı tekrar oluşum sürecinin gerçekleştiği bilinmektedir. Embriyonik gelişimin nörolasyon aşamasında multipotensiyel nöroepitelyal kök hücreler geçici olarak nestin eksprese ederler (88). Farklılaşma sırasında normal dokularda nestin, kas dokularında desmin, nöronlarda nörofilamanlar, astrositlerde ise GFAP gibi dokuya özgü diğer ara filamentler ile yer değiştirir. Nestin astrosit ve nöronlardaki multipotent kök hücrelerin son farklılaşma aşaması sürecinde GFAP ekspresyonunun başlamasına paralel olarak azalır. İlginç olan nestin ekspresyonunun tamamen farklılaşmış bir organizmada, MSS hasarından sonra glial skar dokunun şekillenmesi ve hasar görmüş kas dokusunun yenilenmesi gibi patolojik durumlarda erişkinde yeniden indüklenmesidir (11).

Sıçan embriyolarının ve insanların gelişen MSS'lerinde nöroepitelyal kök/progenitor hücrelerinde vimentin ve GFAP ile birlikte bulunan nestin (79), insan gelişiminde gelişen optik sinirler (89) ve spinal ganglionlarda (90) gösterilmiştir. Nestin ekspresyonu böylesi hücrelerde gelişimin geç evrelerinde ve olgun hücrelerde dereceli olarak azalır ve farklılaşma sonucunda gözden kaybolur (89). Nestin mRNA'sının, gelişen sıçan embriyoları ve erişkin sıçanların beyinde de yüksek derecede eksprese olduğu bildirilmiştir (79). Nestin aynı zamanda insan gliomaları, glioblastomalar, hemangioblastomalar ve hemangiomaların tümör dokularında da yoğun ekspresyonu gösterilmiştir (82). İlave olarak nestin sadece immatür nöroepitelyal ve glioma

hücrelerinde değil, aynı zamanda aktif proliferasyon süresince endotel hücrelerinde de bulunmuştur (83).

Son çalışmalar kanserin kök hücrelerin çoğuna benzer özelliklere sahip olan bir kanser kök hücresinden üreyebileceğini ileri sürmektedir. Tümörün başlangıç sürecinde belirli dokuların hücreleri çoğu dokunun kök/progenitör hücrelerinin protein profillerini gösterir. Nöral kök/progenitör hücrelerin önemli bir belirteci olmasına rağmen nestin son zamanlarda glioma, ependimom, melanom, rhabdomyosarkom, GIST, testiküler stromal tümör ve adenokortikal tümörler (91-94) gibi çeşitli tümörlerde de ekspresyonu gösterilmiştir. Dahlstrand ve ark. (82) yaptıkları çalışmada, 15 glioblastoma vakasında nestin ekspresyonuna bakmışlar ve glioblastomaların az malign gliomalara göre daha yoğun nestin ekspresyonu sergilediklerini göstermişlerdir. Glioblastoma grubunda hem endotel hücrelerinde hem de tümör hücrelerinde belirgin nestin ekspresyonu belirlemişlerdir. Çalışmada, endotelyal hücrelerdeki nestin ekspresyonunun hücrel proliferasyon dereceleri ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda, glioblastoma grubuna ait alınan kesitlerdeki bütün tümör hücrelerinde, literatürdeki verilere benzer şekilde yoğun nestin ekspresyonu gözlemlendi. Nestin çoğunlukla tümör hücrelerinin sitoplazmasında eksprese olurken bazı tümör hücrelerinin çekirdeğinde de nestin ekspresyonu vardı.

Gelişen meninksler ile normal erişkin meninkslerde ve sadece meningotelyal grade I menenjiyomlarda nestin ekspresyonuna bakılan bir çalışmada (15), nestin ekspresyonunun gelişim süresince immatür hücreler için bir belirteç olarak meninkslerde eksprese olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, normal gelişim sürecindeki meningeal hücreler kadar primer olarak kapiller endotelinde olmak üzere menenjiyom grade I tümör hücrelerinde de görüldüğü belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda, Grade I menenjiyomlarda primer olarak kan damarlarının endotel hücrelerinde olmak üzere kan damarlarından bağımsız tümör hücreleri de zayıf nestin ekspresyonu gösterdi. Menenjiyom grade I grubunda nestin ekspresyonu çoğunlukla tümör hücrelerinin sitoplazmasında mevcuttu. Nestinin zayıf ve orta derecedeki ekspresyonu çoğu tümör bölgesinde mevcuttu. Ancak bazı gruplarda nestin ekspresyonu sadece kapiller endotelinde görülürken tümör hücreleri negatif boyanma gösterdi.

Nestin aynı zamanda tümörlerin malign derecelerinin diagnostik ve prognostik bir indikatörü de olabilir. Örneğin bazı çalışmalar, yüksek malign gliomalarda nestin

ekspresyonunun kuvvetli olduğunu göstermiştir. Ayrıca, farklı malign gliomalarda nestin ekspresyonunun histoskorlanması istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir (95,96). Nestin ekspresyonu melanomun tümör dokularında da gözlemlenirken benign melanosit tipteki farklılaşan melanositlerde görülmedi (95). Bu çalışmalara bağlı olarak, nestinin tümör malignitelerinin bir indikatörü olabileceği ileri sürülmüştür. Dahası nestinin bu şekilde malign tümörlerdeki ekspresyon yoğunluğu, kanser dereceleri ile ilişkisinde önemli olduğunu düşündürür (95,96).

Ehrmann (95) sinir sistemi tümörleri arasında glioma ve ependimomada nestin ekspresyonunun tümörlerin maligniteleri ile pozitif şekilde ilişkili olabileceğini göstermiştir. Klein ve ark. (97) ara filament proteinlerinin, MSS'nin primitif nöroektodermal tümörlerinin ve metastatik melanomun yüksek proliferatif ve migrasyonel aktivitesi ile ilişkisini göstermiş; nestinin proliferasyon ve anjiosarkoma hücrelerinin invazyonuna katkıda bulunabileceğini ileri sürmüştür ve nestin ekspresyonunun yüksek gradeli anjiosarkomalarda düşük gradeli anjiosarkomalara göre çok daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Prakash ve ark. (98) çalışmalarında, gliomada nestin ekspresyonu ve histolojik gradelerin korelasyonunda kaydadeğer bir sonuç olmasına rağmen, mevcut sonuçlara göre glioblastoma hastalarında nestin ekspresyonunun teşhis üzerine etkili olmadığını savunmuşlardır. Yang ve arkadaşları (13), farklı tümörlerdeki nestin ekspresyonunun immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmesi ve nestin ekspresyonu ile malignite dereceleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi için yaptıkları çalışmalarında, farklı malign derecelerdeki GIST, anjiosarkom, pankreatik adenokarsinom ve kavernoöz anjiosarkom tümör dokularında nestin ekspresyonunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, nestin ekspresyonu hem düşük hem de yüksek dereceli farklılaşan GIST'lerde belirlenmiştir. Bu grupta nestin ekspresyonunun yüksek grade'li gruptaki tümör hücrelerinde, düşük grade'li gruba göre daha yoğun olduğu gösterilmiştir. Anjiosarkoma malign vasküler endotelial bir tümördür. Böylesi vasküler endotelial hücreler tam olmayan bir şekilde farklılaşma sürecindedirler. Çalışmada, nestin ekspresyonu malign anjiosarkomlarda immunohistokimyasal olarak değerlendirilmiş ve çoğu tümör bölgesinde nestinin yoğun ekspresyonu gözlenirken daha düşük gradeli anjiosarkomlarda nestinin orta dereceli ve dağınık ekspresyonu belirtilmiştir. Kavernoöz anjiomada, nestin sadece yeni oluşan damar endotel hücrelerinde ekspresyon gösterirken tümör hücrelerinde nestin ekspresyonu negatif olduğu ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada, pankreatik

adenokarsinomalarda nestin ekspresyonunun pozitif olduğu, ancak farklı malign dereceleri ile karşılaştırıldığında ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir (13).

Nestin yeni oluşan vasküler endotelial hücreler ve anjiosarkoma hücrelerindeki ekspresyonuna bağlı olarak bazı anjiosarkoma hücrelerinin endotelial prokürsör hücreler ile aynı ara filament proteinini paylaştığı düşünülmüştür. Böylece anjiosarkoma hücreleri normal vasküler endotelial progenitör hücreler ile bazı benzer özellikler sergilediği ve nestin olgun ara filament proteinleri ile yer değiştirmedeği düşünülmüştür. Kavernous anjioma grubunda ise vasküler endotelial hücrelerin tamamen farklılaşma aşamasında olmasından dolayı nestin eksprese ettiği ancak bu gruba ait olan hücrelerde nestin matür ara filament proteinleri ile yer değiştirmesinden dolayı nestin eksprese etmediklerini ileri sürmüşlerdir (97,99). Buna benzer şekilde, nestin ekspresyonunun farklı tümör dokularındaki malign dereceleri ile ilişkisi çalışılmış ancak farklı gradelerdeki menenjiyomlarda nestin ekspresyon yoğunluğunu karşılaştıran bir çalışma yapılmamıştır.

Çalışmamızda, grade I menenjiyom grubundaki nestin ekspresyonu, glioblastoma grubuna ait tümör hücrelerinin yoğun nestin ekspresyonuna oranla daha zayıftı ve grade I menenjiyom grubunda nestin eksprese etmeyen negatif alanlarda vardı. Glioblastoma grubu ile menenjiyom grade I grubu arasında nestin ekspresyon yoğunluğu açısından anlamlı bir farklılık vardı.

Menenjiyom grade II grubunda nestin ekspresyonu genellikle orta ve yoğun boyanmalar şeklindeydi. Zayıf ekspresyon alanları ise sınırlı tümör alanlarında lokalize olmuşken aynı tümör dokusuna ait farklı tümör alanlarında nestin ekspresyonu negatifti. Bu grupta hiç boyanma göstermeyen preparat yoktu. Bütün preparatlarda az da olsa nestin pozitif boyanma gösterdi. Ancak dokularda farklı tümör alanlarında negatif bölgeler de vardı.

Menenjiyom grade III grubunda ise, bazı örneklerde glioblastoma grubundaki nestin ekspresyonu kadar yoğun boyanmış tümör alanları gözlemlendi ancak hiç nestin ekspresyonu göstermeyen doku örnekleri de vardı. Bu gruplarda nestin ekspresyonu genellikle kapiller endotelinde vardı ancak tümör hücreleri negatifti.

Çalışmada, menenjiyom grade II ve grade III gruplarında menenjiyom grade I grubuna göre daha yoğun nestin ekspresyonu gözlemlendi. Ancak, menenjiyom grade III grubunda iki hastaya ait kesitlerde nestin ekspresyonunun gözlenmemesi bu gruptaki ekspresyon

yoğunluğunun ortalamasında düşüşe neden olmuştur. Menenjiyom grade III grubunda, tümörler histopatolojik olarak aynı olmasına karşın farklı proliferatif özelliğe sahip olabileceğinden ve nestinin belki de diğer ara filamentler ile yer değiştirdiğinden dolayı bazı preparatlarda negatif boyanması muhtemeldir. Sonuçta menenjiyom grade II ve grade III'deki nestin ekspresyon yoğunluğunun, menenjiyom grade I'e göre anlamlı derecede arttığı görülmektedir. Farklı çalışmalarda (82,91), nestin ekspresyonunun glioblastoma tanısının konulmasında bir belirteç olarak kullanılabileceğini gösterilmiştir. Benzer şekilde elde ettiğimiz sonuçlara göre, menenjiyom tanısında nestin ekspresyonundan yararlanılabileceği ve menenjiyom grade I'e göre menenjiyom grade II ve grade III'deki nestin ekspresyon yoğunluğundaki artışın grade'lemelerde de katkı sağlayabileceği düşüncesini taşımaktayız.

Çalışmada, grade dereceleri ile ortalama boyanma değerleri arasında orta güçte anlamlı bir ilişki gözlemlendi. Ancak nestinin farklı malign derece gösteren tümör hücrelerindeki olası rolünün ne olduğu, diğer tümör hücrelerinin malign çoğalması ile ilişkili olarak ara filamentlerin bir tipi olan nestinin nasıl fonksiyon gösterdiği ve nestin eksprese eden bazı tümör hücrelerinde nestin ekspresyon eksikliğine neyin ya da nelerin neden olduğu gibi sorulara ışık tutması amacıyla ilave çalışmalara gerek duyulmaktadır. Çok sayıda tümör dokusu üzerinde yapılan çalışmalarda, MSS tümörlerinin klinik teşhisinde nestin GFAP ve nörofilamentler gibi diğer ara filamentler sınıfına katılmak için bir potansiyel oluşturmaktadır. İlerleyen çalışmalarda, nestin proteininin yanı sıra tümör kök hücreler için kullanılan daha spesifik belirteçler kapsamında çalışıldığında daha bilgi verici sonuçlar elde edilebilir.

6. KAYNAKLAR

1. Youmans H, Richard Winn. Neurological Surgery. Philadelphia, W.B. Saunders company. 2003; 969.
2. Greenlee RT, Murray T, Bolden S. Cancer statistics. CA Cancer J Clin 2000; 50: 7-33.
3. Cancer Facts and figures, American Cancer Society, Surveillance Research, Atlanta (2002).
4. CBTRUS (Central Brain Tumor Registry of the United States) 2002-2003 Report on Primary Brain Tumors in the United States. Central Brain Tumor Registry of the United States, Chicago, 2003.
5. Lindsay, Bone, Callender. Resimli açıklamaları ile Nöroloji ve Nöroşirürji (3.ed) çeviri editörü: Doç. Dr. Mustafa Bozbuğa. Nobel Tıp Kitabevi, 1997: 306-317.
6. Cooper J, Kiehart D. Septins may form a ubiquitous family of cytoskeletal filaments. J. C. Biol 1996; 134:1345–1348.
7. Kumar Cotran Robins. Basic Pathology (6. ed). Çeviri editörü: Prof. Dr.Uğur Çevikbaş 2000: 731-735.
8. Sarria AJ. , Sankhavaram R. P. and Evans R. M. A functional role of vimentin intermediate filaments in metabolism of lipoprotein derived cholesterol in human SW13 cells. J. Biol. Chem 1992; 267: 19455–63.
9. Morky J and Nemecek S. Angiogenesis of extra- and intra-embryonic blood vessel is associated with expression of nestin in endothelial cells. Folia Biologica 1998; 44: 155–161.

10. Barbareschi M, Pecciarini L, Cengi MG, macri E, Riyyo A, Viale G, Daglioni C
p 63, ap53 homologue, is a selective nuclear marker of myoepithelial cells of the
human breast. *Am J Surg Pathol* 2000; 25: 1054-1060.
11. Vaittinen S, Lukka R, Sahlgren C, Rontonen J, Hurme T, Lendahl U, Eriksson J
E and Kalimo H. Specific and innervation-regulated expression of the
intermediate filament protein nestin at neuromuscular and myotendinous
junctions in skeletal muscle. *Am J Pathol* 1999; 154: 591-600.
12. Inogaki M, Matsuoka Y, Tsujimura K, Ando S, Tokui T, Takahoshi T and
Inagaki N. Dynamic property of intermediate filaments: regulation of
phosphorylation. *Bio Essays* 1996; 18: 481-487
13. Yang X H, O L Wu, X B Yu, C X Yu, B F Ma, X M Zang, S N Li, B T Lahn, A
P Xiang. Nestin expression in different tumours and its relevance to malignant
grade. *J Clin Pathol* 2008; 61: 467-473.
14. Toti P, Regoli M, Nesi G, et al. Nestin expression in normal adrenal gland and
adrenocortical tumors. *Histol Histopathol* 2005; 20: 1115–20.
15. Petricevic j, Forempoher G, Ostojic L, Mardesic-Brakus. Andjelinovic S.
Expression of nestin, mesothelin and epithelial membrane antigen (EMA) in
developing and adult human meninges and maningiomas. In Press, *Acta
Histochemica* 2010 Oct 11.
16. Sadler TW. Langman's Medical Embryology. Çeviri editörü: A.C. Başaklar
Langman Medikal Embriyoloji. Palme Yayıncılık, Ankara, 2005: 423-470.
17. Donkelaar HJT, Lammens M, Hori A. Clinical Neuroembryology-Development
and Development Disorders of the Human Central Nervous System. Springer
Science 2006: 1-14
18. Temel Histoloji: Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: Sinir Dokusu ve Sinir
Sistemi. Temel Histoloji (8. ed). Barış Kitabevi, İstanbul, 1998: 152-180.
19. O'Rahilly R, Müller F. The meninges in human development. *J Neu- ropathol
Exp Neurol* 1986; 45: 588–608.
20. Williams P.L, Warnick R, Dyson M, Bannister L, Gray's anatomy, (37ed).
Churcill Livingstore, London and Newyork, 1989: 178-179.
21. Moore KL, Persaud TVN. Before We Are Born: Essentials of Embryology and
Birth Defects Saunders (8. Ed). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 37-61.

22. Gartner LP, Hiatt JL. Color Atlas of Histology (2nd ed). Pennsylvania. WB Saunders Company, 2001: 183-217.
23. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji (10. ed) Sinir Dokusu ve Sinir Sistemi. Çeviri editörleri: Aytekin Y, Solakoğlu S. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2006: 161-189.
24. Kierszenbaum LA. Histology and Cell Biology. Çeviri editörü: Demir R. Palme yayıncılık, Ankara, 2006: 199-225.
25. Snell RS. Klinik Nöroanatomi (1. Baskı) . Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2000: 48-299.
26. Sternberg S S. Central Nervous System. Histology for Pathologists (2.ed). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1997: 243-285.
27. Stevens A, Lowe J. Human Histology (3 ed). CV Mosby, Spain, 2005: 85–107.
28. Ross Mh, Pawlina W, Kaye GI. Histology A Text and Atlas. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2003: 282–324.
29. Michael H.Ross, Lynn J. Romrell Histology A Text and Atlas (2. ed) Baltimore, 1989: 241-283.
30. Özdamar S. Sinir Sistemi ve Duyu Organları. Histoloji-Embriyoloji Ders Notları. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Kayseri, 1997: 24-29.
31. Garcia DM, Fulling KH. Juvenile pilocytic astrocytoma of the cerebrum in adults. A distinctive neoplasm with favorable prognosis. J Neurosurg 1985; 63: 382-386.
32. Katsetos CD, Krishna L. Lobar pilocytic astrocytomas of the cerebral hemispheres: I. Diagnosis and Neurology. Clin Neuropath 1994; 13: 295-305.
33. Levin A, Leibel SA, Gutin PH. Neoplasms of the Central Nervous. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA Cancer Principles and Practice of Oncology (5.ed). Philadelphia, J.B Lippincott-Raven Publishers, 1997:2022-2083.
34. Kleihues P, Cavenee WK. Pathology and genetics of tumours of the nervous systems, World Health Organization Classification of Tumours, IARC Press, Lyon, 2000: 10-19.
35. Ironside CV, Moss TH, Louis DN. Astrocytic Tumours. Diagnostic Pathology of Nervous System Tumours (1nd ed), Churchill-Livingstone, London, 2002: 53-121.
36. Rosai J. Central Nervous System. Surgical Pathology (9. ed). Mosby, 2004: 2503-522.

37. Cushing H, Eisenhardt L. Meningiomas. Their classification, Regional Behaviour, Life History, and surgical End Results. Springfield, 11. Charles C Thomas, 1938
38. Rubinstein LJ. Tumors of the Central Nervous System, Atlas of the Tumor Pathology, fasc 6 2d. Washington, Armed Forces Institute of Pathology, 1972.
39. Perry A, Louis DN, Scheithauer BW, Budka H, Von Deimling A. Meningiomas. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, eds. WHO classification of tumors of the central nervous system(4. ed). Lyon, IARC, 2007: 164-172.
40. Fuchs HE, Tomita T. Pediatric surgery (4th ed). In: McLone DG. Ed. In chief. Neurocutaneous syndromes and meningiomas of childhood. Philadelphia, WB. Saunders, 2001: 771-74.
41. Benesh M, Kleinert R, Spork E, Eder HG, Urban C. Journal of Clinical Oncology. Diagnosis in oncology, pediatric tumors case 2. Anaplastic meningioma in a 3 ½-year-old girl. 2001; 9(1): 274-76.
42. Demirtas E, Ersahin Y, Yilmaz F et al. Pathol Res Pract. Intracranial meningeal tumours in childhood: a clinicopathologic study including MIB-1 immunohistochemistry. 2000; 96(3): 151-8.
43. Tufan K, Dogulu F, Kurt G, Emmez H, Ceviker N, et al. Intracranial meningiomas of childhood and adolescence. Pediatric Neurosurg 2005; 41(1): 1-7.
44. Moradi A, Semnani V, Djam H, Tajodini A, Zali AR, et al. Pathodiagnostic parameters for meningioma grading. J Clin Neurosci 2008; 15(12): 1370-5.
45. Al-Mefty O, Origteno T.C. Principle of neurosurgery. Rengachary, R. Wilkins (ed) Wolfe publishing. Meningiomas in S, 1994; 28: 2-28.
46. Spektor S, Valarezo J, Fliss DM, Gil Z, Cohen J, et al. Olfactory Groove meningiomas from neurosurgical and ear, nose and throat perspectives: approaches techniques and outcomes. Neurosurgery, 2005: 268–280.
47. Greenberg MS. Handbook of neurosurgery (3rd ed). Lakeland, Florida, Greenberg graphics, 1994: 620-23.
48. Benedetto N, Perrini P, Scollato A, Buccoliero AM, Di Lorenzo N. Intracranial meningioma containing metastatic colon carcinoma. Acta Neurochir (Wien) 2007; 149(8): 799-803.

49. Desai R, Bruce J: Meningiomas of the cranial base. *J Neuro Oncol* 1994; 20: 255-279.
50. Altıntaş S. Dünya sağlık örgütü 2007 sınıflamasına göre menengiomaların histopatolojik özellikleri “99 olgu”. Uzmanlık tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı. Hatay 2009: 39.
51. Günes, H.V. Moleküler Hücre Biyolojisi (1. Baskı). Kaan Kitabevi, 2006: 105-137.
52. Pollard, T.D. Earnshaw W.C. *Cell Biology*. Elsevier Science, USA 2002: 557-617.
53. Cooper, G.M, Hausman, R.E. *Hücre Moleküler Yaklaşım* (3rd ed). Çeviri Editörleri: Sakızlı, M., Atabey, N. İzmir Tıp Kitabevi, İzmir, 2006: 435-482.
54. http://www.cytochemistry.net/Cell-biology/intermediate_filaments.htm (24.01.2011)
55. Geisler N. Hatzfeld M. and Weber K. Phosphorylation in vitro of vimentin by protein kinases A and C is restricted to the head domain. Identification of the phosphoserine sites and their influence on filament formation. *Eur. J. Biochem* 1989; 1: 441-447.
56. Dahlstrand J. Zimmerman L. McKay R. and Lendahl U. Characterization of the human nestin gene reveals a close evolutionary relationship to neurofilaments. *J. Cell Sci* 1992; 103: 589- 597.
57. Yang J. Cheng L. Yan Y. Bian W. Tomooka Y. Shiurba R. and Jing N. Mouse nestin cDNA cloning and protein expression in the cytoskeleton of transfected cells. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1520: 251- 254.
58. Michalczyk K, Ziman M. Nestin structure and predicted function in cellular cytoskeletal organisation. *Histol. Histopathol* 2005; 20 (2): 665–71.
59. Teranishi N, Naito Z, Ishiwata T, et al. Identification of neovasculature using nestin in colorectal cancer. *Int. J. Oncol* 2007; 30 (3): 593–603.
60. Terling C, Rass A, Mitsiadis T.A, Fried K, Wroblewski J. Expression of the intermediate filament nestin during rodent tooth development. *Int. J. Dn. Biol* 1995; 39: 947-956.

61. Chen J, Boyle S, Zhao M, Su W, Takahashi K, Davis L, DeCaestecker M, Takahashi T, Breyer D. B, Hao C. Differential Expression of the Intermediate Filament Protein Nestin during Renal Development and Its Localization in Adult Podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1283–1291.
62. Soria B. In-vitro differentiation of pancreatic β cells. *Differentiation* 2001; 68: 205-219.
63. Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, Velasco I, Ravin R. Differentiation of embryonic stem cell to insulin secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 2001; 292: 1389-1393.
64. Zulewski H, Abraham EJ, Gerlach MJ, Daniel PB, Moritz W, Muller B, Vallejo M, Thomas MK, Habener JF. Multipotential nestin-positive isolated from adult pancreatic islets differentiate ex vivo into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes* 2001; 50: 521–533.
65. Huang H, Tang X. Phenotypic determination and characterization of nestin-positive precursors derived from human fetal pancreas. *Lab Invest* 2003; 83: 539–547.
66. Delacour A, Nepote V, Trumpp A, Herrera P. Nestin expression in pancreatic exocrine cell lineages. *Mechanisms of Development* 2004; 121: 3–14.
67. Zhang L, Hong T, Hu J, Liu H, Wu Y, Li L. Nestin-positive progenitor cells isolated from human fetal pancreas have phenotypic markers identical to mesenchymal stem cells. *World J Gastroenterol* 2005;11(19):2906-2911.
68. Karlsson UL, Leibel SA, Wallner K, Davis LW, Brady LW. Primary intracranial Neoplasms. Perez CA, Brady LW. *Principles and Practise of Radiation Oncology*. (3rd ed). Philadelphia, J.B Lippincot Company, 1998: 777-822.
69. Buckner JC. Factors influencing survival in high –grade gliomas. *Semin Oncol Suppl* 2003; 19: 10-4.
70. Hockfield S. and McKay R. Identification of major cell classes in the developing mammalian nervous system. *J. Neurosci* 1985; 5: 3310-3328.
71. Chou YH, Khuon S, Herrmann H, Goldman RD: Nestin promotes the phosphorylation-dependent disassembly of vimentin intermediate filaments during mitosis. *Mol Biol Cell* 2003; 14(4): 1468-1478.

72. Sahlgren CM, Pallari HM, He T, Chou YH, Goldman RD, Eriksson JE: A nestin scaffold links Cdk5/p35 signaling to oxidant-induced cell death. *Embo J* 2006; 25(20): 4808-4819.
73. Shimizu T, Sugawara K, Tosaka M, et al. Nestin expression in vascular malformations: a novel marker for proliferate endothelium. *Neurol Med Chir* 2006; 46: 111–7.
74. Mokry J, Cizkova D, Filip S, et al. Nestin expression by newly formed human blood vessels. *Stem Cells Dev* 2004; 13: 658–64.
75. Amoh Y, Yang M, Li L, et al. Nestin-linked green fluorescent protein transgenic nude mouse for imaging human tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2005; 65: 5352–5357.
76. Sejersen T, Lendahl U. Transient expression of the intermediate of the intermediate filament nestin during skeletal muscle development. *J Cell Sci* 1993; 106: 1291–300.
77. Li L, Mignone J, Yang M, et al. Nestin expression in hair follicle sheath progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 9958–61.
78. Gleiberman AS, Encinas JM, Mignone JL, et al. Expression of nestin green fluorescent protein transgene marks oval cells in the adult liver. *Dev Dyn* 2005; 234: 413–21.
79. Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RD. MSS stem cells express a new class of the intermediate filament protein. *Cell* 1990; 60: 585-595.
80. Dahlstrand J, M. Lardelli, U. Lendahl. Nestin mRNA expression correlates with the central nervous system progenitor cell state in many, but not all, regions of developing central nervous system. *Brain Res. Dev* 1995; 84: 109-129.
81. Tohyama T, Lee VM, Rorke LB, Marvin M, McKay RDG, Trojanowski JQ. Nestin expression in embryonic human neuroepithelium and in human neuroepithelial tumour cells. *Lab Invest* 1992; 66: 303-13.
82. Dahlstrand J, Collins VP, Lendahl U. Expression of the class VI intermediate filament nestin in human central nervous system tumours. *Cancer Res* 1992; 52: 5334-5341.

83. Sugawara K, Kurihara H, Negishi M, Saito N, Nakazato Y, Sasaki T, Takeuchi T. Nestin a marker for proliferative endothelium in gliomas. *Lab Invest* 2002; 82: 345-351.
84. Duggal N, Schmidt-Kastner R, Hakim AM. Nestin expression in reactive astrocytes following focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 1997; 768: 1-9.
85. Eliasson C, Sahlgren C, Berthold CH, Stakeberg J, Celis JE, Betsholds C, Eriksson JE, Pekny M. Intermediate filament protein partnership in astrocytes. *J Biol Chem* 1999; 274: 23996-24006.
86. Pekny M, Johansson CB, Eliasson C, Stakeberg J, Wallen A, Perlmann T, Lendahl U, Bestholtz C, Berthold CH, Frisen J: Abnormal reaction to central nervous system injury in mice lacking glial fibrillary acidic protein and vimentin. *J Cell Biol* 1999; 145: 503-514.
87. Sjöberg G, Jiang W-Q, Ringertz NR, Lendahl U, Sejersen T. Colocalization of nestin and vimentin/desmin in skeletal muscle cells demonstrated by three-dimensional fluorescence digital imaging microscopy. *Exp Cell Res* 1994; 214: 447-458.
88. Frisen J, C. B. Johansson, C. Torok, M. Risling, Lendahl U. Rapid, widespread and longlasting induction of nestin contributes to the generation of glial scar tissue after central nervous system injury. *J. Cell Biol* 1995; 131: 455-464.
89. Bozanic D, Bocina I, Saraga-Babic M. Skeletal proteins and growth factor receptors during development of the human eye. *Anat Embryol (Berl)* 2006; 211: 367-77.
90. Vukojevic K, Skobic H, Saraga-Babic M. Proliferation and differentiation of glial and neuronal progenitors in the development of human spinal ganglia. *Differentiation* 2009; 78: 91-8.
91. Veselska R, Kuglik P, Cejpek P, et al. Nestin expression in the cell lines derived from glioblastoma multiforme. *BMC Cancer* 2006; 6: 32.
92. Ackermann J, Fruttschi M, Kaloulis K, et al. Metastasizing melanoma formation caused by expression of activated N-RasQ61K on an INK4a-deficient background. *Cancer Res* 2005; 65: 4005-11.

93. Parfitt JR, McLean CA, Joseph MG, et al. Granular cell tumors of the gastrointestinal tract: expression of nestin and clinic pathological evaluation of 11 patients. *Histopathology* 2006; 48: 424–30.
94. Lobo MV, Arenas MI, Alonso FJ, et al. Nestin, a neuroectodermal stem cell marker molecule is expressed in Leydig cells of the human testis and in some specific cell types from human testicular tumors. *Cell Tissue Res* 2004; 316: 369–76.
95. Ehrmann J, Kolar Z, Mokry J. Nestin as a diagnostic and prognostic marker: immunohistochemical analysis of its expression in different tumors. *J Clin Pathol* 2005; 58: 222–3.
96. Rani SB, Mahadevan A, Anilkumar SR, et al. Expression of nestin a stem cell associated intermediate filament in human MSS tumors. *Indian J Med Res* 2006, 124: 269–80.
97. Klein T, Ling Z, Heimberg H, et al. Nestin is expressed in vascular endothelial cells in the adult human pancreas. *J Histochem Cytochem* 2003; 51: 697–706.
98. Prakash Chinnaiyan, Meihua Wang, Aryn M Rojiani, Philip J Tofilon, Arnab Chakravarti, K Kian Ang, Hua-Zhong Zhang. The prognostic value of nestin expression in newly diagnosed glioblastoma: Report from the Radiation Therapy Oncology Group. *Bio Med Central* 2008; 3: 32: 1-8.
99. Amoh Y, Li L, Yang M, et al. Nascent blood vessels in the skin arise from nestinexpressing hair-follicle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13291–5.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Arzu YAY

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 1 Ekim 1979, Kayseri

Medeni Durumu: Evli

Tel: 0544 6289332

email: arzu.yay38@gmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji
Anabilim Dalı 38039 Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2005
Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji	2000
Lise	Sümer Lisesi, Kayseri	1996

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2005- Halen	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı	Biyolog
2001–2005	Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı	Araş. Gör.

YABANCI DİL

İngilizce