

T.C.

**MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
NÖROLOJİK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**MENİNGİOMALARIN BİYOLOJİK DAVRANIŞINI  
BELİRLEMEDE ORTALAMA AgNOR SAYISININ  
HİSTOPATOLOJİK TİPLERLE  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr.Ayşe UZMAY**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman: Prof. Dr. Aydın Sav**

**İstanbul, 1998**

# İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İçindekiler	i
Tablolar Listesi	ii
Grafikler Listesi	ii
Kısaltmalar	iii
Önsöz	iv
Özet	v
Summary	vi
<b>1 GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1 Meningiomaların Genel Özellikleri, Heterojen Biyolojik Davranışları ve Sınıflandırmadaki Sorunlar	2
1.1.1 Etyoloji	2
1.1.2 Lokalizasyon	2
1.1.3 Klinik Özellikler	3
1.1.4 Dünya Sağlık Örgütü'nün Sınıflandırması	4
1.1.5 Makroskopik Özellikler	5
1.1.6 Mikroskopik Özellikler	5
1.1.7 İmmunohistokimyasal Özellikler	10
1.2 AgNOR Yöntemi ve Proliferatif İndeks Olarak Patolojide Kullanımı	11
1.3 Görüntü Analizi Sisteminin Patolojide Kullanımı	14
<b>2 GEREÇ VE YÖNTEM</b>	
2.1 Araştırmanın Amacı, Kapsamı ve Yararları	15
2.2 Araştırmanın Yöntemi	15
2.2.1 AgNOR Yöntemi	17
2.2.2 Görüntü Analizi Sistemi	17
2.3 Araştırmanın Geçerliliği ve Güvenilirliği	18
<b>3 BULGULAR</b>	<b>19</b>
<b>4 TARTIŞMA</b>	<b>25</b>
<b>5 SONUÇLAR</b>	<b>30</b>
<b>6 RESİMLER</b>	<b>31</b>
<b>7 KAYNAKLAR</b>	<b>36</b>
<b>8 ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>42</b>

## **TABLolar LİSTESİ**

	sayfa no
Tablo 1 : Olguların gradelere göre dağılımı	19
Tablo 2 : AgNOR 1 değerleri	22
Tablo 3 : AgNOR 2 değerleri	22
Tablo 4 : Histopatolojik parametrelerle ortalama AgNOR sayıları arasındaki istatistiksel bağlantıların p değerleri	23
Tablo 5 : Olguların Görüntü analizi sistemi ile bulunan ortalama AgNOR sayıları	24

## **GRAFİKLER LİSTESİ**

Grafik 1 : Olguların gradelere göre cinsiyet dağılımı	19
Grafik 2 : Olguların gradelere göre yaş dağılımı	20
Grafik 3 : Olguların lokalizasyonlara göre oranları	21

## KISALTMALAR

AgNOR	: Argirofilik nükleolar organizler bölge
BrdU-LI	: Bromodeoksi uridin işaretleme indeksi
CEA	: Karsino embriyonik antijen
CK	: Sitokeratin
DFC	:Dens Fibriller Komponent
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FC	: Fibriller Merkez
FCM	: Flow sitometri
GAS	: Görüntü Analiz Sistemi
GC	: Granüler Komponent
HE	: Hematoksilen – Eozin
PAS	: Periodik Asid- Schiff
PCA	: Pontoserebellar Köşe
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
SS	: Standart sapma
SH	: Standart hata

## ÖNSÖZ

Meningiomalar, rekürrens hızlarının yüksek olması ve prognozun önceden tahmininde güçlük çekilmesi nedeniyle araştırma konusu olan tümörlerdir. Ayrıca tipik/atipik/malign meningioma gruplarının ayırımına yönelik çabalar halen kesin bir sonuca ulaşmamıştır. Çeşitli histopatolojik parametreler ve proliferatif indeksler kullanılarak bunların alt gruplarının ayırımı, prognozun belirlenmesi gibi konularda yararı araştırılmaktadır. Bu çalışmada proliferasyon belirleyicilerden olduğu kabul edilen AgNOR yönteminin meningioma alt gruplarının ayırımında rolü ve histopatolojik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır. Ayrıca gözle yapılan sayımla ve otomatik görüntü analizi ile elde edilen ortalama AgNOR değerleri karşılaştırılmıştır.

## ÖZET

Otuz intrakranial meningioma olgusuna ait formalinle tesbit edilmiş parafin blok kesitlerine AgNOR boya yöntemi uygulanarak ortalama AgNOR sayılarının alt gruplarla ve histopatolojik parametrelerle ilişkisi araştırıldı. Bunların yirmiüçü (% 76,6) grade 1, dördü (% 13,3) grade 2 ve üçü (% 10) grade 3 meningioma grubuna giriyordu. AgNOR sayımları mikroskopta çıplak gözle ve bilgisayarlı görüntü analizi sistemi ile yapıldı. En yüksek ortalama AgNOR sayısı 6,840 ile grade 2 meningiomalarda bulundu. İkinci sırada 6,173 ile grade 3 olgular ve daha sonra 4,921 ile grade 1 olgular geliyordu. Her üç gruptan olguların ortalama AgNOR sayıları arasında çakışmalar vardı ve bu sayılarla grade arasında istatistiksel hesaplamalarla anlamlı ilişki olmadığı saptandı. Histopatolojik parametrelerden nekroz ve intranükleer inklüzyon varlığı ortalama AgNOR sayıları ile anlamlı ilişki gösterdi.

## **SUMMARY**

AgNORs were estimated in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of thirty intracranial meningiomas and mean AgNOR counts were compared with meningioma subgroups and histopathologic parameters. Twentyone (76,6 %) of them were grade 1, four of them were grade 2 and three of them (10 %) were grade 3. AgNORs were counted both by naked eye at light microscope and by image analysis system. The highest mean AgNOR count was of grade 2 group with 6,840, the second was grade 2 group with 6,173 and the lowest count was of grade 1 group with 4,921. There was overlapping of AgNOR counts of all three groups and no statistical correlation was found between these numbers and grade. Interestingly, there was statistically significant correlation between AgNOR counts and two histopathological parameters; necrosis and intranuclear inclusion.

# 1 GİRİŞ

Meningiomalar primer intrakranial tümörlerin % 13-19'unu oluşturmakta, cerrahi rezeksiyon sonrasında % 10-15 oranında rekürrens ve seyrek olarak da metastaz görülmektedir (39). Meningiomaların biyolojik davranışı her zaman sadece histolojik görünüme bakılarak tahmin edilememektedir. Bu tümör grubunda malignite kriterleri hala kesinlik kazanmamıştır. Atipik/malign ayrımı histopatolojik kriterlerle yapılamayan meningioma gibi lezyonlarda rekürrense eğilimli tümörlerin saptanmasında proliferasyon belirleyicileri kullanılmaktadır (1). Rekürrens hızları genelde retrospektif olarak, tümör tekrarladıktan sonra belirlenmekte, dolayısıyla hastanın tedavisinin planlanmasında böyle bir bilgiden yararlanılamamaktadır.. Dahası meningiomaların her birinin büyüme hızı farklı olabileceğinden, özellikle bir tümör tipinin rekürrens hızını bilmenin yararı olmayacaktır. Her tümör için, tanı aşamasında belirlenecek ve tedavinin planlanmasında kullanılabilecek proliferatif potansiyel belirleyicilerinin pratikte kullanımı hasta açısından avantaj sağlayacaktır. Bu amaçla bromodeoksi uridin işaretleme indeksi ( BrdU - LI ), Ki -67 proteini ekspresyonu, anti DNA polimeraz alfa monoklonal antikoru, proliferatif hücre nükleer antijen, MIB-1 boyanması AgNOR skoru, DNA flow sitometri gibi proliferasyon indekslerinin kullanıldığı çalışmalar vardır (10,19,20,25,26,28,31,35,37,46,48,56). Bu çalışmada meningiomalarda prognozla ilişkisi olduğu düşünülen parametreler gözden geçirilerek bir proliferasyon belirleyicisi olduğu yolunda yayınlar bulunan AgNOR yönteminin bu parametrelerle ilişkisi araştırıldı.

## **1.1 MENİNGİOMALARIN GENEL ÖZELLİKLERİ, BİYOLOJİK DAVRANIŞLARI VE SINIFLANDIRILMASI**

Meningiomalar , neoplastik meningotelyal (araknoid) hücrelerden oluşan , rekürrens eğilimi gösteren tümörlerdir. Geçmişte bu terim histolojik tip dikkate alınmaksızın primer meningeal tümörlerin tamamı için kullanılmış olsa da zamanla kapsamı daraltılmış, hemanjioperisitoma ve hemanjioblastomanın ayrı birer grupta incelenmesiyle sadece meningotelyal hücrelerden köken alan tümörler için kullanılır olmuştur (1,17,38).

**1.1.1 Etyoloji:** Tam bilinmemekle birlikte çeşitli amaçlarla uygulanan kranial ışınlama , travma , genetik etkiler , kromozom anomalileri , hormonal etki suçlanmaktadır. En sık görüldüğü yaş erişkin grup olup kadınlarda 3:1 oranında daha sık rastlanır.Çocuk yaş grubundaki meningiomalarda cinsler arasında fark yoktur (1,23,38).

**1.1.2 Lokalizasyon :** En sık intrakranial meninkslerde görülür. Bunu intraspinal ve optik sinir kılıfı meningiomaları izler (1). Kafa içinde yerleştikleri zaman özellikle araknoid villusların bol olduğu bölgelerde bulunurlar (17). Genelde tabanı dura materde olan, superior sagital sinüse komşu, serebral konveksitede ve falks serebri ile temas halinde bir kitledir. Bazal lokalizasyonlu örnekler sfenoid kanat, olfaktor oluklar , tuberkulum sella ve parasellar bölgede , petroz kenarda bulunurlar. Posteriorıda pontoserebellar köşe meningiomaları görülür (38). İntrakranial meningiomalar nadiren tela koroideada , koroid pleksus stroması içinde veya ventriküler sistemden çıkabilir. Serebral parankim içinde özellikle

perivasküler araknoid hücrelerden gelişen örnekler de vardır (17,38). Spinal meningiomalar daha çok torasik bölgeyi tercih ederler. Ayrıca epidural , kalvarial , intrapetroz meningiomaların yanında tümüyle kraniospinal kompartmanın dışında yerleşen örnekler vardır. Bunlar daha çok baş-boyun bölgesinde görülür. Nadiren mediastinum, akciğerler, brakial pleksus gibi santral nöroaksisten daha uzak lokalizasyonlarda ektopik meningiomalar görülebilir (38 ).

### **1.1.3 Klinik Özellikler**

En sık lokalizasyon olan intrakranial meninkslerde geliştikleri durumlarda büyüyen bir intrakranial kitlenin özgün olmayan belirtilerini verirler. Bunların başlıcaları fokal nörolojik defisitler, kafa içi basınç artışı sendromu ve nöbetlerdir. Meningiomalarda nöbetlere glioma ve intrakranial metastaz gibi intraparenkimal tümörlerdekinden daha az rastlanır (1,23).

## 1.1.4 DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ'NÜN SINIFLANDIRMASI (17)

### I-Tipik meningioma

- 1-Meningotelyal
- 2-Fibröz (Fibroblastik)
- 3-Transizyonel (mikst)
- 4-Psammomatöz
- 5- Anjiomatöz
- 6- Mikrokistik
- 7- Sekretuar
- 8- Berrak hücreli
- 9- Kordoid
- 10- Lenfoplazmasitten zengin
- 11- Metaplastik

### II- Atipik meningioma

### III-Papiller meningioma

### IV-Anaplastik meningioma

### **1.1.5 Makroskopik özellikler**

Genelde duraya geniş bir tabanla tutunmuş , solid , lobüle, düzgün yüzeyle yumuşak kitlelerdir. İçerdikleri fibroblast oranı, kalsifikasyon, ossifikasyon alanları, lipid ve stromal musin birikimine bağlı farklılıklar gösterirler (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün 1993 yılında önerdiği sınıflamada tipik, atipik , papiller ve anaplastik meningiomalar olmak üzere dört gruba ayrılırlar (17). Tipik meningiomalar leptomeninksleri başlangıçta iterek büyürler.Komşu kranial sinirler ve büyük kan damarları yer değiştirir veya tümör tarafından sarılırlar. Bazıları komşu kafatasını infiltre ederek hiperostozise ya da dışarıdan görülebilen bir kitleye neden olabilirler (1,38 ).

### **1.1.6 Mikroskopik özellikler**

Meningiomaların az bir kısmı saf formdadır. DSÖ sınıflandırmasında tanımlanan tipik meningioma gruplarının en az birkaçını temsil eden alanları bulunur. Meningotelyomatöz , transizyonel ve fibröz alt grupların, meningiomaların klasik histolojik spektrumunu oluşturdukları düşünülmektedir.

#### **I Tipik meningiomalar**

1-Meningotelyomatöz ( sinsityal ) meningioma : Sınırları belirsiz, sinsityal görünümdeki meningotelyal hücrelerin oluşturduğu iyi sınırlı solid lobüllerle karakterize bir gruptur. Tümör hücrelerinin yuvarlak/oval ince kromatinli nükleusları, tek, küçük nükleolusları ve sık rastlanan intranükleer sitoplazmik inklüzyonları vardır. Bu grubun belirgin özelliği yumaklardır.Bazı örneklerinde tuhaf görünümlü, tek veya birden fazla

nükleuslu dev hücreler görülebilir. Bu özellik tek başına agresif davranış veya malignansi belirtisi değildir. Mitoz çok nadir veya hiç yoktur.

**2-Fibröz ( Fibroblastik ) meningioma :** Fibroblastlara benzeyen iğsi şekilli hücrelerin baskın olduğu örneklerdir. Bu grup daha saf formda bulunma eğilimindedir. Daha az hücresel, kollajenden zengin matriks içinde uzamış hücrelerden meydana gelir. Bazılarında fasiküler veya storiform yapı olabilir. Nükleusları sinsityal gruba göre biraz daha hiperkromatiktir ve belirgin şekilde uzamışlardır. Yumak, psammoma cisimciği, intranükleer inklüzyonlara pek rastlanmaz.

**3-Transizyonel ( mikst ) meningioma:** Meningotelyal ve fibröz meningioma paternlerinin karışımından oluşan, arada özellikler gösteren bir gruptur. Bunlar, özellikle santral bir kapiller çevresinde konsantrik yumak yapımına eğilim gösterirler. Bazı yumaklarda hyalin, bazen kalsifiye kor veya psammoma cisimciği bulunur.

**4-Psammomatoz meningioma :** Transizyonel görünümde hücrelerden oluşan, psammoma cisimciğinin bol olduğu bir gruptur. Bu meningiomalar daha çok spinal dura ve olfaktor olukta sık yerleşirler.

**5-Anjiomatöz meningioma:** Büyük veya küçük vasküler kanalların ön planda olduğu bir meningioma türüdür. Aradaki meningotelyal hücre yuvaları belirsiz olabilir. Kapiller boyuttaki damarların özellikle yoğun olduğu örnekleri hemanjioblastomayı taklit edebilir.

**6- Mikrokistik meningioma:** İçlerinde soluk eozinofilik münin bulunan mikrokistikleri çevreleyen uzantılı hücrelerden oluşur. Pleomorfik ve hiperkrom nükleuslarda genellikle sitoplazmik inklüzyonlar bulunur. Eozinofilik, PAS (+) globüller de görülebilir. Kural olarak yumak ve

psammoma cisimciği yok veya azdır. Bazı mikrokistik meningiomalarda büyük bir intratümöral / peritümöral kist bulunur.

7-Sekretuar meningioma: Meningotelyomatöz veya transizyonel özelliği bulunan, glandüler luminaların olmasıyla kendini gösteren epitelyal differansiyasyonlu meningiomalardır. Luminanın eozinofilik, kuvvetli PAS(+) ve CEA reaktivitesi veren bir sekretuar komponenti vardır. Bunu çevreleyen hücreler kuvvetli CK reaktivitesi gösterirler.

8-Berrak hücreli meningioma : Berrak, glikojenden zengin, dolayısıyla PAS (+), diastaza duyarlı sitoplazması bulunan, sıkıca düzenlenmiş poligonal hücrelerden oluşurlar.Psammoma cisimcikleri genellikle yoktur. Bu grup tümörler en sık PCA ve kauda equinada görülürler.

9-Kordoid meningioma: Lobülarite gösteren, eozinofilik, bazen vakuollü hücre zincirleri yapma eğiliminde olan ve bu özelliği ile kordomaya benzeyen bir gruptur. İnterlobüler stromada lenfoplazmasitik infiltrat olabilir. Bunlarda genellikle fokal meningotelyal veya transizyonel özellikler bulunur. Psammoma cisimciği az sayıdadır. Bu grup meningiomalarda poliklonal gammopati ve/veya anemi bulunabilir.

10-Lenfoplazmasitten zengin meningioma: Yoğun lenfoplazmasit infiltratlı, meningotelyomatöz, transizyonel ve hatta fibröz tip meningiomalardır. Bazen infiltrat alttaki meningioma paternini örtecek kadar yoğun olabilir. Bunlarda da poliklonal gammopati ve/veya anemi görülebilir.

11-Metaplastik meningioma: Genellikle meningotelyomatöz, fibröz, transizyonel tipteki meningiomalarda ksantomatöz, kartilaginöz, osseöz, mikzoid veya lipomatöz hücre metaplazisi görülebilir.

Bu patternlerin hiçbirinin özel biyolojik önemi yoktur (1,17,38).

## **II- Atipik Meningioma**

Aşağıdaki özelliklerden birkaçını taşıyan meningiomalardır,

- Sık mitoz,
- Hipersellülarite
- Nükleus sitoplazma oranı artmış küçük hücreler ve/veya belirgin nükleol
- Tabakalaşma
- ‘ Spontan ’ veya coğrafik nekroz

Sadece nükleer atipi veya duraya, kemik yapılara invazyon bir meningiomayı ‘atipik’ olarak tanımlamaya yetmez. Bu grup meningiomaların rekürrens eğilimi yüksektir ve histolojik olarak grade 2’ye karşılık gelirler (17).

## **III- Papiller Meningioma**

Perivasküler psödopapillaları bulunan agresif, son derece hücresel bir meningioma türüdür. Büyüme paterni alışılmış meningiomaya benzeyen alanlarda monoton nükleusları ile meningotelyal hücreleri andırır. Papillaların damar yapılarında sonlanan hücreler ependimomalarınkine benzeyen psödorozetler yaparlar. Bu özellikleri nedeniyle astroblastoma, metastatik karsinoma, amelanotik melanoma, malign koroid pleksus papilloması ile de karışabilirler. Papiller alanlarda yumak ve psammoma cisimciği genellikle bulunmaz. Değişen sayılarda mitozlar vardır. Sıklıkla gençlerde-pediyatrik yaş grubunda görülen bu meningiomalar genellikle agresif davranır. Sık rekürrens, beyin invazyonu ve geç metastazlar yaparlar.

Histolojik olarak grade 2 veya 3 kabul edilirler. Eski sınıflamalarda papiller meningiomalar anaplastik grup içinde incelenirken son DSÖ sınıflamasında anaplastik ve atipik meningiomalar arasında bir yerde ayrı bir başlık altında ele alınmıştır (17).

#### **IV- Anaplastik (Malign) Meningioma**

Malign sitolojik özellikler, yüksek mitotik indeks ve belirgin nekroz gibi açıkça histolojik malignansi özellikleri gösteren meningiomalardır. Anaplastik, kollajen yapan iğsi hücrelere geçiş gösteren meningiomalar için eskiden kullanılan 'sarkomatöz' terimi artık önerilmemektedir. Bazı araştırmacılar sadece metastaz değil ayrıca gross beyin invazyonunu malignite kriterleri içine almışlardır. Histolojik olarak grade 3'e karşılık gelirler (17).

### 1.1.7 İmmunohistokimyasal Özellikler

Tanısal açıdan en yararlı bulgu epitelyal membran antijeni için membranöz paternde veya diffüz sitoplazmik bir immunoreaktivite elde edilmesidir. Pozitiflik meningotelyal ve transizyonel gruplarda daha belirgindir. Ultrastrüktürel seviyede bunlar fibröz varyanta göre daha fazla epitelyal differansiyasyon gösterir. Boyanma en iyi kordoid meningiomalarda ve sıklıkla fokaldır. Vimentin için diffüz immunoreaktivite bütün meningioma alt gruplarında gözlenen tipik bir özelliktir. Az bir kısmı S-100 reaktivitesi gösterir. Schwannomalar kuvvetli pozitif boyanırken meningiomalarda zayıf ve yamalı bir reaksiyon alınır.

Sekretuar meningiomalarda sitokeratin tipik olarak pozitif reaksiyon verir, ayrıca sıradan meningotelyal ve transizyonel alt gruplarda da daha az yaygınlıkta olmak kaydıyla boyanma izlenebilir. Yaygın sitokeratin reaktivitesi metastatik karsinomayı akla getirmelidir. Sekretuar alt grupta ayrıca psödopsammoma cisimciklerini saran hücrelerde karsino embriyonik antijen için de reaktivite görülür (1,38).

## 1.2 AgNOR Yöntemi ve Proliferatif İndeks olarak Patolojide Kullanımı

Nükleolar organizier bölgeler ( NOR) akrosentrik kromozomlarda bulunan ve ribozomal RNA yı kodlayan genlerin lokalize olduğu alanlardır (8,9,14,36,43,44). Bu gen segmentleri insanda sadece 13, 14, 15, 21 ve 22 numaralı akrosentrik kromozomların kısa kollarında bulunur. Her akrosentrik kromozom iki NOR taşır. Kromozomların NOR ları ışık mikroskobu ile daha az yoğunlukta boyanmış ve daha dar segmentler halinde görülebilirler (9 ). NOR lar interfazdaki hücrede nükleolus içinde bulunurlar. Hücresel aktivite ile nükleolus arasında sıkı bir ilişki vardır. Nükleolus sayı ve morfolojisi hücrenin metabolik ve proliferatif faaliyetinin derecesine, bulunduğu siklusun evresine bağlı olarak farklılıklar gösterir (34,53,55).

Nükleolus kromozomun NOR segmenti ile yakın topografik ilişkidir. NOR ların sayısı oluşan nükleolusların sayısını belirler. Ancak nükleolus sayısı toplam NOR sayısına genellikle erişemez (9). Çünkü bazı NOR kromatinleri inaktif olup çevrelerinde nükleolus oluşturmazlar. Bunlar nükleolus dışı NOR kromatinleridir. Diğer bir neden de aktif bazı NOR kromatinlerinin birleşerek daha büyük boyutta ancak daha az sayıda nükleoluslar oluşturmasıdır.

Nükleolusta ultrastrüktürel olarak dört birim bulunur ; Fibriller merkez ( FC ), dens fibriller komponent ( DFC ), granüler komponent ( GC ) ve nükleolusla ilişkili kromatin. Dinlenme halindeki hücrelerde rDNA lar büyük boyutlu ve az sayıda FC oluşturacak şekilde bir arada bulunurlar. Hücre aktivite kazandıkça bu genler birbirinden ayrılarak daha küçük FC ler oluştururlar. Bununla paralel olarak rRNA sentezi ve nükleolus hacmi artar (34,43,53,55).

NOR lar, RNA polimeraz 1, C23, B23, ve nükleolar fosfoproteinler gibi bazı proteinlerle birliktedirler. Gümüşle boyanan temel protein nükleolin denilen, 92 kd bir nükleolar proteindir. AgNOR proteinleri olarak bilinen bütün bu yapılar argirofilik non-histon proteinlerdir ve RNA transkripsiyonunda rol oynadıkları düşünülmektedir (8,33,36,43,52). NOR'lar beraberlerindeki bu proteinlerin argirofilisi sayesinde basit bir gümüşleme tekniği ile gösterilebilirler (44).

AgNOR'ları göstermek için geliştirilen teknik başlangıçta sitogenetikçiler tarafından kromozom yaymalarında kullanılırken zamanla modifiye edildi (13,53) ve 1986 yılında Ploton ve arkadaşları tarafından geliştirilerek parafin blok kesitlerinde uygulanabilir hale getirildi (34), Crocker ve arkadaşlarının çalışmalarıyla da patolojide kullanılmaya başlandı (5,7,47).

Ancak AgNOR sayısının neyin ölçüsü olduğu tam bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar bu sayının ploidi ile ilişkili olabileceğini (49), diğerleri de tümörün hücre kinetiğini gösterdiğini (6) düşündüler. FCM, Ki 67, bromodeoksi uridin işaretleme ( BrdU LI ) gibi yöntemlerle ölçülen proliferasyon indeksleriyle ortalama AgNOR sayıları arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir (6,26,49). AgNOR sayısı neoplazmı gradelemede yardımcı olabilir (52).

AgNOR boyası basit ve uygulanması kolay olmakla birlikte hassasiyet gerektiren bir yöntemdir. Dokunun tesbit aşamasından başlayarak sayım yöntemine kadar AgNOR benekciklerinin sayısını etkileyen pek çok faktör vardır (5,22,42). Fiksasyonun süresinin ve kullanılan fiksatifin NOR boyanmasında önemli etkileri vardır. Bazı araştırmacılar alkollü fiksatiflerin optimal sonuçlar verdiğini gözlemişlerdir (47). Smith ve

arkadaşlarının bu çalışmasında Carnoy fiksativi özellikle önerilmekte, ayrıca % 10' luk nötral tamponlanmış formalinin de optimal boyanmayı sağladığı bildirilmektedir.

AgNOR tekniği ayrıca her türlü sitolojik preparatta, frozen kesitlere uygulanabilir (33,38,41).

### 1.3 Görüntü Analizi Sisteminin Patolojide Kullanımı

Kantitatif görüntü analizi sistemi (GAS), günümüzde hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir olması nedeniyle birçok alanda kullanılmaktadır. Sistem, en basit haliyle bir mikroskop, video kamera, bilgisayar ve bir katod ışını tüpünden oluşur. Mikroskoptaki orijinal görüntü fotoğraflanır ve monitörde dijitalize bir görüntü olarak sunulur. Tıpta sitolojik, hematolojik, cerrahi materyallerde GAS kullanılmaktadır (54).

Morfometri, dokulardaki hücreler ve organelleri, bunların organizasyonu gibi 'objelerin' değişikliklerinin ölçülmesidir. Prensipleri bir asırdan beri bilinmekle birlikte günümüzde güçlü ve pratik bilgisayar sistemlerinin kullanıma girmesiyle bu özellikleri ölçmek kolaylaşmıştır.

Çoğu hastalıkta hücre komponentleri ve doku değişiklikleri farklıdır ve ölçülebilir. Bu kantitatif değişikliklerin belirlenmesi sadece hücre ve dokuya dayalı ayırıcı tanıyı değil, aynı zamanda hastalığın gidişini tahmin etme konusunda da bilgi verir. Malign tümörlerde hücre gradı, arkitektürü, invazyonun yaygınlığı, inflamatuvar reaksiyonun natürü ve yaygınlığı bu sayılabilir özelliklerdendir. Myopati, metabolik kemik hastalıkları gibi non neoplastik hastalıkların tanısı ve prognozunun belirlenmesinde doku değişiklikleri ölçülebilir (51).

## **2 GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1 Araştırmanın Amacı, Kapsamı ve Yararları**

Meningiomaların biyolojik davranışı her zaman sadece histopatolojik görünümüne bakılarak tahmin edilememektedir. Ayrıca atipik ve anaplastik gruptaki olguların ayrımı, histopatolojik kriterler yetersiz kaldığı için bazen kesin sınırlarla yapılamamakta, dolayısıyla postoperatif yaklaşımla ilgili belirsizlikler ortaya çıkmaktadır. Tümörlerin progresyon ve rekürrens potansiyelini tahmin edebilmek için patolojide kullanılan proliferasyon indekslerinden olan AgNOR yöntemi bu çalışmada meningiomalara uygulanmıştır. Temel amaç, histopatolojik parametrelerle ortalama AgNOR sayılarının ilişkisini araştırmak, ayrıca kendi yaptığımız sayımda elde ettiğimiz değerlerle bilgisayarlı görüntü analizi sonuçlarının karşılaştırılmasıdır. Bu amaçla Marmara Üniversitesi Nörolojik Bilimler Enstitüsü Patoloji Laboratuvarı'nın arşiv materyali arasından seçilen 30 adet meningioma olgusuna AgNOR boya yöntemi uygulanmış, tipik, atipik ve anaplastik meningioma gruplarının ortalama AgNOR sayıları hesaplanarak boyanma özellikleri incelenmiştir. AgNOR yönteminin standardizasyonu henüz tam olarak yapılamamıştır. AgNOR beneklerinin gözle sayımını subjektif bulan ve bilgisayarlı görüntü analizi yöntemi kullanılmasıyla standardizasyonda bir adım daha gidileceğini öne süren görüşler vardır. Bu nedenle çalışmamızda kendi yaptığımız sayımdan başka bilgisayarlı görüntü analizi kullanılarak da ortalama AgNOR sayıları hesaplanmış, sonuçlar karşılaştırılmıştır.

### **2.2 Araştırmanın Yöntemi**

Çalışma, Marmara Üniversitesi Nörolojik Bilimler Enstitüsü Patoloji Laboratuvarı arşivinde bulunan, meningioma tanısı almış 30 hastaya ait, % 10'luk tamponlu formaldehitte tesbit edilmiş dokulardan hazırlanan parafin

bloklar kullanılarak yapıldı. Her bir olguya ait arşiv preparatları incelenerek aşağıda sıralanan parametreler değerlendirildi;

1-Histolojik tip

2-Mitoz

3-Nekroz

4-Hipersellülarite

5-Beyin invazyonu

6-Nükleer pleomorfizm

7-Nükleolus

8-İntranükleer sitoplazmik inklüzyon

9-Ödem

10-Lenfo-plazmasiter infiltrasyon

11 Adiposit

12-Ksantomatöz fokus

13-Yumak (whorl) yapımı

14-Tabakalanma (sheeting)

15-Psammoma cisimciği

16-Psödopsammoma

17-Vasküler hyalinizasyon

18-Stromal hyalinizasyon

19-Hipervaskülarite

20-Grade

21-Rekürrens

22-AgNOR

### **2.2.1 AgNOR Yöntemi**

Lezyonu en iyi temsil ettiği düşünölen preparatların parafin bloklarından 4 mikron kalınlıkta kesitler alındı, deparafinize ve dehidrate edildikten sonra AgNOR çalışma solösyonunda karanlık ortamda oda sıcaklığında 30-40 dakika arasında değişen sürelerde bekletildi. Boyanma süresi, damar endotel hücresi nükleuslarının NOR'larının boyanması kriter alınarak belirlendi. AgNOR çalışma solösyonu Croker ve arkadaşlarının önerdiği şekilde hazırlandı ( 26 ); % 50'lik gümüş nitrat solösyonundan 2 ölçü, % 1'lik formik asitte % 2 oranında çözülmüş jelatinle hazırlanan solösyondan 1 ölçü karıştırılıp taze olarak kullanıldı.Boyama işleminin tüm aşamalarında ve solösyonlarda bidistile su kullanıldı. Preparatlar ışık mikroskopunda x1000 immersiyon objektifi altında incelendi, her olgu için 100 tümör hücresi nükleusunda AgNOR benekleri sayılarak hücre başına düşen ortalama AgNOR sayısı hesaplandı.

### **2.2.2 Görüntü analizi sistemi**

Her olgu için 50-120 arasında değişen sayılarda tümör hücresi nükleusu değerlendirilerek uygun alanlar mikroskopa ekli kamera ile bilgisayarda IPS / SAMBA software altında hazırlanmış AgNOR programı ile görüntölendi. İşaretlenmiş olan hücre nükleuslarında AgNOR skoru (ortalama granül sayısı / nükleus ) hesaplandı.

### **2.3 Araştırmanın Geçerliliği ve Güvenilirliği**

Araştırma kapsamına alınan olgular Marmara Üniversitesi Nörolojik Bilimler Enstitüsü Patoloji Laboratuvarı'nın arşiv materyali içinde bulunan ve belli bir zaman dilimi içinde (1995 sonu-1997 başı) gelmiş olan meningiomaların tamamıdır.Uygulanan zel boya yönteminin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen skorlarla histopatolojik parametreler arasındaki ilişki istatistiksel olarak Mann Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W testi ve Spearman korelasyon katsayısı ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirme sırasında olgu sayısının, özellikle atipik ve anaplastik meningioma grubundaki olgu sayılarının az oluşu sorun yaratmış, bu sağınca her iki grup birleştirilerek giderilmiştir.Ancak bu durumda atipik /anaplastik meningioma ayırımında AgNOR yönteminin değeri lulememiştir.

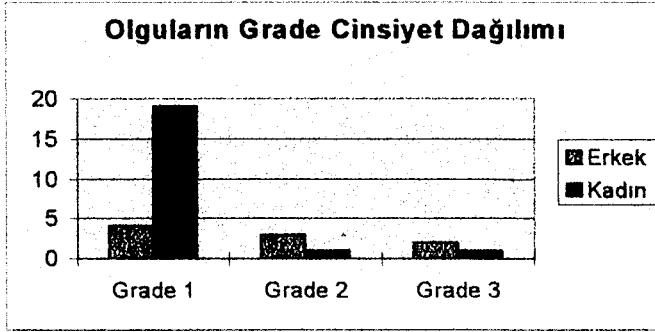
### 3 BULGULAR

Dünya Sağlık Örgütü'nün ( DSÖ ) 1993 yılında önerdiği sınıflamaya göre 30 meningioma olgusunun 23'ü grade 1 ( % 76,6 ), 4'ü grade 2 ( % 13,3 ), 3'ü de grade 3 ( % 10) grubuna girmektedir.

**Tablo 1- Olguların gradelere göre dağılımı**

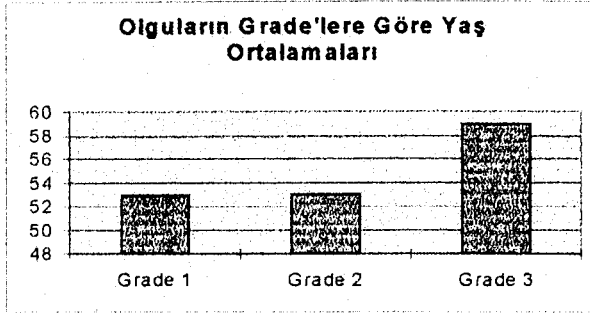
Grade	n	%
1	23	76,7
2	4	13,3
3	3	10
Toplam	30	100

Olguların yaşları 26 ile 77 arasında değişmektedir, ortalama yaş 53,5, median 54,5 bulunmuştur.



**Grafik 1**

Olguların 21' i ( % 70' i ) kadın, 9'u ( % 30'u ) erkektir. Kadın : erkek oranı 2,3 : 1 olarak hesaplanmıştır



**Grafik 2**

Grade 1 (tipik) meningioma grubunda olguların 19'u kadın ( % 79 ), 4'ü erkektir ( % 21). Yaşları 26-76 arasında değişmekte olup ortalama yaş 52,9, median 53 , sadece kadın grubunda ortalama yaş 56,2 , erkeklerde ise 37,2'dir. Bu olguların 12' si meningotelyomatöz ( % 52,17 ), 6'sı transizyonel ( %26,08 ), 2'si mikrokistik ( % 8,69 ), birer tanesi fibröz ve sekretuar alt gruba girmektedir ( % 4,34 ).

Grade 2 (atipik) 4 meningioma olgusunun 1'i kadın , 3'ü erkektir. Ortalama yaş 53, median 53,5 bulunmuştur. Tek kadın hasta 46 yaşındadır.

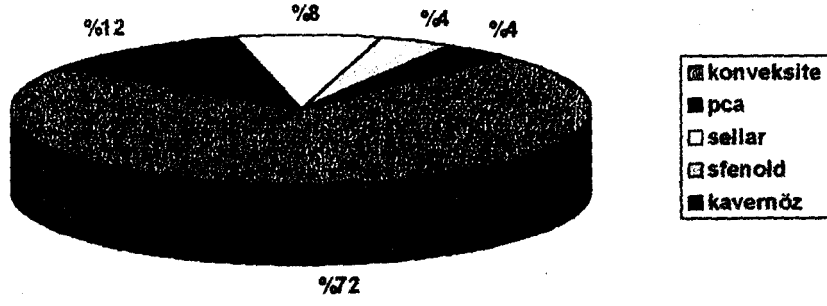
Grade 3 (anaplastik) 3 meningioma olgusunun 2'si erkek , 1'i kadındır. Ortalama yaş 59, median 60'tır. Tek kadın hasta 77 yaşındadır.

**Lokalizasyon :** Olguların tamamı dikkate alındığında lokalizasyonu bilinen 25 olgudan 18'i konveksitede ( % 72 ), 3'ü ponto-serebellar köşede ( % 12 ), 2'si sellar-parasellar bölgede ( % 8 ), 1'i sfenoid kanat ve kavernöz sinüste ( % 4 ) ve 1'i kavernöz sinüste ( % 4 ) yerleşmişti.

Grade 1 olguların 4'ünün lokalizasyonu bilinmiyordu, kalan 19 olgunun 13'ü konveksitede ( % 68,4 ), 3'ü ponto-serebellar köşede ( % 15,7 ) ve 1'i kavernöz sinüste ( % 5,2 ) lokalizeydi.

Grade 2 olguların 3'ü konveksitede ( % 75 ) ve 1'i kavernöz sinüs-sfenoid kanatta ( % 25 ) idi

Grade 3 olguların 3'ü de konveksitede yerleşmişti.



**Grafik 3-** Olguların lokalizasyonlara göre oranları

**Rekürrens:** 30 olgudan ikisi tipik, biri de anaplastik meningioma grubuna ait olmak üzere 3 olguda rekürrens görüldü. Bunlardan sellar-parasellar bölgede olan tipik meningioma 14 ay sonra aynı histopatolojik özelliklerle tekrarladı. Dördüncü tekrarını yapan diğer tipik meningiomanın rekürrens öncesi hastalısız döneminin süresi bilinmemektedir. Tümör konveksitede, temporal bölgede yerleşmişti ve 20 yıl önce radyoterapi öyküsü vardı. Fals serebride yerleşmiş olan anaplastik meningioma olgusu ise 10 ay sonra tekrarlamıştı. Olgu sayımız az ve izleme süremizin kısa oluşu nedeniyle rekürrens hızı hesaplanmadı.

**AgNOR Değerleri :** 30 olgunun 26'sında sayılabilir nitelikte yeterli AgNOR boyanması elde edildi. Bunlardan 23 adet grade 1 meningiomanın 19'u değerlendirmeye alınarak, Croker ve arkadaşlarının önerdiği şekilde (5) nükleolus içi ve dışı tüm benekler tek tek sayıldı (AgNOR 1 ). Buna göre nükleus başına düşen ortalama AgNOR sayısı 4,921 bulundu. 4 adet grade 2 olgunun tamamında sayım için yeterli boyanma elde edildi, AgNOR skoru 6,840 olarak hesaplandı. 3 adet grade 3 olgunun da tamamı değerlendirmeye

alındı ve AgNOR skoru 6,173 bulundu. Gruplara ait en küçük ve en büyük değerler ile ortalamalar tablo 2’de verilmiştir.

**Tablo 2 - 1. sayım yöntemine göre grupların ortalama AgNOR değerleri (AgNOR 1)**

Grade	n	Ort. AgNOR	Med.	Min.	Mak.	SS	SH
1	19	4,921	5,030	2,060	8,440	1,461	0,335
2	4	6,840	6,425	3,250	11,260	3,333	1,666
3	3	6,173	6,060	5,360	7,100	0,876	0,505

Ayrıca nükleolus içi beneklerin tek AgNOR beneği olarak kabul edildiği ikinci bir sayım yöntemi kullanıldı(5,12), buna göre grade 1, 2 ve 3 olguların AgNOR skorları sırasıyla 2,089, 4,075 ve 1,573 bulundu. Gruplara ait en büyük ve en küçük değerlerle ortalama AgNOR sayıları tablo 3’de verilmiştir

**Tablo 3- 2. Sayım yöntemine göre grupların ortalama AgNOR değerleri (AgNOR 2)**

Grade	n	Ort. AgNOR	Med.	Min.	Mak.	SS	SH
1	19	2,089	1,600	1,000	4,740	1,022	0,235
2	4	4,075	2,735	1,790	9,040	3,341	1,670
3	3	1,573	1,730	1,250	1,740	0,280	0,162

Grade 1 ve grade 3 olgularda AgNOR benekleri genelde benzer kalitatif özellikler gösterdiler. Nükleolar organizasyonun ön planda olduğu bu dağılım patterninde malign meningiomalarda daha fazla olmak üzere nükleolus dışı NOR’lar da bulunuyordu. Atipik meningiomalarda ise nükleus içinde dağılmış çok sayıda NOR beneği dikkati çekti. Nükleolar organizasyon belirgin değildi.

Ortalama AgNOR 1, AgNOR 2 sayıları ile grade arasındaki bağlantı Spearman korelasyon katsayısı ile incelendi. Grade 2 ve 3 olgu sayıları az

olduğundan istatistiksel hesaplar yapılırken bu iki grup birleştirildi. Atipi özellikleri taşıyan 7 olguluk bir grup olarak grade 1 olgularla karşılaştırıldı. İncelenen diğer histopatolojik parametrelerle AgNOR skorları arasındaki bağlantı için Mann Whitney U- Wilcoxon Rank Sum W testi kullanıldı. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalarla bulunan p değerleri tablo 4’de verilmiştir.

**Tablo 4:** İncelenen histopatolojik parametrelerle AgNOR skorları arasındaki bağlantının p değerleri

İncelenen parametre	p değeri ( AgNOR 1)	p değeri (AgNOR 2)
Grade	<b>0,054</b>	0,543
Mitoz	0,6255	0,842
Nekroz	<b>0,0344</b>	0,2977
Hücresellik	0,0686	0,5437
Beyin inv.	0,6188	0,4554
Pleomorfizm	0,2918	0,3989
Nükleolus	0,2235	0,9757
<b>Nükleer inkl.</b>	0,6404	<b>0,0355</b>
Ödem	0,6165	0,875
Lenfoplazm.	0,5049	0,0955
Adipoz met.	0,6589	0,4699
Ksant. Odak	0,12236	0,2289
Yumak form.	0,4555	0,3936
Tabakalanma	0,1648	0,3592
Psammoma	0,2932	0,4343
Psödopsam.	0,7697	0,8198
Vask. hyal.	0,1071	0,9115
Stromal hyal.	0,5631	0,3548
Hipervask.	0,4344	0,5003

Bunlara göre, AgNOR 1 skoru ile sadece nekroz arasında anlamlı korelasyon saptandı (  $p < 0,05$  ).

AgNOR 2 skoru ile sadece nükleer inklüzyon arasında anlamlı korelasyon vardı. (  $p < 0,05$  )

**Görüntü Analizi Sistemi Bulguları :** Mikroskopta sayım yaparken yeterli kalitede boyanmış kabul ettiğimiz olguların tamamı bu sistemle değerlendirilemedi. Sistem sadece 17 olguyu standartlarına uygun olarak kabul etti. Buna göre grade 1 olgulardan 12'sinde, grade 2 olguların tamamında ve grade 3 olguların sadece birinde ölçüm yapıldı. Bulgular tablo 5'te verilmiştir.

**Tablo 5:** Olguların GAS ile bulunan ortalama AgNOR sayıları

Grade	n	Ort. AgNOR	Med.	Min.	Mak.	SS	SH
1	12	2,301	1,94	1,19	6,36	1,39	0,40
2	4	2,331	2,138	1,429	3,620	0,957	0,478
3	1	1,910	-	-	-	-	-

Buna göre en yüksek değer grade 2 grubunda, en düşük değer ise grade 3 grubunda bulundu. Grade 1 ve 2 grubundaki olguların ortalama AgNOR sayıları birbirine çok yakındı.

Gruplar arasındaki farkın anlamlılığı Spearman korelasyon katsayısı ile hesaplandı ve fark bulunamadı. (  $p=0,779$  )

Mikroskopta yaptığımız sayım sonucunda elde ettiğimiz değerlerden AgNOR 1 ile GAS verileri arasında Spearman korelasyon katsayısı ile anlamlı ilişki olduğunu saptadık. (  $r=0,59$  ,  $p=0,022$  )

#### 4 TARTIŞMA

Meningiomalarda ortalama AgNOR sayı ve dağılım özelliklerinin histopatolojik parametrelerle ilişkisini araştırmak amacıyla yaptığımız çalışmada toplam 30 olgu incelendi. 53,5 ortalama yaş ve 2,3:1 kadın:erkek oranı ile bulgular literatürle uyumluydu ( 2,30,39,45). Grade 1 olgulardaki kadın üstünlüğü grade 2 ve 3 olgularda ortadan kalkmıştır.Bu da literatürle uyumlu bir özelliktir (1,2,15,38). Olgularımızın % 72'si konveksitede lokalizeydi. Literatürde konveksite meningiomalarıyla ilgili % 21-41 arasında oranlar verilmektedir (30,48). Bizim oranımızın bu kadar yüksek çıkması, olgu sayımızın azlığı da dikkate alındığında rastlantısal kabul edilebilir. Olgularımızın % 76,6'sı grade 1, % 13,3'ü grade 2, % 10'u grade 3 idi. Literatürde atipik ve malign meningiomaların oranları birlikte alındığında % 5,7-37,8 arasında değişen oranlar görülmektedir (15,24,29,48). Aralığın bu kadar geniş olmasında atipi/malignite kriterlerinin tam yerleşmemiş olmasının önemli payı vardır.

Meningiomalar rekürrens hızlarının yüksek olması ve prognozun önceden tahmininde güçlük çekilmesi nedeniyle araştırma konusu olan tümörlerdir. Total çıkarılan tümörlerde post operatif ilk 5 yılda rekürrens hızı % 6 iken 10 yılda % 15 ve 15 yılda % 20' ye ulaşmaktadır (30) . Tipik ve anaplastik meningiomaların tanı ve prognoz tayini için önerilen histolojik ve biyolojik kriterlerle ilgili pratikte bazı sorunlar yaşanmaktadır. Örneğin kranial çatıyı etkileyen rezektabl meningiomalarda kemik ve yumuşak dokulara infiltrasyonun fazla bir klinik önemi yokken tümörün kafa kaidesinde yerleşmiş olması

rekürrens olasılığını çok yükselten bir kötü prognoz göstergesidir. Yani kemik invazyonunun önemi, tümör coğrafyası ile bağlantılı olarak değişir Diğer taraftan histolojik malignite özellikleri taşıyan ve açıkça agresif davranış potansiyeli gösteren, ancak konveksite gibi total rezeksiyonun mümkün olduğu bir lokalizasyonda büyüyen bazı meningiomaların daha iyi bir klinik gidiş gösterdiği izlenmiştir ( 1,30 )

Atipik ve malign meningiomaların histolojik özelliklerini inceleyen ve agresif davranışı önceden kestirmeye yönelik bir fenotip tanımlama amaçlı birçok çalışma yapılmıştır (15,19,24,29,30,31,35,37,56). Bu grup meningiomalarda tabakalaşma , hipersellülarite, artmış mitotik aktivite, nekroz, nükleer pleomorfizm, nükleolar belirginlik, komşu yapılara invazyon , rekürrenslerinde morfolojik patternde değişiklik gibi bazı histopatolojik özellikler tanımlanmıştır (1,2)

Bizim serimizde de atipik ve malign meningioma tanıları konurken bu parametreler dikkate alınmıştı. Ancak bütün agresif veya metastatik meningiomalar bu özellikleri göstermezler (35). Tipik / atipik / malign ayrımına yönelik çabalar halen kesin bir sonuca ulaşamamıştır. Jaaskelainen ve arkadaşlarının 1986 yılında (15), Mahmood ve arkadaşlarının 1993 yılında (24) DSÖ'nün malignansi kriterlerini temel olarak yaptıkları skora çalışmaları tümörün aldığı toplam puana göre hangi gruba gireceği belirlenmiştir. Aynı puanlama sistemini biz kendi grade 2 ve 3 olgularımıza uyguladığımızda malign meningiomalardan biri ancak grade 2 grubuna girecek kadar

puan alabildi. Halbuki infiltratif tarzda yaptığı beyin invazyonu ile açıkça malign bir davranış gösteriyordu. ( Resim 8, protokol no: NB 84-97 )

Malignite kriterleri beyin dokusu invazyonu veya metastaz olan 23 malign meningiomalı olguyla yapılan başka bir çalışmada herhangi düzeyde bir mitotik aktivitenin agresif davranış potansiyeli göstergesi olduğu sonucuna varıldı (35). Bizim serimizde yer alan ve karsinoma infiltrasyonuna benzer patternde beyin invazyonu yapmış olan malign meningiomalardan birinde mitotik aktivite 50 büyük büyütme alanında 0-1 kadar düşük düzeydeydi. Aynı şekilde atipik meningioma olgularımızdan birinde reaktif astrogliozise neden olmuş beyin invazyonu bulunmasına karşın mitotik aktivite, nükleol belirginliği, nekroz gibi diğer atipi/anaplazi kriterlerinin hiçbiri yoktu. Ayrıca bu olgunun ortalama AgNOR sayısı diğer atipik meningiomalardan daha düşüktü. (NB 57-96, AgNOR 1: 3,25 ve AgNOR 2: 1.79). 936 meningiomadan oluşan diğer bir seride 45 atipik meningioma rekürrens yönünden değerlendirilmiş ve rekürrens habercisi olabilecek tek parametre fokal nekroz olarak belirlenmiştir (15). Benzer şekilde mikronekrozun rekürrens hızı ile ilişkili tek parametre olduğu sonucuna varan bir çalışmada bulgular beyin invazyonunun prognostik öneminin çok az olduğunu düşündürmektedir (29). Sonuçta atipi/anaplazi kriterlerinin hiçbiri tek başına belirleyici olmamakta, ancak birlikte değerlendirildiklerinde anlam kazanmaktadır.

Patolojide histolojik ve biyolojik anaplazi kriterleri gösteren ve agresif davranabilecek tümörlerin saptanması ve tedavi şekillerinin seçimi için proliferatif indeks belirleyici yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında

BrdU-LI, s-faz fraksiyonu, Ki-67, MIB-1, anti DNA polimeraz alfa monoklonal Ab, PCNA, DNA akım sitometrisi, p 53 ve AgNOR yöntemi sayılabilir (3,4,24,26,31,32,35,37,45,46,56). Parafin blok kesitlerine uygulanabilmesi, kolay ve ucuz olması nedenleriyle AgNOR yöntemi diğerlerinden farklı bir yere sahiptir. Hücrede tam olarak neyi yansıttığı konusunda tartışmalar devam etmektedir. Proliferatif potansiyeli (3,21,25,45,46,50), hücrel aktiviteyi (32), ploidiyi (45) gösterdiğini savunan çalışmalar vardır. Genelde proliferasyon indeksleri ile korele sonuçlar alınmaktaysa da bunlar arasında korelasyonun daha zayıf olduğuna dikkat çekilmektedir (45,56).

Meningiomaların da dahil olduğu 200 beyin tümörü üzerinde yapılan çalışmada grade ile AgNOR skoru korele bulunmuş, ancak bu değer her zaman her tümörün büyüme potansiyelini göstermediği bildirilmiştir (45). Bizim çalışmamızda grade ile AgNOR skoru korelasyon göstermedi. Olgu sayımızın azlığı nedeniyle grade 2 ve 3 grubundaki olguları birleştirerek yaptığımız karşılaştırmada p değeri 0,05'e yakındı ancak küçük değildi ( $p=0,054$ ). Meningiomalarda rekürrens ile AgNOR skoru arasında da istatistik hesaplarıyla anlamlı bağlantı bulan araştırmacılar da vardır (19,25). Ancak bu çalışmalarda tipik / atipik / malign meningioma gruplarının ortalama AgNOR sayıları çakışıyordu. Aynı durum bizim olgularımızda da gözlemlendi. Bu da AgNOR skorunun prognoz tahminindeki değerini kısıtlamaktadır.

Yapılan araştırmalarda AgNOR değerleriyle ilgili farklı sonuçlar alınmasının ve tartışmaların en önemli nedeni yöntemin yetersiz standardizasyonudur. Yöntem, kullanılacak materyalin tespit solüsyonuna konmasına kadar geçen

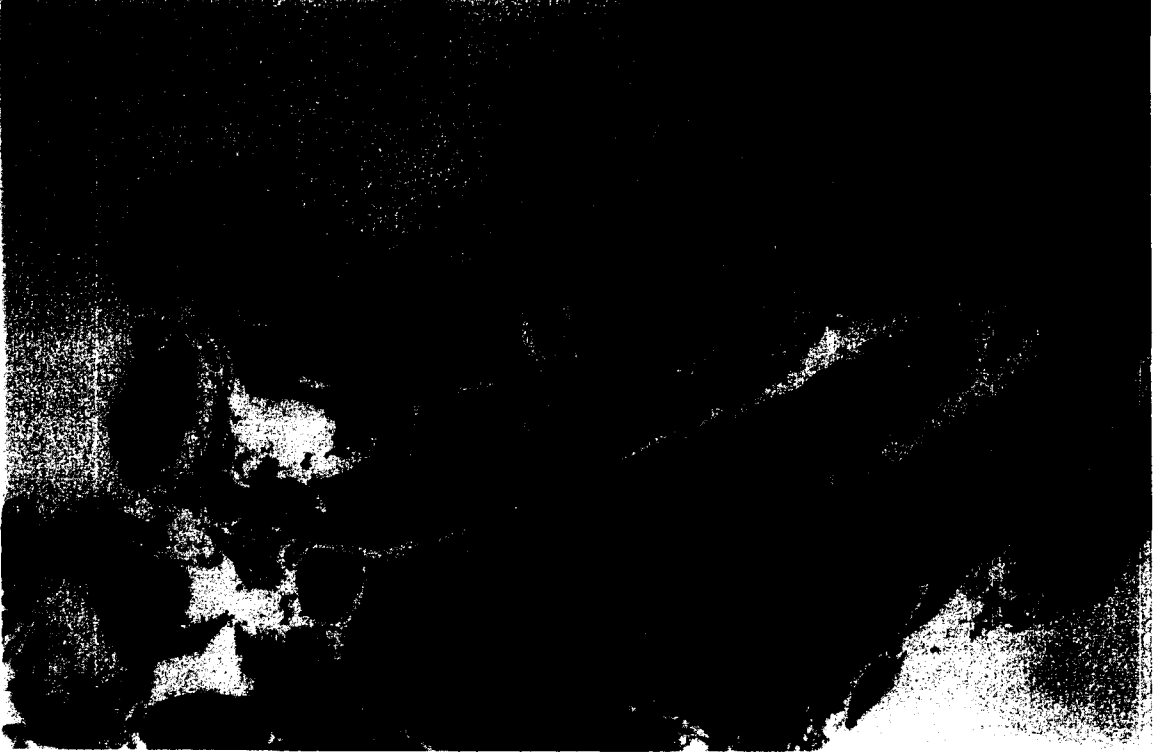
süreden ve fiksatifin cinsinden başlayarak sayım dahil olmak üzere her aşamada ileri derecede duyarlılık gerektirmektedir (5,11,33,47). Bu nedenle sayım işleminde otomatik görüntü analiz sistemi (GAS) kullanılması önerilmiştir (33,40). GAS ile AgNOR/nükleus değeri dışında nükleus boyutu, ortalama nükleus alanı, ortalama granül alanı, maksimum granül alanı, granül sayısı/nükleus alanı gibi başka parametreler de değerlendirilebilmektedir(27). Prostat karsinomalarında yapılan bir araştırmada AgNOR sayısı/alanı=AgNOR katsayısı hesaplanarak bu değerlerin malignansi tanısı ve sağkalım hakkında ek bilgi verdiği sonucuna varıldı (4). Astrositomalar üzerinde yapılan bir araştırmada NOR'larla malignansi derecesi arasında istatistiksel bağlantı bulundu (27). Özellikle toplam NOR alanı /nükleus, ortalama NOR alanı/nükleus, en büyük NOR'un alanı/nükleus gibi değerlerle korelasyon daha kuvvetliydi.

Astrositomalarla yapılan diğer bir çalışmada GAS ile saptanan AgNOR sayıları ile grade arasında korelasyon bulunamadı. Aynı olguların gözle, mikroskopta yapılan sayımında elde edilen AgNOR skorları ise grade 2 ile grade 4 olgular arasında anlamlı farklılık göstermişti (18).

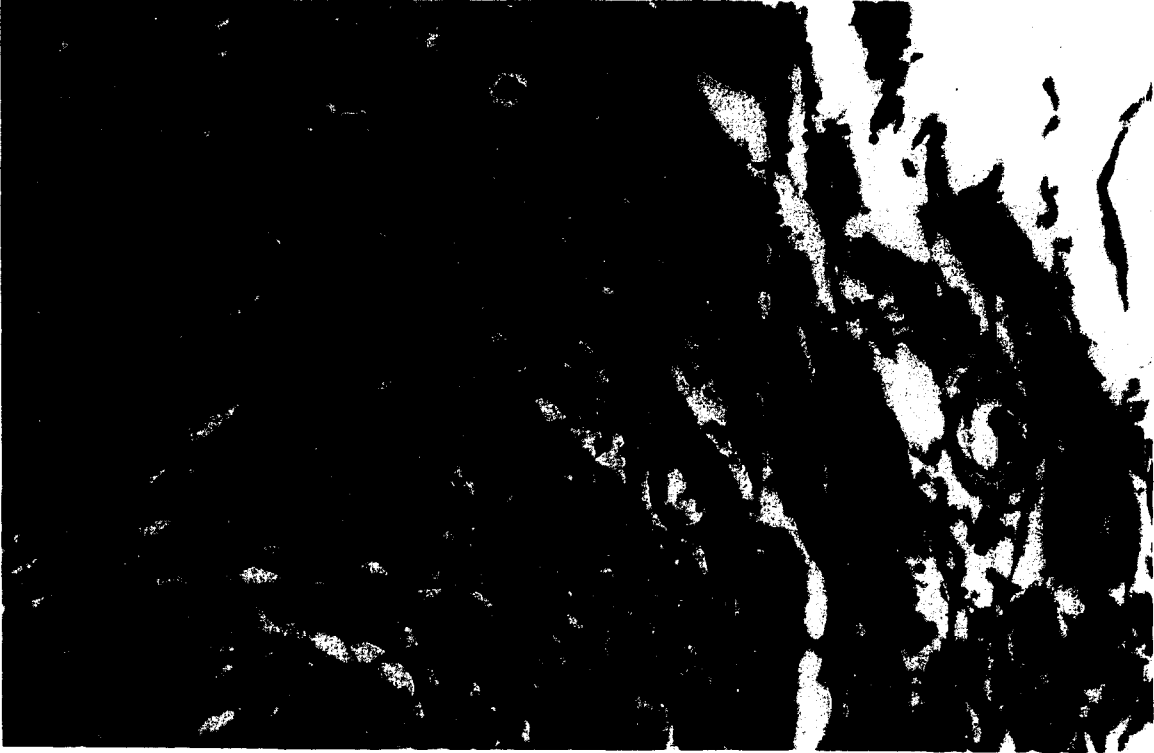
## 5 SONUÇLAR

- 1- İncelenen 30 adet meningioma olgusunda kadın:erkek oranı 2,3:1 ve yaş ortalaması 53,5 bulunmuştur.
- 2- Olguların % 76,7'si tipik (grade I), % 13,3'ü atipik (grade II) ve % 10'u anaplastik (grade III) gruba girmektedir..
- 3- Tipik meningiomalardaki kadın baskınlığı, atipik ve anaplastik meningiomalarda tersine dönmüştür.
- 4- Olguların % 72'si konveksitede, % 12'si pontoserebellar köşede, % 8'i sellar-parasellar , % 4'ü sfenoid bölgede ve % 4'ü de kavernöz sinüste lokalizedir.
- 5- Ortalama AgNOR sayıları nükleustaki tüm benekler ayrı ayrı sayıldığında grade I olgularda 4,291, grade II olgularda 6,840, grade III olgularda 6,173 bulunmuştur.Nükleolar organizasyona gitmiş beneklerin tamamı bir benek olarak sayıldığında grade I olgularda 2,089, grade II olgularda 4,075 ve grade III olgularda 1,573 bulunmuştur.
- 6- Gradelere göre ortalama AgNOR sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bağlantı yoktur.
- 7- İncelenen histopatolojik parametrelerden sadece nekrozla AgNOR 1 sayıları ve intranükleer inklüzyonla AgNOR 2 sayıları arasında anlamlı bağlantı bulunmuştur.
- 8- Görüntü analizi sistemi ile yapılan ölçümlerde ortalama AgNOR sayıları grade I meningiomalarda 2,301, grade II meningiomalarda 2,331 ve grade III meningiomalarda 1,910 bulunmuştur.
- 9- GAS ile elde edilen ortalama AgNOR değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir.
- 10- Mikroskopta yaptığımız sayımlardan AgNOR 1 değerleri ile GAS ile elde edilen AgNOR değerleri arasında pozitif korelasyon vardı.

## RESİMLER



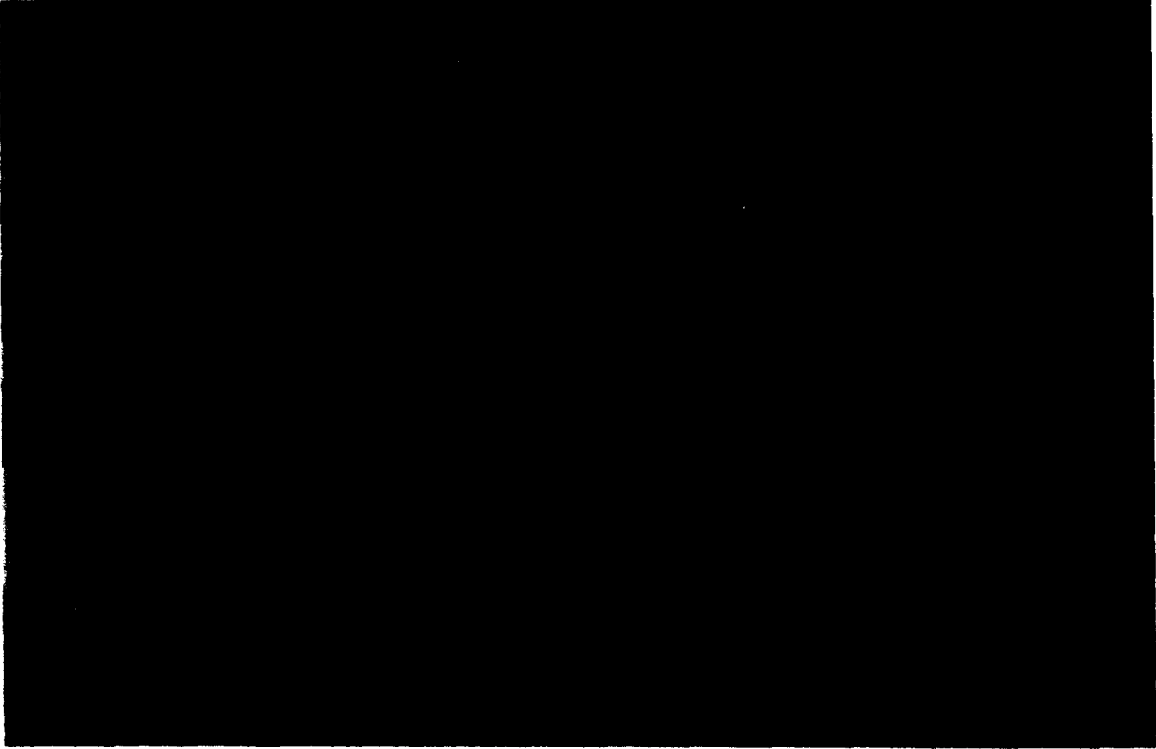
Resim 1- Tipik meningioma da lobüler konfigurasyon, yumaklar  
H&E x40



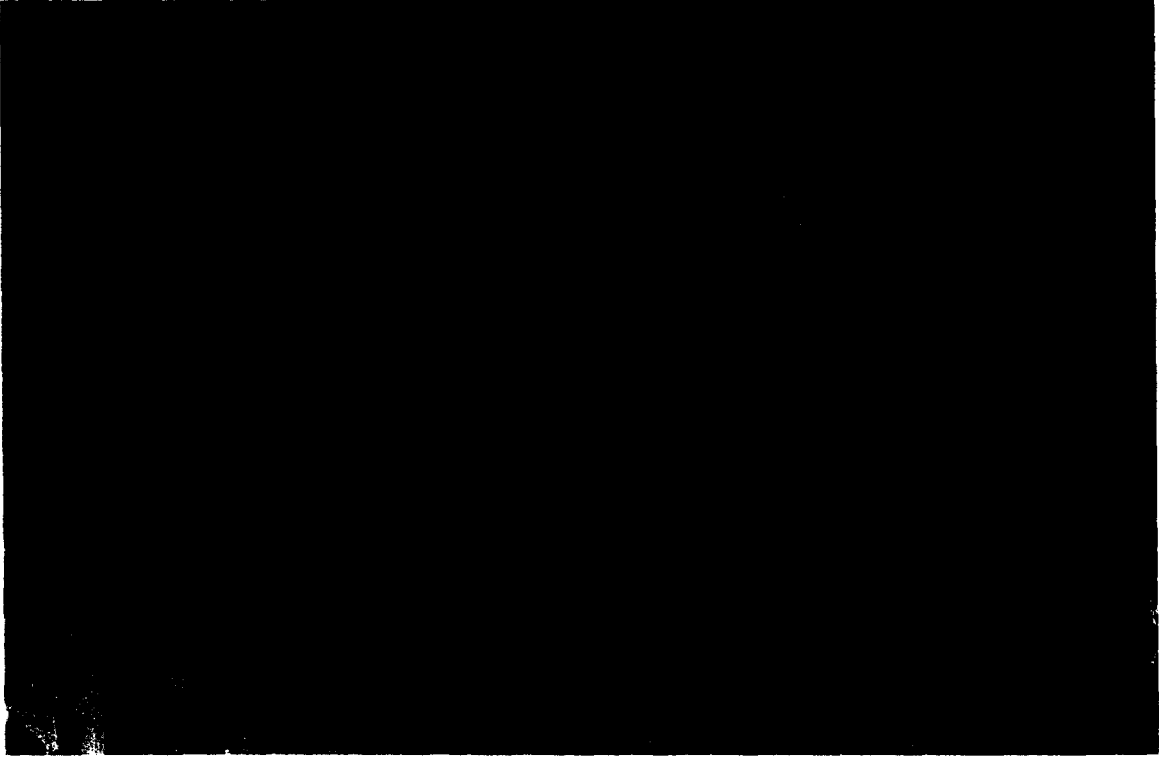
Resim 2- Tipik meningioma da psammoma cisimcikleri  
H&E x200



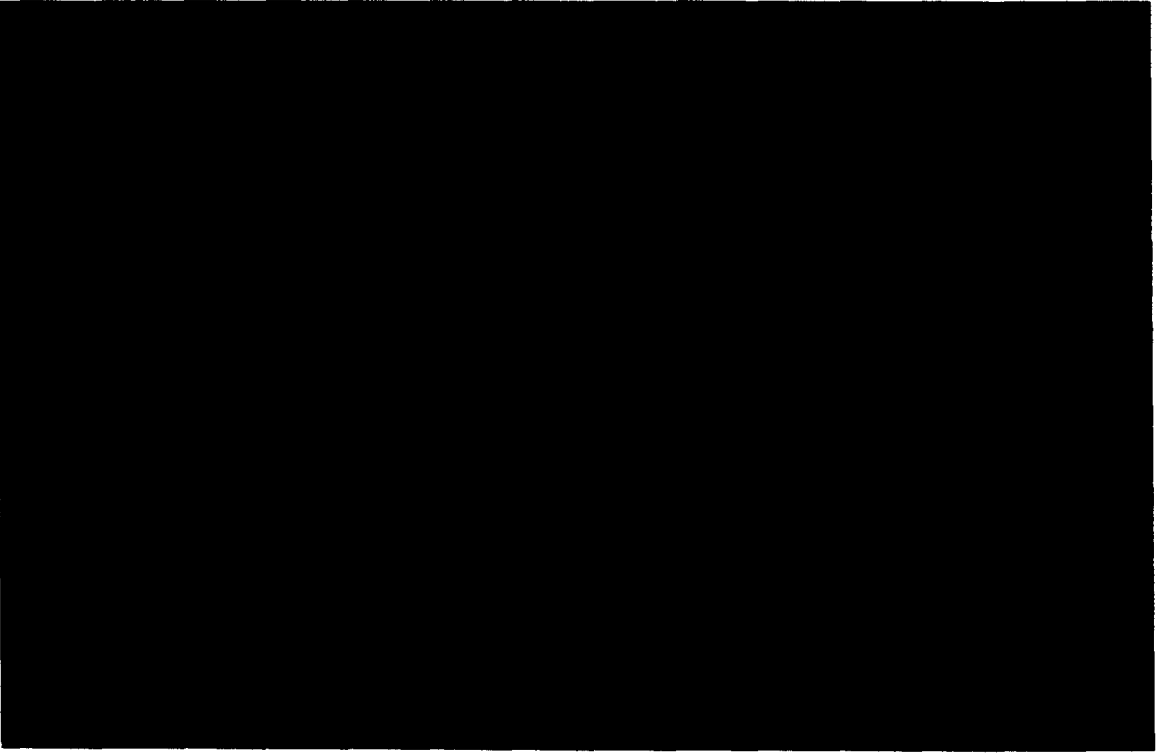
Resim 3- Tipik meningiomada nükleus başına ortalama 5,24 AgNOR beneği  
AgNOR , x1000



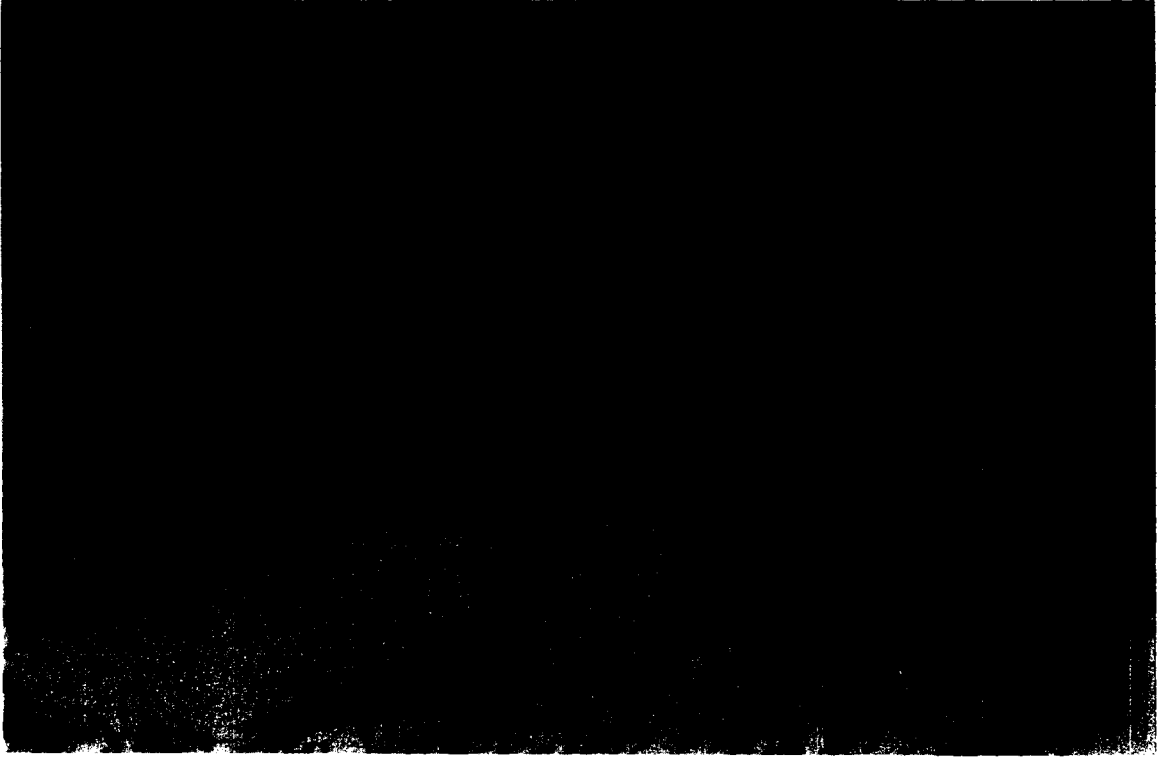
Resim 4- Atipik meningiomada mikronekroz  
H&E , x200



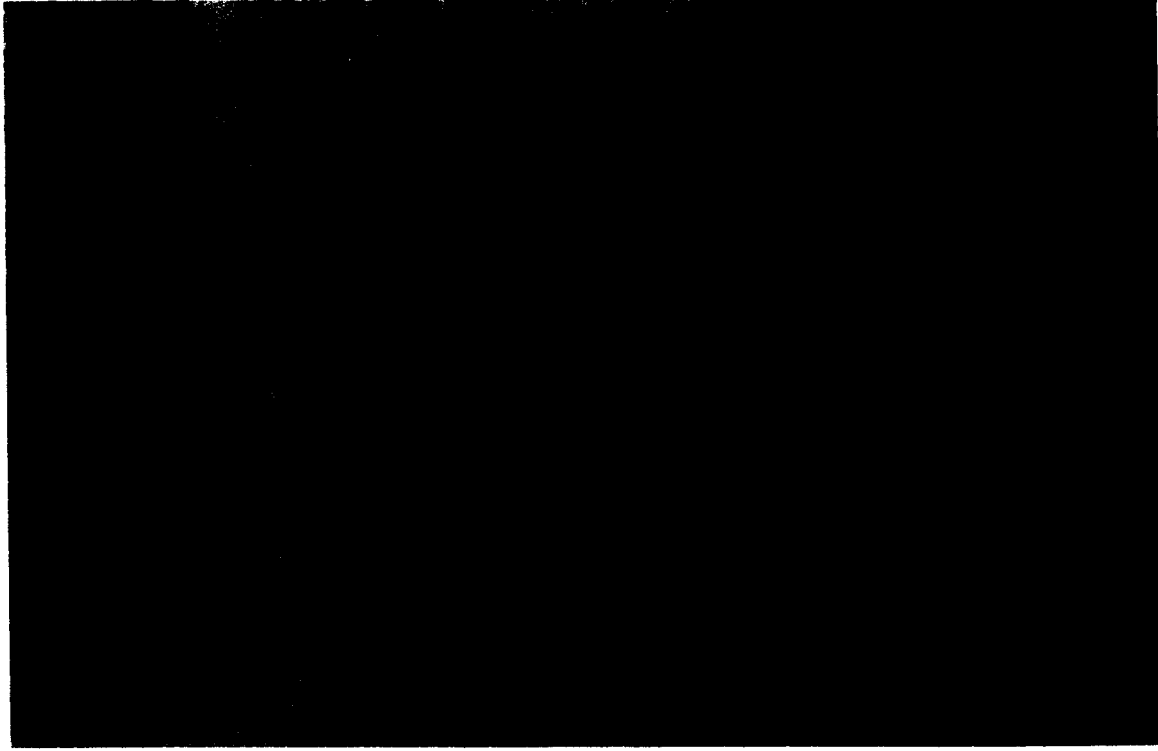
Resim 5- Atipik meningiomada mitotik figürler, belirgin nükleoluslar ve nükleer pleomorfizm H&E , x400



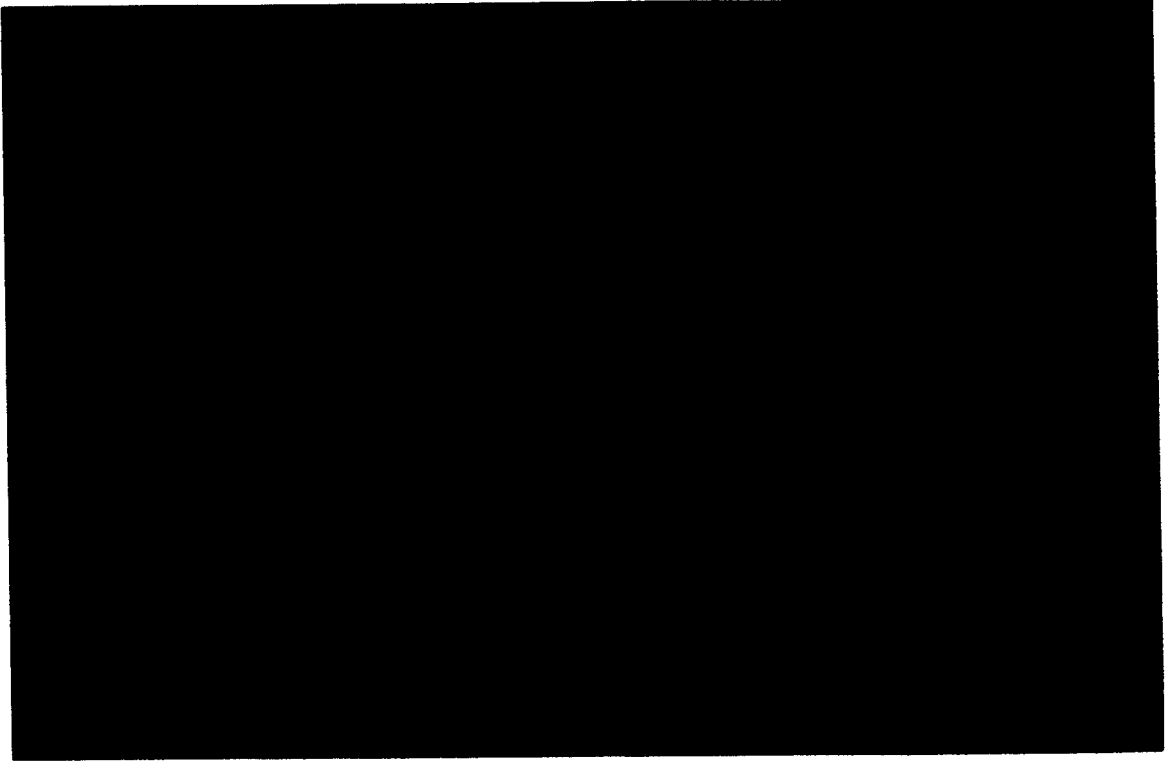
Resim 6- Atipik meningiomada nükleus başına ortalama 6,95 AgNOR be neği AgNOR , x1000



Resim 7- Malign meningiomada ekspansil nitelikte nöropil invazyonu  
H&E , x400



Resim 8- Malign meningiomada infiltratif nitelikte nöropil invazyonu  
H&E , x100



Resim 9- Malign meningioma da nükleus başına ortalama 7,1 AgNOR beneği  
AgNOR , x1000

## **7 KAYNAKLAR**

- 1- Burger PC, Scheithauer BW. Tumors of the central nervous system.  
In: Atlas of Tumor Pathology Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology pp:259-286; 1994.
- 2- Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS: Intracranial Meninges in Surgical Pathology of the Nervous System and Its Coverings. 3<sup>rd</sup> ed. Churchill Livingstone, NY pp: 67-141; 1991.
- 3- Centeno BA, Louis DN, Kupsky WJ, Preffer FI, Sobel RA. The AgNOR Technique, PCNA Immunohistochemistry and DNA ploidy in the Evaluation of Choroid Plexus Biopsy Specimens. Am J Clin Pathol 100: 690-696; 1993.
- 4- Contractor H, Rüschoff J, Hanisch T, Ulshöfer B, Neumann K, Schultze-Seeman W, Thomas C. Silver Staining Structures in Prostatic Carcinoma: Evaluation of Diagnostic and Prognostic Relevance by Automated Image Analysis. Urol Int 46: 9-14; 1991.
- 5- Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. How Should We Count AgNORs ? Proposal for a Standardized Approach. J Pathol 158: 185-188: 1989.
- 6- di Stefano D, Mingazzini PL, Scucchi L, Donetti M, Marinozzi V. A Comparative Study of Histopathology, Hormone Receptors Peanut Lectin Binding, Ki-67 Immunostaining and Nucleolar Organizer Region-associated Proteins in Human Breast Cancer. Cancer 67: 463-471; 1991.
- 7- Egan MJ, Crocker J. Nucleolar Organizer Regions in Cutaneous Tumors. J Pathol 154:247-253; 1988.
- 8- Fakan S, Hernandez-Verdun D. The Nucleolus and Nucleolar Organizer Regions. Biol Cell 56: 189-206; 1986.

- 9- Fawcett DW. A Textbook of Histology. 11<sup>th</sup> ed. WB Saunders Co. Igaku-Shoin / Saunders Philadelphia, London, Toronto, Tokyo pp:41-43: 1986.
- 10-Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW : Clinical and Biological Significance of Aneuploidy in Human Tumors. J Clin Pathol 37: 961-974, 1984.
- 11-Graem N, Helweg-Larsen K. Mitotic Activity and Delay in Fixation of Tumor Tissue . Acta Pathol Microbiol Scant Sect.A 87: 375-378; 1979.
- 12-Howatt AJ, Giri DD, Cotton DWK, Slater DN. Nucleolar Organizer Regions in Spitz Nevi and Malignant Melanomas. Cancer 63: 474-478, 1989.
- 13-Howell WM, Black D. Controller Silver Staining of Nucleolus Organizer Regions with a Protective Colloidal Developer: A 1 Step method. Experientia 36:1014-1015; 1980.
- 14-Hubell HR, Hsu TC. Identification of Nucleolus Organizer Regions (NORs) in Normal and Neoplastic Human Cells by the Silver Staining Technique. Cytogenet Cell Genet 19 : 185-196; 1977.
- 15-Jaaskelainen J, Haltia M, Servo A. Atypical and Malignant Meningiomas: Radiology, Surgery, Radiotherapy And Ourcome. Surg Neurol 25: 233-242: 1986.
- 16-Jordan G. At the Heart of the Nucleolus. Nature 329(6139) : 489-490; 1987.
- 17-Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. World Health Organisation Histological Typing of Tumors of the Central Nervous System. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Springer-Verlag. pp: 33-37; 1993.
- 18-Kurtkaya Ö. İntraserebral Diffüz Astrositomalarda Görüntü Analizi Sistemi Kullanılarak Yapılan AgNOR Skor ve Alan Ölçümlerinin Histopatolojik Grade ile Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul; 1996.

- 19- Kunishio K, Ohmoto T, Matsuhisa T, Maeshiro T, Furuta T, Matsumoto, K. The Significance of Nucleolar Organizer Region (AgNOR) Score in Predicting Meningioma Recurrence. *Cancer* 73: 2200-2205; 1994.
- 20- Lee KS, Hoshino T, Rodriguez LA, Bederson J, Davis RL, Wilson CB; Bromodeoxyuridine Labeling Study of Intracranial Meningiomas; Proliferative Potential and Recurrence. *Acta Neuropathol* 80: 311-317, 1990.
- 21- Leek RD, Alison MR, Sarraf CE ; Variations in the Occurrence of Silver Staining Nucleolar Organizer Regions (AgNORs) in non Proliferating and Proliferating Tissues. *J Pathol.* 165: 43-51, 1991
- 22- Leong AS, Gilham P: Silver Staining of Nucleolar Organizer Regions in Malignant Melanoma and Melanotic Nevi. *Human Pathol* 20: 257-262, 1989.
- 23- Longstreth WT, Dennis LK, McGuire VM, Drangsholt MT, Koepsell TD: Epidemiology of Intracranial Meningioma. *Cancer* 72: 639-648, 1993.
- 24- Mahmood A, Caccamo DV, Tomacek FJ, Ghaus MM; Atypical and Anaplastic Meningiomas: A Clinicopathological Review. *Neurosurgery* 33: 995-963, 1993.
- 25- Maier H, Ofner D, Hittmar A, Kitz K, Budka H; Classic, Atypical and Anaplastic Meningioma: Three Histopathological Subtypes of the Clinical Relevance. *J Neurosurg.* 77: 616-623, 1992.
- 26- Maier H, Morimura T, Ofner D, Hallbrucker C. Kitz K, Budka H ; Argyrophilic Nucleolar Region Proteins in Human Brain Tumors: Relations with Grade of Malignancy and Proliferation indices. *Acta Neuropathol* 80:156-162 1990.
- 27- Martin H, Beil M, Hufnagl P, Wolf G, Korek G. Computer-assisted Image Analysis of Nucleolar Organizer Regions (NORs): A Pilot Study of Astrocytomas and glioblastomas. *Acta Histochem* 90, 189-196 1991
- 28- Martin H, Hufnagl P, Beil M, Wenzelides K, Gottschalk J, Rahn W: Nucleolar Organizer Region-Associated Proteins in Cancer Cells. Quantitative

- 29- Mc-Lean CA, Jolley D, Cukier E, Giles G, Gonzales MF. Atypical and Malignant Meningiomas: Importance of Micronecrosis as a Prognostic Indicator. *Histopathology* 23: 349-353 1993
- 30- Mirimanof RO, Dosoretz DE, Linggood RM, Ojemann RG, Martuza RL. Meningioma: Analysis of Recurrence and Progression Following Neurosurgical Resection. *J Neurosurg* 62:18-24 1985
- 31- Ohta M, Iwaki T, Kitamoto T, Takeshita I, Tateishi J, Fukui M MIB-1 Staining Index and Scoring of Histologic Features in Meningioma: *Cancer* 74: 3176-3189 1994.
- 32- Onda K, Davis RL, Wilson CB, Hoshino T Regional Differences in Bromodeoxyuridine Uptake, Expression of Ki-67 Protein, and Nucleolar Organizer Region Counts in Glioblastoma Multiforme. *Acta Neuropathol* 87: 586-593 1994
- 33- Plate, KH, Rüschoff J, Mennel HD Application of the AgNOR Technique to Neurooncology. *Acta Histochemica Suppl.* Band XLII, 171-178 1992
- 34- Ploton D, Menager M, Adnet JJ Simultaneous Ultrastructural Localization of AgNOR (Nucleolar Organizer Region) Proteins and Ribonucleoproteins During Mitosis in Human Breast Cancerous Tissues. *J Cell Sci* 74: 239-256 1985
- 35- Prayson RA: Malignant Meningioma. A Clinicopathologic Study of 23 Patients Including MIB-1 and p53 Immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol* 105:719-726 1996
- 36- Quinn CM, Wright NA The Clinical Assesment of Proliferation and Growth in Human Tumors: Evaluation Methods and Applications as Prognostic Variables. *J Pathol* 160:93-102 1990

- 37- Roggendorf W, Schuster T, Peiffer J Proliferative Potential of Meningiomas Determined with the Monoclonal Antibody Ki-67. *Acta Neuropathol (Berl)* 73; 361-364 1987
- 38- Rosenblum MK: Meningothelial Tumors and Related Lesions. in *Ackerman's Surgical Pathology 8<sup>th</sup> Ed.* Mosby- Yearbook, Inc. St Louis Missouri vol II, pp 2320-2332. 1996
- 39- Russel DS, Rubinstein LJ: *Pathology of the Tumors of Nervous System 5<sup>th</sup> Ed.* London, Edward Arnold, pp 449-532 1989
- 40-, Rüschoff J, Plate KH Contractor H, Kern S, Zimmermann R, Thomas C: Evaluation of the Nucleolar Organizer Regions (NORs) by Automatic Image Analysis: A Contribution to Standardization. *J Pathol* 161:113-118 1990
- 41- Rüschoff j, Plate KH, Bittinger A: Application of the AgNOR Method to Cell Imprints. *J Pathol* 158: 333 1989
- 42- Rüschoff J, Plate KH, Bittinger A, Thomas C: Nucleolar Organizer Regions (NORs). Basic Concepts and Practical Application in Tumor Pathology. *Path Res Pract* 185: 878-885 1989
- 43- Schwarzacher HG, Wachtler F: Nucleolus Organizer Regions and Nucleoli. *Hum Genet* 63:89-99 1983
- 44- Schwarzacher HG, Mikelsaar V, Schnedl W: The Nature of the Ag Staining of Nucleolus Organizer Regions. *Cytogenet Cell Genet* 20: 24-39 1978.
- 45- Shibuya M, Ito, S, Miwa T, Davis RL, Wilson CB, Hoshino T: Proliferative Potential of Brain Tumors. Analysis with Ki-67 and Anti-DNA Polymerase Alpha Monoclonal Antibodies, Bromodeoxyuridine Labeling and Nucleolar Organizer Region Counts. *Cancer* 71: 199-206 1993
- 46- Shiraishi T, Tabuchi K, Mineta T, Momozaki N Takagi M: Nucleolar Organizer Regions in Various Human Brain Tumors. *J Neurosurg* 74: 979-

984 1991

- 47- Smith PJ, Skilbeck N, Harrison A, Crocker J: The Effect of a Series of Fixatives on the AgNOR Technique. *J Pathol* 155: 109-112 1988
- 48- Söylemezoğlu F: Meninks ve İlişkili Dokuların Tümörlerinde Farklı Histopatolojik Parametreler ve AgNOR Tekniği Sonuçlarının Korrelatif Analizi. Uzmanlık tezi, İstanbul 1992
- 49- Suresh Ur, ChawnervL, Buckley H, Fox H: Do AgNOR Counts Reflect Cellular Ploidy or Cellular Proliferation? A Study of Trophoblastic Tissue. *J Pathol* 160: 213-215 1990
- 50- Trere D, Farabegoli F, Cancellieri A, Ceccarelli C, Eusebi V, Derenzini M: AgNOR Area in Interphase Nuclei of Human Tumors Correlates with the Proliferative Activity Evaluated by Bromodeoxyuridine Labelling and Ki-67 Immunostaining. *J Pathol* 165: 53-59 1991
- 51- True LD: Morphometric Applications in Anatomic Pathology. *Human Pathol* 27: 450-467 1996
- 52- Underwood JCE, Giri DD: Nucleolar Organizer Regions as Diagnostic Discriminants for Malignancy. *J Pathol* 155: 95-96 1988
- 53- Wachtler F, Hopman AHN, Wiegant J, Schwarzacher HG: On the Position of the Nucleolus Organizer Regions (NORs) in Interphase Nuclei. *Experimental Cell Research* 167:227-240 1986
- 54- Wells WA, Rainer RO, Memoli VA: Equipment, Standardization and Applications of Image Processing. *Am J Clin Pathol* 99: 48-56 1993
- 55- Zatsepina O, Hozak P, Babadjanyan D, Chentsov Y: Quantitative Ultrastructural Study of Nucleolus Organizing Regions at Some Stages of the Cell Cycle (G<sub>0</sub> period, G<sub>2</sub> period, Mitosis) *Biol Cell* 62: 211-218 1988

## 8 ÖZGEÇMİŞ

1962 yılında Ankara'da doğdu. İlk öğrenimini Ankara Oğuzlar İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimini Ankara Halide Edip Lisesi'nde tamamladı. 1985 yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldu. Erzurum Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Servisinde 2 yıl mecburi hizmetten sonra 1988-1992 yılları arasında İstanbul'da SSK Göztepe Eğitim Hastanesi'nde Patoloji ihtisası yaptı. Halen SSK Paşabahçe Hastanesi'nde Patoloji uzmanı olarak çalışmaktadır. Evli, 7 yaşında bir kız ve 20 aylık bir erkek çocuk annesidir.

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans öğrencisi Ayşe UZMAY'ın çalışması jürimiz tarafından Nörohistokimya Programı tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Aydın SAV

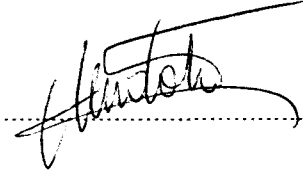
Üniversitesi : Marmara



Üye : ~~Prof.Dr.Necmettin DAMIR~~

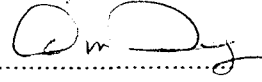
Üniversitesi : Marmara





Üye : Doç.Dr.Öner DOĞAN

Üniversitesi : İstanbul



ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 02/01/1999 tarih ve 2 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Prof.Dr. Sevim ROLLAS  
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

