

Emil Zielonka

Received: 16.03.2012

Accepted: 23.03.2012

Published: 30.04.2012

Immunoekspresja nestyny w gwiaździaku włosowatokomórkowym i glioblastoma

Nestin immunoeexpression in pilocytic astrocytoma and glioblastoma

Adres do korespondencji: Zakład Patologii Molekularnej i Neuropatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, tel.: 42 675 76 15, faks: 42 679 14 77, tel. kom.: 660 725 947, e-mail: emil.zielonka@umed.lodz.pl
Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Gwiaździaak włosowatokomórkowy oraz *glioblastoma* są pierwotnymi nowotworami glejowymi o skrajnych stopniach złośliwości. Charakteryzują się występowaniem proliferacji naczyń, które w przypadku *glioblastoma* są oznaką złośliwości, ale nie stanowią złośliwości gwiaździaaka pilocytarnego. Chociaż rozrosty naczyń w obu nowotworach różnią się zwykle obrazem mikroskopowym, to niekiedy trudno je od siebie odróżnić, szczególnie w skąnym materiale biopsyjnym, a także w przypadku gwiaździaaków włosowatokomórkowych o podwyższonym indeksie proliferacyjnym. Niezależne badania *glioblastoma* wykazały udział nieendotelialnych komórek w tworzeniu nowych naczyń krwionośnych. Źródłem tychże komórek okazały się nowotworowe komórki macierzyste, których markerem jest nestyna. Ekspresję tego białka odnotowano w nowotworach astrocytarnych od II do IV stopnia złośliwości oraz w pierwotnych nowotworach glejowych o I stopniu złośliwości, gwiaździaakach włosowatokomórkowych. Celem przeprowadzonych badań było określenie obecności markera nestyny w komórkach i naczyniach krwionośnych nowotworów o skrajnych stopniach złośliwości, z wykorzystaniem barwień immunohistochemicznych i laserowej mikroskopii konfokalnej. W analizowanych przypadkach nestyna ulegała ekspresji w cytoplazmie większości komórek nowotworowych *glioblastoma* oraz w pojedynczych komórkach gwiaździaaków włosowatokomórkowych. Cytoplazmatyczny odczyn nestyny stwierdzono również w komórkach wyściełających pojedyncze naczynia i rozrosty naczyń badanych nowotworów. Wyniki uzyskanych badań sugerują, że nestyna nie może być stosowana jako jedyny marker, wystarczający do określenia złośliwych lub łagodnych rozrostów naczyń w nowotworach OUN.

Słowa kluczowe: nestyna, gwiaździaak włosowatokomórkowy, glejak wielopostaciowy, mikroprolifracje naczyń, nowotworowe komórki macierzyste

Summary

Pilocytic astrocytoma and glioblastoma are both primary glial tumours of the central nervous system with entirely different histological malignancy grades. One of their features is vascular proliferation, which in the case of glioblastoma is a hallmark of malignancy but not in the case of pilocytic astrocytoma. While vascular proliferations in both tumours usually differ in microscopic appearance, they may be quite difficult to discriminate in a sparse biopsy material and also in a pilocytic astrocytoma with increased proliferation index. Independent studies of glioblastoma have shed some light on the role of non-endothelial cells in tumour neoangiogenesis. These cells originate from neoplastic, nestin immunoreactive stem cells. Expression of this protein has been noticed in grade II-IV astrocytic tumours and in primary grade I glial tumours (e.g. pilocytic astrocytoma). The aim of this study was to assess nestin expression in tumour cells and in blood vessels of tumours at differing grades of malignancy, using immunohistochemical staining and confocal laser microscopy. In our material, nestin was expressed in the cytoplasm of most glioblastoma cells and isolated cells of pilocytic astrocytoma.

Cytoplasmic immunoeexpression of nestin was also detected in cells lining single blood vessels and vascular proliferations. Results of this study suggest that nestin should not be used as the only marker used to differentiate malignant from benign vascular proliferation in CNS tumours.

Key words: nestin, pilocytic astrocytoma, glioblastoma, microvascular proliferation, cancer stem cells

WSTĘP

Gwiaździak włosowatokomórkowy (*pilocytic astrocytoma*) według klasyfikacji WHO jest wolno rosnącym nowotworem o pierwszym stopniu złośliwości histologicznej. W obrazie mikroskopowym obserwuje się luźno utkaną tkankę glejową z wielobiegunowymi komórkami, mikrotrójbkami i ciałami szklistymi oraz zbitą tkankę z dwubiegunowymi komórkami posiadającymi włosowate wypustki⁽¹⁻³⁾. Nadbarwność jądra komórkowego (hiperchromazja), a także pleomorfizm, szczególnie w rozlanych nowotworach, mogą być powodem pomylenia gwiaździaka włosowatokomórkowego z gwiaździakiem o wyższym stopniu złośliwości. Występujące figury podziału mitotycznego, hiperchromatyczne i wielopostaciowe jądra, obecność rozrostów naczyniowych oraz martwicy to typowe cechy histologiczne przypisane do tego typu nowotworów, których nie należy traktować jako przejawów złośliwości^(1,3).

Zgodnie z klasyfikacją Światowej Organizacji Zdrowia najbardziej agresywny *glioblastoma* (GBM) mikroskopowo charakteryzuje się atypią i pleomorfizmem jąder komórkowych, mikroproliferacją naczyń oraz obecnością martwicy otoczonej pasem nowotworowych jąder komórek zwanej martwicą palisadową⁽⁴⁻⁶⁾. Wyróżniamy dwa typy *glioblastoma*: pierwotny i wtórny. Nowotwór, który rozwija się z gwiaździaków o II bądź III stopniu złośliwości, określane jest jako *glioblastoma* wtórny. Pierwotny GBM rozwija się *de novo* zwykle u pacjentów starszych, bez dowodów na pochodzenie z nowotworów o niższym stopniu złośliwości⁽⁵⁻⁷⁾.

Proliferaacje naczyń *glioblastoma* rozpoznawane są jako wielowarstwowe kłębki rozrośniętych i mitotycznie aktywnych komórek endotelialnych, którym towarzyszą komórki mięśni gładkich oraz perycyty⁽⁴⁻⁶⁾. Kłęby rozrośniętych naczyń zwykle umiejscowione są w sąsiedztwie martwicy⁽⁵⁾. Nieprawidłowe naczynia nowotworów są przyczyną powstania niedotlenienia, pod wpływem którego komórki nowotworowe stają się komórkami złośliwymi. W niedotlenionych naczyniach komórki nowotworowe przekształcają się w komórki śródbłonna⁽⁸⁾.

Jedną z podstawowych cech histopatologicznych *glioblastoma* jest obecność proliferacji naczyniowych. Określenie to jednak nie jest jednoznaczne, obejmuje bowiem zarówno kłębowate rozrosty cienkościenne naczyń, jak i tak zwane proliferacje śródbłonna. Jedynie te ostatnie są oznaką złośliwości nowotworu, natomiast kłęby cienkościenne naczyń występują w glejakach o wysokim i o niskim stopniu złośliwości histologicznej. Na brzegach nowotworu znajduje się większa liczba niedojrzałych naczyń krwionośnych niż w pozostałych jego obszarach⁽⁹⁾. Morfologia naczyń GBM zależy w dużej mierze od rozmiaru

nowotworu, lokalizacji naczyń w nowotworze i jego angiogennej aktywności. Peryferyjne części nowotworu posiadają obszar o dużej aktywności angiogennej, co sprzyja „kielkowaniu” naczyń. Centralna jego część z mniejszą aktywnością angiogenną wykazuje niski stopień neowaskularyzacji i skupia drobne naczynia, w których właściwie nie obserwuje się przepływu krwi^(10,11). W ostatnim czasie pojawiło się szereg prac dotyczących tak zwanych nowotworowych komórek macierzystych (*cancer stem cells*), które, będąc komórkami nowotworowymi, wykazują pewne podobieństwo do neuralnych komórek macierzystych. Za ich markery uważa się między innymi nestynę, Sox-2 oraz CD133^(12,13).

Komórki macierzyste GBM (*glioblastoma stem-like cells*, GSCs) odgrywają istotną rolę w tworzeniu unaczynienia nowotworu za sprawą różnicowania w kierunku komórek endotelialnych⁽¹²⁾.

Nestyna jest białkiem filamentów pośrednich i uczestniczy w organizacji cytoskieletu oraz pełni ważną funkcję w organogenezie i metabolizmie komórek⁽¹⁴⁾. Ulega ekspresji w multipotentnych neuroepitelialnych komórkach macierzystych⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Białko to obecne jest również w naczyniach włosowatych mózgu i w komórkach endotelialnych. W nowotworach naczynia krwionośne bogate w nestynę szczególnie widoczne są w obszarach obfitujących w komórki nowotworowe wykazujące ekspresję tego białka^(12,17). Nestyna, wimentyna oraz GFAP ulegają koekspresji w neuralnych i glejowych komórkach progenitorowych^(16,18).

W wyniku stresu komórkowego (na przykład w urazach mózgu i rdzenia kręgowego, niedokrwieniu i transformacji nowotworowej) nestyna może ulegać reekspresji w astrocytach OUN^(14,16,19). Białko to osiąga wyższy poziom ekspresji w glejakach złośliwych niż w gwiaździakach włosowatokomórkowych^(15,16,18). Może być ono wykorzystywane jako marker niedojrzałych komórek neuroepitelialnych i glejowych, a także komórek endotelialnych⁽¹⁸⁾.

Przedmiotem prezentowanych badań było poszukiwanie różnic w immunoekspresji nestyny jako białka charakteryzującego komórki macierzyste w naczyniach i komórkach nowotworowych dwóch nowotworów o skrajnych stopniach złośliwości histologicznej: glejaka wielopostaciowego (WHO GIV) i gwiaździaka włosowatokomórkowego (WHO GI).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły preparaty histopatologiczne pobrane do rutynowych badań histopatologicznych w czasie zabiegu operacyjnego, w których ustalono rozpoznanie GBM (8 przypadków) lub gwiaździaka włosowatokomórkowego (9 przypadków). Dodatkowo włączono 1 przypadek anaplastycznego skąpodrzewiakogwiaździaka (*anaplastic oligoastrocytoma*).

Gwiaździak włosowatokomórkowy					
Lp.	Płeć	Rok urodzenia	Wiek (lata)	Lokalizacja guza	Rozpoznanie
1	M	1989	7	Guz robaka i prawej półkuli mózdzku	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
2	Ż	1997	1	Guz okolicy siodła tureckiego i podwzgórza	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
3	Ż	1992	6	Guz pnia mózgu	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
4	Ż	1993	5	Guz lewego nerwu wzrokowego	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
5	Ż	1996	2	Guz lewej półkuli mózdzku	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
6	M	1993	5	Guz okolicy lewego wzgórza	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
7	M	1995	3	Guz robaka mózdzku	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
8	M	1998	>1	Guz mózgu, okolica skroniowa lewa	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
9	M	1994	5	Guz mózdzku	<i>Pilocytic astrocytoma</i>
Glioblastoma					
Lp.	Płeć	Rok urodzenia	Wiek (lata)	Lokalizacja guza	Rozpoznanie
1	M	1954	54	Guz mózgu	<i>Glioblastoma</i>
2	Ż	1953	55	Brak informacji	<i>Glioblastoma</i>
3	Ż	1929	79	Guz lewego płata skroniowego	<i>Glioblastoma</i>
4	Ż	1941	67	Guz prawego płata ciemieniowego	<i>Glioblastoma</i>
5	M	1948	60	Guz lewego płata skroniowego	<i>Glioblastoma</i>
6	M	1964	44	Guz lewego płata czołowego	<i>Glioblastoma</i>
7	Ż	1949	60	Guz prawego płata skroniowego	<i>Glioblastoma</i>
8	M	1948	61	Guz lewego płata czołowego	<i>Glioblastoma</i>

Tabela 1. Przypadki gwiaździaka włosowatokomórkowego oraz glioblastoma wykorzystane w badaniach

Analizowane przypadki należące do badanych grup nowotworów przedstawiono w tabeli 1.

Reakcje immunohistochemiczne przeprowadzono z wykorzystaniem przeciwciał przeciw nestynie, klon 10C2 (Millipore) oraz GFAP (króliczego przeciwciała poliklonalnego, DAKO). Przeciwciała przeciw nestynie rozcieńczono w proporcji 1:200 za pomocą rozcieńczalnika Antibody Diluent with Background Reducing Components (DAKO), a przeciwciała GFAP w proporcji 1:500.

Zatopione w parafinie fragmenty tkanek skrojono na skrawki o grubości 4 μm i przeprowadzono w rutynowy sposób, dodatkowo zastosowano odkrywanie antygenów przez gotowanie preparatów w buforze cytrynowym o pH 6,0 w temperaturze 96°C przez 20 minut. Kolokalizacja białek została przeanalizowana z wykorzystaniem laserowej mikroskopii konfokalnej z zastosowaniem GFAP oraz nestyny. Do mikroskopii konfokalnej przeciwciała rozcieńczono w stosunku 1:100 (nestyna) i 1:250 (GFAP). Fluorochromami użytymi do immunofluorescencji były: fluorochrom 546 (*goat anti-rabbit*, Invitrogen, rozcieńczenie 1:200) i fluorochrom 633 (*goat anti-mouse*, Invitrogen, rozcieńczenie 1:200), które rozcieńczono w buforze TRIS. Reakcje immunohistochemiczne do mikroskopii konfokalnej przeprowadzono w sposób podobny do immunohistochemii, dodatkowo stosując fluorochrom 546 i fluorochrom 633. Preparaty z naniesionym fluorochromem inkubowano przez godzinę w komorze wilgotnej (temperatura pokojowa). Po wykonaniu reakcji immunohistochemicznych preparaty były oceniane w mikroskopie świetlnym metodą półilościową. Zastosowano

cztery kategorie nasilenia (intensywności reakcji) immunoekspresji badanych przeciwciał w komórkach: brak ekspresji (-), słaba ekspresja (+), silna ekspresja (++) i intensywna ekspresja (+++). Dodatkowo dokonano półilościowej oceny liczby komórek nestynododatnich w komórkach nowotworu. Do badań konfokalnych użyto czterokanałowego mikroskopu konfokalnego FluoView 1000, Olympus.

WYNIKI

IMMUNOHISTOCHEMIA

Gwiaździak włosowatokomórkowy

W pięciu przypadkach odnotowano silny (++) odczyn cytoplazmatyczny w pojedynczych komórkach nowotworu. Komórki nowotworowe o silnym (++) odczynie cytoplazmatycznym trzech przypadków stanowiły znaczny odsetek komórek nowotworu. Intensywny (+++) odczyn cytoplazmatyczny we wszystkich komórkach nowotworu zaobserwowano w jednym przypadku. Komórki śródbłonka pojedynczych naczyń w trzech przypadkach wykazywały słabą (+), a trzy przypadki silną (++) ekspresję nestyny w cytoplazmie. Intensywną cytoplazmatyczną ekspresję nestyny (+++) zaobserwowano w dwóch przypadkach nowotworów. Jeden przypadek nie wykazywał ekspresji (-) tego białka w komórkach endotelialnych. W badanej grupie nowotworów cztery przypadki przejawiały słabą (+), a dwa przypadki silną (++) ekspresję nestyny o cytoplazmatycznym odczynie w komórkach śródbłonka

Lp.	Płeć	Komórki nowotworu	Uwagi	Rozrosty naczyń	Pojedyncze naczynia
		Odczyn cytoplazmatyczny		Odczyn cytoplazmatyczny	Odczyn cytoplazmatyczny
1	M	++	Odczyn w pojedynczych komórkach	+	+
2	Ż	++	Odczyn w pojedynczych komórkach	+	+
3	Ż	++	Odczyn w części komórek	++	++
4	Ż	++	Odczyn w pojedynczych komórkach	-	-
5	Ż	++	Odczyn w części komórek	++	++
6	M	++	Odczyn w pojedynczych komórkach	+	++
7	M	+++	Odczyn we wszystkich komórkach	+++	+++
8	M	++	Odczyn w części komórek	+	+
9	M	++	Odczyn w pojedynczych komórkach	+++	+++

Tabela 2. Ekspresja nestyny w gwiazdziakach włosowatokomórkowych

rozrastających się naczyń. Dwa przypadki wykazywały intensywną (+++) ekspresję nestyny w cytoplazmie komórek śródbłonka rozrostów naczyniowych. W jednym przypadku nie zanotowano ekspresji (-) nestyny (rys. 1).

Wyniki obserwacji ekspresji nestyny w gwiazdziakach włosowatokomórkowych przedstawiono w tabeli 2.

Glioblastoma

Jeden badany przypadek GBM wykazywał słaby (+) cytoplazmatyczny odczyn nestyny w pewnym odsetku komórek nowotworowych. Cztery spośród ocenianych przypadków charakteryzowały się silnym (++) odczynem cytoplazmatycznym analizowanego białka w większości komórek nowotworu. Podobny silny (++) odczyn zaobserwowano w jednym przypadku we wszystkich komórkach nowotworu. W dwóch przypadkach glejaka zanotowano intensywny (+++) cytoplazmatyczny odczyn nestyny we wszystkich komórkach nowotworu.

Pojedyncze naczynia trzech analizowanych glejaków wykazały słabą (+) ekspresję nestyny w cytoplazmie komórek endotelialnych. Cztery przypadki charakteryzowały się silną (++) ekspresją nestyny w cytoplazmie komórek śródbłonka pojedynczych naczyń. Słaby (+) cytoplazmatyczny odczyn nestyny występował w rozrostach naczyń jednego przypadku GBM, w trzech przypadkach odnotowano silny (++) odczyn, w kolejnych trzech intensywny (+++)

cytoplazmatyczny odczyn białka. Jeden przypadek nie wykazywał (-) ekspresji białka w komórkach śródbłonka kłębowców naczyniowych (rys. 2). Wyniki ekspresji nestyny w glioblastoma zamieszczono w tabeli 3.

W jednym przypadku anaplastycznego *oligoastrocytoma* stwierdzono intensywny (++) cytoplazmatyczny odczyn nestyny w komórkach nowotworu, pojedynczych naczyniach krwionośnych oraz rozrostach naczyń. Przypadek ten wykazywał się podobną immunoekspresją tego białka do analizowanych przypadków *glioblastoma*.

LASEROWA MIKROSKOPIA KONFOKALNA

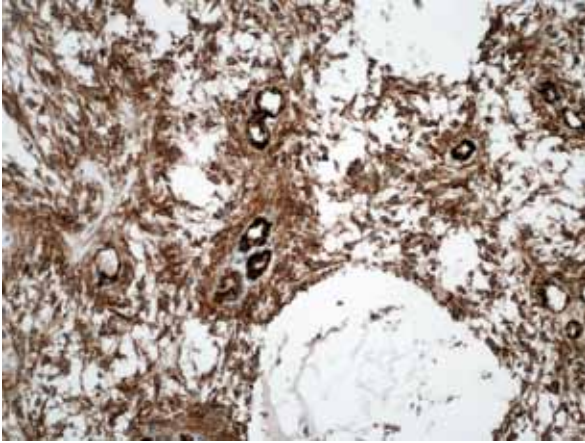
W badanych przypadkach *glioblastoma* zaobserwowano 3 populacje komórek nowotworowych. U części z nich odnotowano jedynie immunoekspresję GFAP, u innych nestyny. Było jednak wiele komórek wykazujących immunoekspresję obu przeciwciał (rys. 3).

OMÓWIENIE

W przeprowadzonych badaniach analizowano immunoekspresję nestyny w dwóch grupach nowotworów o skrajnych stopniach złośliwości – gwiazdziakach włosowatokomórkowych i *glioblastoma*. Ekspresję nestyny rozpatrywano na poziomie

Lp.	Płeć	Komórki nowotworu	Uwagi	Rozrosty naczyń	Pojedyncze naczynia
		Odczyn cytoplazmatyczny		Odczyn cytoplazmatyczny	Odczyn cytoplazmatyczny
1	M	++	Odczyn w części komórek	++	++
2	Ż	++	Odczyn w części komórek	++	+
3	Ż	++	Odczyn w części komórek	++	++
4	Ż	+++	Odczyn we wszystkich komórkach	+++	+++
5	M	+	Odczyn w części komórek	-	+
6	M	++	Odczyn we wszystkich komórkach	+	+
7	Ż	+++	Odczyn we wszystkich komórkach	+++	++
8	M	++	Odczyn w części komórek	+++	+++

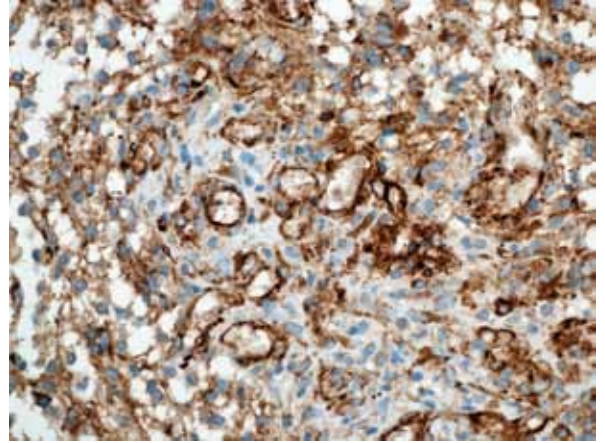
Tabela 3. Ekspresja nestyny w glioblastoma



Rys. 1. Immunokspresja nestyny w komórkach nowotworowych i naczyniach gwiaździaka włosowatokomórkowego. Powiększenie 200×

komórek nowotworowych oraz komórek endotelialnych w pojedynczych naczyniach krwionośnych i w rozrostach naczyniowych obu badanych nowotworów.

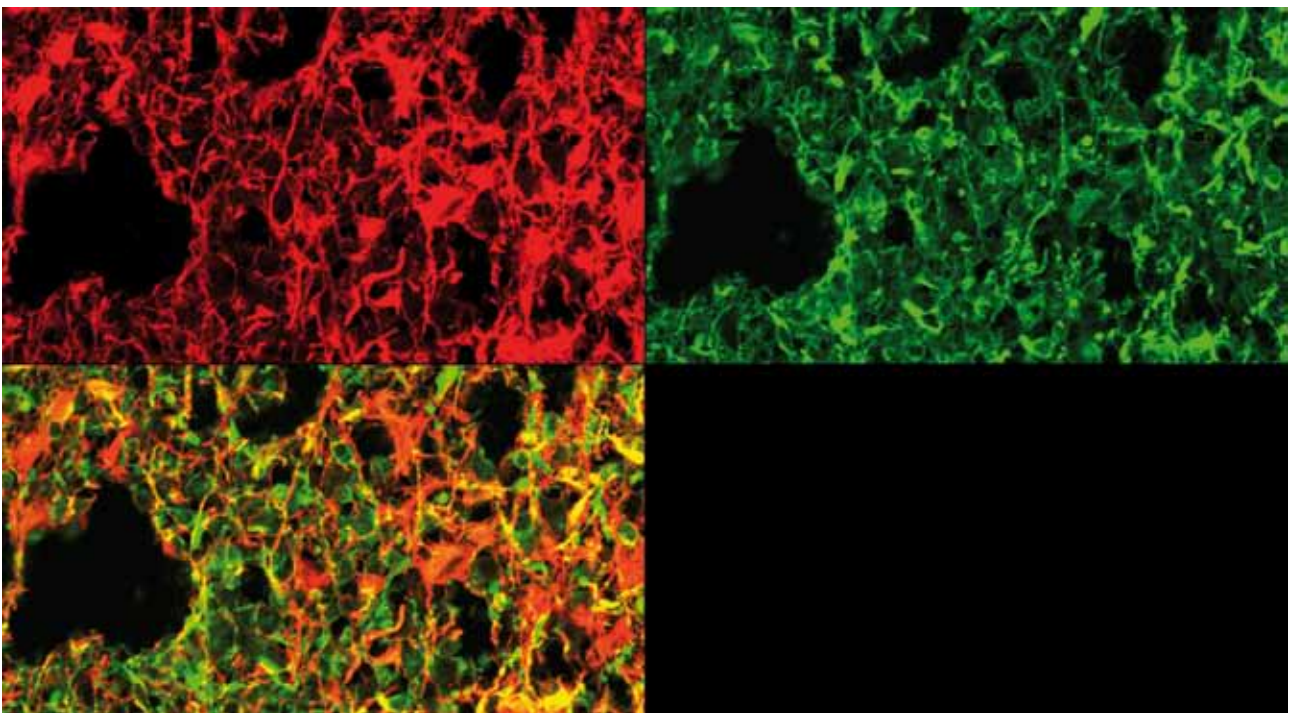
Dotychczasowe wyniki badań wskazują na wyższy poziom ekspresji nestyny w komórkach glejaków złośliwych w porównaniu z komórkami nowotworowymi gwiaździaaków o niskim stopniu złośliwości^(15,16,18). Nasilenie ekspresji nestyny zarówno w glejakach złośliwych, jak i w gwiaździakach włosowatokomórkowych było zbliżone, jednak udział komórek wykazujących ekspresję tego białka w gwiaździakach włosowatokomórkowych był zdecydowanie mniejszy niż w przypadkach GBM. W komórkach gwiaździaaków pilocytarnych nestyna występowała jedynie w pojedynczych komórkach. Opisywane dotąd wyniki



Rys. 2. Immunokspresja nestyny w komórkach nowotworowych i naczyniach glioblastoma. Powiększenie 200×

eksperymentów opierających się na analizie ekspresji nestyny w gwiaździakach pilocytarnych wskazywały na brak lub niski poziom ekspresji tego białka w komórkach nowotworowych^(15,16,20). Godne uwagi wydaje się, że odmienne wyniki barwienia immunohistochemicznego z wykorzystaniem nestyny zostały stwierdzone w wydłużonych, dwubiegunowych komórkach wariantu anaplastycznego gwiaździaka włosowatokomórkowego. Mianowicie komórki te wykazywały bardzo silną immunokspresję nestyny⁽²⁰⁾.

Nestyna ulega ekspresji także w proliferujących komórkach endotelialnych i w komórkach znajdujących się w sąsiedztwie proliferacji⁽²⁰⁾. Jej ekspresję w komórkach endotelialnych pojedynczych naczyń krwionośnych zanotowano we wszystkich



Rys. 3. Kolokalizacja nestyny (sygnal zielony) i GFAP (sygnal czerwony) w glioblastoma. Laserowy mikroskop konfokalny, powiększenie 400×

przypadkach glejaków i w większości gwiaździków włosowatokomórkowych. Sugawara i wsp.⁽¹⁸⁾ zaobserwowali, że w proliferujących komórkach endothelialnych podczas angiogenezy zachodzi intensywna ekspresja nestyny. Ci sami autorzy wskazują na silniejszy odczyn nestyny w komórkach śródbłonna niż w komórkach nowotworu.

Nestynododatnie naczynia w GBM według He i wsp.⁽¹⁷⁾ występują w niszach komórek nowotworowych o wysokiej ekspresji nestyny. Ekspresja nisz skupiających nestynoinmunododatnie komórki wzrasta wraz ze stopniem złośliwości nowotworu. Jak dowiedziono, do rozwoju komórek endothelialnych w obrębie glejaków może dochodzić poprzez różnicowanie się pośrednich komórek progenitorowych oraz komórek CD133-dodatnich odpowiadających macierzystym komórkom nowotworowym zawierającym subpopulację progenitorów endothelialnych⁽²¹⁾. Może to wyjaśniać dodatni odczyn dla nestyny wykazany w części komórek wyścielających światło naczyń w obrębie glejaków. Mechanizm udziału nowotworowych komórek typu macierzystego w angiogenezie może nie być ograniczony wyłącznie do glejaków. Trwają prace nad określeniem występowania tego zjawiska w nowotworach jajnika, chłoniakach i *neuroblastoma*⁽²²⁾. W badaniach prezentowanych w niniejszej pracy komórki śródbłonna pojedynczych cienkościennych naczyń w gwiaździkach włosowatokomórkowych charakteryzowały się wyższym poziomem ekspresji nestyny niż komórki śródbłonna naczyń rozrastających się. Autorzy po przeanalizowaniu dostępnej literatury stwierdzili, że do tej pory nie badano immunoekspresji nestyny w naczyniach krwionośnych gwiaździków włosowatokomórkowych.

Na podstawie danych z piśmiennictwa oraz wyników badań autorów niniejszego artykułu można założyć, że nestyna może być wykorzystana jako marker komórek endothelialnych oraz periendothelialnych w ośrodkowym układzie nerwowym.

Podsumowując, immunoekspresję nestyny zaobserwowano w komórkach nowotworowych zarówno gwiaździka pilocytarnego, jak i GBM. Białko to w większości komórek gwiaździka o I stopniu złośliwości ulegało ekspresji tylko w pojedynczych komórkach nowotworu. Komórki nestynododatnie GBM stanowiły zdecydowaną większość komórek nowotworu. Ekspresję nestyny wykazano we wszystkich niemal komórkach endothelialnych naczyń cienkościennych oraz rozrostów naczyniowych. Immunoeekspresja nestyny w pojedynczych naczyniach i ich rozrostach w grupie analizowanych nowotworów koreluje z obecnością badanego białka w komórkach nowotworów. W *glioblastoma*, jak również w gwiaździku włosowatokomórkowym intensywność ekspresji nestyny w pojedynczych naczyniach w większości przypadków miała podobne nasilenie do immunoekspresji tego białka w rozrostach naczyniowych. Wydaje się więc, że nestyna nie może być stosowana jako marker złośliwych (rozrostów endothelialnych) lub łagodnych rozrostów naczyniowych (kłębow cienkościennych naczyń) w nowotworach OUN.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Kordek R., Liberski P.P.: Gwiaździk włosowatokomórkowy. W: Liberski P.P., Kozubski W., Biernat W., Kordek R. (red.): Neuroonkologia kliniczna. Czelej, Lublin 2011.
2. Scheithauer B.W., Hawkins C., Tihan T. i wsp.: Pilocytic astrocytoma. W: Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. (red.): WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. IARC, Lyon 2007.
3. Koeller K.K., Rushing E.J.: From the archives of the AFIP: pilocytic astrocytoma: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 2004; 24: 1693-1708.
4. Biernat W.: Glejak wielopostaciowy (*glioblastoma*). W: Liberski P.P., Kozubski W., Biernat W., Kordek R. (red.): Neuroonkologia kliniczna. Czelej, Lublin 2011.
5. Kleinhues P., Burger P.C., Aldape K.D. i wsp.: Glioblastoma. W: Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. (red.): WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. IARC, Lyon 2007.
6. Miller C.R., Perry A.: Glioblastoma. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2007; 131: 397-406.
7. Hägerstrand D., Hesselager G., Achterberg S. i wsp.: Characterization of an imatinib-sensitive subset of high-grade human glioma cultures. *Oncogene* 2006; 25: 4913-4922.
8. Szala S., Jarosz M.: Nowotworowe naczynia krwionośne. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2011; 65: 437-446.
9. Miyagami M., Katayama Y.: Angiogenesis of glioma: evaluation of ultrastructural characteristics of microvessels and tubular bodies (Weibel-Palade) in endothelial cells and immunohistochemical findings with VEGF and p53 protein. *Med. Mol. Morphol.* 2005; 38: 36-42.
10. Vajkoczy P., Menger M.D.: Vascular microenvironment in gliomas. *J. Neurooncol.* 2000; 50: 99-108.
11. Vajkoczy P., Schilling L., Ullrich A. i wsp.: Characterization of angiogenesis and microcirculation of high-grade glioma: an intravital multicolor fluorescence microscopic approach in the athymic nude mouse. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1998; 18: 510-520.
12. He H., Niu C.S., Li M.W.: Correlation between glioblastoma stem-like cells and tumor vascularization. *Oncol. Rep.* 2012; 27: 44-50.
13. Pevny L.H., Nicolis S.K.: Sox2 roles in neural stem cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010; 42: 421-424.
14. Strojnik T., Røisland G.V., Sakariassen P.O. i wsp.: Neural stem cell marker, nestin and musashi proteins, in the progression of human glioma: correlation of nestin with prognosis of patient survival. *Surg. Neurol.* 2007; 68: 133-144.
15. Kitai R., Horita R., Sato K. i wsp.: Nestin expression in astrocytic tumors delineates tumor infiltration. *Brain Tumor Pathol.* 2010; 27: 17-21.
16. Almqvist P.M., Mah R., Lendahl U. i wsp.: Immunohistochemical detection of nestin in pediatric brain tumors. *J. Histochem. Cytochem.* 2002; 50: 147-158.
17. He H., Li M.W., Niu C.S.: The pathological characteristics of glioma stem cell niches. *J. Clin. Neurosci.* 2012; 19: 121-127.
18. Sugawara K., Kurihara H., Negishi M. i wsp.: Nestin as a marker for proliferative endothelium in gliomas. *Lab. Invest.* 2002; 82: 345-351.
19. Tamagno I., Schiffer D.: Nestin expression in reactive astrocytes of human pathology. *J. Neurooncol.* 2006; 80: 227-233.
20. Schiffer D., Manazza A., Tamagno I.: Nestin expression in neuroepithelial tumors. *Neurosci. Lett.* 2006; 400: 80-85.
21. Wang R., Chadalavada K., Wilshire J. i wsp.: Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium. *Nature* 2010; 468: 829-833.
22. Ricci-Vitiani L., Pallini R., Biffoni M. i wsp.: Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Nature* 2010; 468: 824-828.