

Meningiomlarda Ki-67, PCNA ve progesteron reseptör durumunun önemi

The importance of Ki-67, PCNA and progesterone receptor expression in meningiomas

Recep Bedir*, Abdulkadir Reis**, İbrahim Şehitoğlu***, Cüneyt Yurdakul***

* Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Rize

** Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Trabzon

*** Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Rize

Özet

Amaç: Meningiomas biyolojik potansiyeli ve klinik davranışı ile geniş bir tümör grubunu temsil etmektedir. Santral sinir sisteminin en sık görülen tümörleri olup, atipik ve malign meningioma tiplerinin nüks oranı yüksektir. Son yıllarda nüksü önceden tahmin etmek amacıyla Ki-67 ve PCNA gibi proliferasyon belirleyicilerinin meningiomlarda yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir.

Gereç ve yöntem: Bu çalışmada patoloji bölümünde tanı almış 55 meningioma olgusu WHO 2000'e göre yeniden sınıflandırıp histolojik alt tipleri ve gradeleri belirlendi. Seçilmiş parafin bloklardan hazırlanan kesitlere immünohistokimyasal olarak PCNA, Ki-67, EMA, vimentin ve progesteron reseptörü uygulanıp meningiomlardaki değeri araştırıldı.

Bulgular: PCNA ve Ki-67 değerleri benign meningiomlarda, atipik ve malign meningiomlara göre düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Ayrıca progesteron reseptör pozitifliğinin benign meningiomlarda yüksek, atipik ve malign meningiomlarda düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Sonuç: Atipik ve malign meningioma'nın benign meningiomlara göre PCNA ve Ki-67 proliferasyon oranlarının daha yüksek olduğu gözlemlendi. Cerrahi olarak total çıkarılmış olmasına rağmen, Ki-67 ve PCNA değerleri yüksek bulunan benign meningioma'nın nüks bakımından klinik yakın izleme alınması gerektiği sonucuna varıldı. Progesteron reseptör pozitifliğinin ise tümörün diferansiyasyonu ile ilişkili olduğu ve tek başına prognoz tayininde yeterli olmadığı, ancak tümör ayırıcı tanısında EMA ve vimentine iyi bir alternatif olabileceği düşünüldü.

Pam Tıp Derg 2013;6(2):52-60

Anahtar sözcükler: Meningioma, nüks, Ki-67, PCNA, PR

Abstract

Purpose: Meningiomas with their potential biological and clinical behavior represents a broad brand group of tumors. Meningiomas are the most seen benign tumors of the central nervous system and types of atypical and malignant meningioma recurrence rate is high. In recent years, proliferation markers such as Ki-67 and PCNA are commonly used in meningiomas in order to predict recurrence.

Materials and methods: In this study, 55 meningioma cases diagnosed in pathology department were reclassified according to the WHO 2000 and their histological subtypes and grades were determined. sections from selected paraffin blocks were immunostained with PCNA, Ki-67, EMA, vimentine, and progesterone receptor (PR); and their values in meningiomas were investigated.

Results: PCNA and Ki-67 values of benign meningiomas are lower than the atypical and malignant meningiomas as statistically significant ($p<0.05$). In addition, the high values of progesterone receptor positivity on benign meningiomas and the lower levels of it on malignant and atypical meningiomas are considered to be statistically significant as well ($p<0.05$).

Conclusion: PCNA and Ki-67 proliferation rates of atypical and malignant meningiomas are observed to be higher than the benign meningiomas. Benign meningiomas with high values of Ki-67 and PCNA should be observed with regard to recurrence although they are completely resected. Progesterone receptor positivity was associated with the differentiation of the tumor and prognosis alone is not enough, however in the differential diagnosis of the tumor was thought to be a good alternative to EMA and vimentine.

Pam Med J 2013;6(2):52-60

Key words: Meningioma, relaps, Ki-67, PCNA, PR

Recep Bedir

Yazışma Adresi: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Rize
e-mail: bedirrecep@gmail.com

Gönderilme tarihi: 14.01.2013

Kabul tarihi: 12.03.2013

Giriş

Meningiomlar santral sinir sisteminin en sık görülen yavaş büyüyen benign tümörleridir. Primer intrakraniyal tümörlerin %13-19'unu, spinal kanaldan köken alan tümörlerin ise yaklaşık %12'sini oluştururlar. Genellikle 5. ve 6. dekatlarda görülmekte olup, kadınlarda erkeklere göre daha siktir. Meningiomlar geniş bir morfolojik spektrum göstermesine rağmen, tümünün meningotelyal hücrelerden kaynaklandığı düşünülmektedir [1-3].

Meningiomlar biyolojik potansiyeli ve klinik davranışı ile geniş bir tümör grubunu temsil ederler. Cerrahi tedaviden sonra nüks oranları rezeksiyonun genişliğine bağlı olarak değişmektedir. İntrakraniyal meningiomlarda komplet cerrahi eksizyondan sonra nüks oranları %2-30 arasında değişmektedir [4,5]. Meningiomlar histopatolojik bulgularına göre Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından benign (Grade I), atipik (Grade II) ve malign (Grade III) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Histopatolojik olarak benign karakterde olan meningiomlarda bile cerrahi eksizyona rağmen, nüks oluşabilmektedir. Atipik ve malign meningiomların nüks oranları daha da yüksektir. Cerrahi tedaviden sonra rezidüel meningiomlar sınıfında olanların nüks ve biyolojik davranış farklılıkları nedeni ile bu derecelendirme sisteminde bazı yetersizliklere yol açmaktadır [6,7]. Bundan dolayı son yıllarda agresif meningiomların gelişim hızını ve prognozunu tespit etmede proliferasyon analizlerine başvurulmaktadır.

Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) ve Ki-67 son yıllarda tümör patolojisinde sıklıkla kullanılan proliferasyon işaretleyicileridir. Her ikisi de immünohistokimyasal olarak tespit edilebilen nükleer proteinler olup, DNA sentezi ve hücre proliferasyonu ile korelasyon gösterirler. Ki-67 proliferasyon hücrelerinde monoklonal antikorlar kullanılarak gösterilebilir. Ki-67 hücresel siklusun G1 geç, S, G2 ve M fazında ekspresyon gösterirken, istirahat halindeki (Go fazı) hücrelerde bulunmaz [7-11]. Bu iki nükleer antijen tümörlerin derecelendirilmesinde, nüks ve malignitenin saptanmasında proliferatif aktivitenin ölçülmesi açısından önemlidir. Santral sinir sistemi tümörlerinde de malign biyolojik davranışı belirlemek için kullanıldığını gösteren birçok çalışma vardır [12,13]. Yapılan çalışmalarda PCNA ve Ki-67 ekspresyonu meningeal tümörlerin malignite derecesi ile ilişkili bulunmuştur. Tümör hücrelerinde PCNA ve Ki-67 ekspresyonuna bakılarak nüksü önceden bildirmeyi amaçlayan çalışmalar bulunmaktadır [7,14-17].

Çalışmamızda arşivimizde yer alan meningiomlara ait parafin bloklardan yararlanılarak benign, atipik ve malign meningiomların PCNA ve Ki-67 ekspresyonlarını immünohistokimyasal olarak karşılaştırdık. Ayrıca progesteron reseptör (PR) pozitifliğinin meningiomlarda değerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında tanı alan 55 meningiom olgusu çalışmamızın materyalini oluşturmaktadır. Klinik bilgi için patoloji istek belgesinde kayıtlı bilgilere, bilginin yetersiz olduğu vakalarda hasta dosyalarına başvurulmuştur.

Olgulara ait Hematoksilen-Eozin (HE) boyalı preparatlar WHO 2000 sınıflamasına göre yeniden değerlendirilip derecelendirme yapılmıştır. Formol ile fikse edilmiş seçilen parafin bloklardan elde edilen 5 µm kalınlığındaki kesitler HistoGrip (Zymed) uygulanmış lamalara alındı. Deparafinizasyon işlemi sonrası antijen açığa çıkarmak için kesitler sitrat buffer (pH 6) içinde kaynatıldı. Streptavidin-biotin metodu ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada; Vimentin (Novocastra, cod:802603, Newcastle, UK, prediluted), EMA (Novocastra, cod:801403 Newcastle, UK, prediluted), Progesteron reseptörü (Dako, cod:06109, USA, prediluted), Ki-67 (MM1, Cod:801704, prediluted) ve PCNA (Dako, PC10, Cod:N1529, USA, prediluted) primer antikorları, kromojen olarak da aminoethyl carbozole chromogen (AEC) kullanıldı. Zıt boya için Mayer's hematoksilen, lam kapatmada mounting medium (Zymed) kullanıldı. Kesitler Olympus BX50 ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Benign, atipik ve malign olmak üzere toplam 55 meningiom olgusunun Ki-67 ve PCNA ekspresyonu yanısıra PR durumu değerlendirildi. Ayrıca meningiom tanısının doğrulanmasında vimentin ve epitelyal membran antijen (EMA) immünohistokimyasal belirteçleri kullanıldı.

PCNA ve Ki-67 skorlanmasında; rastgele seçilmiş tümör alanlarında endotelyal hücreler gibi neoplastik olmayan hücreler hariç tutulmak kaydı ile, her örnekte beş farklı büyüme alanında (x40) pozitif boyanan hücre sayısının toplam hücre sayısına oranı işaretlenme indeksi (Labelling index: L1) olarak saptandı. Yalnızca tartışılmaz derecede boyanmış nükleuslar pozitif olarak kabul edildi.

Çalışmamızda PR pozitif kontrol için meme karsinomu örneği kullanıldı. PR boyanması

<%10 ise negatif, %10-50'ise +, %50-80 ise ++, %80 ise +++, boyanma yoğunluğu ise 0: yok, 1; hafif, 2: orta, 3: kuvvetli şeklinde değerlendirildi.

İstatiksel analiz: Ölçümlerde elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. İncelenen değişkenlerin normal dağılıma uyanları parametrik testlerle, uymayanları parametrik olmayan testler ile değerlendirildi. Sonuçlar ölçümsel değerler yönünden Kroskat-Wallis varyans analizi ile 3 grupta karşılaştırıldı. Post-hoc karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi uygulandı. Ki-67 ve PCNA arasında ilişki Spearmans R korelasyon testi ile değerlendirildi. Veriler aritmetik ortalama \pm standart hata (min-max) ile sunuldu. Anlamlılık düzeyi $P < 0.05$ olarak alındı.

Bu çalışmanın etik kurulu Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Başkanlığı tarafından 18.01.2013 tarihinde 2013/09 karar no ile alınmıştır.

Bulgular

Ellibeş meningeom olgusunun % 66'sı (n=36) kadınlarda, % 34'ü (n=19) erkeklerdedir. Olgularda en küçük yaş 10, en büyük yaş 82 olup, ortalama yaş 55.6' dır. Erkeklerde ortalama yaş 52.2, kadınlarda ortalama yaş 56.4'dür. Olgularımızın %89'u intrakraniyal, % 11'i ise spinal yerleşim göstermektedir.

Meningiomların histolojik tiplerine göre dağılımı ise Tablo 2'de, yerleşimlerine göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Histolojik tiplere göre, Ki-67, PCNA, PR, Vimentin ve EMA sonuçları Tablo 3'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Olguların yerleşim bölgelerine göre dağılımı

Yerleşim	Olgu sayısı	%
Konveksite	28	%50.9
Parasagittal	7	%12.8
Spinal kanal	6	%10.9
Suprasellar	4	%7.3
Sfenoidal	4	%7.3
Tentorium	3	%5.4

Tablo 2. Olguların WHO 2000 derecelendirme sistemine göre dağılımı

WHO Grade	Histolojik tip	Olgu Sayısı	%
Grade I	Meningotelyal	23	42
Grade I	Transisyonel	11	20
Grade I	Fibroblastik	7	12.8
Grade I	Psammomatöz	3	5.4
Grade I	Anjiomatöz	3	5.4
Grade II	Atipik	4	7.2
Grade III	Malign	4	7.2
Toplam		55	100

Histolojik olarak atipik ve malign meningeomlarda proliferasyon oranları Ki-67 için %1.7 - %12.4, PCNA için %3.1 - %23.8 arasında değişmektedir. Ayrıca histolojik olarak malignite bulguları içermeyen iki

Tablo 3. Histolojik tiplere göre, Ki-67, PCNA, PR, Vimentin ve EMA sonuçları

Patoloji protokol No:	Histolojik tip	Yerleşim Yeri	Yaş/Cins	Vimentin	EMA	Progesteron	Ki-67 (%)	PCNA(%)
498/97	Meningotelyal	Sfenoid kanat	36/E	+	+	+	0.1	0.4
3922/97	Meningotelyal	Olfaktor oluk	70/K	+	+	++	0.9	1.8
4127/97	Meningotelyal	Spinal kanal	65/E	+	+	+	0.9	1.1
2739/98	Meningotelyal	Sfenoid kanat	48/K	+	+	+	4.4	5.5
3431/98	Meningotelyal	Temporal lob	65/E	+	+	-	0.6	4.7
613/99	Meningotelyal	Clinoid üzeri	34/K	+	+	+	1.1	0.9
3425/99	Meningotelyal	Frontoparyetal	55/K	-	+	+	1.2	1.4
2802/99	Meningotelyal	Olfaktor oluk	56/K	+	+	+	0.6	14.4
2180/99	Meningotelyal	Frontol lob	55/K	+	+	+++	1.3	2.7
3967/99	Meningotelyal	Temporal lob	29/K	+	+	+	0.6	1.1
1383/00	Meningotelyal	Spinal kanal	70/K	+	+	+	0.9	2.2
3639/00	Meningotelyal	Paryetooksipital	63/K	+	+	+	0	1.06
4968/00	Meningotelyal	Olfaktor oluk	51/E	+	+	+	0.3	0.5
1396/01	Meningotelyal	Spinal kanal	70/K	+	+	-	0	1.5
2603/01	Meningotelyal	Serebellarhemisfer	59/K	+	+	+	0.8	2.3
2741/01	Meningotelyal	Frontal lob	60/K	+	+	+	0	1.4
2945/01	Meningotelyal	Frontoparyetal	45/K	+	+	-	1.3	4.5
946/01	Meningotelyal	Sfenoid kanat	66/K	+	+	+	0.3	2.5
3048/01	Meningotelyal	Frontal lob	60/K	+	+	++	0.5	2.8
1568/02	Meningotelyal	Sagittal sinüs	54/K	+	+	++	0.6	11.6
1428/02	Meningotelyal	Frontal lob	82/K	+	+	++	3.3	1.7

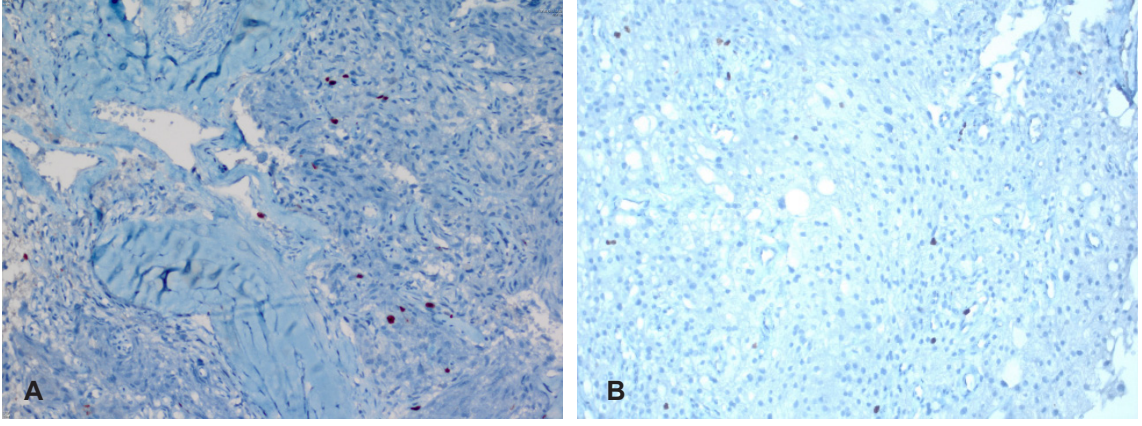
498/02	Meningotelyal	Frontal lob	40/E	+	+	-	2	4.1
105/02	Meningotelyal	Slyvian sulkus	61/K	+	+	+	0.2	2.8
1649/97	Fibroblastik	Konveksite	58/K	+	+	-	0.4	1.9
1684/97	Fibroblastik	Konveksite	50/K	+	+	-	0.4	0.5
1859/97	Fibroblastik	Sereballarhemisfer	58/K	+	+	-	0.1	0.8
4539/97	Fibroblastik	Oksipital lob	45/K	+	+	-	0.3	1.2
542/98	Fibroblastik	Falks	70/E	+	+	+	0.5	2.1
3313/98	Fibroblastik	Paryetal lob	65/K	-	-	-	1.1	1.8
3090/98	Fibroblastik	Frontoparyetal	40/K	+	+	+	1	1.6
78/97	Transisyonel	Sfenoid kanat	71/K	+	-	-	1.2	1.05
624/97	Transisyonel	Posterior fossa	36/K	+	+	-	0.6	2.08
1452/98	Transisyonel	Frontal lob	70/E	+	+	+	1.2	1.2
2506/98	Transisyonel	Pineal gland	70/E	+	+	-	1	1.7
4545/98	Transisyonel	Spinal kanal	60/K	+	+	-	0.8	0.6
2816/99	Transisyonel	Paryetal lob	60/E	+	+	+	1.2	1.9
3470/99	Transisyonel	Posterior fossa	50/E	+	+	+++	1.02	5.1
3590/99	Transisyonel	Paryetal lob	55/K	+	+	++	0.9	1.1
4487/99	Transisyonel	Temporoparyetal	59/K	+	+	+	0.4	0.2
1834/01	Transisyonel	Temporal lob	60/E	+	+	+	0.2	1.2
2952/01	Transisyonel	Paryetal lob	60/K	-	+	-	0.1	0.4
4039/97	Psammomatöz	Spinal kanal	56/K	+	+	+	0.2	0.4
4608/00	Psammomatöz	Paryetal lob	79/K	+	+	+	0.7	1
106/02	Psammomatöz	Spinal kanal	50/K	+	+	-	0.8	0.7
2085/99	Anjiomatöz	Olfaktor oluk	55/K	+	+	+	0.3	0
4290/00	Anjiomatöz	Paryetal lob	42/E	-	-	+	0.7	1.1
2294/02	Anjiomatöz	Sfenoid kanat	52/K	+	-	-	0.2	1.9
3031/00	Atipik	Paryetal lob	65/K	+	+	+	4.1	4.2
2001/02	Atipik	Kranial fossa	60/E	+	+	-	7	7.3
3946/02	Atipik	İntrakranial	10/E	+	+	-	3.2	3.4
4034/02	Atipik	Sfenoid kanat	69/E	-	-	-	2.4	3.1
1109/97	Malign	Paryetal lob	50/K	+	+		3.2	8.4
1298/97	Malign	Oksipital lob	40/E	+	+	+	1.7	23.8
2197/02	Malign	Posterior fossa	70/E	+	-	-	2.4	5.7
1611/99	Malign	Temporal lob	64/E	+	+	+	12.4	15.1

meningotelyomatöz meningiom olgusunun %11,6 ve %14.4 gibi yüksek PCNA proliferasyon oranları dikkat çekmektedir. Proliferasyon oranı yüksek olmayan benign histolojik gruplarda PCNA ve Ki-67 ile proliferasyon hücrelerinde homojen olarak dağılmayan seyrek bir nükleer boyanma paterni izlendi (Resim 1). Proliferasyon oranının artış gösterdiği atipik ve malign olgularda PCNA ve Ki-67 ile diffüz bir nükleer boyanma paterni gözlemlendi (Resim 2). Malign meningiomların mikroskopik incelemesinde, geniş nekroz alanları, belirgin pleomorfizm, yüksek mitotik aktivite ve beyin invazyonu mevcuttu (Resim 3).

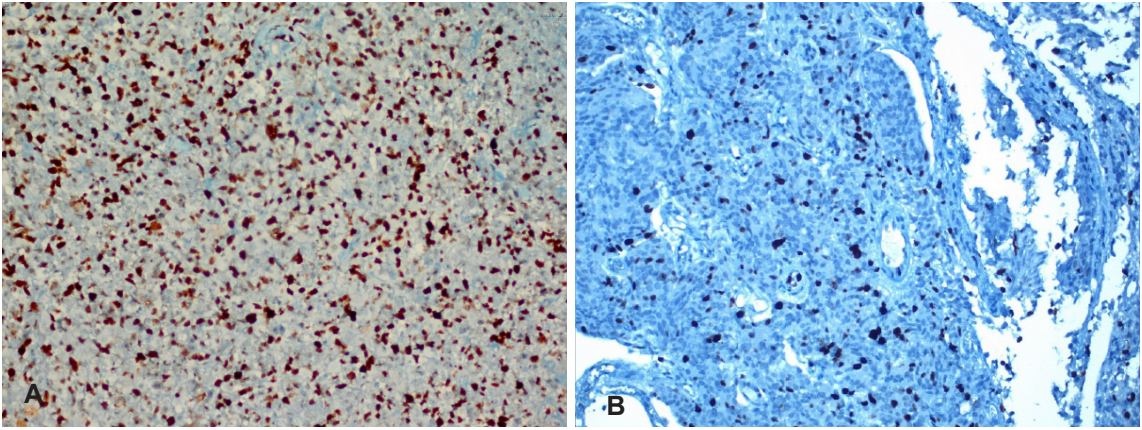
PCNA işaretleyici indeksi dağılımı benign grupta % 0.2-%14.4, atipik grupta %3.1-%7.3, malign grupta %5.7- %23.8 bulundu. Benign grupta bir vakada boyanma yoktu. Ki-67 işaretleyici indeksi dağılımı benign grupta

%0.1-%4.4, atipik grupta %2.4-%7 ve malign grupta % 1.7- %12.4 bulundu. Benign grupta dört vakada boyanma yoktu. PCNA işaretleyici indeksi ortalaması benign grupta (% 2.28 ± %0.39, ortalama değerler±standart hata), atipik grupta (%4.5 ± %0.96, ortalama değerler ± standart hata) ve malign grupta (%13.25 ± % 4.03, ortalama değerler ± standart hata) karşılaştırıldı ve PCNA işaretleyici indeksi bakımından anlamlı bulundu ($p<0.001$) (Tablo 4).

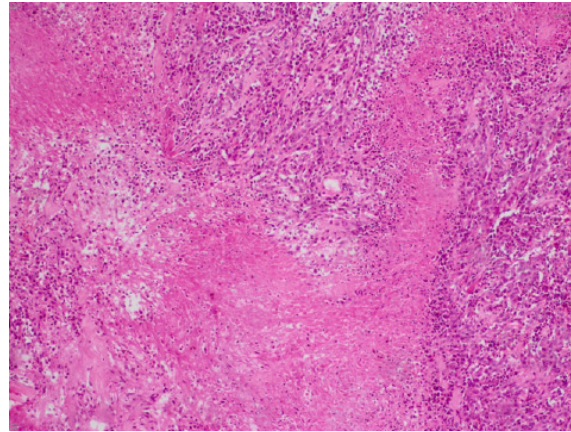
Ki-67 işaretleyici indeksi ortalaması benign grupta (%0.85 ± %0.12, ortalama değerler± standart hata), atipik grupta (%4.2±%1, ortalama değerler ± standart hata) ve malign grupta (%4.93 ± %2.51, ortalama değerler ± standart hata) karşılaştırıldı ve Ki-67 işaretleyici indeksi bakımından anlamlı bulundu ($p<0.001$). Ki-67



Resim 1. Meningotelyal hücrelerde (A) Ki-67 ve (B) PCNA ile düşük pozitif nükleer boyanma (x200).



Resim 2. Meningotelyal hücrelerde (A) Ki-67 ve (B) PCNA ile yüksek oranda diffüz pozitif nükleer boyanma (x200).



Resim 3. Malign meningiomda geniş nekroz alanları ve pleomorfizm (HEx200)

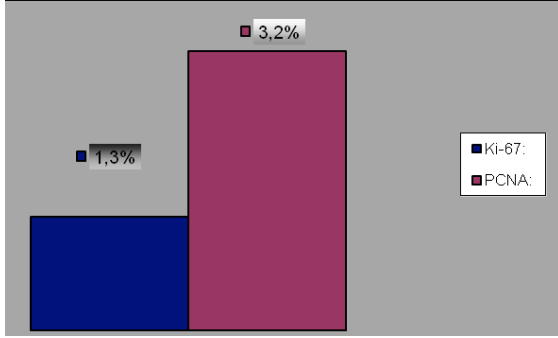
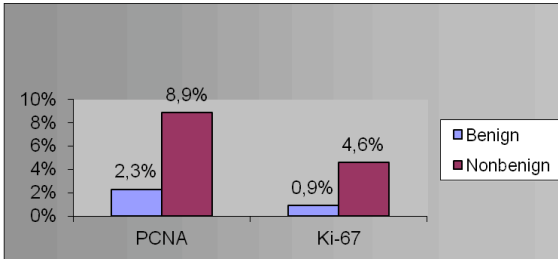
işaretleyici indeksi benign grup ile atipik grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Ki-67 işaretleyici indeksi benign grup ile malign grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$). (Tablo 4)

PCNA işaretleyici indeksi benign grup ile atipik grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$). PCNA işaretleyici

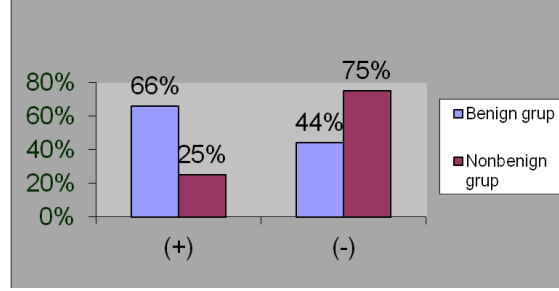
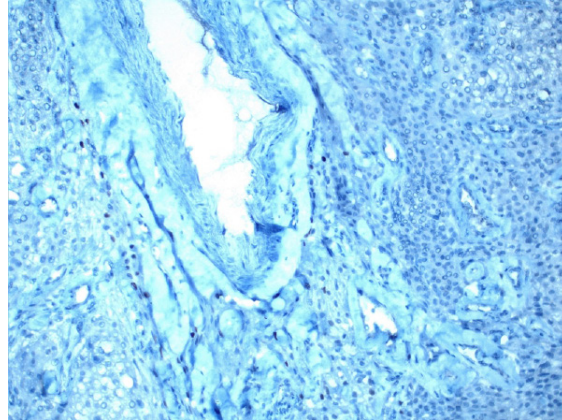
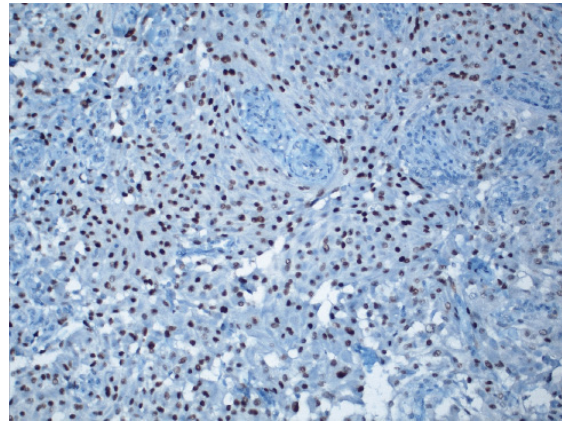
indeksi benign grup ile malign grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.05$). PCNA LI ve Ki-67 LI değerleri arasında tüm gruplarda Sperman R korelasyon testi ile (coefficient of correlation $r = 0.5503$, $p < 0.001$) iyi bir korelasyon mevcuttu (Grafik 1). PCNA ve Ki-67 işaretleyicileri ile benign grup ile nonbenign gruplar arasındaki ilişki Grafik 2'de izlenmektedir.

Tablo 4. Benign, atipik ve malign meningiom gruplarının karşılaştırılması

	Benign grup	Atipik grup	Malign grup
Yaş dağılımı	29-82	10-65	40-70
Ortalama+Standart S	56,7 ±11,71	48.5±26.44	56±13.56
Cinsiyet (E/K)	12/35	1/3	3/1
PCNA dağılımı	(0.2-14.4)	(3.1-7.3)	(5.7-23.8)
Ortalama+Standart H	2.28 + 0.39	4.5+ 0.96	13.25±4.03
Ki-67 dağılımı	(0.1-4.4)	(2.4-7)	(1.7-12.4)
Ortalama+Standar H	0.85 ± 0.12	4.2±1.0	4.93 ±2.51

**Grafik 1.** PCNA ve Ki-67 değerleri arasında tüm gruplarda Sperman R korelasyon testi**Grafik 2.** PCNA ve Ki-67 işaretleyicileri ile benign-nonbenign gruplar arasındaki ilişki

PR pozitifliği nükleer boyanma şeklindeydi. Sitoplazmik, endotel hücrelerinde veya konnektif dokuda boyanma pozitif kabul edilmedi. Vakaların 32'sinde (%58) PR pozitif. Pozitif vakaların %60'ı kadın, %62.5'i erkekti. Benign meningiomların %66'sında atipik ve malign meningiomların %25'inde PR pozitifliği saptandı (Grafik 3) (Tablo 5). Çoğunlukla PR pozitif ve negatif sahalardan oluşan mozaik bir boyanma paterni gözlemlendi (Resim 4). Olguların yalnız 2'sinde benign grupta %80'nin üzerinde (+++) kuvvetli diffüz boyanma vardı (Resim 5).

**Grafik 3.** Benign ve nonbenign gruplar arasındaki PR durumu**Resim 4.** Meningotelyal hücrelerde PR ile düşük nükleer boyanma (HEX200)**Resim 5.** Meningotelyal hücrelerde diffüz nükleer PR pozitifliği (HEX200)

Tablo 5. Tümör tipi ile cinsiyet ve progesteron reseptör durumunun karşılaştırılması

Histolojik grup	Kadın hastalar		Erkek hastalar		Toplam	
	PR (+)	PR (-)	PR (+)	PR (-)	PR (+)	PR (-)
Benign meningiomalar	22	13	9	3	31	16
Atipik meningiomalar	1	1	0	2	1	3
Malign meningiomalar	0	1	1	2	1	3

PR pozitifliği cinsiyet açısından benign meningiomalar ile nonbenign (atipik ve malign) meningiomalar arasında karşılaştırıldığında ölçümsel değer niteliksel olduğundan Fisher's exact Ki-kare testi uygulandı. $p < 0.05$ anlamlı sayıldı. PR pozitifliği benign grup ile nonbenign grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p < 0.05$). Erkek cinsiyeti açısından iki grup arasında PR pozitifliği karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.05$). Aynı şekilde kadın cinsiyeti yönünden karşılaştırıldığında anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$). Erkek ve kadın cinsiyeti benign grupta PR pozitifliği açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$).

Vimentin ile yapılan immünohistokimyasal incelemede 55 vakanın 50' sinde (%91) sitoplazmik pozitif boyanma saptandı. EMA ile yapılan immünohistokimyasal incelemede 55 vakanın 48' inde (%89) sitoplazmik pozitif boyanma saptandı.

Tartışma

Genel olarak meningiomalarda nüksü tahmin etmede en sık kullanılan kriterler, rezeksiyonun genişliği ve tümörün histolojik tipidir. Simpson derecelendirmesinde başlangıçtaki cerrahi, nükse etki etmektedir [4, 5]. Histolojik olarak benign meningiomalar da nüks yapabilirler. Ancak, malign meningiomalar için nüks gelişme oranları, benign meningiomalarla fazladır [6,18]. Jaaskelainen ve ark.[19] benign meningiomalar için makroskopik olarak total rezeksiyonu takiben 5 yıl içinde nüks oranının ancak % 3, 25 yıl içinde ise % 21 olabileceğini rapor etmişlerdir. Ancak bu oran atipik meningiomalar için %38, anaplastik meningiomalar için %78 olarak bulunmuştur. Chen ve ark.[6] dökümantasyonunu yaptıkları benign meningiomaların 3 yıl içindeki nüks oranını % 6 olarak vermektedir. Sonuçta bireysel olarak hastalarda meningiomaların davranışları ve nüks riski tek başına histolojik özellikler ile tam olarak tahmin edilemeyeceği açıktır [4-6,18,19]. Histolojik parametreler bazı çalışmalarda nüks edebilecek meningiomaları önceden tahmin etmede kullanılmıştır. Artmış hücresellik, tabakalanma, nükleer pleomorfizm,

artmış mitotik indeks, nekroz ve beyin invazyonu malignensi delili veya progressif davranışı işaret etmektedir. Bununla birlikte bazı yazarlar histolojik kriterlerin prognostik öneminin az olduğunu belirtmişlerdir [14, 20-22].

Meningioma'nın ölçülen proliferatif aktivitesi de nüksün bir belirteci olarak düşünülmüş ve araştırılmıştır. Daha önceleri nüksü tahmin için, argyrophilic nucleolar organizasyon region (AgNOR) ve bromodeoxyuridine (BrdU) ile işaretli hücrelerin ve mitozların sayılması yolu kullanılmıştır. Miller [23], tümör rezeksiyonundan sonra 5 yıl içinde nüksün en güçlü işareti olarak mitotik indeksi göstermiştir. Diğer taraftan, Jellinger ve Slowik [24] ise tek başına mitotik figürlerin prognostik bir değer olarak görülemeyeceğini ileri sürmüşlerdir. Çünkü benign meningiomalarda da mitotik aktivite olabileceği ve dolayısı ile mitotik indeksi nüksün bir belirteci olarak değerlendirmenin doğru olmayacağını düşünmüşlerdir. Son yıllarda Tao ve ark. [25] yaptıkları bir çalışmada total rezeksiyon yapılmış meningiomalarda, tümörün çapının 5 cm'nin üzerinde, düzensiz sınırlı, Grade II ve Grade III olması yanısıra Ki-67 ekspresyonunun güçlü pozitif olmasının postoperatif dönemde yüksek nüks ile bağlantılı olduğu göstermişlerdir.

Proliferasyon markırları PCNA ve Ki-67, tümörlerin proliferatif potansiyelinin araştırılmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Meningioma'nın da proliferatif analizi son yıllarda PCNA ve Ki-67 gibi immün işaretleyicilerin kullanımı ile öne çıkmaktadır. Ancak PCNA ve Ki-67 immün işaretleyicileri ile, histolojik olarak benign olup nüks eden meningiomalar arasındaki ilişkiyi açıklayan araştırmalarda sonuçların tartışmalı olduğu gözlenmiştir [8-10]. Maes ve ark.[7] yaptıkları bir çalışmada ise rezidüel meningiomalarda nüks eğilimi ve agresif davranışın önceden belirlenmesinde Ki-67 ve PCNA proliferasyon markırlarının potansiyel önemi olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada MIB-1 işaretleme indeksinin (Ki-67) nüks meningiomaları önceden tahmin etmede histopatolojik bulgular ile birlikte kombine kullanımının çok daha değerli olduğu gözlenmiştir. Atipik meningiomaların

tanısının konmasında, yapısal bozukluk, mitoz $\geq 1.5/\text{mm}^2$ ve nekroz kriterlerinden ikisinin varlığının yeterli olduğunu önermişlerdir [26]. Nüks potansiyeli olan meningiomlarda, nüks potansiyeli olmayanlara göre, sikluskteki hücre sayısı daha fazladır. Bu durum siklusun G1, S, G2 ve M fazındaki hücrelerin Ki-67 antijen ekspresyonu ile belirlenebilir. Fakat siklusun Go fazındaki hücrelerde Ki-67 yoktur. Bundan dolayı Ki-67, PCNA'ya göre daha çok hücre çekirdeğinde işaretleme yapmaktadır. Ki-67'nin immünohistokimyasal boyanması basit bir yöntem olup proliferen hücreleri kolayca ayırt eder. PCNA ise G1 ve S fazlarında maksimum ekspresyonu yanısıra düşük ekspresyonda G2 fazında belirlenir. M fazında PCNA düzeyi çok düşüktür. PCNA fonksiyonlarını hücrenel siklusun S fazında DNA polimeraz için bir ko-faktör olarak fonksiyon görür ve aynı zamanda DNA hasar onarım mekanizmaları ilişkili DNA sentezi esnasında yer almaktadır [7-10,14].

Çalışmamızda Ki-67 LI değeri, PCNA LI değerine göre daha düşük bulundu. Bu değerler ilgili kaynaklar ile uyumluluk göstermekteydi [8, 25, 26]. Çalışmamızda PCNA pozitifliği Ki-67'ye göre daha zor değerlendirildi. Bu durum ilgili kaynaklarda da Louis ve ark.[27] tarafından belirtilmiştir. Çünkü değişken boyanma paterni nedeniyle hafifce soluk boyanmış nükleuslar değerlendirmeyi güçleştirmektedir. Diğer ciddi bir problem ise boyanmış hücrelerin, her bölgede aynı kalitede olmamasıydı. Bu nedenle PCNA boyanmasındaki değişkenlikler, Ki-67 ve PCNA LI sonuçlarında uyumsuzluğa neden olabilir. Schiffer ve ark. [28] PCNA ile oldukça kuvvetli pozitif nükleer boyanmanın S fazı için uygunluk gösterebileceğini ve PCNA ekspresyonunun yanlış yorumlama birçok olasılıklara rağmen, bunların en önemlisi olan deregülasyon olduğu bildirmişlerdir. Ancak prognostik amaçlar için yapılan çalışmalarda tümörlerin proliferasyon potansiyellerini göstermek açısından pratik olarak yararlı olduğu belirtilmiştir. Herhangi bir tümörün PCNA/Ki-67 LI değerlerinin teşhis için anlamlılığı, uç varyasyonlar nedeni ile karmaşıklığa neden olabilir. Diğer çalışmalarda da gösterildiği gibi bizim çalışmamızda da bütün gruplarda PCNA LI değerlerinde geniş varyasyonlar elde edilmiştir. Bu varyasyon, metodun uygulanabilirliği için ciddi bir engel teşkil etmektedir [29]. Daha önceki çalışmalarda sayım için en yüksek ve en düşük değerlere sahip alanlar seçilirken, son çalışmalarda bu seçim rastgele yapıldığında diğerine göre daha yüksek sayıda işaretli nükleus elde edilmektedir [14,29]. Bizim çalışmamızda da rastgele alanlar seçilmiş olup, sadece koyu boyanan nükleuslar pozitif olarak kabul edilmiştir.

Histolojik olarak atipik ve malign bulgular gösteren vakalarda proliferasyon oranının Ki-67 için %1.7 ile %12.4, PCNA için %3.1 ile %23.8 arasında artış gösterdiği görüldü. Ayrıca histolojik olarak malignite bulguları içermeyen benign gruptaki iki vakada PCNA proliferasyon oranının %11,6 ve %14.4'e kadar yükseldiği dikkat çekmektedir. Bu iki vakanın klinik bilgilerine ulaşıldı. Postoperatif 2. yılda nüks ettiği ve radyoterapi aldığı öğrenildi. İlgili kaynaklarda, histolojik olarak anaplazi bulguları gösteren meningiom vakalarında Ki-67'nin %9.3 ile %20.5 arasında, benign meningiomlarda ise %8.5 ile %10.9 arasında değerler bulunmaktadır. Literatürdeki değişik kaynaklarda genel deneyimler sonucunda Ki-67 için %5-10'dan büyük değerlerin nüks ile ilişkili olduğu vurgulamaktadır [8, 17, 28, 30, 31]. Deckert ve ark. [32] ise klasik meningiomlarda Ki-67'nin %5'lere kadar yükselbileceğini işaret etmişlerdir. Cobb ve ark. [17] PCNA için ise %7 üzerindeki değerlerin %2 altındaki değerler ile karşılaştırıldığında nüks için daha anlamlı olduğunu belirtmişlerdir. Maes ve ark. [7] yaptıkları çalışmada ise stabil grup (parsiyel rezeksiyondan sonra en az 10 yıl nüks etmeyen meningiomlar) ve nüks grup (parsiyel rezeksiyondan sonra 11 ve 145 ay sonra nüks eden meningiomlar) arasında karşılaştırma yapmışlar. PCNA nüks grupta %10.8, stabil grupta %5.5, Ki-67 ise nüks grupta %2.5 iken, stabil grupta %2 olarak gözlenmiş fakat iki sonuçta istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda PCNA LI ve Ki-67 LI değerleri arasında tüm gruplarda Sperm R korelasyon testi ile (coefficient of correlation $r = 0.5503$, $p < 0.001$) iyi bir korelasyon mevcuttur. Bu korelasyon literatürdeki veriler ile uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızda ayrıca PR durumu ile histolojik bulgular ve cinsiyet arasında bir korelasyon olup olmadığını araştırdık. Meningiomlarda östrojen ve progesteron reseptör monoklonal antikorlar ile yapılan çalışmalarda bu hormonların nükleusta lokalize olduğunu göstermiştir. Kaynaklarda meningiomların %50-88'inde PR pozitifliği saptandığı belirtilmektedir. Bu yüksek orandaki pozitifliğin klinik olarak iyi prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [25,33-35]. Son yıllarda yapılan 60 vakalık bir çalışmada Mukherjee ve ark. [37] Ki-67 ve PR ekspresyonu incelenmiş olup, Ki-67'nin PR pozitif grupta daha düşük, PR negatif grupta ise daha yüksek olarak bulmuşlardır. PR pozitifliği kadınlarda erkeklere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Olguların 32'sinde (%58) PR pozitif. Pozitif vakaların %60'ı kadın, %62.5'i erkekti. PR, benign meningiomların %66'sında,

atipik ve malign meningiomların %25'inde pozitif. PR pozitifliği benign grup ile nonbenign grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı. Bu bulgu literatürdeki sonuçlar ile uyumlu bulundu [39-41].

Sonuç olarak, atipik ve malign meningiomların benign meningiomlara göre istatistiksel olarak anlamlı olan daha yüksek PCNA LI ve Ki-67 LI değerlerine sahip olduğu gösterilmiştir. Cerrahi olarak çıkarılmış olmasına rağmen, Ki-67 ve PCNA değerleri yüksek bulunmuş benign meningiomlar nüks bakımından klinik olarak yakın izleme alınmalı, gerekirse radyoterapi verilmelidir. Histolojik parametrelerin tek başına tümörün nüksü ve agresivitesi hakkında yeterli bilgi vermemesi nedeni ile meningiomlarda proliferasyon markörlerinin rutin kullanıma girmesinin yararlı olacağı düşüncesindeyiz. PR pozitifliği benign grupta nüks, prognostik anlam ve tedaviye katkı yönünden daha az değerli bulunmuş, ancak PR negatif olguların anaplazi ve atipi ile ilişkili olduğu, dolayısıyla meningiomlarda PR durumunun prognoz bakımından katkı sağlayabileceği düşünülebilir. Prognoz ve tedavideki önemi nedeniyle meningiomlarda hormon reseptör konusunun daha ileri çalışmaları hak ettiğini söyleyebiliriz.

Çıkar ilişkisi: Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

1. Rosenbium MK, BilbOA JM, Ang LC. Neuromuscular system. In: Rosai J, Ed. Ackerman's surgical pathology. 9rd ed. St. Louis: Mosby, 2004;2564-2572.
2. Russel DS, Rubinstein LJ. Pathology of tumours of the nervous system. In: Baltimore, 5rd ed. Lippincott Williams&Wilkins:London, 1989;452-453.
3. Kepes JJ. Meningioma: biology, pathology and differential diagnosis. In Masson: New York, 1982; 116-119.
4. Adegbite AB, Khan MI, Paine KW, Tan LK. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. J Neurosurg 1983;58:51-56.
5. Rohringer M, Sutherland GR, Louw DF, Sima AA. Incidence and clinicopathological features of meningioma. J Neurosurg 1989;71:665-672.
6. Chen WY, Liu HC. Atypical (anaplastic) meningioma. Relationship between histologic features and recurrence: clinicopathologic study. Clin Neuropathol 1990;9:74-81.
7. Maes L, Kalala JP, Cornelissen M, De Ridder L. PCNA, Ki-67 and hTERT in residual benign meningiomas. In Vivo 2006;20:271-275.
8. Takeuchi H, Kubota T, Kabuto M, Kitai R, Nozaki J, Yamashita J. Prediction of recurrence in histologically benign meningiomas: proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 immunohistochemical study. Surg Neurol 1997;48:501-506.
9. Bravo R. Synthesis of the nuclear protein cyclin (PCNA) and its relationship with DNA replication. Exp Cell Res 1986;163:287-293.
10. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker H, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. Immunol 1984;133:1710-1715.
11. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer 1983;31:13-20.
12. Kayaselçuk F, Zorludemir S, Gümürdühü D, Zeren H, Erman T. PCNA and Ki-67 in central nervous system tumors: correlation with the histological type and grade. J Neurooncol 2002;57:115-121.
13. Suri VS, Tatke M, Singh D, Sharma A. Histological spectrum of ependymomas and correlation of p53 and Ki-67 expression with ependymoma grade and subtype. Indian J Cancer 2004;2:66-71.
14. Hsu DW, Prado FS, Efirid JT, Linggood RM, Hedley-Whyte ET. Prognostic significance of proliferative indices in meningiomas. J Neuropathol Exp Neurol 1994;53:247-255.
15. Siegers HP, Zuber P, Hamou MF, van Melle GD, de Tribolet N. The implications of the heterogeneous distribution of Ki-67 labelled cells in meningiomas. Br J Neurosurg 1989;3:101-107.
16. Sasaki A, Naganuma H, Kimura R, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining as an alternative to bromodeoxyuridine (BrdU) immunostaining for brain tumours in paraffin embedded sections. Acta Neurochir 1992;117:178-181.
17. Cobb MA, Husain M, Andersen BJ, Al-Mefty O. Significance of proliferating cell nuclear antigen in predicting recurrence of intracranial meningioma. J Neurosurg 1996;84:85-90.
18. de la Monte SM, Flickinger J, Linggood RM: Histopathologic features predicting recurrence of meningiomas following subtotal resection. Am J Surg Pathol 1986;10:836-843.
19. Jaaskelainen J, Haltia M, Servo A: Atypical and anaplastic meningiomas: radiology, surgery, radiotherapy, and outcome. Surg Neurol 1986;25:233-242.
20. Som PM, Sacher M, strenger SW, Biller HF, Malis LI: "Benign" metastasizing meningiomas. AJNR 1987;8:127-130.
21. Christensen D, Laursen H, Klinken L. Prediction of recurrence in meningiomas after surgical treatment: a quantitative approach. Acta Neuropathol 1983;61: 130-134.