

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
NÖROŞİRÜRJİ SERVİSİ
ŞEF: Doç. Dr. İLHAN ELMACI

**MENENGEİOMALI HASTALARDA MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ 1 GENİ PROMOTOR
BÖLGE POLİMORFİZMİNİN SIKLIK VE
İNVAZYONDAKİ ROLÜNÜN İNCELENMESİ**

Uzmanlık Tezi
Dr. Mustafa EFENDİOĞLU

İSTANBUL - 2009

ÖNSÖZ

Nöroşirürji eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile yetismemi sağlayan, benden desteğini esirgemeyen, değerli hocam sayın Doç. Dr. İlhan Elmacı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım boyunca her zaman yardımlarını gördüğüm, eğitimimde emeği geçen, bana nöroşirürji mesleğini sevdiren, klinik şef yardımcımız Op. Dr. Nejat Isık'a ve Op. Dr. Gökşep Silav'a,

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Uzman doktorlar; Op. Dr. Bekir Gökben'e, Op. Dr. Çetin Çağlar'a, Op. Dr. Ajlan Çerçi'ye, Op. Dr. Kenan Coskun'a, Op. Dr. Naci Balak'a, Op. Dr. Erdoğan Ayan'a,

Asistanlık eğitimimdeki altı yıl boyunca zor zamanlarımı paylaştığım Dr. Mustafa Kaşşı'ye, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Ramazan Sarı'ya, Dr. Adem Aras'a, Dr. Fatihhan Bölükbaşı'na, Dr. Recep Basaran'a, Dr. Mustafa Önöz'e, Dr. Doğan Gündoğan ve Dr. Mehmet Şenol'a

Tezimin hazırlanmasında birlikte çalıştığım Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Fikrettin Şahin'e, araştırma görevlisi arkadaşım Ömer Faruk Bayrak'a ve çalışma arkadaşlarına,

Yardım ve desteğini esirgemeyen ameliyathane hemsiremiz Nevin Oguzhan'a, servis sorumlu hemşiremiz Gülseren Altımsık ve tüm çalışma arkadaşlarımıza,

Her türlü fedakarlığa katlanarak bugünlere gelmemi sağlayan aileme, her zaman sevgi ve desteğini hissettiğim eşim Şenel'e, çocuklarım Ahmet Selim ve Alperen'e teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim esnasında Hastanemizde sağladığı çalışma ortamı ve katkılarından dolayı başhekimimiz sayın Prof. Dr. Hamit Okur'a ayrıca şükranlarımı sunarım.

Dr. Mustafa Efendioğlu

Kısaltmalar

AAT:	α 1 Antitripsin
ACT:	Antikemotripsin
AP-1:	Aktivatör Protein-1
BBT:	Bilgisayarlı Beyin Tomografisi
CEA:	Karsinoembriyonik Antijen
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
EGF:	Epidermal Growth Factor
EMA:	Epitelial Membran Antijeni
Esm:	Ekstra Sellüler Matriks
ETS:	Elektron Taşıma Sistemi
FGF:	Fibroblast Growth Factor
FISH:	Floresan İn Situ Hibridizasyon
GAG:	Glikozaminoglikan
HB-EGF:	Heparin Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor
I/D:	İnsersiyon/ Delesyon
I/I:	İnsersiyon/ İnsersiyon
D/D:	Delesyon / Delesyon
IGF:	İnsülin Like Growth Faktör
IGFBP:	İnsulin-Benzeri Büyüme Faktörü Bağlanma Proteini
IL-1β:	İnterlökin 1 β
MBP:	Miyelin Temel Proteini
MCP:	Monosit Kemoatraktant Protein
MMP:	Matriks Metalloproteaz
MRG:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NF:	Nörofibromatozis
PAR:	Plasminogen Aktivatör Reseptör
PAS:	Peryodik Asit Shift
PDGF:	Platelet-Derived Growth Factor
PEA-3/ETS:	Polima Güçlendirici Aktivite-3/Elektron Taşıma Sistemi
Pzr:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RFLP:	Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi
RNA:	Ribonükleik Asit
SDF-1:	Stromal Hücre Farklılaşma Faktörü
SNP:	Tek Nükleotid Polimorfizmi
SSCP:	Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi
TIMP:	Doku Metalloproteaz İnhibitörleri
UPA:	Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü
UV:	Ultraviyole
VEGF:	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO:	World Health Organization

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Histoloji Ve Embriyoloji	3
2.3. Epidemiyoloji	4
2.4. Etyoloji Ve Terminoloji	6
2.4.1. Radyasyon	7
2.4.2. Hormonal Faktörler	8
2.4.3. Geçirilmiş Kafa Travması	9
2.4.4. Genetik	10
2.4.5. Virüs	11
2.5. Patoloji	12
2.6. Belirti Ve Bulgular	18
2.7. Radyoloji	22
2.7.1. Radyografi	22
2.7.2. Bilgisayarlı Beyin Tomografisi	23
2.7.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme	23
2.7.4. Anjiyografi	24
2.8. Tedavi	25
2.9. Ekstra Sellüler Matriks	28
2.9.1. Matriks Metalloproteazlar	29
2.9.2. Kanser Gelişiminde Mmp Enzim Ailesinin Rolü	30
2.9.3. Mmp'ler Ve Hücre Büyümesi	30
2.9.4. Mmp Ler Apoptozisi Düzenler	31
2.9.5. Mmp Ler Anjiogenezi Düzenler	31
2.9.6. Mmp Aktivitesinin Düzenlenmesi	31
2.9.7. Mmp Substratları	32
2.9.8. Deneysel Kanser Modellemelerinde Mmp Ler	33
2.10. Kollojenazlar	33
2.10.1. Kollojenaz I (Mmp-1)	35

2.10.2. Kollojenaz Aktivitesinin Düzenlenmesi	37
2.10.3. Kollojenaz Aktivitesinin Tımp Tarafından Baskılanması	37
2.10.4. Hücre İnvazyonunda Kollojenazlar	37
2.11. Tumor Hücre İnvazyonu Ve Metastaz	37
2.12. Mutasyon Ve Polimorfizmler	39
2.13. Snp Analiz Yöntemleri	41
2.13.1. Sscp	41
2.13.2. Rflp Test Tekniği	42
3. MATERYAL VE METOD	43
3.1. Kullanılan Materyal	43
3.2. Metod	43
3.2.1. Kullanılan Alet Ve Cihazlar	43
3.2.2. Dokudan Dna İzolasyonu	43
3.2.3. Pzr Amplifikasyonu	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	48
6. ÖZET	62
7. ABSTRACT	64
8. TABLOLAR VE ŞEKİLLER LİSTESİ	66
9. KAYNAKLAR	67

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meningiomlar yavaş büyüyen, biyolojik davranışlarını önceden bilinmesi oldukça zor olan çoğunlukla iyi huylu yapıda, araknoid cap hücrelerinden köken alan ekstra aksiyel tümörlerdir. Bazı meningiom alt tipleri histopatolojik olarak benign olmalarına rağmen agresif karakter gösterebilmektedirler.

Tüm birincil beyin tümörlerinin % 15-20'sini spinal kord tümörlerinin ise %25'ini oluştururlar. Ekstra aksiyel yerleşimler nedeniyle komşu beyin parankiminde basıya yol açarlar ve yerleşim yerine bağlı olarak nörolojik bulguların ortaya çıkmasına neden olurlar. Yapılan çalışmalar meningiomlarda; cerrahi rezeksiyon derecesi, tümörün yerleşim yeri, çevre dokulara invazyon (dura mater, kemik, beyin), cinsiyet, yaş, gibi faktörlerin yaygın olarak prognostik öneme sahip olduklarını göstermiştir.

Günümüzde nöroradyolojik tekniklerin gelişmesiyle erken tanı, ameliyat tekniklerinin ve aletlerinin gelişmesiyle de cerrahi başarı artmıştır. Bu nedenle beyin cerrahisi pratiğinde sürekli gelişmeler görülen patolojiler arasındadır.

Zamanla tümörlerin davranış biyolojisi yönünde çalışmalar başlatılmıştır. Bu çalışmalar moleküler biyoloji ile ilgili tekniklerin gelişmesi ile hızlanmıştır. Elektron mikroskopisinin kullanılması ile ekstrasellüler matriksin yapısı, immünohistokimyasal tekniklerin ilerlemesi ile de ekstrasellüler matriks içerisindeki proteinlerin yapı ve fonksiyonları ortaya konmuştur. Matriks metalloproteazlar ve onların inhibitörleri tanımlanmış ve daha sonra bu enzimler ile tümör gelişimi arasında ilişki kurulup çalışmalar bu yönde ilerletilmiştir.

Genel olarak Matriks metalloproteaz (MMP) enzim ailesinin metastazda çok önemli olduğu bilinmesine rağmen tümör gelişiminde meydana gelen diğer hücre sel değişikliklerden de sorumlu olduğu düşünülmektedir. Matriks metalloproteaz-1 (MMP-1) gen ekspresyonu, promoterdeki bağlanma bölgelerine bağlanan aktivatör protein-1 (AP-1) ve polima güçlendirici aktivite-3 (PEA-3/ETS) vasıtasıyla mitojen aktive edici kinaz tarafından kontrol edilir. MMP-1 geni promoter bölgesinin -1607 bp'sinde

meydana gelen guanin insersiyonu ile yeni bir ETS bağlanma bölgesi oluşur. Buna bağlı olarakta MMP-1 geninin transkripsiyonel aktivitesi artar. Guanin insersiyonunun varlığı bazı kanser türlerinin insidansı ve ilerlemesi ile de ilişkilidir.

Daha önce bu polimorfizmin ovaryum, akciğer, meme, özefagus, gastrik adenokarsinomdaki, nazofarinks kanserindeki ve oral skuamöz hücre karsinomu, riski üzerindeki etkilerine bakılmıştır (75,77,87,93,100,162,186). Araştırması yapılmış bazı kanser türlerinde bu polimorfizmin kanser riskini artırdığını bazılarında ise hiçbir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Bu çalışma 2006-2008 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniğinde ameliyat edilmiş, yaşları 9 ile 83 arasında değişmekte olan, 20'si (%60.6) kadın ve 13'ü (%39.4) erkek olmak üzere toplam 33 olgu üzerinde yapılmıştır. Olguların patolojik ve klinik kayıtları çıkartılmıştır. Çalışmaya 66 sağlıklı olgu kontrol grubu olarak dahil edilmiştir.

Olgulara ait doku biopsi örnekleri -80C derecede DNA izolasyonu yapılanaya kadar saklandı. İzole edilen DNA örnekleri seçilen primerler vasıtasıyla PZR işlemine tabi tutulup MMP-1 geni promoter bölgesini içeren kısım termal döngü cihazı ile çoğaltıldı. Ardından ALU I restriksiyon enzimi ile genotipleme yapıp agaroz jel elektroforez işlemine tabi tutularak ethidium bromid sayesinde UV ışık altında görüntülendi.

Bu çalışma, RFLP tekniği kullanılarak menenjiomali olgularda MMP-1 geni promoter bölgesindeki guanin insersiyonu tespitini ve bu polimorfizmin menenjioma sıklığını ve invazyona etkisini göstermek amacıyla yapıldı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

Nöroektodermden köken alan ve araknoidal cap hücrelerinden oluşan meningiomalar, primer beyin tümörlerinin %15-20'sini, spinal kord tümörlerinin ise %25'ini oluştururlar (64). İsviçre'li Dr. Feliks Plater.1614'te Meningiom' un ilk anatomik ve klinik tanımını yapmıştır, yine 1774 yılında Fransa' dan Antoine Louis ilk meningioma serisini yayımlamış ve “funga dura matris” tanımı kullanılmıştır (161).

1855 yılında Durante ve 1888 yılında Keen tarafından ilk başarılı meningiom ameliyatlarını yapmıştır (12). İlk defa 1922'de Harvey Cushing tarafından santral sinir sisteminde meninkslerden kaynaklanan farklı patolojik tiplerdeki tümörler 'Meningioma' olarak tanımlanmıştır (38).

Cushing ve Eisenhardt, 1903-1932 yılları arasında 313 hastada meningiomların; klasifikasyonu, bölgesel davranışı, prognozu, cerrahisi ve sonuçlarını incelemiş ve 1938'de yayınlamışlardır (37).

Meningiomaların dikkat çekici biyolojik, histolojik ve klinik özellikleri nedeniyle yüzyıllar boyunca cerrahi, patoloji ve anatomi bilim dallarının ilgi odağı olmuştur.

2.2. Histoloji ve Embriyoloji

Meningiomlar araknoidal cap hücrelerinden kaynaklanır. Bu hücreler araknoid granülasyonların tepesinde bulunur ve birçok yönden araknoid bariyeri oluşturan diğer hücrelere benzerler.

Meninksler üç tabakadan oluşur;

1. Dura mater
2. Araknoid
3. Pia mater

(Araknoid ve pia mater' e ortak olarak leptomeninks de denir.)

Döllenmenin 22-24. günlerinde nöral tüp etrafında nöral krest kaynaklı monosellüler hücre tabakası gelişir. Bu monosellüler tabaka daha sonra pia matere farklılaşır. 33-41. günlerde tüm santral sinir sistemi çok tabakalı mezenkimal hücrelerle çevrilir. Bu tabakadan araknoid ve dura mater gelişir. Araknoid iki grup hücreden oluşur, birinci grup duraya yakın olarak devam eder ve araknoid bariyer hücrelerini oluşturur. İkinci grup pia matere daha yakın olan araknoid trabeküller ve köprüler oluşturan hücreler içerir. Subaraknoid bölgeden pia mater' e geçişi sağlar. Araknoid yüzeyleri basit skuamöz epitelle örtülmüştür. Araknoid avaskülerdir ancak beslenmesini duradan sağlar. Bunun klinik açıdan önemi meningiomlar sıklıkla duradan kanlanır. Yer yer araknoid durayı delerek dura materde bulunan venöz sistemlerde sonlanan araknoid villüsleri yaparlar (40,59,168).

2.3. Epidemiyoloji

Meninkslerden köken alan neoplazilerin büyük kısmını meningiomlar oluşturur. Meningiomlar genellikle yavaş büyüyen dura yerleşimli benign tümörler olup araknoid hücresi, araknoid granülasyon, pacchionian cisimciklerinden köken alırlar.

Meningiomlar tüm birincil beyin tümörlerinin % 15-20'sini ve spinal tümörlerin de %25'ini oluştururlar. Bununla beraber ölüme neden olan beyin tümörlerinin %6'sını oluşturmaktadırlar (80, 138).

Meningioma sıklığı her yüzbin kişide 2-3 oranındadır ancak yapılan otopsi çalışmalarında bu oran yüzbinde 5.5'e kadar yükselir. Yapılan otopsi çalışmalarında birincil beyin tümörlerinde % 40 meningiomlar, %35 gliomlar, %13 hipofiz adenomu gibi bir dağılım bulunmuştur (85,151). Meningiomlar tüm intrakranial tümörlerin erkeklerde toplam %20'si, kadınlarda %38'ini oluşturur. Prevalansı yaklaşık 100.000'de 97.5, insidansı ise

kadınlarda 5.04/100.000, erkeklerde 2.46/100.000 olarak bildirilmiştir. Yaşa bağlı insidans hızı aşağıda gösterilmiştir (33).

Yaş grubu	İnsidans hızı
0-19	0.12
20-34	0.74
35-44	2.62
45-54	4.89
55-64	7.89
65-74	12.79
75-84	17.04
85+	18.86

Meningiomlar en sık beşinci ve altıncı dekatta görülür. Kadınlarda daha sık görülür (kadın/erkek: 1.8/1) (9, 138). Fakat anaplastik meningiomlarda kadın erkek oranında fark bulunmamıştır (141,153). Kadınlarda görülme yaşı ortalama 42, erkeklerde ise 52'dir (57,59,132).

Yaş artışı ile görülme sıklığı artar. İleri yaşlarda kadın ve erkek oranının eşit olduğu görülür. (9, 138)

18 yaş altı birincil beyin tümörlerinin % 25'ini meningiomlar oluşturur. Çocukluk çağı meningiomları insidansı %1,5 olup kız ve erkeklerde eşit oranda görülmektedir. Ortalama görülme yaşı 11.6'dır (9,138). Adölesan çağı meningiomlarının %24'ü Von Recklinghausen Nörofibromatozis' li hastalarda ortaya çıkar (59,92).

Yerleşim yerleri yetişkinlerden farklılık gösterir. Erişkinlerde meningiomlar %90 supratentorial yerleşimlidir. Çocuklarda meningiomların meninkslerin bulunduğu her lokalizasyonda görülebilir, sıklıkla durayla ilişkili olmakla birlikte pediatrik meningiomaların %30'undan fazlası sadece intraparakimial veya intraventriküler yerleşimlidir. İntraventriküler, posterior fossa ve spinal epidural yerleşimler çocuk yaşlarda daha siktir (42,43,48,83,98,116,146). Pediatrik meningiomalar %70-86 supratentorial, %15-19 infratentorial ve %9,4-13 oranında intraventriküler yerleşim göstermektedirler. (116)

2.4. Etiyoloji ve Terminoloji

W.W. Keen, kendisinin 1887'deki ilk cerrahi meningioma vakasından sonra travma ile meningiomanın muhtemel bağlantısını vurguladı (77).

Cushing, 1922'de yayınladığı makalesinde, birçok vakada yıllar önce travmaya maruz kalan kafatası bölgesinde tümöre rastladığını ve travma ile meninkslerin zedelendiğini ve bunun sonucunda da lokal olarak hücre kümelerinin toplanarak hastalık oluşturduğunu iddia etmişti (38).

Ayrıca, kronik abse gibi kronik irritasyon, kanama ve tüberküloz gibi nedenlerin de meningioma ile muhtemel birlikteliğinden bahsedilmişti. Cushing, von Recklinghausen hastalığında artmış meningioma insidansını görerek konjenital nedenlerin de meningioma gelişimine neden olabileceğini belirtmişti (37,41).

Cushing, aynı tip tümörlere farklı isimlerin verilmesinden doğan karmaşıklığın basit ve uygun bir isim verilerek ortadan kalkacağını savunmuştu. Hücresel birleşiminin tartışmalı olmasından dolayı histogenetik bir ismi uygun görmemiş bu tümörlerin çok yaygın bir şekilde bulunan leptomeninkslerden kaynaklandığını düşünerek bir "doku ismi" nin verilmesinin uygun olacağını düşünmüştü "meningioma" isminin en uygun olacağını söylemiş ve bunu da 1922'de Cavendish toplantısında 85 vakasıyla birlikte sunmuştur. Bu, daha sonra aynı yıl Brain'de yayımlanmıştır (11,38,37).

En önemli iki etken iyonize radyasyona maruz kalmak ve hormonlar olarak düşünölmektedir.

2.4.1. Radyasyon

Bilinen en önemli hazırlayıcı faktör radyasyon olup ilk olarak 1953'te Mann ve arkadaşları radyoterapinin neden olduğu meningiomla ilgili yayın yapmıştır (94).

Modan ve arkadaşlarının 11.000 çocukta yaptığı istatistik analiz sonucu radyasyon alanlarda kontrol çalışma grubuna oranla 4 kat daha fazla meningiom geliştđini saptamışlardır (99).

1960 yılından önce Tinea kapitis tedavisi amacı ile radyoterapi alan kişilerde normal popülasyonun 4 katı meningiom geliştđi gözlemlenmiştir (99).

Radyasyon ilişkili meningiomlar, nadir görölmekle birlikte, daha çok herhangi bir malignite nedeniyle alınan yüksek doz kraniospinal radyoterapinin geç dönem komplikasyonu olarak görölmektedir (33,88).

Ayrıca radyoterapi alan hastalarda; birden fazla meningiom gelişimi, anaplastik dönüştüm, cerrahi sonrası erken tekrarlama ile radyoterapi arasındaki ilişki anlamlıdır. Genel toplumda meningiom tanısı ortalama yaşı 58 iken düşük doz radyasyon alan grupta 45, yüksek doz alan grupta ise 31'dir. Meningioma oluşumunda ve ortaya çıkma yaş ortalamasının düşmesinde radyasyonun önemli bir risk faktörü olduğu düşünölmektedir (25).

2.4.2. Hormonal Faktörler

Meningiomalarda östrojen ve progesteron reseptörlerinin varlığı ilk olarak 1979 yılında saptandı (45). Perrot-Applanat ve arkadaşları tarafından yapılan 36 hastalık bir çalışmada hastaların %72'sinde progesteron reseptörü pozitif tespit edilmişken hiçbir hastada östrojen reseptörü tespit edilmediğini ve progesteron reseptör pozitif çıkan hastaların büyük oranda kadın hasta olduğunu, patoloji sonuçlarının WHO Grade 1 olduğunu bildirmişlerdir (115).

Hsu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada östrojen ve progesteron reseptörü ile mitotik indeks arasındaki korelasyon araştırılmış ve sonuçta progesteron yokluğu, yüksek mitotik indeks ve yüksek tümör grade'nin yaşam süresini kısaltan en önemli faktör olduğunu bildirmişlerdir (71). Ayrıca progesteron reseptör pozitifliği %83 ve östrojen reseptör pozitifliği %8.3 bulunmuştur.

Sonuç olarak yüksek mitotik indeks ve progesteron reseptör yokluğu en önemli kötü prognostik gösterge olduğunu düşünmektedirler (71).

Meningiomların kadınlarda daha sık görülmesi, hamilelikte büyüme hızlarının artması ve meme kanserleri ile birlikte görülebilmeleri hormonlar ile olan ilişkisini düşündürmektedir (22,96,97,134).

Custer ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 142 hastanın sadece 2 (%1) hastada östrojen reseptör pozitifliği ve 130 (%92) hastada progesteron reseptör pozitifliği olduğunu tespit edilmiştir. Oral kontraseptif kullanımının meningioma riskini hafif artırdığını ancak anlamlı olmadığını ifade etmişler. Ayrıca postmenopozal meningioması olan hastalarda hormon replasman tedavisinin anlamlı koruyucu etkisinin olmadığını bildirmişlerdir (39).

Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada progesteron ve glukortikoid reseptörler meningiomlarda fonksiyonel olduğunu ayrıca glukokortikoidler ve progesteronların muhtemelen meningioma büyümesinde önemli bir role sahip olduğunu bildirmişlerdir (179).

Atipik veya anaplastik meningiomlar sıklıkla progesteron reseptör yokluğu gösterirler (50). Progesteron reseptör negatif meningiomlar pozitif olanlara oranla daha büyük olma eğilimindedirler (29,71).

Meningiomalarda Progesteron reseptörlerini izleyerek östrojen reseptörleri ve endotelial growth faktör reseptörleri en çok araştırılan reseptörlerdir. Transferrin reseptörü, Tiroid hormon reseptörleri, androjen reseptörleri plasminogen aktivatör reseptör (PAR) 1-tip, trombin reseptörleri, platelet-derived growth faktör reseptörleri, prolaktin reseptörleri, muskarinik asetilkolin reseptörleri, endotelin reseptör, CXC reseptörü, glukokortikoid reseptörleri, interleukin 4 reseptör, insülin like growth faktör (IGF) reseptörleri meningiomlarda saptanan ve üzerinde çalışılan diğer reseptörlerdir (122,139).

Endotelial growth faktör reseptörleri seks reseptörlerinden sonra en çok araştırma konusu olan reseptörlerdir (143,164)

2.4.3. Geçirilmiş Kafa Travması

Meningiom tanısı almış olguların bir kısmında öz geçmişinde ciddi kafa travması öyküsünün varlığı dikkati çekmektedir, ancak bunun etyolojik rolü ile ilgili kesin kanıt saptanmamıştır.

Cushing, kafa travmasının meningiomlar için risk faktörü olduğunu söylemiştir ve Eisenhardt ile 1938 yılında yaptıkları çalışmada, hastaların önemli bir kısmında kafa travması öyküsü olduğu ve bunlarda dura mater yaralanması ve yabancı cisim kalıntıları olan yerlerde tümörün olduğu gözlemlenmiştir. Kronik subdural hematoma olan hastalarda uzun süreli irritasyonla nedeni ile meningiom oluşumu bildirilmiştir (36).

Preston-Martin ve arkadaşları daha önceden kafa travması geçiren hastalarda kontrol grubuna oranla meningioma oluşma riski belirgin yüksek olduğunu belirtmişlerdir (127).

Olgu kontrollü çalışmalar geçirilmiş kafa travması ile artmış meningioma oluşumu riski arasında bağlantı gösterebilir, geniş örneklemlili çalışmada bu ispatlanamamıştır

2.4.4. Genetik

Aile öyküsü temelli ve geniş örneklemlerle yapılan çalışmalar; penetrasyonu yüksek ancak nadiren kalıtsal olan genetik geçişi işaret etmektedir. Ancak yakın zamanda bu genlerin esasen NF2'li ailelerde görülen genler olduğu kanısı oluşmuştur. İsveç çalışması meningioma gelişimi ile ailede meningioma bulunmasını istatistiksel olarak anlamlı bulmuştur. Ailesinde benign beyin tümörü veya melanoma olan kişilerde meningioma riskinin arttığı gösterilmiştir (68).

Son yıllarda meningiomlarla ilgili genetik çalışmalar artarak devam etmektedir. Genetik araştırmacılarına göre meningiomlarla ilgili gen 22. kromozomun uzun kolunda yer almaktadır. Uzun kolunu merkezinde lokalize kromozom anomalileri bildirilmiştir. Meningiomlarda 22. kromozomun bir kopyasının kaybı durumunda (monozomi) hastaların %50'sinde meningiom olduğu tespit edilmiştir ve 22. kromozom üzerindeki allel kaybı tümör rekürrensine yol açan histolojik özelliklerle birliktelik göstermektedir. Yapılan çalışmalar meningiomlarda inaktive olan bir tümör supressör genin varlığını göstermektedir (45,159).

Nörofibromatozis tip-2 yüksek meningiom sıklığı gösteren bir hastalıktır ve geni meningiom gen bölgesine yakındır (15,23). Ayrıca daha nadir olarak görülen Gorlin sendromu, Cowden sendromu ve Werner sendromu, Li-Fraumeni sendromu, Von-Hippel Lindau sendromu, Turcot's/Gardener sendromu gibi kalıtsal tümör sendromlarında da meningiomların geliştiği bilinmektedir (129).

Meningiomlarda c-sis / PDGF proteinleri ve PDGF reseptörleri vardır; bu durum tümör büyümesinde 22. kromozomdaki değişiklikler ile tetiklenen muhtemel bir otokrin hücre stimülasyon kontrolünü akla getirmektedir (21,25,51). Ayrıca malign, ilerleyici ve tekrarlayan meningiomlarda yapılan bir çalışmada hibridizasyon (FISH) yöntemiyle 22, 1p ve 14q delesyonları gösterilmiştir (8).

2.4.5. Virüs

Bazı çalışmalarda etyolojide virüslerinde etkili olabileceğini düşünmüşlerdir.

Inoue yaptığı çalışmada bir DNA virüsü olan Inoue-Melnick Virüsünü izole edildiğini bildirmiştir. Ancak tüm bunlara rağmen meningioma oluşmasında viral etyoloji henüz net aydınlatılabilmemiş değildir (70).

2.5. Patoloji

1705'te Pacchioni, araknoidal granülasyonları (Pachoniyen granülasyon) tanımlamış ve 1846'da Rainey, araknoidal granülasyonların meningeal kökenli olduğunu göstermiştir (25). 1902'de Martin Schmidt bu tümörlerin araknoid villileri örten hücre gruplarına benzediğini ortaya koymuştur (12). 1915'te Cushing ve Weed, meningeal tümörlerin araknoid kap hücrelerinden ortaya çıktığını göstermişlerdir (11,12).

Meningiomlar makroskopik olarak yerleşim yeri ve büyüklüklerine göre farklılık göstermekle beraber iyi sınırlı, küre, oval biçiminde, nodüller ya da düzgün yüzeyli bazen de lobüle görünümünde bulunurlar. Bir kısmı plak şeklinde olup çevre kemik dokuyu infiltre edebilir. Meningiomlar dura veya venöz sinüs invazyonu gösterebilir de çevre parankimden kolayca ayrılabilirler. Nadiren dura bağlantısı olmayan meningiomlarda tanımlanmıştır. Meningioma kesit yüzeyi sıklıkla solid ve lobüle olup gri-pembe renktedir (56,19,88).

Mikroskopik olarak tipik bir meningiom hücresi; sitoplazmik invajinasyon nedeniyle inklüzyon içeren yuvarlak ya da oval veziküller nükleuslu, membran sınırları belirgin olmayan bir görünüme sahiptir (88). Psammoma cisimcikleri meningiom hücresi için tipiktir ve epitelial membran antijeni %80 pozitif olduğu için tanıda değerlidir (78,178).

Görünümlerine göre; globüller ve yassı (En plaque tip) şeklinde tanımlanırlar. Globüller tip sıklıkla düzgün, sferik ve iyi bir kapsül yapısına sahiptir. Yassı görünümdekiler ise dura boyunca yayılıp hatta durayı geçerek kemikte lezyon yapma eğilimindedirler. Belirgin bir kapsül yapısına sahip değildirler (56).

Meningiomların kemikte yapmış olduğu en belirgin değişiklik hiperosteozeistir. Havers kanallarının hiperemik konjesyonu, mekanik etki, venöz staz ve hücrelerinin osteoblastlar içine metaplazik farklılaşmaları sebep olarak gösterilmektedir. Sıklıkla iç tabula tutulmakta fakat sfenoid kanat ve temporal kemik gibi kemiğin ince olduğu yerlerde dış tabulada tutulmaktadır (67).

Peritümöral ödem meningiom vakalarının 2/3'ünde gözlenmekte olup, bunun etkisiyle beyin fonksiyonlarında önemli değişikler ortaya çıkmaktadır. Peritümöral ödem oluşumunda Hemodinamik teori, Serebral kompresyon teorisi, Vasküler kompresyon teorisi, Sekretuar teori, Hormonal teori üzerinde durulmuştur (128). Bazı çalışmalarda farklı histolojik tiplerde, meningotelyamatöz, transizyonel tip ve atipik tiplerde beyin ödeminin daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Kistik olanların solid olanlara kıyasla daha çok ödemli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (23,54,120). Yaşargil, peritümöral ödeme etki eden faktörleri şöyle sıralar; Tümörün östrojen ve progesteron aktivitesi, malign değişimler, beynin kompresif iskemisi sonucu kan-beyin bariyerinin bozulması, venöz mekanik tıkanma ve tümör içinde hidrostatik basıncın artışı (174).

1993 yılında WHO tarafından meninks tümörleri iki ana gruba ayrılarak sınıflandırılmıştır. Ancak bu sınıflandırma benign ve atipik meningioma ile atipik ve malign meningioma arasında iyi tanımlanmamış sınırlar içerdiği için WHO 2000 yılında daha objektif kriterler önermiştir (112).

Meninks tümörlerinin WHO'ya göre 2000 sınıflandırması;

1. Meningotelyal Hücrelerin Tümörleri

A. Meningioma

1. Meningotelyal
2. Fibröz(Fibroblastik)
3. Transisyonel
4. Psamatöz
5. Anjiomatöz
6. Mikrokistik
7. Sekretuar
8. Lenfoplazmositik
9. Metaplastik
10. Berrak Hücreli
11. Kordoid
12. Atipik
13. Papiller
14. Rabdoid
15. Anaplastik

2. Mezenkimal, Nonmeningotelyal Tümörler

1. Lipoma
2. Anjiolipoma
3. Hibernoma
4. Liposarkoma
5. Soliter Fibröz Tümör
6. Fibrosarkoma

7. Malign Fibröz Histiyositoma
8. Leimyoma
9. Leimyosarkoma
10. Rabdomyoma
11. Rabdomyosarkoma
12. Kondroma
13. Kondrosarkoma
14. Osteoma
15. Osteosarkoma
16. Osteokondroma
17. Hemanjiyoma
18. Epiteloid Hemanjiyoendotelyoma
19. Hemanjiyoperisitoma
20. Anjiyosarkoma
21. Kaposi sarkomu

3. Primer Melanositik Lezyonlar

1. Diffüz Melanositozis
2. Melanositoma
3. Malign Melanoma
4. Meningeal Melanomatosis

4. Histogenezi Bilinmeyen Tümörler

1. Hemanjiyoblastoma

WHO beyin tümörleri içindeki meningotalyal hücrelerden kaynaklanan tümörleri alt gruplara bölmüştür.

Grade I; Bening Meningiomlar		Grade II; Atipik Meningiomlar		Grade III; Anaplastik Meningiomlar
Meningotelyal	Sekretuar	Atipik		Anaplastik
Fibröz	Mikrokistik	Berrak Hücreli		Rabdoid
Transisyonel	Lenfoplazmositik	Kordoid		Papiller
Psammomatöz	Metaplastik			
Anjiyomatöz				

Farklı Meningiom tiplerinin büyük bir kısmı benzer klinik özelliklere sahiptir fakat bir kısmı daha agresif seyrederek ve nüks sıklığı farklılık göstermektedir. Bundan dolayı sitolojik özellikler ve histolojik farklılığın önemli olduğu değerlendirilmiştir (71). Meningiomada invazyondan söz edebilmek için neoplastik hücrelerin pia materi geçip kortekse ilerlemesi ve yoğun glial doku ile çevrelenmesi gerekmektedir (133). Histopatolojik olarak benign meningioma, anaplastik meningioma ve atipik meningioma birbirinden ayırt edilmesi klinik bakımdan büyük önem taşımaktadır. Çünkü meningiomlar genellikle lokalize kalırlar ve nadiren metastaz yaparlar (102). Seyrek görülmeyle birlikte, en sık akciğere metastaz görülür (126).

En sık görülen histolojik tip Meningotelyal meningioma'dır. Poligonal yapıda hücrelere ve büyük nükleusa sahiptir. İntranükleer psödoinklüzyon sık görülür. Retikülin, elastik, kollagen fibriller vardır. Psammoma cisimleri nadir olup mitoz genellikle yoktur (136,162). Fibröz meningioma da 22. kromozom anomalisi siktir ve tümöre sertlik veren kollagen ve retikülin liflerden yoğun stroma yapısına sahiptir. Psammoma cisimcikleri nadirdir (118,136).

Belirgin uzamış iğ şeklindeki hücreler Transisyonel (Mikst) tipte belirgindir. Psammoma cisimleri ve sinsityal hücreler sıklıkla gözlenmektedir (81,136).

Sekretuar meningioma; PAS pozitif inklüzyonlar ve gland oluşumları bulunması ile karakterizedir. Kan damarları çevresinde perisitler olması tipiktir. CEA, CA 19-9, progesteron, EMA ve sitokeratin reseptörü pozitiftir. Genellikle benign olup sfenoid kanatta ve frontal konveksite sık görülür (10,81,118). Diğer Meningiom tiplerine kıyasla kadınlarda daha sık görülen tip Mikrokistik meningioma'dır. Mikrokistik matrice sahiptir ve müsinöz bir yapı içerir (81,136).

Psammomatöz meningioma; Spinal lokalizasyonda ve olfaktor olukda sık gözlenir. Bu tipte psammoma cisimleri oldukça sıktır (51,93). Daha çok çocuk ve gençlerde görülme eğiliminde olan tip Lenfoplazmositten zengin meningioma'dır. Nadir görülen bu tipte lenfosit ve plazma hücreleri infiltrasyonlarının bulunması tipiktir (81,118). Yoğun vasküler ve hetorejen yapıya sahip olan tip Anjiomatöz meningioma'dır (81,136). Metaplastik meningioma; Bu tümörler kemik, kıkırdak, lipomatöz, lipoblastik, ksantomatöz ya da miksomatöz odaklar içeren meningotelyal transizyonel veya fibroblastik meningiomlardır (81,136).

Atipik meningioma; Artmış mitotik aktivite, sellülarite artışı, yüksek nükleer/sitoplazmik oran, belirgin nukleoluslar, tabaka tarzında büyüme ve nekroz alanlarının bulunması ile tanımlanır. Yüksek rekürrens oranı nedeni ile atipik meningiomlar cerrahi sonrası sıkı takip edilmelidirler (136,162). Genellikle Pontoserebellar açı ve Kauda equina yerleşimli olan Berrak hücreli meningioma glikojen birikimli berrak sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Görünüş olarak benign görülmekle beraber malign seyretmektedir (81,136). Kordoid meningioma nadir görülür. Vakuollü hücreler (kordoid) içerir. Histolojik olarak kordomayı taklit edebilir. EMA (Epitelial Membran Antijeni), vimentin içi immun boyanma, belirgin sitokeratin varlığı tanıda önemlidir. Komşu beyin dokusuna infiltre olabilir ve ansefalit ile karıştırılabilir (118,136)

Anaplastik meningioma; KI67 (MIB1) antijeni sıklıkla (+)'dir. Beyin invazyonu, nekroz ve mitotik aktivite içerir. Uzak metastaz gösterebilir. Bu tümörler cerrahi sonrası radyoterapiye ve adjuvan tedaviye ihtiyaç gösterirler. Nadir görülürler, %1.2-10 oranındadır (136,162). Papiller meningioma; genellikle Çocukluk ve genç erişkin dönemde görülmektedir. Genellikle supratentoriyal ve parasagittal yerleşimlidir. Uzak metastaz ve beyin invazyonu göstermektedir. Bu nedenle oldukça maling kabul edilmektedir. Papiller yapı nekroz, mitoz ve hipersellülarite gibi malign özellikler göstermektedir (90,111,136). Rhabdoid meningioma da yüksek mitotik aktivite mevcut olup KI67 (MIB1) antijeni ve vimentin (+)'dir. Klinik olarak oldukça kötü seyirlidir (78,118,136).

Malign histolojik özellikler kısa yaşam zamanları ile ilişkilidir (75). Atipik veya anaplastik meningiomlar sıklıkla progesteron reseptör yokluğu gösterirler (50). Progesteron reseptör negatif meningiomlar pozitif olanlara oranla daha büyük olma eğilimindedirler (29,71).

Atipik meningiomlarda anaplastik meningiomlara gidiş sıklıkla 1p, 6q, 10q, 14q, 18q kromozom kollarındaki tümör supressör genlerinin genetik bilgisinin kaybına bağlı olduğu gösterilmiştir. Anaplastik meningiomlar 9p21 üzerindeki CDKN2A tümör supressör geninin homozigot delesyonunu ve 17q23' ten ardışık uzanımlar gösterir (162). Bu genetik değişimlerin gösterilmesi ileride meningioma gradelenmesi ve prognozunda moleküler tanı olarak önemli olacağına inanılmaktadır.

Meningiomlarda Ki-67 ekspresyonu ile meydana gelen proliferasyon nedeni ile Ki-67 moleküler belirleyicilerin en önemlisi olarak kabul edilmektedir (88). Ayrıca integrinlerin aşırı ekspresyonun iyi, VEGF, katepsin B ve L, MMP-2, MMP-9, MMP-11 (stromelysin-3), osteonektin, PDGF, tenascin ve ets-1 transkripsiyon faktörünün aşırı ekspresyonun kötü prognoz göstergesi olduğu saptanmıştır (79,114,117,137,149,157,171). Ayrıca Telomeraz aktivitesinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu yönünde çalışmalar bulunmaktadır (26,87).

2.6. Belirti ve Bulgular

Meningiomların belirti ve klinik bulguları yerleşim yerine, büyüklüğüne ve gelişme hızına bağlı olarak değişir. Meningiomlar genellikle yavaş büyüdükleri için belirtilerin başlangıcı ile tanı konulması arasındaki süre uzamaktadır. Malign menengiomlarda bu süre özellikle oldukça kısalmaktadır (9,59).

Meningiomlar genellikle kafa içi basıncın 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 (56,57). Epilepsi, hastaların %50'sinde görülür. Fokal ya da generalize nöbet tarzında olabilir. Genaralize nöbetler sıklıkla frontal ve oksipital lob tümörlerinde, fokal nöbet en sık orta parasagittal bölge tümörlerinde görülmektedir (116). Meningiomların %5 kadarında kanama görülmektedir. Bunların büyük bir kısmı tümör içine kanamadır. Genellikle konveksite ve parasagittal yerleşimli ve %20'sinden fazlası maligndir (57).

Tüm intrakranial meningiomların yaklaşık %20-30'unu Parasagittal ve Falks Meningiomları oluşturur. Parasagittal meningiomlar; Süperior sagittal sinüse invazedirler ve konveksite durası ile falks arasındaki alanda bulunurlar. Falks meningiomları; Falks veya inferior sagittal sinüsten gelişerek hemisferin iç yüzüne bası oluşturur. %50 kadarı falksı geçerek asimetrik ve iki taraflı büyür. Bu bölgede yerleşen meningiomlar skalpte anormal venöz genişlemelere ve kemikte hiperosteoze neden olabilirler (56,57, 167).

Parasagittal ve falks meningiomlarında Süperior sagittal sinüs'ün 1/3 ön kısmına yerleşenler (Krista galli ile koroner suture arası) genellikle kafa içi basınç artışı semptom ve bulguları yanında bellek-zeka-karakter bozukluğu, generalize nöbet, ataksi, tremor ve idrar inkontinansı gibi bulgulara neden olabilirler.

Süperior sagittal sinüsün 1/3 orta kısmına yerleşenler (koronal suture ile lambdoid suture arası) tipik olarak karşı taraf alt ekstremiteden başlayan jacksonian fokal epilepsiler ile ilerleyici hemiparezilerdir. Santral sulkus arkasında yer alan tümörlerde kortikal duyu bozuklukları görülebilir. Süperior sagittal sinüs'ün 1/3 arka kısmına yerleşenler

(lambdoid sütur ile torkuler herofili) genellikle yaygın başağrısı, vizyon kaybı ve homonim hemianopsi'ye yol açarlar (56,167)

Konveksite Meningiomları; Dural sinüslerle bağlantısız olarak serebral hemisferlerin konveks yüzleri üzerindeki alanda gelişir. En sık parasagittal korteks, anterior sylvian bölgesi ve koronal stura yakın olan bölgeye yerleşirler. Koronal meningiomlar tüm konveksite meningiomlarının 1/3'n luşturur, artmış intrakranial basıncı ile ilgili semptomları, kol ve yüzü tutan kuvvet kayıpları, kişilik değişiklikleri, fokal epileptik nöbetlere neden olabilir.

Parasantral tümörler motor ve duyu korteksini tutarlar ve karşı taraf üst ekstremite ve yüzü tutan fokal nöbetler görülebilir. Duyu kayıpları parietal yerleşimli tümörlerde epileptik nöbet, karşı taraf vücut yarısında kuvvet kaybı ve homonim görme alanı defektleri ise temporal yerleşimli tümörlerde grlmektedir (9,57,167).

Sfenoid Kanat Meningiomları; Tüm intrakranial meningiomların %17-20'sini luşturur. n ve orta kranial fossalar arasındaki sınırı luşturan sfenoid kanatta gelişen meningiomlar yakın komşulukları nedeniyle n fossa, orta fossa, orbita, kavernöz sinüs ve sylvian fissüre kadar yayılabilirler. Yerleşim yerlerine göre e ayrılır;

Sfenoid kanat 1/3 iç kısım (klinoidal) meningiomları; Anterior klinoid veya kavernöz sinüs durasından köken alan bu tümörler karotid arter-dalları, optik sinir-traktı ve kavernöz sinüs ile yakından ilişkilidir. Bu nedenle tümör oldukça erken dönemde ortaya çıkan görme kaybı, 3. , 4. ve 6. kafa çifti felçleri ile kendini gösterir. Lezyon tarafında optik sinir kompresyonuna bağlı olarak birincil optik atrofi, karşı tarafta ise kafa içi basıncı artımına bağlı papil stazı yani "Foster-Kennedy Sendromu" ortaya çıkabilir. Oftalmopleji sıklıkla süperior orbital fissür seviyesindeki 3. kafa çiftinin basısına bağlıdır. Hipotalamus ve hipofize bası gelişmesi durumunda hormonal bozukluklar görülebilir. Ayrıca tümörün büyüklüğüne bağlı olarak mental değişiklikler, epileptik nöbetler, tat-koku alma bozukları, poliüri, obezite, karşı taraf kuvvet kayıpları ortaya çıkabilir. Venöz konjesyona, orbital invazyona ve sfeniod kanadın hiperosteozeisine bağlı olarak egzoftalmus sık görülebilir (56,124, 173).

Sfenoid kanat 1/3 orta kısım (alar) meningiomları; Kafa içi basınç artışı bulguları yanında basıya uğrattıkları bölgeyle ilgili olarak koku-tat alma bozuklukları, zeka ve kişilik bozuklukları, karşı taraf kuvvet kayıpları, epileptik nöbet, görme bozuklukları gelişebilir (56,81). Sfenoid kanat 1/3 dış kısım (pterional) meningiomları kafa içi basınç artışı semptomları, temporal lob epilepsileri, hiperosteozis, ağrısız, pulsasyon vermeyen tek taraflı egzoftalmusa neden olabilirler (56,81,173).

Tüm intrakranial meningiomların %5-9'unu suprasellar meningiomlar oluşturur. Tuberkulum sella, planum sfenoidale veya diaphragma sella'dan gelişebilirler. En sık başlangıç semptomu tek taraflı görme alanı kaybı ile asimetrik vizyon kaybıdır. Optik atrofi ve asimetrik görme keskinliği-görme alanı defekti önemli bir bulgudur. Hipofiz basısı sonucu pitüer bozukluklarda ortaya çıkabilir (13,121).

Tüm intrakranial meningiomların %5-15'ini olfaktor oluk meningiomları oluşturur. Anterior fossa kaidesinde, orta hatta krista galli ve tuberkulum sella arasındaki duradan köken alırlar ve genellikle iki taraflı olurlar. En erken bulgusu tek taraflı koku duyusu kaybıdır. Baş ağrısı ve mental bozukluklar sık olarak rastlanmaktadır. Frontal loba ve anterior serebral artere basısına bağlı olarak kişilik değişiklikleri, optik sinire basısı sonucu ise görme alanı defektleri görülebilir. Ayrıca epileptik nöbet, tremor, idrar inkontinansı da görülebilir (108,161, 178).

Temporal Fossa Meningiomları; Küçük boyutlarda ve Gasser ganglionu ile ilişkilidir. Trigeminal nevralji tipik semptomdur. Tek taraflı okulomotor sinir lezyonu ile karşı taraf duyu-motor kayıpları yapabilirler (161,178). Optik sinir kılıfından köken aldığı düşüncülen intraorbital meningiomların en sık rastlanılan semptomları papiller staz, görme azlığı, egzoftalmi ve kemozistir. Sadece optik kanal içinde lokalize olan meningiomlar daha çok optik atrofi ve görme kaybı ile kendini gösterir (63,65,108).

Pineal Bölge ve 3. Ventrikül Arka Kısım Meningiomları; Süperior tela koroidea (velum interpositum) ya da falkotentoriyal bölge durasına bağlı olarak gelişir. Genellikle kafa içi basınç artışı bulguları yanı sıra quadrigeminal bölge basısına bağlı olarak yukarı bakış felci (Parinaud sendromu) gelişmesine neden olur (59,108).

İntraventriküler Meningiomlar; Tüm menengiomer içinde %5'ten daha az bir sıklık göstermekle beraber çocukluk ve adölesan dönemde tüm kranial meningiomların %15-17'sini oluşturur (59,138). Lateral ventrikül meningiomları koroid pleksusundan ya da tela koroidea'dan köken alır. En fazla sol lateral ventrikülde görülür ve bunların dura ile ilişkisi yoktur. Bazen foramen monro yolu ile 3. ventrikül içine uzanım gösterebilir.

3. ventrikül meningiomları; Çok nadir görülürler. Kafa içi basınç artışı bulguları dışında ptosis, nistagmus, dengesizlik, epilepsi, akinezi, poliüri ve polidipsi semptomları görülebilir (4,59,108,138).

Ventrikül meningiomları; Genellikle kafa içi basınç artışı bulguları görülür. İleri derecede büyüdüklerinde obstrüktif hidrosefaliye ve buna bağlı semptomlara neden olabilirler (59,108,138).

Posterior Fossa Meningiomları; Tüm intrakranial meningiomların %10 kadarını posterior fossa meningiomları oluşturur. Cerrahi çıkarımı zor olan lokalizasyonda oldukları için tekrarlama sıklığı yüksektir (21).

Serebellar konveksite meningiomları; %1-2'sini oluşturur. Genellikle serebellar hemisferlerin dış arka kısmında yerleşirler ve sıklıkla obstrüktif hidrosefaliye bağlı kafa içi basınç artışı semptomları yanı sıra kafa çifti sinir lezyonları da ortaya çıkabilir (2,37,56). %2-4'ünü Tentoryum Meningiomları oluşturur. Genellikle tentoryuma yapışık ve çevredeki dural sinüslere invazedirler. Büyük çoğunluğu infratentoryal olarak büyür ve sıklıkla kafa içi basınç artışı semptomları yanı sıra ileri evrelerde kranial sinir lezyonlarına ait bulgulara neden olabilir (56,138).

Tüm intrakranial tümörlerin %10'u pontoserebellar köşe tümörüdür, bunların %10-15'i meningiomlardır. Bu tümörler petröz kemiğin arka yüzüne veya tentoryum alt yüzüne yapışiktır. En sık görülen semptomları 5. , 7. , 8. kranial sinir lezyonları ile obstrüktif hidrosefali bulguları, beyin sapı basısı, trigeminal nevralkji, hemifasial spazm, nistagmus, tinnitus, ataksidir (56,138,161,173). Klivus meningiomları; Bunlar posterior fossa meningiomlarının %10'unu oluşturur. Genellikle klivusun üst kısmında yerleşirler. En sık

görülen semptomları, oksipital ağrı, işitme kaybı, yürüme bozukluğu, vertigo disfaji, ekstremitte paralizeleri, alt kranial sinir tutulumları, serebellar ve piramidal traktus belirtileridir. Bazen klinik olarak vertebro-baziler yetmezlik ile karışabilir (56,138,173).

Tüm intrakranial meningiomların %1.6-3.2'sini Foramen magnum meningiomları oluşturur. Bu bölgede görülen en sık tümörler meningiomlardır. En sık olarak foramen magnum ön ve dış ön kenarına yapışık olup çevre nöral dokulara bası yaparlar. Başlangıç semptomu hareketle artan boyun ağrısıdır. İlerleyen dönemlerde kuadriparezi-triparezi, duyu kayıpları, kranial sinir lezyonları, horner sendromu, sfinkter bozuklukları görülebilir. Geç dönemlerde spastisite gelişebilir. Bu nörolojik defisitlerin çoğu medulla oblangata ve servikal kord basısına bağlı gelişir (49,56, 121,138).

Kavernöz Sinüs Meningiomlar; Bunlar kavernöz sinüs içinden veya dışından köken alıp büyüyebilirler. Kavernöz sinüs meningiomları venöz sinüs ve dura yardımıyla karşı taraf sinüsede invaze olabilir. En sık çift görme, fasial uyuşukluk, başağrısı, görmede azalma, epileptik nöbet görülebilir (56,138,173).

2.7. Radyoloji

2.7.1. Radyografi

Direkt grafilerde meningiomlar için en sık rastlanılan spesifik bulgu hiperosteoizdir. Yetişkin dönemi meningiomlarının %15-44, çocukluk dönemi meningiomların %10'ununda bu bulguya rastlanılır (66).

İntrakranial meningiomların neden olduğu hiperosteoizisin etiolojisi tam olarak bilinmemekle beraber tümör hücreleri tarafından oluşturulduğu, etkilenen kemiğin meningioma karşı reaksiyonu olarak da ortaya çıktığını savunanlarda olmuştur. En sık iç tabula tutulmaktadır. Hiperosteoizis sıklıkla parasagittal, konveksite, subfrontal ve sfenoid kanat meningiomlarında görülür. Diğer sık görülebilen spesifik bulgu kemik destrüksiyonudur. Genellikle hiperosteoizisle birlikte dir. Tümörün lokal kemik basısı ya da kemik infiltrasyonu sonrasında gelişebilir. Sıklıkla konveksite meningiomlarında görülür (59,109). Bir diğer spesifik bulgu da direkt grafide artmış damarlanmanın görülmesidir. Kemik invazyon göstergesi olup tümör etrafındaki lokal damarlanma artışı,

yeni damarlanma ya da, tümör drenajını sağlayan damarlara ait olukların genişlemesi bu görüntünün nedenleridir. En sık parasagittal ve konveksite meningiomlarında görülmektedir (59). Bir diğer spesifik bulgu da direkt grafide görülen kalsifikasyonlardır. Daha nadir olup %5-20 arasında görülür (59,109).

2.7.2. Bilgisayarlı Beyin Tomografisi (BBT)

İntrakranial meningiomların %80-96 oranında BBT ile tanı konulur (59). Meningiom tipik olarak kontrastsız BBT’de sferik veya yuvarlak, düzgün sınırlı, %25 izodens, %70-75 hiperdens, %1-5 hipodens olarak görülebilir. Hiperdens görüntünün tümör içi su yoğunluğunun azalmasına, damarlanma artışına ve mikroskopik kalsifikasyonlara bağlıdır. Hipodens görüntüm kistik dejenerasyon, lipid birikimi, kanama veya nekroza bağlıdır. Meningiomlar genellikle homojen ve yoğun bir kontrast tutma eğilimindedirler (101). Meningiomların %15-20’sinde kalsifikasyon görülür. Kalsifikasyonlar ufak, noktasal, dairesel ya da daha az sıklıkla nodüler tarzda olabilir. Hiperosteozis ve kemik destrüksiyon BBT’nin kemik penceresinde net bir şekilde değerlendirilir. Meningiomların 2/3’ünde komşu beyin dokusundaki ödem BT’ de kitleyi saran düşük dansite alanı olarak görülür (101).

Meningiomların BBT’de tipik bulguları; Düzgün, iyi sınırlanmış kenarlar geniş tabanlı dural tutulum, periferik lokalizasyon, kontrastsız BBT’de beyin dokusuna oranla hiperdens görüntüm, beyaz cevherde konkavite, fokal kalsiyum depozitleri, ılımlı homojen kontrast tutulumu, komşu kalvaryumda hiperosteozis, komşu beyin dokusunda hipodansite (109,131).

2.7.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

MRG invaziv olmaması, mükemmel yumuşak doku rezolüsyonu, kemik artefaktlarının olmaması, birçok planda görüntü elde etmesi yanında tümör içi vasküler yapılar ve dural sinüs komşulukları gibi ikincil etkilerin gösterilebilmesi yönünden de etkin bir yöntemdir (181).

T1 ağırlıklı MRG tetkikinde meningiomlar gri cevhere göre %60 izointens, %30 hafif hipointens görülürler. Proton dansite ve T2 ağırlıklı incelemede %50 izointens, veya %40 orta derecede hiperintens görülür (177). T1 ağırlıklı kesitlerde ekstraaksiyal kitlenin lokalizasyonu ve ak maddeye basısı görülür. T2 ağırlıklı kesitlerde ise vasküler değişimler, peritümöral ödem ve dural sinüs oklüzyonu görülür. (59,109). T1 ve T2

ağırlıklı görüntülerde tümör damarları, lezyon içinde noktasal ya da çizgisel hipointens (signal void) yapılar tarzında görülür. Hemen hemen tüm meningiomlar yoğun kontrast tutarlar (109).

Yapılan çalışmalarda kontrast tutma oranı, çevresel ödem veya tümör büyüklüğü ile histolojik alt grup arasında korelasyon kurulamamıştır. Ancak bu konuda araştırmalar sürdürülmektedir. %60 meningiomda çevre dural yapının kalınlaştığı ve kontrast tuttuğu görülür buna “dral tail” adı verilir. “Dural tail” meningiom için spesifik olmayıp, yüksek oranda belirleyici bir bulgudur. Schwannomlarda, gliablastome multiformede, ekstrakranial birincil tümörlerin dural metastazlarında bu görüntüye neden olabilir (109,181).

MRG tekniği ile yapılan anjiyografi ve venografi incelemeleri konvansiyonel anjiyografi tekniğine göre noninvazif bir yöntem olması, tümörün besleyicilerini ve özellikle tümör dokusunun venöz sinüleri infiltrasyonunu göstermesi oldukça önemlidir (14,180).

2.7.4. Anjiyografi

Meningiomlarda özellikle cerrahi tedavinin planlanmasında daha nadir olarak tanı konulmasında serebral anjiyografi yardımcı bir tetkik olarak kullanılmaktadır. Meningiomlar vaskülaritesi fazla tümörler olduklarından ameliyat öncesinde serebral anjiyografi yapılarak besleyici damarların lokalizasyonu, büyüklüğü ve venöz sistemle olan ilişkisini gösterilmesinde önemli rol oynamaktadır. (167). Meningiomlar yoğun damarsal içyapıları nedeniyle anjiyografik olarak arteriyel fazda başlayıp beyin dolaşımı süresinin bitimine kadar homojen görünümde ve keskin sınırlı bir boyanma gösterir. Bazen kan akımının hızlı olması nedeniyle erken venöz drenaj olur ve drenaj venleri görülmeyebilir (59,109).

Meningiomların Serebral Anjiyografideki bulguları; Homojen ve keskin sınırlı boyanma, tümörün duraya tutunma yerinde ki arterlerde sunburst görünümü, genellikle normal sirkülasyon zamanı, geç venöz fazda yoğun tümöral kapiller boyanma, sıklıkla eksternal karotid arterin meningeal dallarından çıkan afferet damarlarda genişleme ve kıvrımlaşma, afferent arterlerde arborizasyon ve distal dalların proksimal ana dallardan daha geniş olması şeklinde tarif edilmiştir (59,167).

2.8. Tedavi

Meningiomaların tedavisi esasen cerrahi olarak tümörün çıkartılmasıdır, tam çıkarılması ile şifa sağlanabilen tümörlerdir (76). Cerrahi tedavide amaçlananlar beynin normal anatomik yapısını korumak, parankim ve çevre dokulara zarar vermemek ve tümör nüksünü engellemek için tam ya da mümkün olduğunca tama yakın çıkarılmasını sağlamaktır. Tümör rekürrensini etkileyen en önemli faktör ise cerrahi tedavinin yeterliliğidir. Bu nedenle tümör dokusu ile etkilenmiş duranın ve kemik yapının tamamen eksizyonu hedeflenir. Anatomik lokalizasyon cerrahi rezeksiyon derecesini etkileyen en önemli göstergedir (117).

Meningiomların tedavisinde radyoterapinin yeri tartışma konusu olmuştur. Total rezeksiyon yapılan tümörlerin tedavisinde kullanılmasının daha uygun olacağı üzerinde durulmuştur (31). Optik atrofi, retinit, retinal hemoraji, serebral nekroz, hipogonadotropik hipogonadizm, skalpte nekroz gibi komplikasyonları nedeniyle radyoterapi kullanımı tartışmalı olup özellikle agresif seyirli Malign meningiomlarda cerrahi sonrası tedavisi için önerilmektedir (31).

Malign meningioma olgularında Chan ve arkadaşları radyoterapi alan ve almayan olguları karşılaştırmış ve ortalama sağ kalım süresini radyoterapi alanlarda 5 yıl, almayanlarda ise 7 ay civarında olduğunu bildirmişlerdir (31).

Meningiomlarda östrojen ve progesteron reseptörlerinin varlığı seks steroidlerinin tedavide kullanılabileceğini akla getirmelidir (59). Bu amaçla tamkosifen, bromokriptin, mifeperistone, trapidil gibi ilaçlar denenmiştir ancak meningiomların tedavisinde hormonal tedavinin yeri netlik kazanmamıştır. Yapılan bir yayında meningioma tedavisinde ilk basamak cerrahi olduğunu, tamamen çıkarılmayan veya rekürren olan tümörlerde radyoterapinin verilebileceğini ancak bu tedavilerin hiçbirine yanıt vermeyen malign tümörlerde ekleme tedavi olarak immunoterapi (interferon-alfa) ve kemoterapi'nin (Adriamycine, Dacarbazine, İfosfamide ve Mesna kombinasyonları) yararlı olacağını bildirmişlerdir (86).

Gamma knife tedavisi özellikle 3 cm'den küçük tümörler için uygundur. Daha büyük çaplı tümörler içinde hacimsel küçültme yaparak uygulanacak cerrahi girişimi kolaylaştırır (173).

Kafa kaidesi yeşimli büyük tümörler için radyocerrahi mikrocerrahi ile yaklaşımın bir parçası olmalıdır (123).

Meningiomların rekürensinde en önemli faktör cerrahi çıkarımın tam olarak yapılamamasıdır. Genelde posterior fossa ve tuberkulum sella gibi güç lokalizasyonlarda tekrarlama olasılığı, konveksite ve olfaktor oluk meningiomları gibi kolay ulaşılabilen tümörlerden fazladır (31,98). Parasagittal meningiomlarda tam ya da tama yakın çıkarımda bile rekürrens gelişir. Bunun nedeni ise sintis invazyonudur (98,142).

Benign meningiomalarda rekürrens oranı 20 yılda %19, atipik ve malign meningiomalarda ise 5 yılda %38 ve %78 olarak bildirilmiştir (44,74). Rekürrenste tümörün lokalizasyonu, hacmi, histolojik yapısı, nöral ve vasküler yapılarla olan ilişkisi, daha önce de rekürrens göstermiş olması ve radyoterapi uygulanmış olması suçlanmıştır. Rekürrenste önemli olmayan faktörler ise yaş, cinsiyet, benign histopatolojik özelliğidir (3,59,142). Mathensen ve arkadaşları Simpson Gr 1 ve 2 yapılanlarda 5 yıllık rekürrensin %4 olduğunu ve Simpson Gr 3 ve 4 rezeksiyon yapılan kafa kaidesi meningiomlarında 5 yıllık rekürrensini %45 olarak bildirmişlerdir (173):

Malign meningiomlar rezeksiyonun derecesine bağlı olmaksızın ve daha kısa sürede rekürrens gösterirler (59,98,103,142).

Tablo 1: Meningioma Cerrahisinde Simpson Sistemi (37)

GRADE	Cerrahi çıkarımın derecesi	5 yıllık rekürrens
Gr 1	Tümörün makroskopik olarak dura ve anormal kemik ile total çıkarılması	%9
Gr 2	Tümör makroskopik olarak total çıkarılır ve dural tutulum yeri koagüle edilir	%19
Gr 3	Tümör makroskopik olarak total çıkarılır, dura ve kemik tutulumunun koagüle edilememesi	%29
Gr 4	Tümör parsiyel olarak çıkarılır	%44
Gr 5	Tümörün basit dekompresyonu veya biopsi	---

1992’de Kobayashi ve arkadaşları Simpson sistemini mikroskopik yapılanmayı da dahil ederek geliştirmişlerdir.

Tablo 2: Meningioma Cerrahisinde Modifiye Okudesa - Kobayashi Sistemi (61)

GRADE	Cerrahi çıkarımın derecesi
Gr 1	Dural tutulum ve anormal kemikle birlikte tümörün makroskopik total çıkartılması
Gr 2	Tümörün mikroskopik total çıkartılması ve dura tutulumunun koagüle edilmesi
Gr 3a	Tümörün mikroskopik total çıkartılması fakat dural tutulumun rezeke veya koagüle edilmemesi
Gr 3b	Tümörün intradural mikroskopik total çıkartılması fakat ekstradural uzantıların ve dural tutulumun koagüle veya rezeke edilmemesi
Gr 4a	Tümörün önemli nöral ve vasküler yapıları korumak amacıyla subtotal çıkarılması ve dural tutulumun rezeksiyonu
Gr 4b	Tümörün % 10’ dan azı kalacak şekilde subtotal çıkartılması
Gr 5	Tümörün dekompresyonu veya biopsi

2.9. Ekstra Sellüler Matriks (ESM)

Dokular sadece hücrelerden meydana gelmez. Hücreler ve hücre dışı matriksden meydana gelir. Ekstra sellüler matriks (ESM) sadece hücreler arasındaki bağlantıyı ya da hücrelere desteği sağlamakla kalmaz, hücrelerin davranışları, gelişimi, migrasyonu, proliferasyonu, adhezyonunda rol oynar. ESM polisakkaritlerden ve proteinlerden oluşan karmaşık bir ağ yapısındadır. Makromoleküllerden oluşur. Makromoleküllerin türlerine ve miktarlarına göre bulunduğu dokuya göre özellik alırlar. Kemik ve diş dokusu gibi dokularda ESM oldukça sert yapıda olup kornea da transparan özelliktedir. Tendonlarda ise halat gibi yüksek gerilim gücüne sahip yapıdadır. Bu güne kadar ESM in sadece destek dokusu görevi olan stabil yapıda olduğu düşünülürdü. Son çalışmalar gösterdiği ESM bulunduğu dokunun fonksiyonlarını belirleyen oldukça dinamik bir yapıdır. Bu kompleks organizasyon bir çok hastalığın patogenezinde rolü olmasına rağmen henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Ekstra sellüler matriks; içerisinde makromoleküllerin gömülü olduğu hidrate jelden oluşur. Bu makromoleküller dokudaki hücrelerden sekrete edilen glikozaminoglikanlara (GAGs) kovalent bağlı çekirdek proteininden oluşan proteoglikanlar ve fibroz proteinlerdir. Sıklıkla konnektif dokuda bu hücreler fibroblastlardır. Fibroblastlar spesifik dokularda özel isim alabilirler. Mesela kemik dokuda osteoblast, kıkırdak dokuda kondroblast adını alırlar. Fibroz proteinler; strüktürel (kollajen, elastin), adhesiv (fibronektin, laminin) proteinler olmak üzere iki gruptur. Her iki grup farklı şekil ve büyüklüklerdir.

Polisakkarit jel kompresif güçlere karşı dayanmayı, kollajen lifler ise gerilme gücünü sağlar. Polisakkarit jelin sıvı fazı metabolitlerin, hormonların, besinlerin kan ve doku arasında hızlı difüzyonunu sağlar. Elastik lifler ise esnekliği sağlar. Adhesiv proteinler hücrelerin matriks içindeki kendilerine ait bölümlere yapışmasını sağlar. Örneğin fibronektin konnektif dokunun diğer hücreleri ve fibroblastların yapışmasını sağlar. Laminin ise bazal lamina epitelinin yapışmasını sağlar (6).

Ekstrasellüler matriks makromoleküllerinin düzenlenmesi kritik ve önemli çeşitli biyolojik süreçlerle olur. Bunlardan her biri lokal hücrelerden sekrete edilen ekstrasellüler proteolitik enzimlerle parçalanır. Bu enzimler; matriks metalloproteazlar, serin proteazlardır. Metalloproteazların aktiviteleri için Zn ve Ca bağlanmasına ihtiyaç vardır. Bunlar fibronektin, kollajen, laminin gibi matrix proteinlerini parçalarlar. Kolejanaz gibi spesifik isimler alabilirler. Bu enzimler hücre dışı matriksteki ve hücre yüzeyindeki proteinleri parçalarlar. Tümör hücresinin etrafını boşaltarak, bazal laminanın bütünlüğünü bozarak tümör invazyonunda rol oynarlar (6).

2.9.1. Matriks Metalloproteazlar (MMP)

MMP ler ekstrasellüler matriksin yapısında bulunan proteazlardır. Yapılarında çinko iyonu bulundurup şelat ajanlar tarafından inhibe edilirler. Pro enzim formunda sekrete edilip sonradan aktive edilen zymogenlerdir. Doku metalloproteaz inhibitörleri tarafından (TIMP) inhibe edilirler (95).

İnsan MMP ailesinin 27 üyesi vardır. Bunlar zincir homolojisine, substrat özelliklerine ve domain yapılarına göre sınıflandırılırlar. Yaygın kullanılan sınıflandırma substrat özelliklerine göre olmaktadır.

- a) İntersitisyel kolejanazlar (MMP-1, MMP-8, ve MMP-13), fibriller yapıdaki kollajenleri parçalarlar.
- b) Tip IV kollejanazlar (MMP-2, MMP-9), bazal membran kollajenleri, jelatin, elastini parçalarlar.
- c) Stromelysinler (MMP-3, MMP-10, MMP-11), proteoglikanlar, fibronektin, laminin, jelatin, ve tip IV kolajenin globuler proteinlerini parçalar.
- d) MT-MMP (MT-1, MMP-15, MMP-16, MMP-17) bunlar karboksi terminallerinde transmembran domain içerirler ve hücre yüzeyinde membranına kovalent bağlıdırlar (95,130,140).

2.9.2. Kansere Gelişiminde MMP Enzim Ailesinin Rolü

Temel kanser araştırmaları onkogenlerin fonksiyon kazanmaları veya tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarını yitirmeleri üzerine odaklanmıştır (62,156). Bununla birlikte tümörlerin ve stromal hücrelerin hücre dışı matriksleri tümör gelişiminde oldukça önemlidir (24).

MMP'ler tümör mikro çevresini düzenlemede önemli bir yere sahiptir ve kanserli hücrelerdeki ekspresyonu normal hücrelere nazaran oldukça fazladır.

MMP'ler proteolitik enzimlerdir ve temel olarak protein yıkımında rol oynarlar. Hücre büyümesinde, farklılaşmasında, apoptoziste, hücre göçünde, invazyonda ve tümörlerdeki angiogenez'de bir takım roller üstlenmişlerdir.

Yapılan farmasötik çalışmalarda MMP baskılayıcıları geliştirilmiştir ama klinik denemelerde elde edilen sonuçlar çok olumlu değildir. MMP'lerle yapılan ilk çalışmalar MMP'lerin tümör gelişiminin son safhalarına; metastaz ve invazyon üzerine odaklanmıştır. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise MMP'lerin angiogenez'de de önemli rol oynadıklarını göstermiş dolayısıyla da MMP'lerin tümör gelişiminde de önemli olduğu ortaya konmuştur.

2.9.3. MMP'ler Ve Hücre Büyümesi

Tümör hücre çoğalması MMP-9 enzimi üretemeyen farelerde üretenlere nazaran çok az olduğu yapılan çalışmalarda ispatlanmıştır (34).

MMP'lerin hücre çoğalma ve büyümesini üç farklı yolla gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Birincisi; MMP'ler hücre zarına tutulu bulunan büyüme faktörlerini serbest bırakır (119). İkinci olarak peptid büyüme faktörleri MMP'ler vasıtasıyla aktifleşir. Örneğin IGF MMP'ler tarafından IGF-BF arasındaki bağ kırılarak aktif hale geçer (93). Üçüncü olarak hücre dışı matriks üzerindeki etkisi sayesinde integrinlerle birlikte hücre çoğalmasını tetikler (4, 20).

2.9.4. MMP'ler Apoptozisi Düzenler

MMP'ler hem apoptozis hem de anti apoptozis üzerine etkisi vardır. MMP-3, MMP-7 ve MMP-11 memede yüksek seviyede sentezlendiklerinde laminini yıkama uğratarak apoptozisi düzenlerler (7). MMP-7 hücre zarında bağlı olan FASL serbest hale getirerek yolaklara bağlı olarak apoptozisi ya uyarır veya baskılar (176). Örneğin MMP-7 ERBB-4 tirozin kinazı aktiveleştirerek hücre canlılığını sağlayan HB-EGF olgun hale geçirerek apoptozisi baskılar. MMP-11'de apoptozisi baskıladığını gösteren çalışmalar mevcuttur (28).

2.9.5. MMP'ler Anjiogenezi Düzenler

Yapılan çalışmalar MMP'lerin anjiogeneze pozitif düzenleyici olduklarını göstermiştir. Temel olarak hücre dışı matriksi yıkarak epitel hücrelerin stromal hücreler arasına girmesine olanak sağlar. Dahası MMP-2, MMP-9 ve MMP-14 direkt olarak anjiogenezi düzenler (84,106). Tavuk deneylerinde MMP-2'nin az sentezlenmesine bağlı olarak yeni damar oluşumunun çok az olduğu gösterilmiştir (47).

2.9.6. MMP Aktivitesinin Düzenlenmesi

MMP'ler zimogenler halinde sentezlenirler. Propeptit domaindeki sistein sülfidril grup ile katalitik domaindeki çinko bağlanma bölgesi arasındaki ilişkiye bağlı olarak bu enzim ailesini inaktif olarak kalmasını sağlar. Aktivasyon için propeptit bölgenin proteolitik aktivite ile uzaklaştırılması gerekmektedir. MMP'ler genellikle hücre dışında ve diğer aktif MMP'ler tarafından ya da serin proteazları tarafından aktive edilir. Bununla birlikte MMP-11, MMP-28 ve MT-MMP enzimleri hücre içi furin benzeri serin proteazları tarafından aktive edilir. MMP-2 ise hücre yüzeyinde MMP-14 ve TIMP'lerin de katıldığı çok basamaklı bir aşamadan sonra aktive olur (150).

TIMP-2 MMP-14'ün amino ucunu pro-MMP-2'nin karboksil grubuna bağlar ve böylece pro-MMP-2 inaktivasyonunu sağlayan bazı bağları kırar. Fakat MMP-14 ve TIMP-2 MMP-2'yi tek başlarını aktif hale getiremez. Bunun için aktif bir MMP-2'ye ihtiyaç duyulur. Aktif MMP-2 inaktif MMP-2'deki propeptid domainin tamamen ayrılmasını

sağlayarak MMP-2'yi aktifleştirir. Ayrıca MMP-15'de pro-MMP-2'yi TIMP-2'ye gerek duymadan tek başına aktif hale getirebilir (100).

MMP aktivitesi endojen inhibitörler vasıtasıyla çok sıkı bir şekilde kontrol edilir. MMP'lerin ana inhibitörü doku sıvısında bulunan α 2-makroglobülin'dir (144). α 2-makroglobülin MMP'lere bağlanır ve bu oluşan bu kompleks scavenger reseptörüne tutunur. Scavenger reseptörü endositoz reseptörüdür. Bu sayede MMP'ler endositoza uğrar ve yıkılır. α 2-makroglobülin gibi trombospondin-2'de aynı görevi görür (172). Bunların yanı sıra trombospondin-1 ise pro-MMP-2 ve 9'a bağlanarak aktivitelerini direk olarak kaybetmelerine yol açar (155).

2.9.7. MMP Substratları

MMP'ler hücre dışı matriksin yapısal elemanlarını yıkar ve böylelikle hücre hareketini kolaylaştırarak hücre göçünü sağlar. Hücre dışı matriksin MMP'ler vasıtasıyla parçalanmasının ardından bazı fragmanlar oluşur. Örneğin laminin-5 ve kollojen tip IV'ün kırılmasıyla kriptomik bölgeler oluşur bu da hücre göçü ve hücre hareketliği için gerekli bir takım etkenlerin arasında yer alır (53,169).

Veya insülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteininin ve perlesanın kırılmasıyla FGF ortaya çıkar ve hücre büyümesi ve bölünmesi uyarılır (93,165). MMP'ler hücre dışı matriksin yıkımının haricinde büyüme faktörü reseptörlerini de yıkıma uğratırlar. Örneğin FGF reseptör-1 MMP-2 tarafından yıkılır (89). Epidermal büyüme faktör reseptörü ve hepatosit büyüme faktör reseptöründe MMP enzim ailesinin substratıdır (15,104).

2.9.8. Deneysel Kanser Modellemelerinde MMP'ler

MMP enzim ailesinin kanserin ilerlemesine katkıda bulunduğu dair kanıtlar hayvan deneylerinde bulunmuştur. Yapılan transplantasyonlarda benign olan tümör türlerinin malign hale gelmesinde MMP'lerin yüksek seviyede üretilmesinin gerekli olduğu gözlemlenmiştir. Tersine malign kanser türlerinin iyileştirilmesinde ise MMP seviyesinin azaltılmasıyla direkt ilişkisi olduğu gösterilmiştir (35).

Yabancı tip fibroblastlarda MMP üretilmemesine rağmen stromal hücrelerde de MMP'ler sentezlenir ki bunlar tümör agresifliğinde oldukça önemlidir. Örneğin MMP 11

üretmeyen ve MMP-2 üretemeyen farelere intravenözden verilen kanser hücrelerinin koloni oluşturmakta oldukça zorlandıkları ve hatta yabancı tip farelere göre neredeyse hiç koloni oluşturamadıkları gösterilmiştir (72,73). Farelerde dokuya has MMP-1 veya MMP-7 salınımı hiperproliferatif hastalıklara ve kansere neden olur (60). İlave olarak Mne çok önemli işle MP-3 ve MMP-14 memedeki süt bezlerindeki üretimini ise spontan göğüs kanserlerine neden olur (147).

2.10. Kollojenazlar

Üç tane kollojenaz (MMP-1, MMP-8, and MMP-13) matriks metalloproteinaz enzim ailesine üyedir ve prensip olarak endopeptidaz özelliklerine bağlı olarak kollojen olan hücre dışı matriksi parçalayabilirler. Kollojenazlar kollojenlere ilave olarak bazı diğer matriks ve matrikse ait olmayan büyüme faktörleri gibi bazı proteinleri de parçalayarak hücre büyümesi ve canlılığını da dolaylı yoldan etkilerler. Kollojenazlar aynı zamanda organ oluşumu ve düzenlenmesinde önemli bir faktör olduğu gibi kanser ve metastaz gibi bazı patolojik durumlarda da oldukça önemlidirler. Bütün bu özellikleri yüzünden kollojenlerin sentezi hücre içinde oldukça sıkı bir şekilde kontrol edilir. Kollojenlerin sentezi hücre dışı sinyallere bağlı olarak gerçekleşir. Kollojenler inaktif formda sentezlenirler ve bir kez aktive edildikten sonra ancak özel birkaç inhibitör vasıtasıyla tekrar inaktif forma dönüşebilirler.

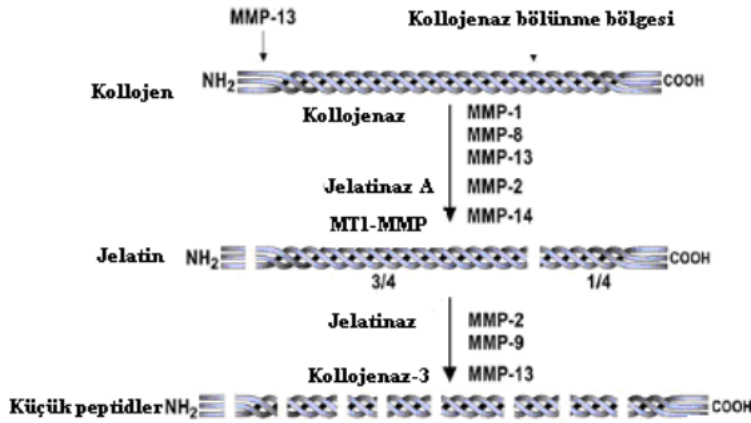
Hücre dışı matriksin kontrollü yıkımı embriyonik gelişim, doku düzenlenmesi ve tamiri gibi biyolojik işlevlerde oldukça önemlidir. Matriks metalloproteinazlar hücre dışı matriksi oluşturan bileşikleri yıkma kapasitesine sahip çinko bağımlı nötral endopeptitazlardır. MMP'ler romatoit artrit, osteoartrit, gibi patolojik durumlarda da önemli rol oynarlar. Ayrıca MMP'ler bazen tümör gelişiminde ve kanser hücresinin yaşamına devam etmesinde önemli roller üstlenirler (91,110).

Kollojenaz I (MMP-1), kollojenaz II (MMP-8) ve kollojenaz III (MMP-13) I, II, III, V ve IX tipi fibriler kollojenleri yıkabilme özellikleri vardır. Yapılan son araştırmalarda MMP-1, MMP-2 ve MMP-14 enzimlerinin kollojenlerde bulunan üçlü heliks yapılarını

çözerek fibriler kollojenleri yıkıma uğrattıkları saptanmıştır (32,154). Kollojenaz I (MMP-1) kollojenin $\alpha 1$ zincirinin Gly775-Ile776 ile $\alpha 2$ zincirinin Gly775-Leu776 bölgesinde spesifik bir degradesyona sebep olur. Bu seçimli yıkım sonrasında 3/4 N-terminal ve 1/4 C-terminal üçlü helikal parçaları oluşur ki bu parçalar normal vücut ısısında jelatine dönüştürülür ve daha sonra bunlarda diğer MMP enzimleri tarafından tamamen parçalanırlar (46,110).

Kollojenazların katalitik aktiviteleri kollojenlerin türüne bağlı olarak değişir. Örneğin MMP-1'in tip III kollojenine MMP-8'in ise tip I kollojenine karşı katalitik aktivitesi oldukça yüksektir (107). MMP-13 ise tip II kollojeni ve jelatini diğer fibriler kollojenlere nazaran daha iyi yıkıma uğratar (135).

Kromozomun uzun kolunda bulunan MMP gen kümesinin telomerik tarafında bulunurlar (113). Bunların haricinde omurgalılarda bulunan dördüncü kollojen ise *Xenopus laevis*'te bulunmuş olup bu enzim bölgesinin sekansı diğerlerinden farklıdır (148).



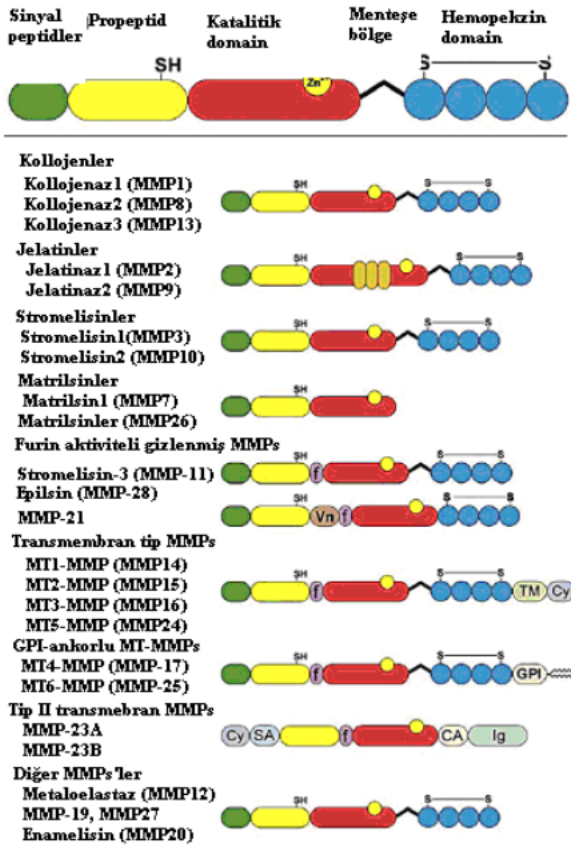
Şekil 1. Fibriler kollojenlerin yıkımı: Fibriler kollojenler MMP-1, MMP-8 ve MMP-13 gibi kollojenazlar tarafından vücut sıcaklığında jelatine dönüştürülür. Ardından bu jelatin parçalar MMP-2 ve MMP-9 daha küçük peptitlere parçalanır (163).

Kollojenler sinyal domaini, propeptit katalitik domaini, menteşe domaini ve hemopeksin domaini olarak birçok domainin birleşiminden oluşur (Şekil 1). N terminal sinyal peptidi

yeni sentezlenmiş kollojenin salınımını yönetir ve aktive edilmiş enzimde bulunmaz. Propeptit domaini katalitik bölgedeki katalitik çinko iyonları ile kovalent bağ oluşturan ve durağan evrenin devamlılığını sağlayan sistein devresi olarak nitelendirilen yapıyı içerir (145).

Katalitik domain MMP'nin proteolitik aktivasyonu için gerekli olan çinko bağlanma sekansı olan HEXXHXXGXXH bölgeyi taşır. Katalitik domainin N ve C terminal uçlarında bulunan aspartik asit ve glutamatça zengin yüksek korunumlu çinko bağlanma bölgesi olan ve MMP'nin proteolitik aktivitesi için gerekli olan bölgeyi içerir. Kollojenazlar proline zengin menteşe domaini ile katalitik domaine bağlanan hemopoeksin domainine sahiplerdir. Hemopoeksin domaini hem substrata özel olmayı hem de proteolitik aktiviteyi düzenler. Aynı zamanda MMP inhibitörleri de bu bölgeye bağlanırlar (17,82).

Stromelisinlerde bağlayıcı bölgedeki karakteristik dokuz aminoasit kollojenlerde yoktur. Bu peptidin kollojenlerde olmaması kollojen bağlanması için gereklidir (69).



Şekil 2. İnsan MMPs domain yapısı. MMPs domain yapılarına ve substrat özgüllüklerine göre sınıflandırılmıştır (86,163).

2.10.1. Kollojenaz I (MMP-1)

MMP ailesinin üyesi olan MMP-1 ilk olarak amfibi kuyruğundan saflaştırılmıştır (28). İlk insan MMP-1 cDNA'sı yetişkin fibroblast hücrelerinden elde edilmiş ve sekansı yapılmıştır (55). İnsandan elde edilen MMP-1 52 kDa ve 57 kDa olan iki farklı glikosilat proenziminden oluşur. Bu propeptidlerde ki bir kırılmayla 42 kDa ve 47kDa'luk iki aktif proteinaz meydana gelir (166).

İn vitro ortamda yapılan hücre kültürlerinde birçok keranositler, hepatositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, kondrositler ve osteositler gibi birçok hücre türünde MMP-1'in salgılandığı gösterilmiştir. MMP-1 hücre dışı matriks birleşenlerinden kollojen I, II, III, VII, VIII ve X tiplerini parçalayabildiği gibi serin proteinaz inhibitörlerini ve $\alpha 2$

makroglobülin gibi diğer bazı proteinleride parçalar (Tablo 3). Bununla birlikte MMP-1 substratları içerisinde temel membran proteinleri yoktur.

Tablo 3: İnsan kollojenazların substratları ve aktivatörleri: AAT, α 1-antitripsin; ACT, α 1-antikemotripsin; 2M, α 2-makroglobulin; IGFBP, insulin-benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini; IL-1 β , interlökin 1 β ; MBP, miyelin temel proteini; MCP, monosit kemoatraktant protein; SDF-1, stromal hücre farklılaşma faktörü- (186).

Kollojenaz	Matris Sustratları	Diğer Sustratları	Aktivatörleri
Kollojenaz-1 (MMP-1)	Agregan, kollojen I, II, III, VII, VIII, X, XI,	AAT, ACT, α 2M, Kazein, C1q, Fibrin,	MMP-3, MMP-7, MMP-10,
	Entaktin/nidojen,	Fibrinojen, IL-1 β ,	Plazmin,
	Fibronektin, jelatin, IGFBP'ler, laminin,	MCP-1, -3, -4, proTNF- α , ProMMP-1,	Kallikren, Şimaz
	Perlakan, tanaskin, Vitronektin	ProMMP-2	
Kollojenaz-2 (MMP-2)	Aggregan, Kollajen I, II, III	AAT, α 2M, C1q, Fibrinojen, ProMMP-8,	MMP-3, MMP-10, Plazmin
	Aggregan, Kollajen I, II, III, IV, IX, X, XIV, Gelatin, Fibronectin,	α 2M, Kazein, C1q, Faktör XII, Fibrinojen, MCP-3, SDF-1,	MMP-2, MMP-3, MMP-10, MMP-14, MMP-15,
Kollojenaz-3 (MMP-13)	Laminin, Large Tenascin C,	ProMMP-2, ProMMP-9,	Plazmin
	Versican, Fibrillin, Osteonectin	ProMMP-13	

2.10.2. Kollojenaz Aktivitesinin Düzenlenmesi

Kollojenler normal olarak düşük seviyede sentezlenirler. Ama aktivasyonları ve üretilmeleri gerekli olduğunda çok çabuk bir şekilde üretilirler. Kollojen üretimi ve salınımı büyüme faktörü, sitokinler, forbol esterleri, fiziksel stres ve onkogenik aktivite gibi hücre dışı sinyallere bağlıdır.

2.10.3. Kollojenaz Aktivitesinin TIMP Tarafından Baskılanması

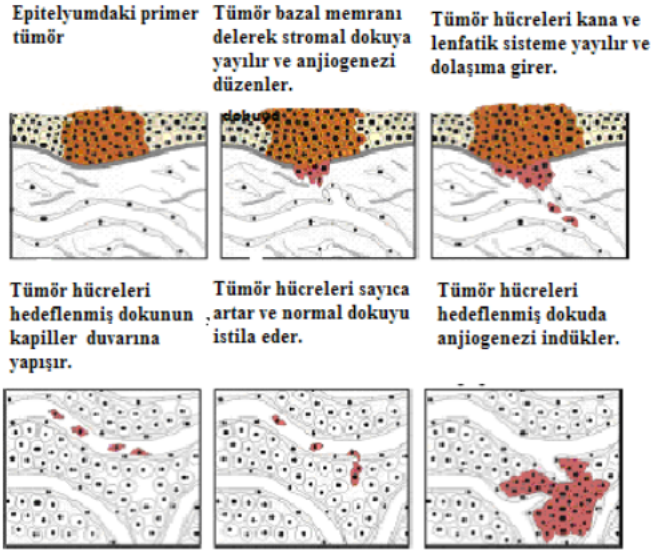
Kollojenazların proteolitik aktiviteleri metalloproteinazların özel doku baskılayıcılarıyla kontrol edilmektedir (TIMP). TIMP ailesinin bilinen dört tane üyesi vardır. Öncelikli görevleri MMP'leri baskılamak ve aktivasyonlarını düzenlemektir (16). TIMP'ler hem proMMP'lerin hem de MMP'lerin çinko bağlanma bölgelerine bağlanarak aktif olanların aktivasyonunu düzenlerler aktif olmayanların ise aktivasyonunu engellerler. Moleküler büyüklükleri 21 ila 28 kDa arasında değişir ve primer yapıları arasında homolojileri oldukça düşüktür. Ama dördüncül yapıları arasında benzerlik vardır. TIMP'ler MMP'leri baskılamak için gerekli olan iki domaini N-terminal bölgelerinde taşırlar. C-terminal bölgeleri ise TIMP'lerin spesifikliğini sağlayan domainler vardır (30).

2.10.4. Hücre İnvazyonunda Kollojenazlar

Salınmış kollojenazlar fibriler kollojenleri yıkabilme kapasitesine sahiptir. Hücre dışı matriksin yıkımı malign hücrelerin invazyonu için oldukça önemlidir. MMP'lerin bu yıkım görevleri sadece malign hücreleri için değil aynı zamanda fibroblastlar ve savunma görevi yapan hücrelerin invazyonunu da kolaylaştırır (160).

2.11. Tümör Hücre İnvazyonu Ve Metastaz

Malign tümör ilerlemesi; normal hücrelerin genetik değişikliğe maruz kalarak çoğalma kontrolünü kaybetmeleri, dokuların etrafında kolonize olmaları ve yayılmasından oluşan çok basamaklı bir işlemdir. Tümörlerde bazal membran; stromal bağ doku ile neoplastik epitel hücrelerini ayıran bir bariyer görevi görür. Malign tümörlerde temel membran yapısı çözülerek neoplastik epitel hücrelerinin stroma içerisine yayılmasına izin verir (18). Tümör invazyonun başlangıcı hücrelerin temel membranla ilişkisinin kaybolması ve hücrelerin daha serbest hareket edebilmesiyle direkt olarak ilgilidir. Genel olarak temel membranda tümör hücre invazyonunun gerçekleşmesi üç aşamada olur. Birinci aşamada neoplastik hücreler temel membranın altında birbirlerine tutunurlar. Ardından malignant hücreler proteolitik enzimler üreterek temel membranı yıkıma uğratırlar. En son aşamada temel membranı geçerek stroma bağ dokusu içine girerler (Şekil 3).



Şekil 3. Metastazın gösterimi (5)

Yapışma, yıkım ve invazyon basamakları tümör gelişiminde hücre dışı matriksin içinde birçok defa tekrarlanır. Malignant tümörler kan ve lenf damarlarıyla vücudun diğer bölgelerine dağılır. Daha sonra damarlar vasıtasıyla dağılan hücreler başka bir yere tutunur temel membranları yıkar ve metastaza yol açarlar. 1 Bunun yanı sıra tümörün gelişimi ve metastazı için angiogeneze de ihtiyaç duyulur (170).

2.12. Mutasyonlar ve Polimorfizmler

Mutasyon DNA'nın sekansındaki veya DNA düzenlenmesinde meydana gelen herhangi bir değişiklik olarak tanımlanır. Mutasyonlar, üç kategoride sınıflandırılır:

1. Genom mutasyonları, hücredeki kromozom sayısını etkileyen kromozomlardır. Mayoz ve mitozdaki hatalardan kaynaklanır.
2. Kromozom mutasyonları, kromozomların yapısını değiştiren duplikasyon, delesyon, insersiyon ve translokasyon gibi kromozomun bir parçasını içine alan anormalliklerdir.
3. Gen mutasyonları, belirli genleri etkileyen mutasyonlar olup tek bir nükleotid değişikliğinden yüzlerce baz çiftini etkileyen değişikliklere kadar uzanan DNA sekans değişiklikleridir.

Mutasyon Çeşitleri:

A. Nükleotid değişimi mutasyonları

- a) Missens mutasyonlar
- b) Bir DNA sekansındaki tek bir nükleotid değişimi (nokta mutasyon) üçlü baz kodunu değiştirir ve gen ürtünde bir amino asitin yerine başka bir amino asitin geçmesine sebep olur. Meydana gelen proteinde fonksiyon farklılığı ortaya çıkar.
- c) Nonsens mutasyonlar
- d) Terminasyon kodonunda meydana gelen bir mutasyon translasyonun erken sonlanmasına yol açar.
- e) RNA kesim mutasyonlar
- f) RNA kesim bölgeleri, şapka bölgeleri ve poliadenilasyon bölgelerinin tahrip olmasıyla veya kriptik bölgelerin oluşmasıyla meydana gelir.
- g) Transisyon ve transversion, DNA sekansındaki pürin bazları yerine başka bir pürin bazını veya pirimidin başka bir pirimidin değişimini içeren nükleotid değişikliklerine transisyon denilir. DNA sekansındaki pürin ile pirimidinin yer değiştirmelerinden kaynaklanan mutasyona ise transversion denilir.

B. Delesyon ve insersiyonlar

Delesyon ve insersiyonlar DNA sekansı üzerinde bazların sekansa girip veya çıkmasından ortaya çıkarlar. Bu mutasyonlara bağlı olarak tamamen yeni bir proteinin oluşabilir veya çerçeve kayması mutasyonunda meydana gelebilir.

C. Dublikasyonlar

DNA kendini eşlerken belirli bir sekans dizisini ardı ardına iki kere eşlemesinden oluşur. Yani, bir sekans dizisi DNA üzerinde tekrarlanır.

D. Translokasyonlar

Homolog olmayan kromozomlar arasındaki nükleotid dizi parçalarının değişiminden kaynaklanan mutasyonlardır.

Polimorfizm bir genin DNA sekansındaki doğal çeşitliliğidir. Yani, iki veya daha fazla alternatif genotipin popülasyonu en az %1'de görülmesidir. Polimorfizmler organizma

üzerinde herhangi bir anormal etkisi yoktur. ABo kan grupları, Rh kan grupları ve MHC polimorfizme örnek olarak verilebilir.

Her yeni zigotun ebeveyn genomlarında bulunmayan 100 civarında baz çifti değişikliği içermesi beklenir. Bu varyasyonların çoğu coding sekansta değil ekstragenig sekansta veya noncoding sekans bölgelerinde bulunur. Genetik çeşitlilik kromozom boyamalarında, protein varyasyonlarında, DNA sekansı değişikliklerinde veya hastalık olarak gösterebilir. Her ne kadar bütün polimorfizmler DNA sekansındaki farklılıkların sonucu olsada bazı polimorfik lokuslar, allellerin kendi DNA sekansında ki farklılıklardan ziyade alleller tarafından proteinlerdeki varyasyonlar incelenerek ortaya çıkarılabilir (52).

2.13. SNP Analiz Yöntemleri

Tek nükleotid polimorfizmi DNA üzerinde herhangi bir şekilde meydana gelmiş tek bir nükleotid değişimidir bu bir delesyon veya insersiyon sonucu meydana gelebilir.

2.13.1. SSCP

Tek zincir konformasyon polimorfizmi analizi (SSCP) bilinmeyen mutasyonların tesbit edilmesinde ve bilinen mutasyonların taranmasında kullanılır. Genetik analiz yöntemleri içinde en kolay uygulanabilen bir metot olduğun içinde her genetik laboratuvarında gerçekleştirilebilir.

SSCP metodunda PZR ile çoğaltılan ürün 95°C'de denature edildikten sonra soğutma veya sodyum hidroksit gibi yöntemler kullanılarak ürünün çift zincirli heliks yapısında dönmesi engellenir. Böyle bir durumda her bir zincir kendisi üzerinde sarmal oluşturarak yapısal dengesini korumaya yönelir. Oluşan bu yeni tek zincirli sarmal yapı oligonükleotitdeki baz dizilimine ve baz sayısına göre değişik konformasyonlar oluşur. Buna bağlı olarak yapılan elektroforezde ürünler aldıkları son konformasyona bağlı olarak farklı uzaklıklarda yürüyeceklerdir. Böylelikle zincirler arasında meydana gelen bu uzunluk farkı zincirlerin bir birinden farklı baz dizilişine sahip olduğunun kanıtıdır.

SSCP yöntemi güvenilirliği 110 ila 280 bp uzunluğundaki PZR ürünleri için geçerlidir. Burada bir diğer husus SSCP yönteminde kullanılan jel özelliği ve ortam şartlarıdır. Gerek jel ve gerekse ortam optimizasyonu alınacak sonuçlara direkt etki edeceğinde SSCP metodunun optimizasyonu olmazsa olmaz şartıdır. Örneğin jel konsantrasyonu ve jel yapımında kullanılan madde içerikleri oldukça önemli parametrelerdir.

2.13.2. RFLP Test Tekniği

DNA seviyesinde tek bir nükleotit değişikliği çoğu kere normal üründen sapmalar meydana getirir. Bunun yanı sıra üründen hiç bir değişiklik yapmayan tek nükleotid polimorfizmleride mevcuttur. Polimorfizmin teşhisinde kullanılan yöntemlerden biride RFLP test yöntemidir.

1980 yılında D. Botstein, R.L. White, M.H. Skolnick ve R.W. Davis yeni bir metot geliştirdiler. Bu metoda göre restriksiyon enzimleri DNA'yı belirli noktalardan kesecekler ve bu kesimlere bağlı olarak farklı uzunlukta oligonükleotid parçaları elde edilecek ve ardından yapılan elektroforez işleminden sonra oluşan bu parçaların uzunluklarına bağlı olarak örnekler arasında baz dizilişi açısından bir fark olup olmadığı gösterilecekti. Nitekim öylede oldu. Örneğin PZR ile çoğaltılmış 1000 bp'lik bir ampikon restriksiyon enzimlerince muamele edilir. Eğer restriksiyon enzimi tanıma bölgesinde herhangi bir polimorfizm mevcut ise enzim o bölgeyi tanımayacağı için kesmeyecek ve parça yekun bir halde kalacaktır. Fakat polimorfizm olmaması durumunda enzim kesme işlemini yaparak tanıma bölgesine bağlı olarak 1000 bp'lik oligonükleotidi parçalara ayıracaktır.

Burada yapılacak analiz yönteminde sadece restriksiyon enzimi tanıma bölgesinde meydana gelebilecek bir polimorfizm belirleneceği için çok geniş bir tarama yapılması söz konusu değildir. Ayrıca SSCP yönteminde de olduğu gibi yalnızca mutasyonun varlığını göstermekle birlikte mutasyonun ne olduğunu açıklamaya yeterli değildir.

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Kullanılan Materyal

Çalışmaya 2006-2008 yılları arasında Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniğinde opere edilmiş olgular incelenmiştir. Olguların patolojik ve klinik kayıtları çıkartılmıştır. Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Moleküler Diagnostik Laboratuvarında olgulara ait doku biopsi numunelerinin DNA izolasyonu yapılmıştır. Çalışmaya 66 sağlıklı olgu kontrol grubu olarak dahil edilmiştir.

3.2. Metod

İzole edilen DNA örnekleri seçilen primerler vasıtasıyla PZR işlemine tabi tutulup MMP-1 geni promoter bölgesini içeren kısım termal döngü cihazı ile çoğaltıldı. Ardından ALU I restriksiyon enzimi ile genotipleme yapıp agaroz jel elektroforez işlemine tabi tutularak ethidium bromid sayesinde UV ışık altında görüntülendi.

3.2.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar

1. Otomatik mikro pipet seti ve bunlara uygun pipet uçları
2. 1.5 ve 2.0 ml'lik santrifüj tüpleri
3. Ayarlanabilir ısıtıcılı su banyosu
4. Vorteks
5. Mikro santrifüj
6. Termal döngü cihazı

3.2.2. Dokudan DNA İzolasyonu

Dokudan genomik DNA izolasyonu için Qiagen QIAamp DNA mini kit (kat no: 51306) kullanıldı.

- 1) 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine 25 mg doku parçası konulur.
- 2) Üzerine 180 µl ATL solüsyonu eklenir.
- 3) Daha sonra 20 µl Proteinase K bu karışımın üzerine eklenir ve kısa bir

vortekslemeden sonra tüp 56°C'ye konulur. Dokunun tamamen parçalanıp çözünmesinden sonra tüp dışarıya alınır.

- 4) 200 µl AL solüsyonu eklendikten sonra yaklaşık 15 sn kadar şiddetli vorteks yapılır.
- 5) Vorteksin ardından tüp 70° C'de 10 dakika bekletilir.
- 6) 10 dakikalık inkübasyonun ardından 200 µl %96'lık etanol eklenerek 15 saniye kadar şiddetli vorteks yapılır.
- 7) 6. aşamada elde edilen karışım Qiaamp Spin Kolona aktarılarak 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir ve filtrat atılır.
- 8) Kolon yeni bir tüpe yerleştirilerek üzerine 500 µl AW1 solüsyonundan eklenir ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
- 9) Kolon tekrar yeni bir tüpe aktarılır ve üzerine 500 µl AW2 solüsyonundan eklenir ve 14000 rpm'de 3 dakika santrifüjlenir.
- 10) En son olarak kolon 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne yerleştirildikten sonra 200 µl
- 11) AE solüsyonu eklenir ve en az 1 dakika beklenir.
- 12) İnkübasyonun ardından 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilen tüpte filtrat DNA içeren solüsyondur. Bir sonraki işlem için -20° C saklanır.

3.2.3. PZR Amplifikasyonu

Bu aşamada izole edilen DNA örneklerinden MMP-1 gen promoter bölgesini içeren kısmın amplifikasyonu için termal döngü cihazında işleme tabi tutulmuştur.

PZR aşamasında geri primer ile sekans üzerinde yönlendirilmiş mutasyon yapılarak RFLP işlemi için kullanılacak ALU I enzimi için uygun kesim bölgesi oluşturulması amaçlanmıştır. Bu nedenle geri primer üzerinde kalın olarak gösterilen guanin bazı sekans içene sokularak ALU I enzimi için kesim bölgesi oluşturulması amaçlanmıştır.

İleri primer: TCACTTTTAAAACATAGTCTATGTCA (27 bç)

Geri primer: TCTTGGATTGATTTGAGATAAGTCATAGC (29 bç)

PZR Solüsyonu Hazırlanması

(25 µl x 10 örnek)

25 µl 10X PCR solüsyonu (+ KCl, - MgCl₂)

30 µl 25mM MgCl₂

7 µl dNTP karışım

3 µl Taq polimeraz

3 µl 10 µM primer (herbiri)

159 µl dH₂O

Her bir tüp için 2 µl DNA örneği

PZR Programı

95°C 5 dk

95°C 1 dk

55°C 1 dk

72°C 1 dk 15 sn

} 36 tekrar

72°C 5 dk

İleri primer: TCACTTTTAAAACATAGTCTATGTCA

Geri primer: TCTTGGATTGATTTGAGATAAGTCATAGC

Beklenen ürün uzunluğu 290 bç

RFLP

PZR ile çoğaltılan ürünler bu aşamada ALU I restriksiyon enziminin kesilmesi için muamele edilmiştir. Yönlendirilmiş mutasyon oluşturulan ampliconlar Alu I enzimi ile kesilerek aşağıda gösterilen şekilde kör kesimler oluşturur. Elde edilen ampliconların guanin bazı insersiyonuna bağlı olarak ALU I enzimi ile genotipleme yapılır. Buna bağlı olarak guanin bazının insersiyonu olması durumunda ALU I enzimi ampliconda herhangi bir kesim bölgesi olmayacağından ampliconlar kesilmeyip bir bütün olarak kalacaktır. Fakat insersiyonun olmadığı durumda ALU I enzimi mevcut ampliconu 262 bç ve 28 bç uzunluğunda iki parçaya ayıracaktır.

ALU I

5'-A G[^]C T-3'

3'-T C[^]G A-5'

15 µl PZR tirtinti

2,5 µl Restriksiyon enzim tamponu

1,25 µl Restriksiyon enzimi (ALU I)

6,25 µl Distile su

Hazirlanan bu solusyon 37°C'de 4 saat bekletilir ve ardından jel elektroforezde yurutulerek goruntulener.

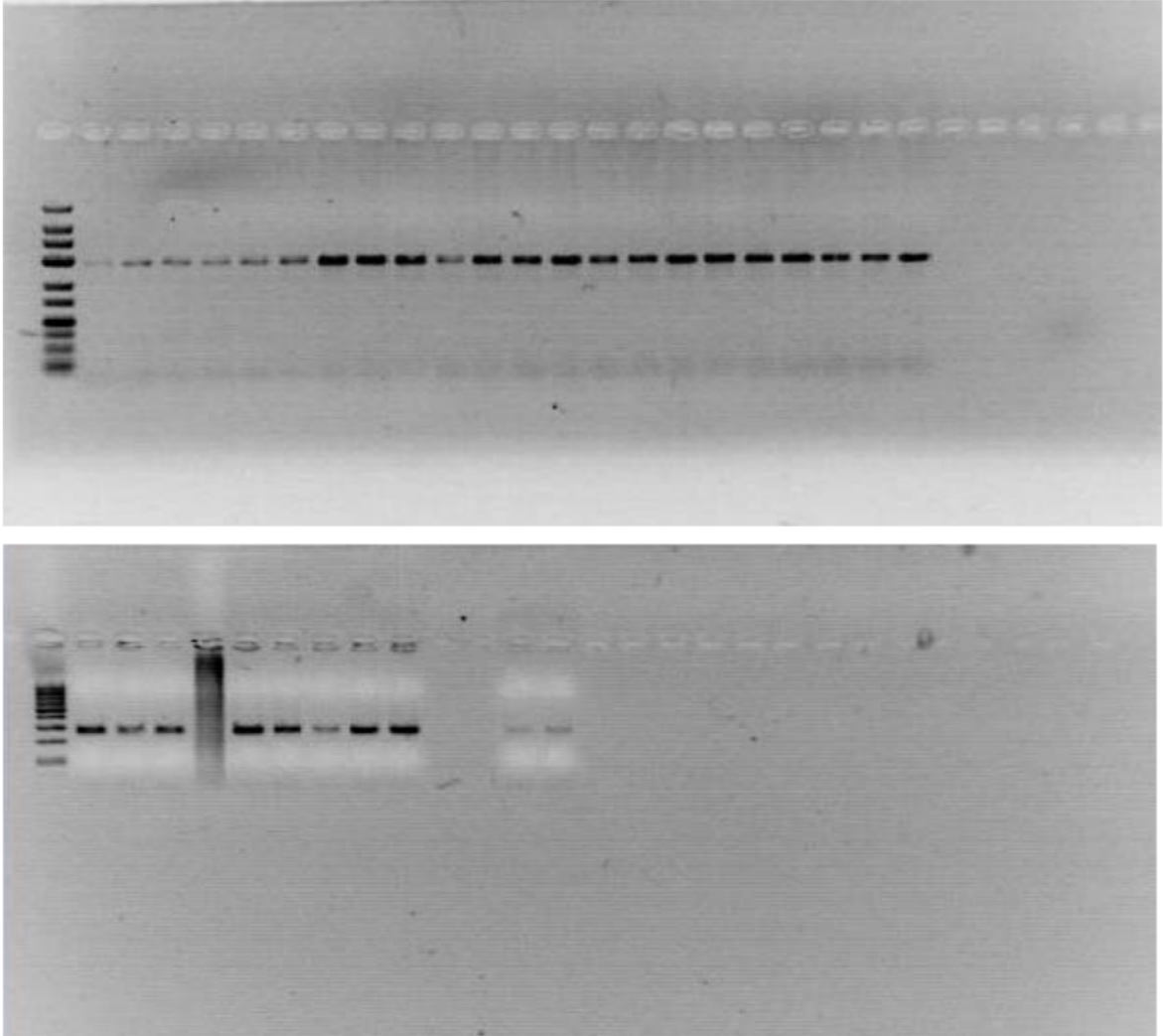
Jel Elektroforez

%2'lik agaroz jel hazirlanir.

- 1) 2 gram agaroz
- 2) 100 ml TBE tamponu
- 3) Hazirlanan bu solusyon bir erlen icine konarak mikrodalga firinda 2 dakika 600W kaynatilir.
- 4) Kaynatildiktan sonra bu solusyona 3 µl Etidyum Bromit eklenir.
- 5) Erlen icindeki bu solusyon daha sonra jel kalibinin olusturulmasi amaciyla jel tepsisine dokulur.
- 6) Jel tepsisinin ustune ise polimerlesecek jel uzerinde kuyucuklar acmasi icin tarak yerlestirilir ve jelin donmasi beklenir.
- 7) Donan jel elektroforez tanki icine yerlestirilir.
- 8) Tank icerisine elektrik iletkenligi saglamasi ve dolayisiyla manyetik alan olusturulmasi icin 1X TBE tamponu doldurulur.
- 9) Guç kaynagi 100 mA'de 150 W 30 dakika calistirilir.

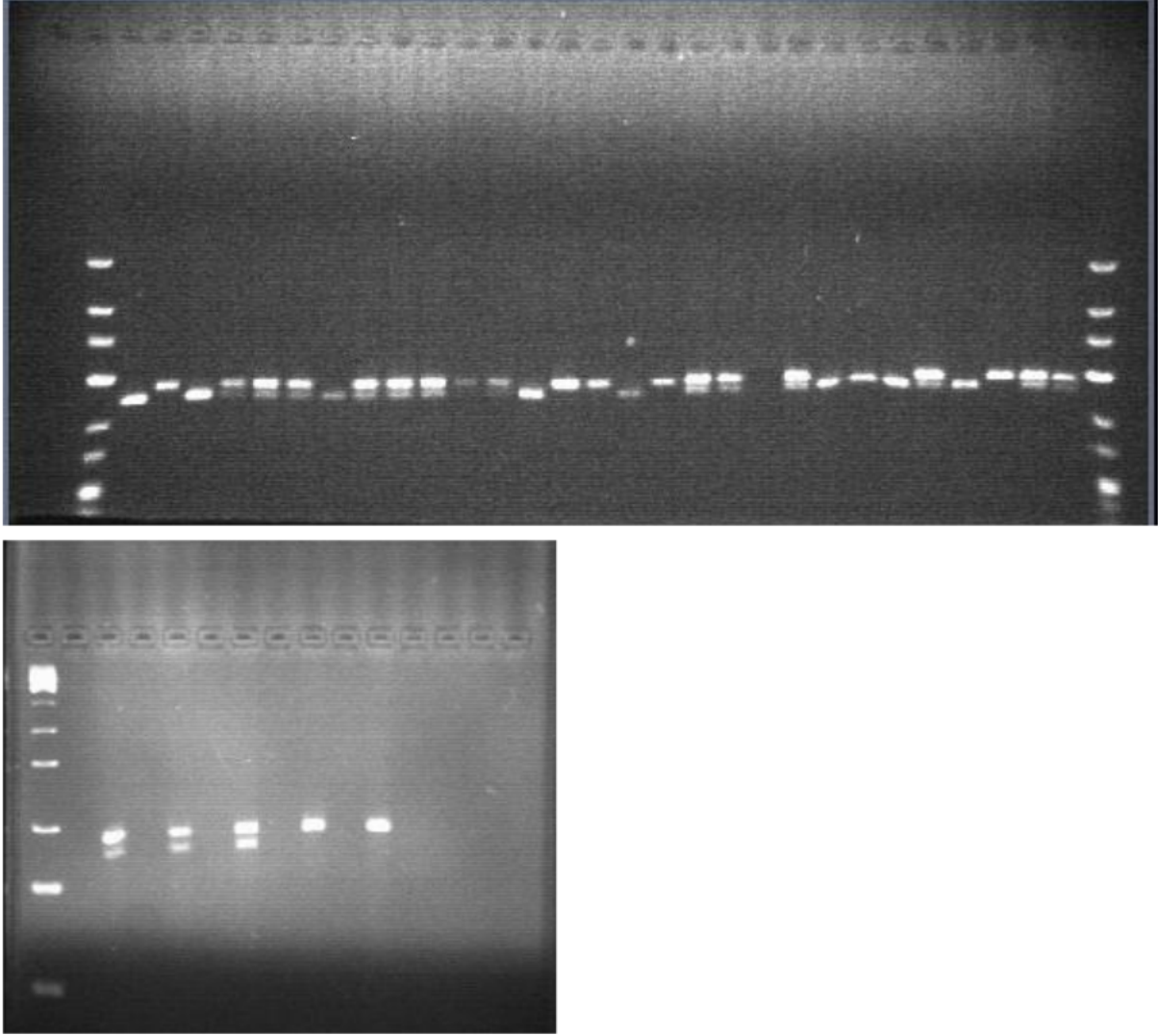
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Yapılan araŐtırmada 33 adet meningimalı hastadan doku biopsi numuneleri alınmıŐ ve DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA örnekleri %2'lik agaroz jel'de 100 mA'de 150 W 10 dakika yürütüldükten sonra UV ışık altında görüntülendi (Şekil 4).



Amplikonlar RFLP tekniği ile genotiplendirilmiŐtır. Restriksiyon enzimi olarak ALU I kullanılmıştır. ALU I enzimi amplikonların sekansında bulunan ve sadece bir defa tekrar eden AGCT bölgesini tanıyarak kesecektir. Fakat G insersiyonu sonucunda oluşan AGGCT sekansını tanımayarak kesmeyecek buna bağlı olarakta RFLP işlemine tabi tutulan örnekler agaroz jel'de görüntülendiğinde elde edilen bantlardan yola çıkılarak

amplikonların genotiplendirilmesi yapılacaktır. Bu veriler ışığında elde edilen RFLP ürünleri %2'lik agaroz jel'de 100 mA'de 150 W 40 dakika yürütüldükten sonra UV ışık altında görüntülendi



Şekil 5. Agaroz jeldeki doku biopsi numunelerinden elde edilmiş DNA görüntülenmektedir. Jel görüntüsü 33 hastaya aittir. Doku biopsi numunelerinden izole edilmiş ve PZR çoğaltılmış PZR ürünlerinin ALU I restriksiyon enzimiyle muamele edildikten sonraki jel görüntüsü. 20 numaralı örnekte ampikon olmadığı görülmektedir. Görüntüde 2,11,12,14,15,17,26,28,32,33 numaralı örnekler homozigot GG/GG (190 bç); 1,3,7,13,16,21,22,23,25 numaralı örnekler homozigot G/G (162 bç) ve 4,5,6,8,9,10,18,19,20,24,27,29,30,31 numaralı örnekler ise heterozigot GG/G (290 ve 262 bç) genotiplerine sahip oldukları RFLP metoduna bağlı olarak belirlenmiştir. 1. örnekte 100 bç'lik DNA marker kullanılmıştır.

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için NCSS 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, frekans) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Oneway Anova testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Tek gözlü düzende Ki-Kare testi ve çok gözlü düzende Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

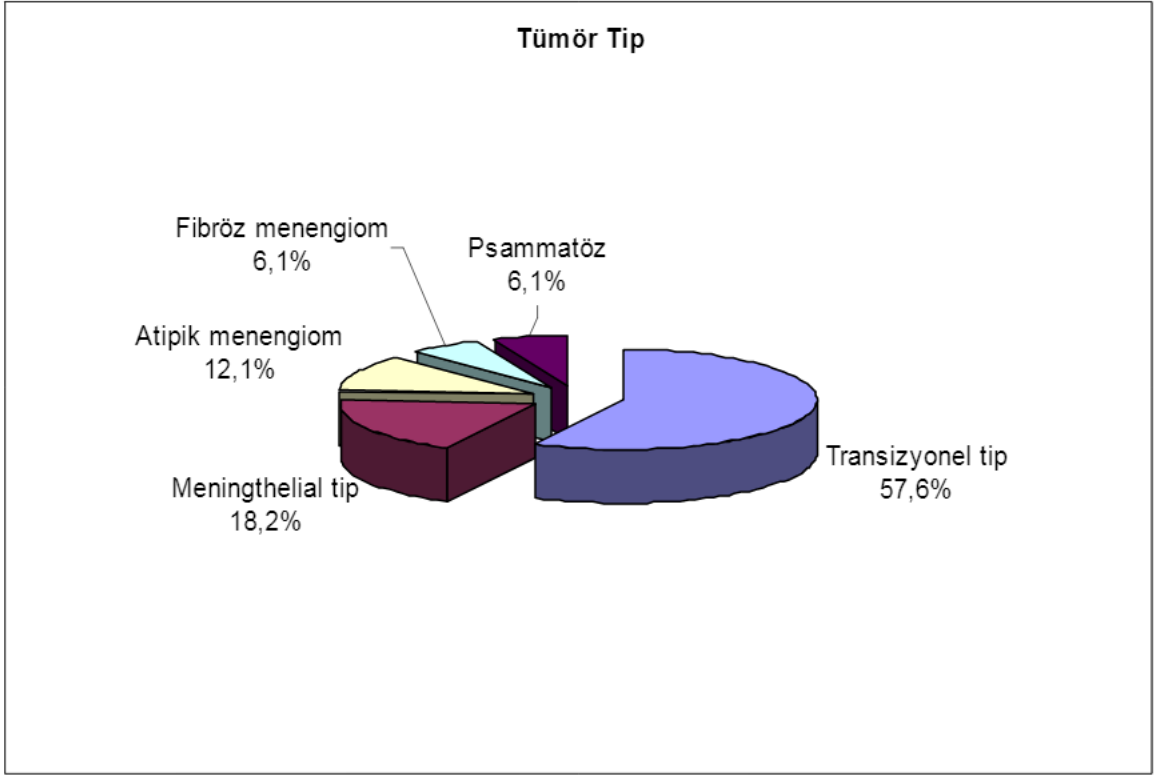
BULGULAR

Çalışma 2006-2008 tarihleri arasında yaşları 9 ile 83 arasında değişmekte olan, 20'si (%60.6) kadın ve 13'ü (%39.4) erkek olmak üzere toplam 33 olgu üzerinde yapılmıştır. Olguların ortalama yaşları 52.63 ± 16.23 'tür.

Tablo 4: Tip, Nüks, Multiple ve Genotiplerin Dağılımı

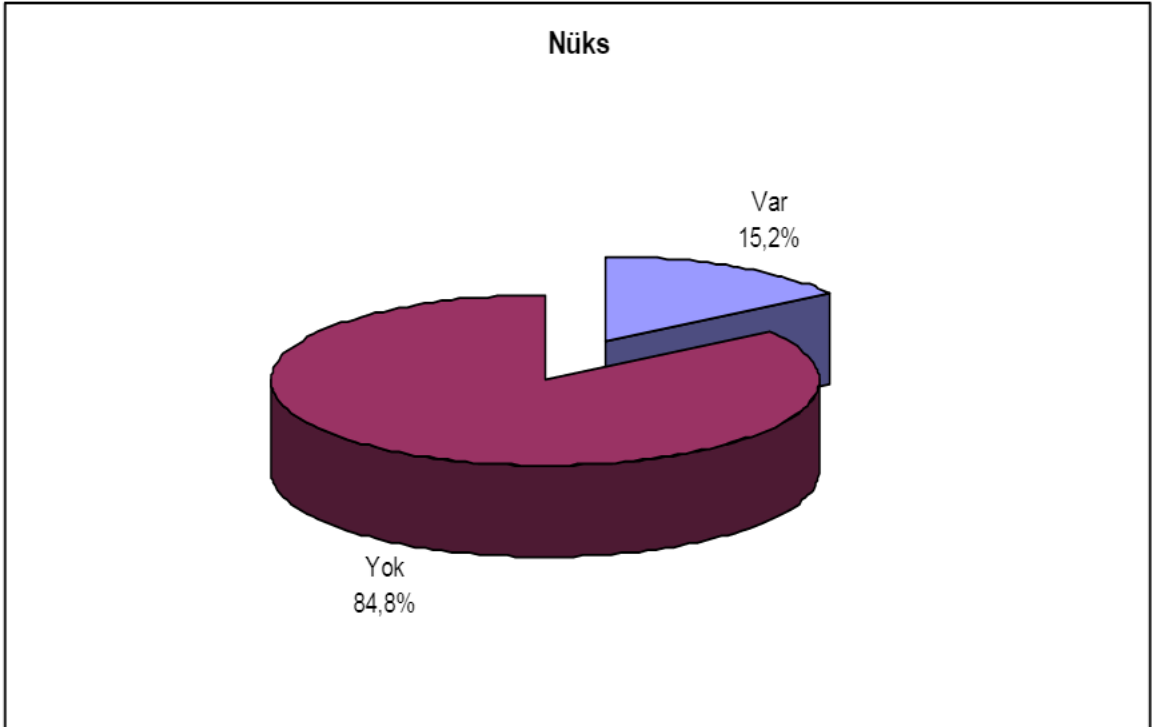
		N	%
Tümör Tip	Transisyonel tip	19	57,6
	Meningotelyal tip	6	18,2
	Atipik meningiom	4	12,1
	Fibröz meningiom	2	6,1
	Psammomatöz	2	6,1
Nüks	Var	5	15,2
	Yok	28	84,8
Multipl	Var	2	6,1
	Yok	31	93,9
Genotip	I/D	14	42,4
	I/I	10	30,3
	D/D	9	27,3

Tümör tiplerinin dağılımına bakıldığında, olguların %57.6'sında transisyonel tip, %18.2'sinde meningotelyal, %12.1'inde atipik meningiom, %6.1'inde fibröz meningiom ve %6.1'inde psammomatöz görülmüştür.



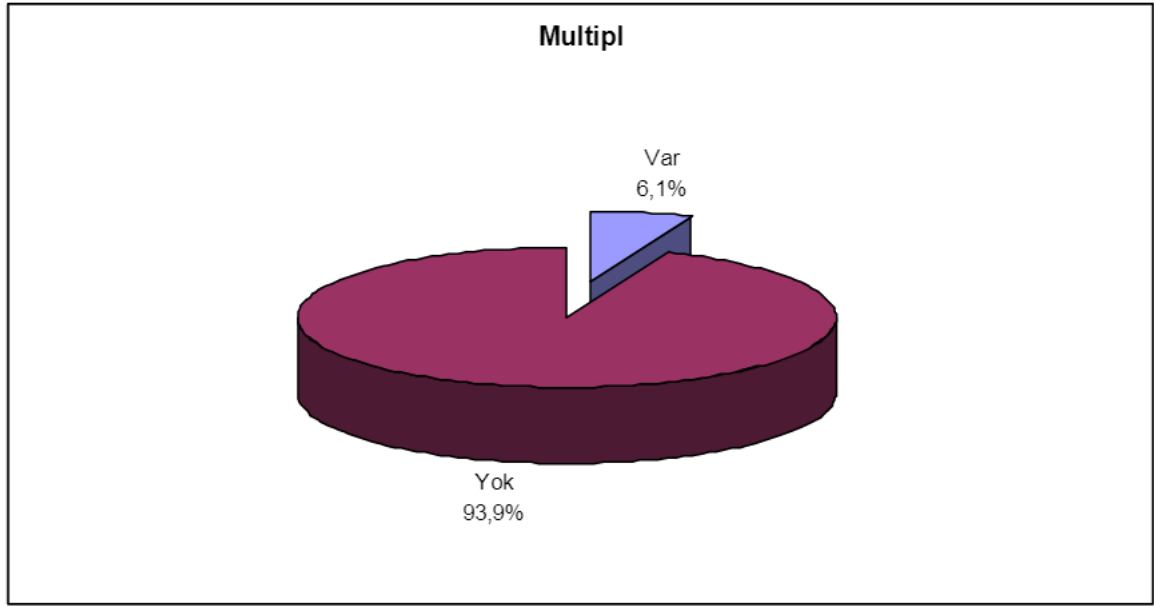
Şekil 1: Tümör tiplerinin dağılımı

Olguların %15.2'sinde nüks görülmüştür.



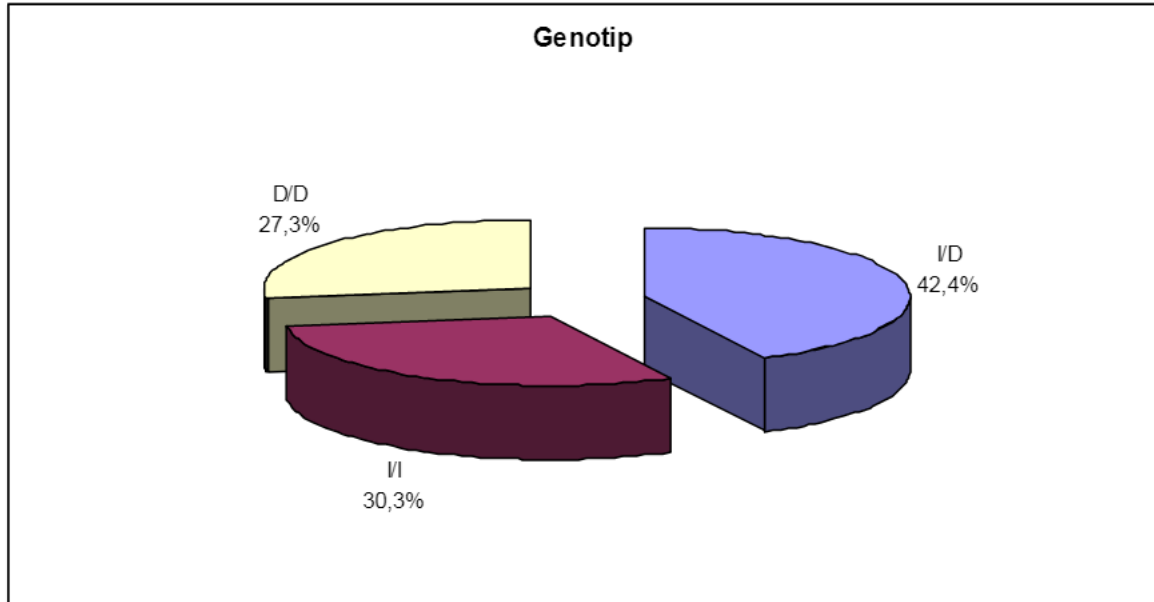
Şekil 2: Nüks dağılımı

Olguların %6.1'inde multipl görülmüştür.



Şekil 3: Multipl dağılımı

Genotiplerin dağılımına bakıldığında, olguların %42.4'ünde I/D, %30.3'ünde I/I ve %27.3'ünde D/D görülmüştür.

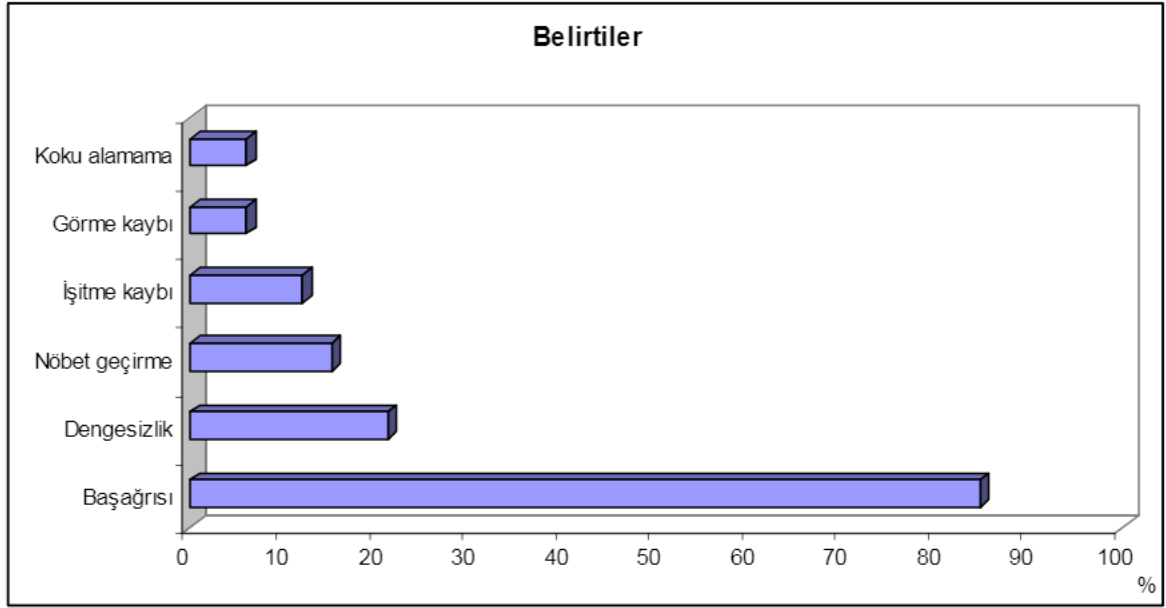


Şekil 4: Genotiplerin dağılımı

Tablo 5: Belirtilerin Dağılımı

	n	%
Baş ağrısı	28	84,8
Dengesizlik	7	21,2
Nöbet geçirme	5	15,2
İşitme kaybı	4	12,1
Görme kaybı	2	6,1
Koku alamama	2	6,1

Olguların %84.8'inde baş ağrısı, %21.2'sinde dengesizlik, %15.2'sinde nöbet geçirme, %12.1'inde işitme kaybı, %6.1'inde görme kaybı ve %6.1'inde koku alamama görülmüştür.



Şekil 5: Belirtilerin dağılımı

Tablo 6: Genotiplerin Değerlendirilmesi

		Gözlenen	Beklenen	<i>p</i>
		Frekans	Frekans	
		n (%)	n (%)	
Genotip	I/D	14 (%42,4)	11 (%33,3)	0,529
	I/I	10 (%30,3)	11 (%33,3)	
	D/D	9 (%27,3)	11 (%33,3)	

Tek gözlü ki-kare testi kullanıldı.

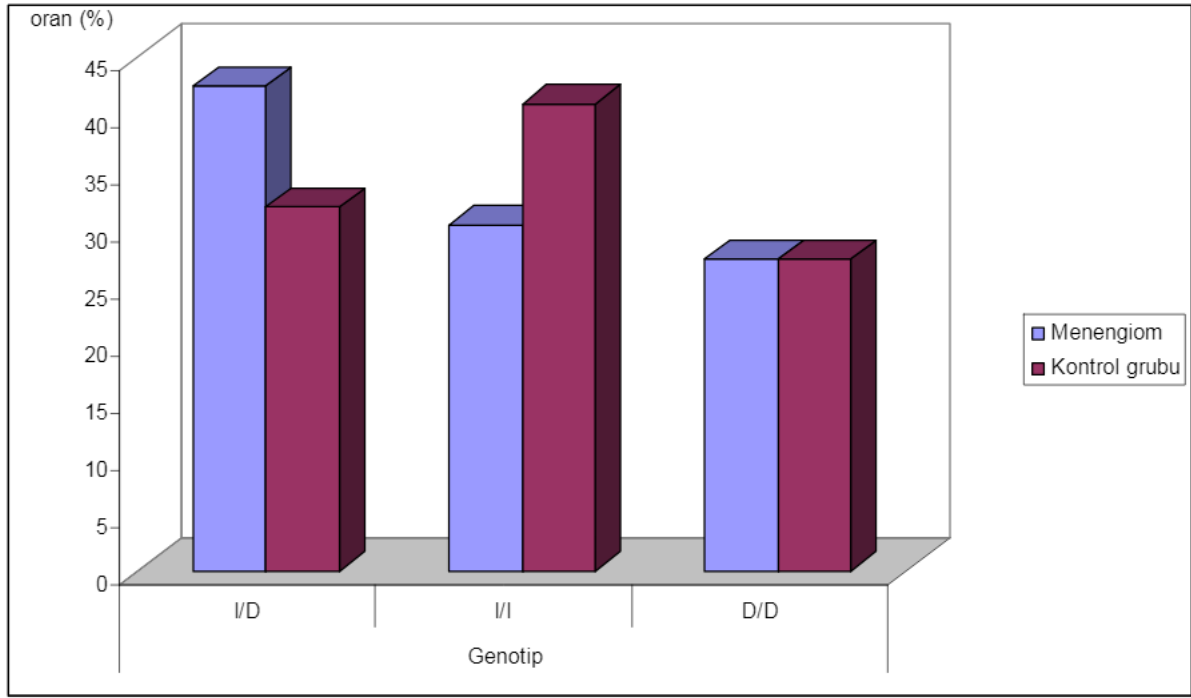
Genotiplerin dağılım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 7: Meningiomlu hastalar ile kontrol grubunun genotip değerlendirmesi

		Meningiom	Kontrol grubu	⁺⁺ <i>p</i>
		(n=33)	(n=66)	
		n (%)	n (%)	
Genotip	I/D	14 (%42,4)	21 (%31,8)	0,506
	I/I	10 (%30,3)	27 (%40,9)	
	D/D	9 (%27,3)	18 (%27,3)	

⁺⁺ *Ki-kare testi*

Meningiom ve kontrol grubu olgularının genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemektedir ($p>0,05$).



Şekil 6: Meningiom ile kontrol grubunun genotip dağılımı

Tablo 8: Genotiplere Göre Yaş ve Cinsiyet Değerlendirilmesi

		Genotip			<i>p</i>
		I/D	I/I	D/D	
		Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	
⁺ Yaş		55,71±13,55	47,70±23,80	53,33±8,39	0,500
		n (%)	n (%)	n (%)	
⁺⁺ Cinsiyet	Kadın	6 (%42,9)	8 (%80,0)	6 (%66,7)	0,169
	Erkek	8 (%57,1)	2 (%20,0)	3 (%33,3)	

⁺Oneway ANOVA test

⁺⁺Ki-kare testi

Genotiplere göre yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Genotiplere göre cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). Kadın olgularda I/I genotipe sahip olgu oranının yüksekliği dikkat çekicidir.

Tablo 9: Genotiplere Göre Nüks ve Multipl Değerlendirilmesi

	Genotip			<i>p</i>
	I/D	I/I	D/D	
	n (%)	n (%)	n (%)	
Nüks	3 (%21,4)	1 (%10,0)	1 (%11,1)	0,687
Multipl	0 (%0)	0 (%0)	2 (%22,2)	0,060

Ki-kare test kullanıldı

Genotiplere göre nüks görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Genotiplere göre multipl görülme oranları anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). I/D ve I/I genotiplerinde multiple görülmezken, D/D genotipinde %22.2 oranında multipl görülmesi dikkat çekicidir.

Tablo 10: Genotiplere Göre Belirtilerin Değerlendirilmesi

	Genotip			<i>p</i>
	I/D	I/I	D/D	
	n (%)	n (%)	n (%)	
Başağrısı	12 (%85,7)	8 (%80,0)	8 (%88,9)	0,858
Dengesizlik	3 (%21,4)	1 (%10,0)	3 (%33,3)	0,462
Nöbet geçirme	2 (%14,3)	2 (%20,0)	1 (%11,1)	0,858
İşitme kaybı	3 (%21,4)	0 (%0)	1 (%11,1)	0,283
Görme kaybı	1 (%7,1)	0 (%0)	1 (%11,1)	0,584
Koku alamama	2 (%14,3)	0 (%0)	0 (%0)	0,236

Ki-kare test kullanıldı

Genotiplere göre başağrısı görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Genotiplere göre dengesizlik görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Genotiplere göre nöbet geçirme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Genotiplere göre işitme kaybı görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Genotiplere göre görme kaybı görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Genotiplere göre koku alamama oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hücreler ile içinde buldukları mikro çevre arasında ilişki oldukça iyi tanımlanmıştır. Kanser hücrelerinin içinde bulunduğu matriksle ve birbirleri arasındaki ilişki ve matriksin yapısal durumu, metastaz ve tümör gelişimini etkileyen parametreler arasında öne çıkanlardır. Dolayısıyla mikro çevrenin moleküler analizi ve bu çevrenin oluşan tümör dokusuna bağlı olarak yeniden düzenlenmesinin araştırılması kanser tedavilerine yeni ufuklar açması bakımından oldukça önemlidir.

Son yirmibeş yılda proteazların kanser gelişiminde etkili olduğunu gösteren birçok çalışma yapıldı. Proteazlar hücre içi ve dışı proteinleri parçalayan enzimler olup, serin proteazlar, metalloproteazlar ve lizozomal proteazlar olmak üzere üç gruba ayrılırlar (130,106) Serin proteazlardan tirokinaz plazminojen aktivatörü (UPA) ile, lizozomal proteazlardan katepsin B ve katepsin L ile, metalloproteazlardan MMP-2, MMP-9, MMP-11'in agresif meningiomlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (149,157).

Meningiomlar; histopatoloji, genetik ve hücre biyolojisi gibi birçok alanda birbirinden bağımsız ya da birbiri ile bağlantılı çok sayıda özelliği kapsayarak beyin tümörlerinin renkli bir grubunu oluşturmaktadır. Tarihsel süreç göz önünde bulundurulduğunda, meningiomlar birkaç yönden araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Başlangıçta, yerleşim yerlerindeki çeşitlilik nedeniyle daha çok cerrahi teknikler üzerinde yoğunlaşma olmuş iken, daha sonra etyolojisi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Son yıllarda moleküler biyoloji ve genetikteki hızlı gelişmeler, meningiomların bu güne kadar anlaşılammış bazı özelliklerinin açıklanmasına ışık tutmuştur. Çalışmalar bu istikamette artmaya başlamıştır. Bu güne kadar meningiomların histopatolojisi ile prognozu arasında ilişki kurulmuş iken, araştırmacıları histopatolojinin sınırlarını zorlamaya iten sadece bu sınıflandırmaların yeterli olmaması değil, aynı zamanda hücre biyolojisi ile ortaya çıkan çığır açıcı gelişmelerdir. Bu gelişmeler; canlının moleküler temeline inmenin hücre içi ve dışı birçok proteinin, enzimin, RNA komponentlerinin keşfini içeren bir sürece yol açmıştır. Zira bugüne kadar hücre dışı matriks dokuya destek sağlayan, madde alışverişinden başka işe yaramayan bir yapı olarak bilinirdi. Artık hücre dışı matriksin; embriyonik gelişim, blastosit implantasyonu, organ morfogenezi, ovulasyon, sinirlerin

büyümesi, servikal dilatasyon, postpartum uterin involusyon, endometrial siklus, saç folikül siklusu, kemik remodelingi, yara iyileşmesi, anjiogenez, apoptoz gibi birçok fizyolojik olayda, artirit, kanser, kardiovasküler hastalıklar, nefrit, nörolojik hastalıklar, kan beyin bariyerinin bozulması, periodontal hastalıklar, cilt ülserleri, gastrik ülserler, dalakta fibrozis, fibrotik akciğer hastalıkları, amfizem gibi birçok hastalıkta başrol oynadığı bilinmektedir (140).

Matrisian 1990 yılında matriks metalloproteazları ve onların inhibitörlerini tanımladıktan sonra hücre dışı matrikste bulunan bu enzimlerle ilgili birçok çalışma yapılmaya başlandı (95). Matrisian MMP RNA larının kanserli dokuda yüksek oranda bulunmasının aynı epidermal büyüme faktörü-B, tümör nekrozis faktör, interlökin-1 gibi onkojenik potansiyele yol açan büyüme faktörleri olabileceğini söyledi. Ama daha sonra yapılan birçok çalışmanın sonucunda MMP lerin üç şekilde kanser oluşumuna yardım ettikleri belirlendi (6,35,140). Bunlar tümör anjiogenez, doku mimarisinin bozulması, bazal membran yapısının bozulmasıdır. Bu şekilde dokuda tümör hücrelerinin hareket alanını genişterek invazyon ve metastazı arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda; MMP-2, MMP-7, MMP-11'in gastrik kanserlerde yüksek ekspresyonunu, MMP-2, MMP-9'un pankreas kanserinde yüksek ekspresyonu gösterildi (140).

Çok sayıda çalışma yapılarak MMP ler ile birçok tümör arasında ilişkiler ortaya konmaya çalışıldı. Meningiomlar ile MMP-2, MMP-9 ve MMP-11 arasında çalışmalar yapıldı. Yapılan çalışmaların çoğu MMP-2 ve MMP-9'un (intersitisyel kollejenazlar) üzerine yoğunlaşmış meningiomalarda agresif davranışla ilişkileri gösterilmiştir (106).

Kanser hücreleri hücre dışı matriksin temel yapısını oluşturan yapıları yıkarak yeni kan damarlarının oluşumu için uygun ortamı sağlamanın yanı sıra doku içinde hareketlilik kazanırlar. Bu sayede hem metastaz yapabilirler hem de tümörün daha da büyümesini sağlarlar. İşte bu noktada MMP enzimleri en büyük rolü üstlenir. Hücre dışı matriksin temel yapısını tip I, tip II ve tip III kollejenler oluşturur (110). Bu kollejenler ise MMP enzim ailesinin substratlarıdır. MMP enzimlerinin tümör hücrelerinde fazla sentezlenmesi ve hücre dışı matriksin yıkılması tümör hücrelerinin hareketlilik kazanması açısından önemlidir. Bu enzim ailesinin üyelerinden biri olan ve normal koşullar altında dokuda oldukça az sentezlenen MMP-1 enzimi intersitisyel kollejenazların yıkımından sorumludur.

Genel olarak MMP enzim ailesinin metastazda çok önemli olduğu bilinmesine rağmen kanser gelişiminde meydana gelen diğer hücresel değişikliklerden de sorumlu olduğu düşünülmektedir. MMP-1 gen ekspresyonu, promoterdeki bağlanma bölgelerine bağlanan aktivatör protein-1 (AP-1) ve polima güçlendirici aktivite-3 (PEA-3/ETS) vasıtasıyla mitojen aktive edici kinaz tarafından kontrol edilir. MMP-1 geni promoter bölgesinin -1607 bp'sinde meydana gelen guanin insersiyonu ile yeni bir ETS bağlanma bölgesi oluşur. Buna bağlı olarakta MMP-1 geninin transkripsiyonel aktivitesi artar. Guanin insersiyonunun varlığı bazı kanser türlerinin insidansı ve ilerlemesi ile de ilişkilidir.

Daha önce bu polimorfizmin ovaryum, akciğer, meme, özefagus, gastrik adenokarsinomdaki, nazofarinks kanserindeki ve oral skuamöz hücre karsinomu, riski üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Xia jin ve arkadaşları kuzey çin de yapılan araştırma da gastrik kardiak adenokarsinom ve özefagus squamöz hücreli karsinomda MMP 1 promotor polimorfizminin hem kanser gelişme riskini hem de lenfatik metastaz potansiyelini etkilemediğini buldular (100). Yong Zhu ve arkadaşları MMP 1 promotor polimorfizminin akciğer kanserine yatkınlığını artırdığını buldular (186). Yasunobu Kanamori ve arkadaşları over kanserinde MMP1 gen ekspresyonu ve bu genin promotor bölgesindeki insersion delesyon polimorfizmi arasındaki korelasyonu incelemiş ve ekstrasellüler matrix yıkımının stimülasyonu ile ortaya çıkan artmış MMP1 prodüksiyonu over kanseri gelişimi ve/veya hızlı ilerlemesine neden olabileceği sonucuna varmışlardır (77). Yine Li Su ve arkadaşları MMP-1 ve Akciğer Kanseri riskini inceleyerek genel olarak MMP1 genotipi ile akciğer kanser riski arasında bir ilişki olmadığı sonucuna vardılar (93). Satoru Kondo ve arkadaşları Epstein-Barr virusünün nazofaringeal karsinomaya artmış duyarlılık olacağı sonucuna varmışlardır (87). Tower GB ve arkadaşları MMP-1 promotor polimorfizminin Meme kanserinde artmış MMP-1 transkripsiyonuna neden olduğu ve böylece kanser hücrelerinin invaziv potansiyelini artırdığını söylemişlerdir (162).

SONUÇ

MMP-1 geni promoter bölgesinde meydana gelen Guanin insersiyonunun varlığı akciğer kanseri, over kanseri, nazofaringeal karsinoma ve meme kanseri riskini artırmakla beraber gastrik kardiak adenokarsinom ve özefagus squamöz hücreli karsinomda etkisinin olmadığı görülmüştür. Bizim çalışmamızın sonuçları da MMP-1 geni promoter bölgesinde meydana gelen Guanin insersiyonunun menengioma sıklığını ve invazyonunu etkilemediğini düşündürmektedir.

6. ÖZET

MMP enzimlerinin tümör hücrelerinde fazla sentezlenmesi ve hücre dışı matriksin yıkılması tümör hücrelerinin hareketlilik kazanması açısından önemlidir. MMP-1 gen ekspresyonu, promotöründeki bağlanma bölgelerine bağlanan aktivatör protein-1 (AP-1) ve polima güçlendirici aktivite-3 (PEA-3/ETS) vasıtasıyla mitojen aktive edici kinaz tarafından kontrol edilir. MMP-1 geni promotör bölgesinin -1607 bç'sinde meydana gelen guanin insersiyonu ile yeni bir ETS bağlanma bölgesi oluşur. Buna bağlı olarak MMP-1 geninin transkripsiyonel aktivitesi artar. Çalışmamızdaki amaç menenjiomalı olgularda MMP-1 geni promotör bölge polimorfizminin tespitini ve bunun insidans ve invazyondaki rolünü araştırmaktır.

Yapılan araştırma 2006-2008 tarihleri arasında kliniğimizde ameliyat edilmiş, yaşları 9 ile 83 arasında değişmekte olan, 20'si kadın ve 13'ü erkek olmak üzere toplam 33 olgunun biopsi örnekleri -80C derecede DNA izolasyonu yapılabildiği kadar saklandı. Olguların ortalama yaşları 52.63 ± 16.23 'tür. Çalışmaya 66 sağlıklı olgu dahil edilmiştir. Olguların histopatolojik dağılımına bakıldığında, 19'u transizyonel tip, 6'sı meningoethelial tip, 4'ü atipik tip, 2'si fibröz tip ve 2'si de psammomatöz tip olduğu görülmüştür. Olguların doku biopsilerinden izole edilen DNA örnekleri seçilen primerler vasıtasıyla PZR işlemine tabi tutulup MMP-1 geni promotör bölgesini içeren kısım termal döngü cihazı ile çoğaltılmıştır. Elde edilen ampliconların guanin bazı insersiyonuna bağlı olarak ALU I enzimi ile genotipleme yapıp agaroz jel elektroforez işlemine tabi tutularak ethidium bromid sayesinde UV ışık altında görüntülenmiştir. Buna bağlı olarak guanin bazının insersiyonu olması durumunda ALU I enzimi ampliconda herhangi bir kesim bölgesi olmayacağından ampliconlar kesilmeyip bir bütün olarak kalmıştır. Fakat insersiyonun olmadığı durumda ALU I enzimi mevcut ampliconu 162 bç ve 28 bç uzunluğunda iki parçaya ayırmıştır.

Sonuç olarak olguların 10'unda I/I (%30.3), 9'unda D/ D (%27.3), 14'ünde I/ D (42.4) genotipi tespit edilmiştir. Genotipi I/I olan olguların 4'ü transizyonel, 2'si psammomatöz, 2'si fibröz, 2'si atipik, genotipi D/D olan olguların 8'i transizyonel, 1'i atipik, genotipi I/D olan olguların ise 8'i transizyonel, 5'i meningoethelial, 1'i atipik olarak tespit edildi. Kontrol

grubunda ise 27'sinde I/I (%40.9), 18'inde D/D (%27.3), 21'inde I/D (31.8) olarak tespit edilmiştir. Meningiomalı hastalarda genotip dağılımı kontrol grubundan belirgin fark göstermemiştir ($p > 0.05$).

MMP-1 geni promoter bölgesinde meydana gelen Guanin insersiyonunun varlığı akciğer kanseri, over kanseri, nazofaringeal karsinoma ve meme kanseri riskini artırmakla beraber gastrik kardiak adenokarsinom ve özefagus squamöz hücreli karsinomda etkisinin olmadığı görülmüştür. Bizim çalışmamızın sonuçları da MMP-1 geni promoter bölgesinde meydana gelen Guanin insersiyonunun menengioma sıklığını ve invazyonunu etkilemediğini düşündürmektedir.

7. ABSTRACT

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASE 1 GENE PROMOTER REGION POLYMORPHISM IN THE INCIDANCE AND INVASION OF MENINGIOMA

Introduction: Increased production of MMP enzymes in tumor cells and destruction of extracellular matrix promote tumor cell mobility. The aim of this study is to determine the polymorphism in the MMP-1 gene promoter region in patients with meningioma and to assess the role of this polymorphism in invasion.

Methods: The study group involved 33 patients (age: 52.63 + 16.23 (range: 9-83); 13 males and 20 females) who had surgery in our clinic between 2006 and 2008. The biopsy samples are frozen in -80 C and DNA isolation is performed. A total of 66 healthy individuals are included in the study. The meningioma types were as follows: 19 transitional, 6 meningiothelial, 4 atypical, 2 fibrous, and 2 psammomatous. PZR was performed in the DNA samples. Genotyping was done with ALU1 enzyme and agarose gel electrophoresis was conducted for visualization.

Results: The determined genotypes were as follows: I/I in 10 (% 30.3), D/D in 9 (%27.3), I/D in 14 (%42.4). Among the I/I genotypes, 4 were transitional, 2 were psammomatous, 2 were fibrous, and 2 were atypical. Among the D/D genotypes, 8 were transitional, and 1 was atypical. Among the I/D genotypes 8 were transitional, 5 were meningiothelial, and 1 was atypical. The control group genotypes were as follows: I/I in 27 (%40.9), D/D in 18 (%27.3), and I/D in 21 (%31.3). The genotype distribution was not significantly different in the study group when compared to the control group ($p > 0.05$).

Conclusions: The effect of matrix MMP-1 gene promoter region polymorphism on the risk of various cancer types (ovarian, pulmonary, breast, esophagus, gastric adenocarcinomas, nasopharengeal cancer, and oral squamous cell carcinoma) was previously studied. This polymorphism was shown to increase the risk of certain cancer

types while not having any impact on some others. According to this study's results, MMP-1 gene promoter region polymorphism does not seem to effect neither the incidence nor the invasion of meningioma.

8. TABLOLAR VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablolar Listesi

- Tablo 1: Meningioma Cerrahisinde Simpson Sistemi
Tablo 2: Meningioma Cerrahisinde Modifiye Okudesu - Kobayashi Sistemi
Tablo 3: İnsan Kollojenazların Substratları Ve Aktivatöleri
Tablo 4: Tip, Nüks, Multiple ve Genotiplerin Dağılımı
Tablo 5: Belirtilerin Dağılımı
Tablo 6: Genotiplerin Değerlendirilmesi
Tablo 7: Meningiomlu hastalar ile kontrol grubunun genotip değerlendirilmesi
Tablo 8: Genotiplere Göre Yaş ve Cinsiyet Değerlendirilmesi
Tablo 9: Genotiplere Göre Nüks ve Multipl Değerlendirilmesi
Tablo 10: Genotiplere Göre Belirtilerin Değerlendirilmesi

Şekiller Listesi

- Şekil 1. Fibriler Kollojenlerin Yıkımı
Şekil 2. İnsan Mmps Domain Yapısı
Şekil 3. Metastazın Gösterimi
Şekil 4 İzole Edilen DNA Örneklerinin UV Işık Altında Görüntülenmektedir.
Şekil 5. Agaroz Jeldeki Doku Biopsi Numunelerinden Elde Edilmiş DNA Görüntülenmektedir
Şekil 6: Tümör Tiplerinin Dağılımı
Şekil 7: Nüks Dağılımı
Şekil 8: Multipl Dağılımı
Şekil 9: Genotiplerin Dağılımı
Şekil 10: Belirtilerin Dağılımı
Şekil 11: Meningiom İle Kontrol Grubunun Genotip Dağılımı

9. KAYNAKLAR

- 1) Abb C, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat. Rev. Cancer* 2002; 2: 563–572
- 2) Abe T, Black PM, Cjeman RG. Cerebral edema intracranial meningiomas: Evidence for local and diffuse patterns and factor associated with it's occurrence. *Surg Neurol.*1994; 42: 471-475
- 3) Adepgite AB, Khan MI, Paine KW. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical teratment. *J. Neurosurg.* 1983; 58: 51-56
- 4) Agrez M, Chen A, Cone RI et al. The $\alpha v\beta 6$ integrin promotes proliferation of colon carcinoma cells through a unique region of the $\beta 6$ cytoplasmic domain. *J. Cell Biol.* 1994; 127: 547–556
- 5) Ala-aho R, Kahari VM. Collagenases in cancer. *Biochimie* 2005; 87: 273–286
- 6) Alberts B, Johnson A, Lewis J et al. Intracellular compartments and protein sorting. *Molecular Biology of the Cell.* 4th Ed. GSGarland Science 2002; 1800-1850
- 7) Alexander CM, Howard EW, Bissell MJ et al. Rescue of mammary epithelial cell apoptosis and entactin degradation by a tissue inhibitor of metalloproteinases-1 transgene. *J. Cell Biol.* 1996; 135: 1669–1677
- 8) Al-Mefty O, Kadri PA. Malignant progression in meningioma; documentation of a series and analysis of cytogenetic findings. *J. Neurosurg.* 2004; 101 (2): 210-218
- 9) Al-Mefty O, Haddad GF. Meningiomas in S.Rengachary. R. Wilkins (ed): *principle of neurosurgery* 1994; 41:150-167
- 10) Alquasil-Gercia A, Pettigrew NM, Sima AAF. Secretory meningioma; A discint subtype of meningioma. *Am. J. Surg. Pathology* 1986; 110: 102-111
- 11) Al-Rodhan NRF, Laws RL. *The History of Intracranial Meningiomas.* Raven Press, New York 1991; 1-7
- 12) Al-Rodlan N, Laws E. Meningioma; A historical study of the tumor and its surgical anagement. *Neurosurgery* 1990; 26 (5): 832-847
- 13) Andrews BT, Wilson CB et al. Suprasellar meningiomas; The effect of tumor location and postoperative visual outcome. *J. Neurosurg.* 1988; 69: 523-528

- 14) Anegawa Shigetaka, Hayashi Takashi, Torigoe Ryuichiro, Furukawa Yoshihiko. Diffuse calvarial meningioma. *J. Neurosurg.* 1999; 90: 970-973
- 15) Arribas J, Baselga J. Cleavage of the HER2 ectodomain is a pervanadate-activable process that is inhibited by the tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in breast cancer cells. *Cancer Res.* 1999; 59: 1196–1201
- 16) Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: Biological actions and therapeutic opportunities. *J. Cell Sci.* 2002; 115: 3719–3727
- 17) Baragi M, Fliszar CJ, Conroy MC et al. Contribution of the C-terminal domain of metalloproteinases to binding by tissue inhibitor of metalloproteinases. C-terminal truncated stromelysin and matrilysin exhibit equally compromised binding affinities as compared to full-length stromelysin. *J. Biol. Chem.* 1994; 269(17):12692-12697
- 18) Barsky SH, Siegal GP, Jannotta F et al. Loss of basement membrane components by invasive tumors but not by their benign counterparts. *Lab. Invest.* 1983; 49 :140–147
- 19) Beems T, Grotenhuis JA, Wesseling P. Meningioma of pituitary stalk without dural attachment. Case and review of the literature. *Neurosurgery* 1999;45(6): 1474-1477
- 20) Beschet I, Brunon J, Scoazec JY et al. Expression of beta1 and beta 4 integrins in normal arachnoid membrane and meningiomas. *Cancer* 1999; 86(12): 2649-2658
- 21) Beşkonaklı E, Ülkü O et al. Multipl intrakranial meningioma ve Nörofibromatozis Tip 2. *Türk Nöroşirürji Derneği Dergisi* 1992; 2 (3): 204-207
- 22) Bickerstaff ER, Small JM, Guest IA. The relapsing course of certain meningiomas in relation to pregnancy and menstruation. *J. Neurol. Neurosurg.* 1958; 21: 89-91
- 23) Bingham WF. WW Keen and the dawn of American neurosurgery. *J. Neurosurg.* 1986; 64: 705-712
- 24) Bissell M J, Radisky D. Putting tumours in context. *Nature Rev. Cancer* 2001; 1: 46–54
- 25) Black PM. Meningiomas. *Neurosurgery.* 1993; 32: 643-657
- 26) Boldrini L, Pistolesi S, Gisfredi S et al. Telomerase in intracranial meningiomas. *International Journal of Molecular Medicine* 2003; 12: 943-947

- 27) Borovich B, Doron Y. Recurrence of intracranial meningiomas: The role played regional multicentricity. *J. Neurosurg.* 1986; 64: 58-63
- 28) Boulay A et al. High cancer cell death in syngeneic tumors developed in host mice deficient for the stromelysin-3 matrix metalloproteinase. *Cancer Res.* 2001; 61: 2189–2193
- 29) Brondis A, Mirzai S, Tatagiba M et al. Immunohistochemical defection of female sex hormone receptor in meningiomas, correlation with clinical and histological features. *Neurosurgery.* 1983;33: 212-218
- 30) Butler GS, Hutton M, Wattam BA et al. The specificity of TIMP-2 for matrix metalloproteinases can be modified by single amino acid mutations. *J. Biol. Chem.* 1999; 274:20391–20396
- 31) Chan RC, Thompson GB. Morbidity, mortality and quality of life following surgery for intracranial meningiomas: A retrospective study in 257 cases. *J. Neurosurg.* 1984; 60: 52-60
- 32) Chung L, Dinakarbandian D, Yoshida N et al. Collagenase unwinds triple-helical collagen prior to peptide bond hydrolysis. *EMBO J.* 2004; 23: 3020–3030
- 33) Claus EB, Bondy ML, Schildkraut JM et al. Epidemiology of Intracranial Meningioma. *Neurosurgery* 2005; 57: 1088–1095
- 34) Coussens LM, Tinkle CL, Hanahan D, Werb Z. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. *Cell* 2000; 103: 481–490
- 35) Coussens LM, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem. Biol.* 1996; 3: 895–904
- 36) Cusek SF, Balten O.T. Association of ossified subdural meningiomas and a meningioma. *J. Neurosurg.* 1972; 37: 731-740
- 37) Cushing H, Eisenhardt L. *Meningiomas: their classification, regional behaviour, life history, and surgical end results.* Springfield, Illinois: Charles C. Thomas, 1938; 115-132
- 38) Cushing H. The meningiomas (dural endotheliomas): their source and favoured seats of origin. *Brain* 1922; 45: 282-316

- 39) Custer B, Longstreth WT Jr, Phillips LE. Hormonal exposures and the risk of intracranial meningioma in women; A population based-control study. *BMC Cancer*. 2006; 7: 146-152
- 40) De Groot J, Chusid J.G. *Correlative neuroanatomy*, Appleton&Lange.1988; 210
- 41) Deen HG Jr, Laws ER Jr. Multiple primary brain tumors of different cell types. *Neurosurgery* 1981; 8: 20-25
- 42) Deen HG, Scheithauer BW, Ebersold MJ. Clinical and pathological study of meningiomas of the first two decades of life. *J Neurosurg*. 1982; 56: 317-22
- 43) Demirtas E, Ersahin Y, Yilmaz F et al. Intracranial meningial tumours in childhood: A clinicopathologic study including MIB-1 immunohistochemistry. *Pathol. Res. Pract*. 2000; 196 (3): 151-158
- 44) DeMonte F. Surgical treatment of anterior basal meningiomas. *Oncology* 1995; 9: 83-101
- 45) Donnel MS, Meyer GA, Donegan WL. Estrogen receptor protein in intracranial meningiomas. *J. Neurosurg*.1993; 78: 456-462
- 46) Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer* 2002; 2: 161–174
- 47) Fang J et al. Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype in a tumor model. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000; 97: 3884–3889.
- 48) Fuchs HE, Tomita T. Neurocutaneous Syndromes and Meningiomas of Childhood. In: *Pediatric Neurosurgery, Surgery of the developing nervous system*. 4th (ed). W.B. Saunders Co. Philadelphia 2001; 771-781
- 49) Fuentes S, Chinot O. Hydroxyurea treatment for unresectable meningioma *Neurochirurgie*. 2004; 50(4): 461-467
- 50) Gabos S, Berkel J. Meta-analysis of progestin and estrogen receptors in human meningiomas. *Neuroepidemiology* 1992; 11: 255-260
- 51) Georges H, Ossoma AM. Meningiomas an overview in Wilkins RH, Rengachary SS (ed). *Neurosurgery*. 1996; 833-841
- 52) Gepdiremen SD. Stroke’lu Hastalarda Apolipoprotein E Genotiplemesi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı. Doktora Tezi Erzurum 2003

- 53) Giannelli G, Falk-Marzillier J, Schiraldi O et al. Induction of cell migration by matrix metalloprotease-2 cleavage of laminin-5. *Science* 1997; 277: 225–228
- 54) Gilbert JJ, Paulseth JE, Coates RR et al. Cerebral edema associated with meningiomas. *Neurosurgery* 1983;12: 599-603
- 55) Goldberg GI, Wilhelm SM, Kronberger A et al. Human fibroblast collagenase. Complete primary structure and homology to an oncogene transformation-induced rat protein. *J. Biol. Chem.* 1986; 261: 6600–6605
- 56) Gökalp HZ, Erongun U. İntrakranial Meningiomalar. Nöroşirtürji ders kitabı Mars Matbası, Ankara 1997; 96-107
- 57) Greenberg MS. Pediatric meningiomas. *Handbook of neurosurgery*, Greenberg Graphics Florida (ed) 1994; 620-623
- 58) Gross J, Lapière CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1962; 48: 1014–1022.
- 59) Gutrie BL, Ebersold MJ. Neoplasms of the intracranial meningiom in Youmans J.T (ed): *Neurological Surgery*, W.B Saunders ed 1990; 3: 3250-3315
- 60) Ha HY, Moon HB, Nam MS et al. Overexpression of membrane-type matrix metalloproteinase-1 gene induces mammary gland abnormalities and adenocarcinoma in transgenic mice. *Cancer Res* 2001; 61: 984–990
- 61) Haddad G, Al-Mefty O et al. Meningiomas; an overview. *Neurosurgery* (ed) Wilkins RH, Rengechary SS 1996; 833-841
- 62) Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57–70
- 63) Handerson JW, Farrow GM. *Orbital tumors* ed (2) Newyork BC Decker 1980; 472-483
- 64) Hatiboglu MA, Cosar M, Iplikcioglu AC et al. Sex Steroid and Epidermal Growth Factor Profile of Giant Meningiomas Associated with Pregnancy. *Neurol Surg.* 2007; 20:1 42-149
- 65) Hausepian EM, Trakel JL et al. Tumors of the orbit, in *Neurological surgery* Youmans JR.(ed).1990; 3371-3411
- 66) Herz DA, Shapiro K, Sholulman K. Intracranial meningiomas of infancy childhud and adolesance: Review of literature and addition of nine case report. *Child's Brain* 1980; 7: 43-56

- 67) Hesck A, Mosdal C, Longenson K. Localized cranial hyperostosis of meningiomas. A result of neoplastic enzymatic activity. *Acta Neurol.* 1993; 87: 243-247
- 68) Hill DA, Linet MS, Black PM et al. Meningioma and schwannoma risk in adults in relation to family history of cancer. *Neuro Oncol.* 2004; 6(4): 274-280
- 69) Hirose T, Patterson C, Pourmotabbed T et al. Structure-function relationship of human neutrophil collagenase: identification of regions responsible for substrate specificity and general proteinase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993; 90: 2569–2573
- 70) Honies DE, Fraderickson RG. The meninges. In *Meningiomas* Al-Mefty O (ed). Newyork Raven press.1991; 9-25
- 71) Hsu CW, Efird JT, Hedley-Whyte ET. Progesterone an estrogene receptors in meningiomas: Prognostic considenations. *J. Neurosurg.* 1997; 86: 113-120
- 72) Itoh T, Tanioka M, Matsuda H et al. Experimental metastasis is suppressed in MMP-9-deficient mice. *Clin. Exp. Metastasis* 1999; 17: 177–181.
- 73) Itoh T, Tanioka M, Yoshida H et al. Reduced angiogenesis and tumor progression in gelatinase A-deficient mice. *Cancer Res.* 1998; 58: 1048–1051
- 74) Jaaskelainen J. Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patients. A multivariate analysis. *Surg Neurol* . 1986; 25: 461-469
- 75) Jin X, Kuang G, Wei LZ et al. No association of the matrix metalloproteinase 1 promoter polymorphism with susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardiac adenocarcinoma in northern China *World J Gastroenterol.* 2005; 11(16): 2385-2389
- 76) Kallio M, Sankila R, Hakulien T et al. Factor affecting operative ans excess long-term martality in 935 patients with intracranial meningiomas. *Neurosurgery* 1992; 31: 2-12
- 77) Kanamori Y, Matsushima M, Minaguchi T et al. Correlation between expression of the matrix metalloproteinase-1 gene in ovarian cancer and an insertion/deletion polymorphism in its promoter region. *Cancer Res.* 1999; 59: 4225–4227

- 78) Karak Asis Kumar, Singh Rajvir , Prakash N et al. A Comparative Survival Evaluation and Assessment of Interclassification Concordance in Adult Supratentorial Astrocytic Tumors. *Pathology Oncology Research* 2000; 1: 46-52
- 79) Keen WW. Three successful cases of cerebral surgery: including (1) the removal of a large intracranial fibroma; (2) exsection of damaged brain tissue and (3) exsection of the cerebral centre for the left hand; with remarks on the general technique of such operations. *Amer J Med Sci.* 1888;96: 329-357
- 80) Kepes JJ, Chen WY, Connors MH. Chordoid meningeal tumors in young individuals with peritumoral lymphoplasma celluler infiltrates causing systemic manifestations of the Constleman Syndrome. A report of seven cases. *Cancer* 1988; 62: 391-406
- 81) Kılıç T, Bayri Y, Özduman K et al. Tenascin in meningioma: expression is correlated with anaplasia, vascular endotelial growt factor expression, and peritumoral edema but not with tumor border shape. *Neurosurgery* 2002; 51: 183–193
- 82) Kinjo T, Al-Mefty O. Grade zero removal of supratentorial convexity meningiomas. *Neurosurgery* 1993; 33(3): 394 -399
- 83) Kleihues P, Cavenee WK. Pathology and genetics of tumors of the nerveus system (WHO). International Agency for Research on Cancer(IARC press) Lyon Virchows Arch. 2001; 438: 321-335
- 84) Knäuper V, Cowell S, Smith B et al. The role of the C-terminal domain of human collagenase-3 (MMP-13) in the activation of procollagenase-3, substrate specificity, and tissue inhibitor of metalloproteinase interaction. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 7608–7616
- 85) Kohama I, Sohma T, Nunomura K et al. Intraparenchymal meningioma in an infant; case report. *Neurol Med Chir Tokyo* 1996;36: 598-601.
- 86) Kolb C, Mauch S, Peter HH. Et. Al. The matrix metalloproteinase RASI-1 is expressed in synovial blood vessels of a rheumatoid arthritis patient. *Immunol. Lett.* 1997; 57: 83–88
- 87) Kondo S, Wakisaka N, Schell MJ et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induces the matrix metalloproteinase-1 promoter via an Ets binding site

- formed by a single nucleotide polymorphism: enhanced susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Cancer* 2005;115 (3): 368-376
- 88) Kurland LT, Schoenberg BS, Annegers JF. The incidence of primary intracranial neoplasms in Rochester, Minnesota. *Ann N.Y Acad. Sci.* 1982; 381:6-16
- 89) Kyritsis AP; Chemotherapy for meningiomas. *J. Neurooncol.* 1996; 29 (3): 269-272
- 90) Langford LA, Piatyszek MA, Xu R. et al. Telomerase activity in ordinary meningiomas predicts poor outcome. *Hum. Pathol.* 1997; 28(4): 416-420
- 91) Lantos PL, Louis DN, Rosenblum MK. Tumors of nervous system: Greenfield's Neuropathology. seventy. Edition Graham DI, Lantos PL(ed) Arnold, London 2002; 767-1052
- 92) E Levi, R Fridman, HQ Miao et al. Matrix metalloproteinase 2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor 1. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1996; 93: 7069–7074
- 93) Lin SC, Chung MY, Huang JW. Et al. Correlation between functional genotypes in the matrix metalloproteinases-1 promoter and risk of oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 2004; 33 (6): 323-326
- 94) Ludwin SK, Rubinstein LJ, Russel DS: Papiller meningioma; A malignant variant of meningioma. *Cancer* 1975; 36:1363-1373
- 95) M. Egeblad, Z. Werb. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer* 2002; 2: 161–174.
- 96) Mac Carty CS, Taylor WR. Intracranial meningiomas; Experiences of the Mayo clinic. *Neurol.* 1974; 19: 569-574
- 97) Manes S, Llorente M, Lacalle RA et al. The matrix metalloproteinase-9 regulates the insulin-like growth factor-triggered autocrine response in DU-145 carcinoma cells. *J Biol Chem.* 1999; 12;274 (11): 6935-6945.
- 98) Mann I, Yates PC, Aislie JP. Unusual case of double primary orbital tumor *British J. Ophtalmology* 1953; 37: 758-762
- 99) Matrisian L. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends. Genet.* 1990; 6: 121-125
- 100) Matsumura S, Oue N, Kitadai Y, Chayama K et al. A single nucleotide polymorphism in the MMP-1 promoter is correlated with histological

- differentiation of gastric cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2004;130 (5): 259-65
- 101) Michelson JJ, New PFJ. Brain tumor and pregnancy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1969; 32: 305-307
 - 102) Miller RE, Robert E. Breast cancer ang meningioma. *J. Surg. Oncol.*1986; 31: 182-183
 - 103) Mirimanoff RO, Dosorets DE, Linggood RM et al. Meningioma: analysis of recurrence and progression following neurosurgical resection. *J. Neurosurg.* 1985; 62:18-24
 - 104) Modan B, Baidatz D, Mart H. Radiation induced head neck tumors. *Lancet* 1974; 1: 277-279
 - 105) Morrison CJ, Butler GS, Bigg HF et al. Cellular activation of MMP-2 (Gelatinase A) by MT2- MMP occurs via a TIMP-2- independent pathway. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 47402–47410.
 - 106) Murtagh R, Linden C. Neuroimaing of intracranial meningiomas. *Neurosurgery Clinic North American* 1984; 5: 217-219
 - 107) Nakasu S, Li DH, Okabe H et al. Significance of MIB-1 staining incides in meningiomas. Comprasion of two couting methods. *Am. J. Surg. Pathol.*2001; 25(4): 472-478
 - 108) Nakasu S, Nakasu Y, Nakajima M. Preoperative idendification of meningiomas that are highly likely to recur. *J. Neurosurgery.* 1999; 90: 455-462
 - 109) Nath D, Williamson NJ, Jarvis R. Murphy G. Shedding of c-Met is regulated by crosstalk between a G-protein coupled receptor and the EGF receptor and is mediated by a TIMP-3 sensitive metalloproteinase. *J. Cell Sci.* 2001; 114: 1213–1220.
 - 110) Nguyen Q, Willenbrock F, Cockett MI et al. Different domain interactions are involved in the binding of tissue inhibitors of metalloproteinases to stromelysin-1 and gelatinase A. *Biochemistry* 1994; 33: 2089–2095
 - 111) Nordqvist SAC, Smurawa H, Mathiesen T. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in meningiomas associated with different degrees of brain invasiveness and edema. *J. Neurosurg.* 2001; 95: 839–844

- 112) Ohuchi E, Imai K, Fujii Y et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix macromolecules. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 2446–2451.
- 113) Ojeman RG. Supratentorial meningiomas; Clinical features and syurgical management. In: RH Wilkins, SS Rengachary,(ed) *Neurosurgery* 1996;873-890
- 114) Osborn AG: *Diagnostic Neuroradiolgy* (ed) Mosby- Year Book 1994; 14: 579-625
- 115) Overall CM, C López-Otín. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nat. Rev. Cancer* 2002; 2: 657–672
- 116) Pasquieier B,Gasnier F, Pasquier D et al. Papillary meningioma; Clinicopathologic study of seven cases and review of the literature. *Cancer* 1986; 58: 299-305
- 117) Paul K, David N, Louis M et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J. Neuropathology Experimental Neurology* 2002; 61 (3): 215-225
- 118) Pendás AM, Matilla T, Estivill X, López-Otín C. The human collagenase-3 (CLG3) gene is located on chromosome 11q22.3 clustered to other members of the matrix metalloproteinase gene family. *Genomics* 1995; 26: 615–618
- 119) Perret AG, Duthel R, Fotso MJ et al. Stromelysin-3 Is Expressed by Aggressive Meningiomas. *Cancer.* 2002; 94 (3): 765-772
- 120) Perrot-Applanat M, Groyer-Picord M.T. Immunocytochemical of progesterone receptor in human miningiomas, *Acta Neurochir. Wien* 1992;115 (1-2): 20-25
- 121) Perry A, Dehner LP. Meningeal tumors of childhood and infancy. An update and literature review. *Brain Pathol* 2003;13: 386-408.
- 122) Perry A, Gutmann H. David, Reifenberger Guido. Molecular pathogenesis meningioma. *Journal of Neuro-Oncology* 2002; 70: 183-202
- 123) Perry A, Scheithauer BW, Stafford SL et al. Rhabdoid meningioma: an agresive varient. *J. Surg. Pathology* 1998; 22: 1482-1490
- 124) Peschon JJ, Slack JL, Reddy P et al. An essential role for ectodomain shedding in mammalian development. *Science* 1998; 282: 1281–1284

- 125) Philippon J, Foncin JF, Grob R. Cerebral edema associated with meningiomas; Possible role of secretory-excretory phenomenon. *Neurosurgery* 1984; 14: 295 -301
- 126) Piepr DR, Al-Mefty O et al. Management of intracranial meningiomas secondarily involving the infratemporal fossa radiographic characteristics pattern of tumor and surgical implications. *Neurosurgery* 1999; 45: 231-238
- 127) Poisson M, Magdelanat H, Foncin JF et al. Estrogen and progesterin receptors in meningiomas: a study in 22 cases (author's transl) *Rev Neurol (Paris)*. 1980;136(3): 193-203.
- 128) Pollock SE, Unger F, Eustacchio S. Staged radiosurgical treatment for large benign cerebral lesions. *J. Neurosurg.*2000; 93: 107-112
- 129) Pompili A, Derome PJ, Visot A et al: Hyperostosing meningiomas of the sphenoid ridge-clinical features, surgical therapy and long term observations; review of 39 cases. *Surg. Neurol.* 1982; 17: 411-415
- 130) Pravdenkova S, Al-Mefty O, Sawyer J, Husain M. Progesterone and estrogen receptors: opposing prognostic indicators in meningiomas. *J. Neurosurg.* 2006; 105 (2): 163-173
- 131) Prayson RA, Farver CF. Primary pulmonary malignant meningioma. *Am. J. Surg. Pathol.* 1999; 23(6): 722-726
- 132) Preston-Martin S, Mack W, Handerson BE. Risk factors for gliomas and meningiomas in males in Los Angeles County. *Cancer Res.*1989; 49: 137-6143
- 133) Lobato RD, Alday R, Gomez PA et al. Brain edema in patients with intracranial meningioma. *Acta. Neurochir. Wien* 1996;138: 485 494
- 134) Radner H, Katenkamp D, Reifenberger G et al. New developments in the pathology of skull base tumors. *Virchows Arch.*2001; 438(4): 321-335
- 135) Radostina A, Nikolova E. Matrix Metalloproteinases and cancer. *Experimental Pathology and Parasitology* 2002; 5:8-25
- 136) Ramsey R.G: *Neuroradiology with computed tomography* W.B Saunders Co. Philadelphia 1991; 405-444
- 137) Ratringer M, Sutherland GR, Lovum DF. Incidence and clinicopathological features of meningiomas. *J.Neurosurg.* 1989; 71: 665-672

- 138) Roggendorf W, Schuster T, Peiffer J. Proliferative potential of meningiomas determined with the monoclonal antibody Ki-67. *Acta Neuropathol.* 1987; 73: 361–364
- 139) Russel DS, Rubinstein LJ. Tumors of the meninges and related tissues. In: *Pathology of tumors of the nervous system*, 5th edn. Williams & Wilkins, Baltimore 1989; 449–532
- 140) Sanchez-Lopez R, Alexander CM, Behrendtsen O et al. Role of zinc-binding- and hemopexin domain-encoded sequences in the substrate specificity of collagenase and stromelysin- 2 as revealed by chimeric proteins. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 7238–7247
- 141) Scheithamer BW. Tumors of the meninges: Proposal modification of the WHO clasification. *Acta Neuropathology Berlin* 1990; 80: 343-354
- 142) Schiffer D: Brain tumors. Pahology and biological correlates, Springer Verlag, Berlin 1993; 235-323
- 143) Schimidek HH, Sweet WH. Meningiomas and their surgical management WB Saunders c.o Philadelphia 1991; 3-103
- 144) Schnegg JF, Gomez F, Le Marchand-Beraud T. Presence of sex steroid hormone receptors in meningioma tissue. *Surg. Neurol.* 1981; 15(6): 415-418
- 145) Scotnicki, Zask S, Nelson EC, Albright JD. Design and synthetic considerationsof matrix metalloproteinase inhibitors. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1999; 878: 61-72
- 146) Silverberg SG, Delellis RA, Frable WJ. *The central nervous system: Principle and Practice of Surgical Pathology and Cytophology.* Churchill Livinstone Inc. 1997; 2976-2983
- 147) Simpson D: The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J. Neurol Psychiatry Neurosurgery.* 1957;20: 22-39
- 148) Smith JS, Lal A, Harmon-Smith M, Bollen AW at al. Association between absence of epidermal growth factor receptor immunoreactivity and poor prognosis in patients with atypical meningioma. *J. Neurosurg.* 2007;106 (6): 1034-1040

- 149) Sottrup-Jensen L, Birkedal-Hansen H. Human fibroblast collagenase- α -macroglobulin interactions. Localization of cleavage sites in the bait regions of five mammalian α -macroglobulins. *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 393–401
- 150) Springman EB, Angleton EL, Birkedal-Hansen H et al. Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: evidence for the role of a Cys73 active-site zinc complex in latency and a "cysteine switch" mechanism for activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87: 364–368.
- 151) Stanton CA, Challa VR. Meningiomas. Pathology. In: Wilkins R H. Rengachary SS, eds. *Neurosurgery: 2nd ed.* New York. McGraw-Hill Publisher 1996; 843-854
- 152) Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2001; 17: 463–516
- 153) Stolow MA, Bauzon DD, Li J et al. Identification and characterization of a novel collagenase in *Xenopus laevis*: possible roles during frog development. *Mol. Biol. Cell* 1996; 10: 1471–1483
- 154) Strojnik P, Zidanik B, Kos J et al. Cathepsins B and L are markers for clinically invasive types of meningiomas. *Neurosurgery* 2001;48(3): 598-605
- 155) Strongin AY, Collier I, Bannikov G et al. Mechanism of cell surface activation of 72-kDa type IV collagenase. Isolation of the activated form of the membrane metalloprotease. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 5331–5338
- 156) Sutherland GR, Florell R, Lovum D: Epidemiology of primary intracranial neoplasms in Manitoba Canada. *Can. J. Neurol. Sci.* 1987;14:586-592
- 157) Symon L. Surgical approaches to the tentorial hiatus. *Adv. Technical Standards Neurosurg.* 1982; 9: 69-112
- 158) Symons P, Tobias V, Pereira J et al. Brain -invasive meningioma in a 16 month -old boy. *Pathology* 2001; 33(2): 252-256
- 159) Tam EM, Moore TR, Butler GS. Characterization of the distinct collagen binding, helicase and cleavage mechanisms of matrix metalloproteinase 2 and 14 (gelatinaseA and MT1-MMP): the differential roles of the MMP hemopexin c domains and the MMP-2 fibronectin type II modules in collagen triple helicase activities. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 43336–43344

- 160) Taraboletti G, Morbidelli L, Domini S et al. The heparin binding 25 kDa fragment of thrombospondin-1 promotes angiogenesis and modulates gelatinase and TIMP-2 production in endothelial cells. *FASEB J.* 2000; 14: 1674–1676
- 161) Thomas R, True LD, Bassuk JA et al. Differential Expression of Osteonectin/SPARC during Human Prostate Cancer Progression. *Clinical Cancer Research* 2000; 6: 1140–1149
- 162) Tower GB, Coon CI, Brinckerhoff CE. The 2G single nucleotide polymorphism (SNP) in the MMP-1 promoter contributes to high levels of MMP-1 transcription in MCF-7/ADR breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.* 2003;82(2): 75-82
- 163) Trinkaus M, Vranič A, Dolenc VV, Lah TT: Cathepsin L in human meningiomas. *Radiol. Oncol.* 2003; 37(2): 89-99
- 164) Tsunoda S, Takeshima T, Sakaki T: Secretory meningioma with elevated serum CEA level. *Surg. Neurol.* 1992; 37: 415-418
- 165) Ueki K, Wen-Bin C, Narita Y et al. Tight association of loss of merlin expression with loss of heterozygosity at chromosome 22q in sporadic meningiomas. *Cancer res.* 1999; 59: 5995-5998
- 166) Vihinen P, Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *Int. J. Cancer* 2002; 99: 157–166
- 167) Longstrath WT, Leslie K, Dennis Ph. D et al. Epidemiology of intracranial meningioma. *Cancer* 1993; 72: 639-648
- 168) Weber RG, Bostrom D, Wolter M et al. Analysis of genomic alterations in benign, atypical and anaplastic meningioma; Toward a genetic model of meningioma progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94: 14719-14724
- 169) Westermarck J, Seth A, Kahari VM. Differential regulation of interstitial collagenase (MMP-1) gene expression by ETS transcription factors. *Oncogene* 1997; 14: 2651–2660
- 170) Westphal M, Herrmann HD. Epidermal growth factor-receptors on cultured human meningioma cells. *Acta Neurochir. Wien* 1986;83 (1-2) :62-66
- 171) Whitelock J, Murdoch JM, Iozzo RV. The degradation of human endothelial cell-derived perlecan and release of bound basic fibroblast growth factor by

- stromelysin, collagenase, plasmin, and heparanases. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 10079–10086.
- 172) Wilhelm SM, Eisen AZ, Teter M. et al. Human fibroblast collagenase: glycosylation and tissuespecific levels of enzyme synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986; 83: 3756–3760
- 173) Wilkins RH, Rengachary SS. *Meningiomas neurosurgery vol.1b (ed) 2*, McGraw-Hill Book c.o Newyork 1996; 833-958
- 174) Williams PL, Warnick R, Dyson M, Bannister L. *Gray's anatomy, (ed) Churcill Livingstore. London* 1989; 37: 178-179
- 175) Xu J, Rodriguez D, Petitcherc E et al. Proteolytic exposure of a cryptic site within collagen type IV is required for angiogenesis and tumor growth in vivo. *J. Cell Biol.* 2001; 154:1069–1080
- 176) Y. He, T. Karpanen, K. Alitalo. Role of lymphangiogenic factors in tumor metastasis, *Biochim. Biophys. Acta* 2004;1654: 3–12.
- 177) Yamasaki F, Yoshioka H, Hama S et al. Recurrence of meningiomas. *Cancer* 2000; 89(5): 11102-11110
- 178) Yang Z, Strickland DK, Bornstein P. Extracellular matrix metalloproteinase 2 levels are regulated by the low density lipoprotein-related scavenger receptor and thrombospondin 2. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 8403–8408
- 179) Yashiyasu I, Kazuhiro Y, Hidaki N. Two staged knife rad iosurgery for the treatment of large petroclival and cavernosus sinus meningiomas. *Surg. Neurol.* 2001; 56: 308-314
- 180) Yaşargil M.G: *Meningiomas In micro surgery I.V.B, thieme Inc.* 1996 134-165
- 181) Comtesse N, Heckel D, Racz A. Five novel immunogenic antigens in meningioma: cloning, expression analysis, and chromosomal mapping. *Clin. Cancer Res.* 1999;5(11):3560-3568
- 182) Yu WH, Woessner JF, McNeish JD, Stamenkovic I. CD44 anchors the assembly of matrilysin/MMP-7 with heparin-binding epidermal growth factor precursor and ErbB4 and regulates female reproductive organ remodeling. *Genes Dev.* 2002; 16: 307–323

- 183) Zang KD. Cytological and cytogenetical studies in human meningioma, *Cancer Genet. Cytogenet.* 1982; 6: 249-274
- 184) Zankl H, Zang KD. Correlation between clinical and cytogenetical data in 180 human meningiomas. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1980;1: 351-356
- 185) Zhang J, Carroll RS, Dashner K et al. Progesterone and glucocorticoid receptor activation in meningiomas. *Neurosurgery.*1995;37(1): 92-97
- 186) Zhu Y, Spitz MR, Lei L et al. A Single Nucleotide Polymorphism in the Matrix Metalloproteinase-1 Promoter Enhances Lung Cancer Susceptibility. *Cancer Research* 2001; 61:7825–7829
- 187) Zimmerman HM. Brain tumors; their incidence and classification in man and their experimental production. *Ann. NewYork Acad. Sci.* 1969; 159: 337-359.
- 188) Zimmerman R.D, Fleming C.A, Saint-Louis L.a et al: Magnetic resonance imaging of meningiomas. *Am. J. Neuroradiol.* 1985; 6: 149-157