

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**GLİAL TÜMÖRLERDE
AYIRICI TANIDA VE GRADE'LENDİRMEDE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
VE
MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN YERİ**

Dr. Ayşe ÖZGÜN

**PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Esra ERDEN

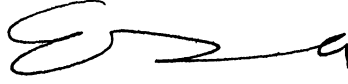
ANKARA

2009

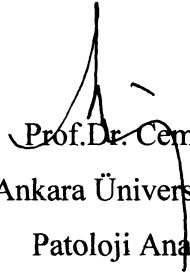
Türkiye Cumhuriyeti
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan “**Glial tümörlerde ayırıcı tanı ve grade'lendirmede immunohistokimyasal ve moleküler yöntemlerin yeri**” başlıklı, Dr.Ayşe ÖZGÜN'e ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Tıpta Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14.07.2009



Prof.Dr.Esra ERDEN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı Başkan V.
Jüri Başkanı ve Tez Danışmanı



Prof.Dr. Cemil EKİNCİ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı
Üye



Prof.Dr. Serpil DİZBAY SAK
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı
Üye

Tezimin tüm aşamalarında desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, Prof. Dr. Esra Erden, Prof. Dr. Işınsu Kuzu, Doç. Dr. Aylin Okçu Heper ve Doç. Dr. Serdar Ceylaner'e; laboratuvar işlemleri sırasında yardımlarını aldığım tüm patoloji ve immünpatoloji çalışanlarına ve manevi desteği ile her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|----|
| Kabul ve Onay..... | |
| Önsöz | i |
| İçindekiler | ii |
| Simgeler ve Kısaltmalar Dizini..... | iv |
| Tablolar Dizini | v |
| Şekiller Dizini | vi |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ (SSS) TÜMÖRLERİ DSÖ 2007 SINIFLAMASI | 3 |
| 2.2. ASTROSİTİK TÜMÖRLER | 4 |
| 2.2.1. Astrositik Tümörlerde Derecelendirme..... | 4 |
| 2.2.2. Piloitik Astrositoma | 5 |
| 2.2.3. Diffüz Astrositoma..... | 8 |
| 2.2.4. Anaplastik Astrositoma | 10 |
| 2.2.5. Glioblastoma Multiforme (GBM)..... | 11 |
| 2.2.6. Dev Hücreli Glioblastoma | 18 |
| 2.3. OLİGODENDROGLİAL TÜMÖRLER | 19 |
| 2.3.1. Oligodendroglial Tümörlerde Derecelendirme | 19 |
| 2.3.2. Oligodendroglia | 20 |
| 2.3.3. Astrositoma ve Oligodendrogloma Ayırıcı Tanısının Önemi..... | 21 |
| 2.4. GLİAL TÜMÖRLERDE MOLEKÜLER VE GENETİK ÖZELLİKLER .. | 21 |
| 2.4.1. Hücre Döngüsü | 21 |
| 2.4.2. Glial Tümörlerde Neoplastik Transformasyon | 25 |
| 2.4.3. Flouresan in-situ Hibridizasyon (“FISH”)..... | 26 |
| 2.4.4. Astrositik Tümörlerde Moleküler ve Genetik Özellikler | 26 |
| 2.4.5. Oligodendroglial Tümörlerde Moleküler ve Genetik Özellikler .. | 29 |
| 3. MATERYAL – METOD | 31 |
| 3.1. Olgu Seçimi ve “doku makro array” bloğunun hazırlanması | 31 |
| 3.2. İmmünohistokimya | 31 |
| 3.3. Flouresan in-situ Hibridizasyon (“FISH”)..... | 33 |

| | | |
|--------|---|----|
| 3.4. | <i>İstatistiksel analiz yöntemleri</i> | 34 |
| 4. | BULGULAR..... | 35 |
| 4.1. | <i>Klinik Bulgular</i> | 35 |
| 4.2. | <i>İmmünohistokimyasal bulgular</i> | 36 |
| 4.2.1. | <i>p53</i> | 36 |
| 4.2.2. | <i>EGFR</i> | 39 |
| 4.2.3. | <i>Ki-67</i> | 40 |
| 4.3. | <i>Flouresan in-situ Hibridizasyon (“FISH”) bulguları</i> | 43 |
| 5. | TARTIŞMA | 54 |
| 5.1. | <i>p53</i> | 55 |
| 5.2. | <i>EGFR</i> | 59 |
| 5.3. | <i>Ki-67</i> | 61 |
| 5.4. | <i>FISH</i> | 63 |
| 6. | SONUÇLAR..... | 66 |
| | ÖZET..... | 70 |
| | SUMMARY | 72 |
| | KAYNAKLAR | 74 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------------|---|
| BT | : Bilgisayarlı tomografi |
| Cdk | : Siklin bağımlı kinaz |
| CKI | : Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri |
| DMBT1 | : “The gen deleted in malignant brain tumors 1” |
| DSÖ | : Dünya Sağlık Örgütü |
| E2F | : Elongasyon faktör 2 |
| EGFR | : “epidermal growth factor receptor” |
| FISH | : Flouresan in-situ hibridizasyon |
| GBM | : Glioblastoma multiforme |
| GFAP | : “glial fibrillary acidic protein” |
| HE | : Hematoksilen eozin |
| LOH | : Heterozigosite kaybı |
| MRI | : Magnetik rezonans inceleme |
| NF-1 | : Nörofibromatozis tip-1 |
| PCNA | : Proliferatif hücre nükleer antijeni |
| PDGFR | : “platelet derived growth factor receptor” |
| Rb | : Retinoblastoma |

TABLolar DİZİNİ

- Tablo 1** :DSÖ 2007 klasifikasyonuna göre glial tümörlerin sınıflandırılması
- Tablo 2** :Cdk İnhibitörleri
- Tablo 3** :GBM'lerin ayırıcı tanısında klinik ve moleküler özellikler
- Tablo 4** :Glial tümörlerde histopatolojik tanı gruplarına göre ortalama p53 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı
- Tablo 5** :Oligodendroglioma'larda grade'lere göre ortalama p53 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı
- Tablo 6** :Oligodendroglioma'larda p53 skorlarının grade'lere göre dağılımı
- Tablo 7** :Astrositoma'larda grade'lere göre ortalama p53 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı
- Tablo 8** :Astrositoma'larda p53 skorlarının grade'lere göre dağılımı
- Tablo 9** :Oligodendroglioma'larda EGFR skorlarının grade'lere göre dağılımı
- Tablo 10** :Astrositoma'larda EGFR skorlarının grade'lere göre dağılımı
- Tablo 11** :Glial tümörlerde histopatolojik tanı gruplarına göre ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı
- Tablo 12** :Oligodendroglioma'larda grade'lere göre ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı
- Tablo 13** :Oligodendroglioma'larda Ki-67 skorlarının grade'lere göre dağılımı
- Tablo 14** :Astrositoma'larda grade'lere göre ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı
- Tablo 15** :Astrositoma'larda Ki-67 skorlarının grade'lere göre dağılımı
- Tablo 16** :Glial tümörlerde histopatolojik tanı grupları ve grade'lere göre LOH dağılımı

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1** : Hücre Döngüsü
Şekil 2 : p21'in DNA hasarıyla uyarılması
Şekil 3 : Gliyal tümörlerde genetik yolak

1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Glial tümörler en sık saptanan primer santral sinir sistemi tümörleridir. Farklı klinik seyir ve prognoz sergileyebilen farklı tümör tiplerinden oluşmaktadır. Her olguda sadece histopatolojik parametrelerle tümör tiplerinin ayrımı mümkün olamamaktadır.

Patoloji rutininde glial tümörlerin ayırıcı tanısında sadece morfolojik kriterlere dayanılarak oligodendroglioma ve astrositoma ayrımının yapılamadığı olgular bulunmaktadır. Bunların bir kısmı mikst oligoastrositoma diye ayrı bir alt grupta sınıflandırılmakla birlikte, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasında net tanı kriterleri bulunmamaktadır. Farklı otörlere göre farklı uygulanan parametreler bildirilmektedir. Aynı tanısal karmaşa ve değerlendirmedeki belirsizlikler özellikle bazı oligodendroglioma olgularının grade'lenmesinde yaşanmaktadır. Oligodendroglioma'lar genellikle astrositoma'lara göre daha iyi prognozlu olarak bilinmekle birlikte, düşük grade'li olsa bile kötü prognozla seyreden oligodendroglioma olguları da bildirilmektedir. Ayrıca oligodendroglioma ile astrositoma arasında da tedaviye cevap farklılığı bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda 1p/19q delesyonu (LOH), p53, EGFR "overekspresyonu" ve Ki-67 proliferasyon indeksinin glial tümörlerin ayırıcı tanısında ve grade'lendirilmesinde rutin kullanımdaki yerinin ve değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1p/19q delesyonunun oligodendroglioma'larda daha sık olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle 1p/19q delesyonunun ayırıcı tanıda morfolojik kriterlere yardımcı olabileceği çeşitli yayınlarda vurgulanmaktadır. Ayrıca bu moleküler değişikliğin tedaviye cevapta belirleyici rolü olduğu bazı çalışmalarda öne sürülmektedir.

Sonuç olarak, patoloji rutininde yukarıda sıralanan moleküler ve immünohistokimyasal belirleyicilerin oligodendroglioma, astrositoma ayrımında ve kendi içlerinde grade'lendirilmelerinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, toplam 68 primer beyin tümörü (oligodendroglioma, astrositoma, oligoastrositoma) olgusunda, operasyon materyallerinde, retrospektif olarak yapılmıştır. 1p/19q delesyonu floresan insitu hibridizasyon yöntemi (FISH) ile, p53,

EGFR “overekspresyonu”, Ki-67 proliferasyon indeksi immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. İmmünohistokimyasal yöntem ile GFAP ekspresyonu gösterilerek tümörlerin gliyal natüru teyid edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER:

2.1. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ (SSS) TÜMÖRLERİ DSÖ 2007 SINIFLAMASI:

Gliyal tümörler santral sinir sistemi tümörlerinin büyük ve heterojen bir grubunu oluşturmaktadır. Normal gliyal dokuda astrositler, oligodendrositler, ve ependim hücreleri bulunduğundan, bu hücrelerden köken alan tümörler astrositomalar, oligodendroglioma'lar ve ependimoma'lar şeklinde olmak üzere benzer isimler ile adlandırılırlar. (1) Bu çalışmada astrositik tümörler, oligodendrogliyal tümörler ve oligoastrositik tümörler değerlendirileceğinden, bu bölümde daha çok bu tümörlerin genel özellikleri üzerinde durulacaktır. Bu tümörlerin DSÖ 2007 sınıflaması tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: DSÖ 2007 klasifikasyonuna göre gliyal tümörlerin sınıflandırılması:

| Astrositik tümörler: | Oligodendrogliyal tümörler: | Oligoastrositik tümörler: |
|---|---|---|
| Pilositik astrositoma Pilomiksoid astrositoma Subependimal dev hücreli astrositoma Pleomorfik ksantoastrositoma Diffüz astrositoma Fibriller astrositoma Gemistositik astrositoma Protoplazmik astrositoma Anaplastik astrositoma Glioblastoma Dev hücreli glioblastoma Gliosarkoma Gliomatosis cerebri | Oligodendroglioma Anaplastik oligodendroglioma | Oligoastrositoma Anaplastik oligoastrositoma |

2.2. ASTROSİTİK TÜMÖRLER:

2.2.1. Astrositik Tümörlerde Derecelendirme:

Glioma'larda anaplazi için belirleyici özellikler, nükleer atipi (kaba kromatin, nükleer pleomorfizm, multinükleasyon), mitotik aktivite, sellularite, vasküler proliferasyon ve nekrozdur. Bu histopatolojik parametreler ile derecelendirme (grade'leme) yapılmaktadır. Astrositik tümörler heterojen tümörler olduğundan derecelendirme, anaplazinin en yüksek derecede olduğu alanlar esas alınarak yapılır (2).

Gliyal tümörlerin ilk sistematik sınıflaması 1926 yılında Bailey tarafından yapılmış ve fibriler astrositik tümörler; astrositoma, astroblastoma ve spongioblastoma (glioblastoma multiforme) olarak sınıflandırılmıştır (3).

1949 yılında Kernohan ve arkadaşları dördüncü grade sistemini geliştirmiş, Broders Mayo Klinik de bu sınıflandırmayı kullanmıştır (3). İyi diferansiye astrositomlar grade I, daha sellüler ve anaplastik olanlar grade II, çok anaplastik olanlar grade III ve IV kabul edilmiştir. Grade IV, glioblastoma multiformenin sinonimidir. Grade III ve IV arasında ayırıcı tanıda mitotik figür sayısı, malign astrositlerin yüzdesi, nekroz, vasküler proliferasyon ve pleomorfizm dereceleri gibi histopatolojik parametreler kriter alınmıştır.

1950'de Ringertz, astrositik tümörleri; astrositoma, intermediate lezyon ve glioblastoma multiforme olarak sınıflandırmıştır (3). Bu çalışmada anaplastik astrositoma ve glioblastoma multiforme ayırıcı tanısında en önemli faktör nekroz olarak kabul edilmiştir.

1988'de Daumuos Dupont tarafından oluşturulan Saint Ann-Mayo sistemi ile Kernohan'ın modeli modifiye edilmiştir. Histolojik parametreler; nükleer atipi, mitoz, endotelial proliferasyon ve nekrozdur. Bu bilgiler ışığında bu özelliklerden hiçbirini içermeyen tümörler grade I, bir tanesini içerenler grade II, iki özelliği içerenler grade III, üç veya dört özelliği içerenler ise grade IV olarak kabul edilmiştir (4).

SSS tümörlerinin 2007 yılı DSÖ sınıflaması, astrositik tümörler için, Saint Ann-Mayo sistemi ile, DSÖ grade I tümörlerin pilositik astrositomalar için saklanması ve grade II tümörlerde geniş bir tümör dokusunda tek bir mitoz bulunmasının dereceyi değiştirmemesi dışında benzerdir. DSÖ çalışma grubuna göre

rezeksiyon örneklerinde pek çok sahada arandıktan sonra tek bir mitoz bulunması olguyu grade II tümörlerden daha kötü davranışa götürmez. Ancak çalışma grubu, bunun küçük iğne biyopsileri için doğru olmayabileceğine ve bu olgularda prognostik önemi olabileceğine dikkati çekmektedir. (5,6)

2.2.2. Piloitik Astrositoma:

Yavaş büyüyen, iyi sınırlı, sıklıkla 20 yaş altında görülen DSÖ grade I tümörlerdir. Nadiren 50 yaş üstünde de bildirilmişlerdir. Primer intrakranial neoplazilerin %2' sini, glial tümörlerin yaklaşık %5-6' sını oluşturmaktadır. İnsidansı 0.3/100.000 olarak bulunmuştur. Tüm nöroaksis boyunca gelişebilirler. Sıklık sırasına göre ; optik sinir, optik kiazma, hipotalamus, talamus, bazal ganglia, serebral hemisferler, serebellum ve beyin sapında görülürler.(6) Serebral hemisfer yerleşimli olanlar daha çok ileri yaşta hastalardır. Yerleşim yerine göre, optik sinir gliomu, hipotalamik gliom, serebellar astrositoma, kistik astrositoma gibi çeşitli isimler alırlar.(7) Çocuklarda görülen en sık glial tümör olmakla birlikte, bu yaş grubunda en sık serebellumda yerleşim gösterir. Cinsiyet dağılımı yoktur (6)

Klinik özellikler:

Lokalizasyonuna bağlı olarak değişik semptomlar görülebilir. Görme yolları ve serebellumda yerleşen en sık astrositoma tipidir. Nörofibromatozis tip 1 (NF-1) özellikle bilateral optik sinir yerleşimli pilositik astrositoma gelişme riskini artırır. İntraorbital optik sinirde gelişenlerde görme kaybı ve propitozis gelişir. (7) Hipotalamusa yerleşenlerde hipotalamik-hipofizer fonksiyon bozukluğu gelişir. Serebrospinal sıvı akışının engellenmesine bağlı hidrosefali gelişebilir. Talamus ve bazal ganglionda yerleşirse kafa içi basınç artımına yol açabilir. Serebral hemisferlerde kitle etkisi oluşturabilir. Serebellum yerleşimli olgularda tümör 4. ventriküle uzanarak BOS akışını engeller. Ayrıca serebellar fonksiyon bozukluğu görülür. Beyin sapına yerleşenler BOS akışını engeller.(6)

Radyolojik özellikler:

Bilgisayarlı tomografi (BT) ve magnetik rezonans incelemede (MRI) iyi sınırlı görülürler. Tümörün kontrast tutması ve etrafında ödem olmaması iyi differansiye diffüz astrositoma'lardan ayırımında önemlidir.(7) Genellikle serebellum, spinal

kord ve serebral hemisferde yerleşenler kistiktir. Tümör kist duvarında nodül (mural nodül) olarak bulunabilir. Kistler tek veya masif olabilir. Nadiren kalsifikasyon görülebilir. Optik sinir tümörlerinde sinir trasesi boyunca ve optik kiazmada fusiform kitle görülebilir. (6)

Makroskopik özellikler:

Yumuşak, gri renkte ve kistiktir. Mikrokistler ve hipervaskülariteye bağlı süngerimsi görülebilir. Kronik olgularda kalsiyum ve hemosiderin birikimi olabilir. (6)

Histopatolojik özellikler:

Mikroskopik olarak bifazik patern görülür. Bifazik patern bipolar hücrelerin ve rosental fibrillerin bulunduğu kompakt alanlar ve mikrokistik olup eozinofilik granüler cisimciklerin bulunduğu daha gevşek alanlardan oluşur.(6) Bazen tek bir komponent bulunabilir. Kompakt alanlardaki piloid astrositomalar uzun ince fibriller uzantılara sahiptir ve nükleusları tipik olarak elongedir. Bu hücreler GFAP ile kuvvetli boyanma gösterirler. Gevşek (mikrokistik) alanlardaki daha yuvarlak-oval nükleuslu protoplazmik astrositler ise fibrilden fakirdir ve GFAP ile zayıf boyanırlar. Nadiren serebellar pilositik astrositoma'larda oligodendroglioma benzeri tümör hücreleri görülebilir. Bazen polar spongioblastomaya benzeyen gruplaşan, şerit benzeri tümör hücrelerinden oluşan patern görülebilir.(7) Glomerüloid ve hyalinize damarlar sıktır. Mitoz, hiperkromatik nükleus ve mikrovasküler proliferasyon ve meninkslerin infiltrasyonu görülebilir. Ancak bunlar malignite kriteri değildir. %5-10 vakada infarkt benzeri, palizatlanma göstermeyen nekroz bulunabilir. (6) Mitoz genellikle görülmez, ancak %30 vakada 50 büyük büyütme alanında 1-2 mitoz görülebilir. Ki-67 indeksi %1-3' ü geçmez.(8)

Rosental fibriller 20 µm çapında , fibriller, uzun, şişkin, hyalin yapılardır. Tek başına ya da fibriller bölgelerde gruplar halinde bulunurlar. İmmünohistokimyasal olarak alfa-b kristalin ve değişen derecelerde GFAP pozitifliği gösterirler. (6) Rosental fibrillerin varlığı malignite tanısı için yeterli bulgu değildir. Reaktif astrositlerde ve diğer bazı kronik lezyonlarda (hemanjioblastoma, spinal vasküler malformasyonlar gibi) görülebilir. (7)

Eozinofilik granüler cisimcikler sıklıkla tümörün gevşek alanlarında bulunur. Diğer bulgularla birlikte bulunmaları anlamlıdır. Parlak, eozinofilik, sferik, 20 µm çapında granüler yapılardır. PAS pozitiflerdir. İmmünohistokimyasal olarak alfa-b kristalin ve ubiquitin, α-1 antitripsin, α-1 antikimotripsin ve b-amiloid prekürsör protein içerirler. (6,7)

Damarlanma, yavaş büyüyen astrositik tümörlere göre beklenmedik özellikler içerir. BT ve MRI’ da kontrast tutarlar ve özellikle serebellumda ise hemanjioblastoma, medullablastoma ve ependimoma ile karışabilirler. Özellikle kist duvarında mikrovasküler proliferasyon görülür. Damarlar glioblastoma’daki gibi glomerüloid olabilir ancak büyük damarlarda endotel hücre proliferasyonu yoktur. (6)

Regresif değişiklikler; hyalinize ektatik vasküler yapıların varlığı, kalsifikasyon, infarkt benzeri nekroz, kanama bulguları, lenfosit infiltrasyonudur. Tümörde zamanla malignleşmeden ziyade regresif değişiklikler görülür. Nekroz vakaların küçük bir kısmında mevcuttur ve anaplastik veya malign değişikliği göstermez. Sitolojik atipi, artmış sellülarite, nükleer değişiklikler ve mitozun prognostik önemi yoktur. Tümörde nadiren malign transformasyon görülebilir. Mitotik aktivitenin yüksek olması, edotelyal proliferasyon ve palizatlaşan nekroz varlığı malignite göstergesidir. (6)

Pilositik astrositoma NF-1’ de sık görülür. 17q11.2 bölgesinde genetik materyal kaybı vardır. Diffüz astrositoma’nın aksine p53 gen mutasyonu nadirdir. (7)

Prognoz:

Yavaş büyüyen ve iyi prognozlu tümörlerdir. Nadiren spontan regresyon görülebilir. NF-1 ilişkili olanlarda prognoz daha iyidir. Özellikle hipotalamik bölgede yerleşenlerde BOS aracılığıyla yayılım görülebilir. Bu durumda prognoz kötüdür. (1) Optik sinir ve kiazmaya yerleşen lezyonlarda prognoz lokalizasyona, rezeksiyonun büyüklüğüne, hasta yaşına ve NF-1 varlığına bağlı olarak değişir. Serebellar yerleşimli olgularda kitle total çıkarıldıysa prognoz çok iyidir. Total çıkarılan olgularda 5 yıllık yaşam %100’e kadar ulaşır. Serebral hemisferlere yerleşmiş çocuk ve erişkin olgu gruplarında da 5 yıllık yaşam %80 ve üstü olarak rapor edilmiştir. (7,9)

Ayırıcı tanı:

Ayırıcı tanıda yer alan tümörler; diffüz astrositoma, oligodendroglioma, mikst oligoastrositoma, pleomorfik ksantoastrositoma, ganglioglioma, monomorfik pilositik astrositoma, disembrioplastik nöroepitelyal tümör' dür.(1) Pilositik astrositoma'da bifazik patern, rosental fibriller, eozinofilik granüler cisimcikler gibi klasik bulgular yoksa, diffüz astrositoma' lardan ayırd etmek problemlidir. Ayırım klinik, radyoloji ve histoloji ile birlikte yapılır. Radyolojik olarak lezyon etrafında ödem olmayarak, kontrast tutan, kistik komponenti olan bir tümör diffüz astrositoma'dan çok pilositik astrositoma'yı düşündürür. Diffüz astrositoma'da damar duvarları ince çeperlidir. Anaplastik astrositoma ile ayırıcı tanısında Ki-67 (MIB-1) proliferasyon indeksi kullanılabilir. Anaplastik astrositoma'da proliferasyon indeksi yüksektir. (6,7)

2.2.3. Diffüz Astrositoma:

Tipik olarak genç erişkinlerde görülen, hücrel diferansiyasyon, yavaş büyüme ve komşu beyin dokusunun diffüz infiltrasyonu ile karakterize, DSÖ grade II tümörlerdir. Anaplastik astrositoma'ya ve glioblastoma'ya kadar ilerleme yatkınlıkları olduğundan pilositik astrositoma'dan kesinlikle ayırd edilmelidir. (6)

İnsidans, yaş, cinsiyet:

Tüm astrositik beyin tümörlerinin %10-15' ini oluşturur. İnsidans oranı 1 milyon nüfusta yılda yaklaşık 1.4 yeni olgu şeklindedir. Epidemiyolojik veriler İskandinav ülkelerinde ve Kuzey Amerika' da astrositoma'ların insidansında son 30 yılda artış olduğunu göstermektedir. Pik insidans genç erişkinlerde 30-40 yaş arasındadır. Olguların %10' u 20 yaş altında, %60' ı 20-45 yaşlarında, %30 kadarı 45 yaş üzerinde görülür. Ortalama görülme yaşı 34' tür. Erkek / kadın oranı: 1.18/1 olarak bildirilmiştir. (6)

Lokalizasyon:

Santral sinir sisteminin herhangi bir bölgesinde lokalize olabilirler. Hem çocuklarda hem de erişkinlerde en sık serebrumda supratentorial olarak gelişirler. Frontal ve temporal loblar sık tutulur. Beyin sapı ve spinal kord diğer sık etkilenen alanlardır. Serebellum lokalizasyonu nadirdir. (6)

Klinik özellikler:

Erken dönemde konuşma, duygulanım, görme bozukluğu, ya da motor bozukluklar görülebilmeye rağmen, tümörün en yaygın belirtisi nöbetlerdir. Frontal lob tümörlerinde davranış ya da kişilik değişiklikleri görülebilir. Başlangıç anı de olabilir. (6)

Radyolojik özellikler:

BT ve MRI' de oldukça iyi sınırlı, kontrast tutmayan, düşük dansiteli homojen kitleler olarak görülür.

Makroskopik özellikler:

İnfiltratif yapı nedeniyle genellikle makroskopik sınırlar belirsizdir. Tutulan anatomik yollarda genişleme ve şekil bozukluğu vardır. Destruksiyon yoktur. Kistik değişiklikler çeşitli boyutlarda ve multipl olabilir. Yaygın mikrokistik oluşumlar jelatinöz bir görünüme yol açabilir. Fokal ya da diffüz kalsifikasyon bulunabilir. Karşı taraf yapılarına ilerleme özellikle frontal loblarda sıklıkla gözlenir. (6)

Histopatolojik özellikler:

İnce ve kalın çok sayıda hücre uzantıları olan rastgele dağılmış hücrelerden oluşurlar. Nükleuslar angülerdir. Hücreler normal fibriler astrositlerden daha büyük, kaba ve hiperkromatik olurlar. Hemen daima en az birkaç tane atipik hücre görülür. Güçlü GFAP immünoreaktivitesi gösterirler. Mikrokistler bulunabilir. Kan damarlarında endotel belirginliği görülmez ya da minimal olur. Bazen yama tarzında damar çevresi lenfosit infiltrasyonu olabilir.

Proliferasyon:

Astrositik tümörlerin geniş analizi, klinik gidiş ile proliferasyonunun korelasyonunu göstermiştir. Ki-67 proliferasyon indeksi %7.5'un üzerinde olan tümörler, daha yüksek histolojik grade ve daha kötü yaşam süresi ile birlikte idi. Bu değer histolojik grade'den istatistiksel olarak daha anlamlı faktör olarak belirtilmekteydi. Bazı çalışmalar grade II diffüz astrositoma'larda proliferatif potansiyelin, sağ kalım ve rekürrens zamanı ile zıt korelasyon gösterdiğini bulmuştur.(10) Tek tek olgularda Ki-67 proliferasyon indeksi ile büyüme fraksiyonu, prognostik olarak kabul edilmez.

Çok sayıda mikrokistlerin bulunuşu, az çok iyi prognoz ile birlikte görülmektedir. Bazı çalışmalar perivasküler lenfositik “cuffing” taşıyanların biraz daha iyi prognoza sahip olduğunu göstermektedir. (11,12).

2.2.4. Anaplastik Astrositoma:

Tanım:

Fokal ya da dağınık anaplazi ile birlikte, belirgin proliferatif potansiyel gösteren diffüz infiltratif astrositoma olarak tanımlanan DSÖ grade III tümörlerdir. Anaplastik astrositoma’lar düşük grade’li astrositoma’lardan gelişir. Fakat ilk biopside de tanı alabilir. Glioblastoma’ ya malign progresyon için gerçek bir eğilime sahiptir. (6)

319 olguluk zürih serisinde biopsi anında ortalama yaş 41’dir (düşük grade’li astrositoma’dan daha yüksek, ancak glioblastoma’lı hastalardan anlamlı olarak daha düşük). Erkeklerde daha sıktır (1.8:1). (9)

Lokalizasyon:

Diğer diffüz astrositoma’lar gibi serebral hemisferlerde yerleşirler.

Klinik özellikler:

Semptomlar grade II diffüz astrositoma’ya benzerdir. Anaplastik astrositoma’lı hastalar sıklıkla önceden var olan grade II diffüz astrositoma’ya ait bulgular olmaksızın birkaç aylık hikaye sonrası tanı alır. (6)

Radyolojik özellikler:

Anaplastik astrositoma düşük dansiteli iyi sınırlı kitle şeklinde izlenir. Grade II diffüz astrositoma’dan farklı olarak, sınırlı kontrastlanma sıklıkla gözlenir. Fakat glioblastoma’nın tipik kontrastlanması yoktur. Daha hızlı tümör büyümesi ile birlikte perifokal ödem gelişimi, kitlesel yer değişimine yol açabilir. İntrakranial basınç artımına neden olabilir. (7)

Makroskopik özellikler:

Anaplastik ve diffüz astrositoma’yı makroskopik olarak ayırmak sıklıkla mümkün değildir. Kesit yüzeyinde anaplastik astrositoma’nın daha fazla hücreliliği fark edilebilir. Grade II diffüz astrositoma gibi belirgin doku harabiyeti olmaksızın

infiltrasyona eğilim vardır. Makroskopik kistler nadirdir, fakat sık olarak granüler, opak ve daha yumuşak kıvamlı alanlar vardır. (6)

Histopatolojik özellikler:

Ana histopatolojik yapı, diffüz infiltratif astrositoma'da görülen yapılar ile artmış sellülarite, belirgin atipi ve göze çarpan mitotik aktivitedir. Mikrovasküler proliferasyonun ve nekrotik odakların bulunuşu glioblastoma' ya ilerlemeyi yansıtır. Anaplastik astrositoma tanısı ile bağdaşmaz. Bölgesel ya da diffüz hipersellülarite önemli bir tanısal kriterdir. Progresif anaplazi (nükleer şekil ve boyut farkında artış, kaba dağınık kromatin, nükleolus belirginliği ve sayısı) ile nükleer morfoloji daha kompleks hale gelir.

Anaplazinin ilave bulguları, nükleer inklüzyonlar, multinükleer tümör hücreleri ve anormal mitozlardır. Gemistositik tümör hücreleri sıklıkla bulunur. Ancak nadir olarak yaygındır. Anaplastik gemistositik astrositoma tanısına olanak sağlar. Kapillerler tek sıra endotel hücreleriyle döşelidir. Mikrovasküler proliferasyon ve nekroz yoktur. (6,7)

İmmünohistokimyasal özellikler:

GFAP için immünreaktivite belirgin bir bulgudur, tüm tümör hücrelerine sınırlı değildir. S-100 protein, vimentin ve α -kristallin daha uniformdur, ancak tanısal anlamı sınırlıdır.

Proliferasyon:

Grade II diffüz astrositoma'nın tersine, anaplastik astrositoma tipik olarak mitoz gösterir. (6,7) Ki-67 antikoru ile belirlenen büyüme fraksiyonu genellikle %5-10 arasındadır. Fakat bir yanda düşük grade'li astrositoma, diğer yanda glioblastoma için değerlerde üst üste gelmeler olabilir. (13)

2.2.5. Glioblastoma Multiforme (GBM):

Tanım:

Kötü diferansiye astrositlerden oluşan en malign, DSÖ grade IV astrositik tümördür. Histolojik yapısal özellikleri sellüler pleomorfizm, nükleer atipi, belirgin mitotik aktivite, vasküler trombozis, mikrovasküler proliferasyon, nekroz olarak

özetlenebilir. En sık serebral hemisferlerde lokalizedir. DSÖ grade II diffüz astrositoma ya da anaplastik astrositoma'lardan gelişir ise "sekonder GBM", ancak malign öncü lezyon olmaksızın gelişir ise "primer GBM" olarak adlandırılır. (6)

İnsidans, yaş, cinsiyet:

GBM en sık görülen primer intrakranial neoplazmdır. Yaklaşık olarak tüm intrakranial neoplazilerin %12-15' ini, astrositik tümörlerin %50-60' ını oluşturur. Çoğu Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde insidans 100.000 nüfusta her yıl 2-3 (%69) yeni vakadır. (14) Herhangi bir yaşta görülebilir. Fakat özellikle erişkinlerde görülür. İnsidans piki 45 ve 70 yaş arasındadır. (15) Üniversite "Hospital Zurich" teki 1003 glioblastoma'nın gözden geçirilmesinde hastaların %70' i bu yaş grubundadır.(9) Benzer bulgular diğerleri tarafından da rapor edilmiştir. Konjenital glioblastoma olguları seyrekdir. Primer GBM daha çok yaşlılarda (ort. yaş 62) ve erkeklerde görülürken, sekonder GBM gençlerde (ort yaş: 45) ve kadınlarda sık görülür. (9)

Lokalizasyon:

Sıklıkla serebral hemisfer (temporal %31, parietal %24, frontal %23, oksipital %16) ve subkortikal beyaz cevherde lokalizedir. Kombine fronto-temporal lokalizasyon oldukça tipiktir. (9) Tümör infiltrasyonu sıklıkla komşu korteks, bazal ganglia ve karşı taraf hemisfere ilerler. İntraventriküler glioblastoma'lar nadirdir. (16) Beyin sapı GBM'i sık değildir (malign beyin sapı gliomu) ve sıklıkla çocuklarda görülür. Serebellum ve spinal kord bu tümör için nadir lokalizasyonlardır.

Klinik özellikler:

Neoplazm, grade II diffüz astrositoma ya da anaplastik astrositoma'dan gelişmedikçe hastalığın klinik hikayesi genellikle kısadır. Olguların %50' sinden fazlasında 3 aydan kısadır. Hastalarda sıklıkla nonspesifik nörolojik semptomlarla birlikte epileptik nöbet sonrası baş ağrısı ve kişilik değişikliği bulunur.

Radyolojik özellikler:

BT kesitlerde GBM tipik olarak, genellikle hipointens koyu merkezli nekroz alanını çevreleyen “ring” şeklinde kontrast tutulum ile irregüler periferik lezyonlar olarak görülür. T1 ağırlıklı MRI’ de kontrast tutan “ring” şeklindeki yapı, sellüler ve neoplazmın oldukça vasküler periferik alanına karşılık gelir. Tedavi edilmemiş GBM’lerin analizi tüm beyin kesitlerinde, “ring” şeklindeki yapının tümörün en dış kenarını göstermediğini açıkça gösterir. İnfiltratif glioma hücreleri 2 cm’ lik bir kenarın içinde ya da ara sıra ötesinde kolayca gösterilebilir. T2 ağırlıklı görüntülerde bu zon daha geniştir, daha az belirlidir ve çevre vazojenik ödem ile üst üste binmiştir. (7)

Makroskopik özellikler:

GBM’ler kötü sınırlıdır. Kesit yüzeyi çeşitli renktedir. Eski ve yeni kanama alanları, santral nekroz total tümör kitlesinin %80 kadarını oluşturabilir. Makroskopik kistler bulunduğu zaman, diffüz astrositoma’daki retansiyon kistlerinden farklı olarak likefiye nekrotik tümör dokusunu yansıtan sıvı içerir. Yaygın hemoraji görülebilir. Lezyon genellikle unilateraldir. Ancak beyin sapı ve korpus kallozumda bilateral-simetrik olabilir. GBM’lerin çoğu serebral hemisferlerde belirgin olarak intraparakimaldir. Merkez beyaz cevherde , ancak bazıları daha çok süperfisiyal olup, leptomeninks ve dura ile ilişkilidir. Bu neoplazmlar sıklıkla kollojenden zengindir. GBM olgularının çoğunda semptomlar kısa süreli olmasına rağmen, görüldüğü zaman sıklıkla tümörler büyüktür. Lobun büyük bir bölümünü işgal edebilir. Nekrotik alanı çevreleyen hipersellüler zondur. İyi geliştiği zaman yumuşak gri kenar olarak görülür. Bazı lezyonlarda bu alan gri belirgin doku bandı şeklindedir. Diğerlerinde nekrotik doku, makroskopik olarak belirlenen herhangi bir neoplazm olmaksızın direkt olarak normal doku ile devam edebilir. (6)

Yayılım ve metastaz:

İnfiltratif yayılım tüm astrositik diffüz tümörlerin yaygın bulgusu olmasına rağmen, GBM’ler özellikle komşu beyin yapılarına hızlı invazyonları ile ünlüdür. Oldukça yaygın bir bulgu, tümör ekstansiyonunun korpus kallozum boyunca karşı hemisfere girmesi ve simetrik lezyon (“butterfly glioma”) oluşumudur. Benzer hızlı

yayılım internal kapsül, forniks, anterior kommissür ve optik radyasyonda gözlenir. İnfiltratif büyüme hızlı olmasına rağmen GBM subaraknoidal boşluğa uzanmaz. Bundan dolayı serebrospinal sıvı yoluyla metastaz nadirdir. Perivasküler boşluklar içinde ve boyunca yayılım diğer bir infiltrasyon biçimidir. akat vasküler lümen invazyonu nadir görülür. Ekstranöral dokulara hematojen yayılım daha önce cerrahi işlem görmemiş hastalarda nadirdir. Peritoneal metastaz ventriküloperitoneal şant yoluyla gözlemlenebilir. Duraya penetrasyon, venöz sinüslere ve kemiğe penetrasyon nadirdir. (6)

Primer-sekonder GBM:

Primer ve sekonder GBM tanımı ilk kez Scherer tarafından 1940' da kullanılmıştır. Klinik ve biyolojik görünüm açısından sekonder olarak astrositoma'lerden gelişen GBM'ler, primer atrositoma'lerden ayrılmalıdır.

Daha yaşlı bireylerde (ortalama 55 yaş) çoğu hastada primer GBM tanımlanır. Kısa klinik hikayeden sonra, genellikle 3 aydan daha az de novo ortaya çıkar, daha önce var olan klinik ya da histopatolojik bulgu yoktur. Prekürsör lezyon olmaksızın ya da yaklaşık 1 cm çapında küçük kortikal lezyondan sekonder GBM'ler tipik olarak daha genç hastalarda (45 yaşın altında) diffüz grade II astrositoma ya da anaplastik astrositoma'nın malign transformasyonundan gelişir. Diffüz grade II astrositoma'dan GBM'ye ilerleme süreci 1 yıldan daha az, 10 yıldan daha fazla, ortalama interval 4-5 yıldır. (6) Sekonder GBM'li hastaların prognozunun primer lezyonlu hastalardan daha iyi veya benzer olup olmadığı tartışmalıdır. Sekonder ve primer GBM'lerin farklı hastalık antitelerinden oluştuğuna dair kanıtlar, farklı genetik yollar, farklı yaştaki hastaların etkilenmesi, tedaviye cevabın farklı olmasıdır. (17)

Histopatolojik özellikler:

Kötü diferansiye, sıklıkla pleomorfik, belirgin nükleer atipi ve mitotik aktivite gösteren astrositik hücrelerden oluşan anaplastik, sellüler gliomadır. Hücreler belirgin nükleer atipi ve mitotik aktivite içerir. Belirgin mikrovasküler proliferasyon ve /veya nekroz esas tanısal işaretlerdir. Glioblastoma multiforme terimi bu tümörün çeşitliliğini ifade eder. Tümörün histopatolojisi oldukça çeşitlidir.

Doku paternleri:

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

Sekonder yapılar:

GBM hücrelerinin migrasyon kapasitesi bariyer oluşturan sınırlara ulaştıkları zaman kolayca görülür. Tümör hücreleri kortikal subpial zonda, subependimal bölgede ve nöronlar etrafında (satellitosis) birikir. Oldukça karakteristiktir. “Sekonder yapılar” gliomatosis serebri ve oligodendroglioma gibi diğer oldukça infiltratif gliomalarda da görülebilir. Bu oluşumlar, subpial zonda perinöral bölgelere yakın alanda ya da perivasküler alanlarda hücresel birikim şeklindedir. Sekonder yapılar santral sinir sisteminde glioma hücrelerinin göç yollarını gösterir. (18)

Epitelyal yapılar:

Seyrek olarak GBM’ler glandüler ve bant şeklinde epitelyal odaklar içerir. Bu elemanlar büyük oval nükleus ve yuvarlak iyi sınırlı sitoplazmaya sahiptir. Bu lezyonlar “adenoid glioblastoma”olarak da isimlendirilir. Bu alanlarda GFAP’ nin ekspresyonu azalmış olabilir. Ancak bu yapıların astrositik natürü genellikle ortaya konabilir. Müsinöz zemin ve mezankimal bir komponent (gliosarkoma) böyle tümörlerde yaygındır. (6)

Hücresel karışım:

Sadece birkaç insan neoplazmı, karışımında GBM kadar heterojendir. Kötü diferansiye alanlarda fusiform, yuvarlak ve pleomorfik hücreler hakim olabilir. Daha diferansiye neoplastik astrositler fokal olarak fark edilebilir. (19) Bu özellikle diffüz astrositoma grade II’ nin progresyonu sonucundaki astrositoma’lar için doğrudur. Alanlar arasındaki geçiş hala tanınabilir. Morfolojideki ani bir değişiklik, bir ya da daha fazla ek genetik değişikliklerin kazanılmasıyla yeni bir tümör fenotipini

yansıtabilir. (20) Sellüler pleomorfizm, küçük indiferansiye lipidize granüler hücreler ve dev hücreleri içerir. Ek olarak sıklıkla bipolar fuziform hücrelerin kesiştiği demetler ve fasiküllerin hakim olduğu alanlar vardır. İyi sınırlı plazma membranlı oldukça pleomorfik tümör hücrelerinin birikimi ve hücre uzantılarının yokluğu, metastatik karsinomları ya da melanomları taklit edebilir.

Multinükleer dev hücreler:

Artmış boyut ve pleomorfizm gösteren büyük multinükleer tümör hücreleri sıklıkla GBM'nin işareti olarak kabul edilir. Multinükleer dev hücrelerin bulunuşu GBM için tipiktir. Malign görünümüne rağmen bu hücreler regresif değişiklik tipi olarak kabul edilir. Multinükleer dev hücreler dominant histolojik yapıyı oluşturuyor ise dev hücreli GBM tanımı uygundur. GBM'de çeşitli yoğunlukta gemistositler ve fibriler astrositler vardır. Gemistositler bol, parlak, fibriller olmayan sitoplazmaya; koyu, angüler, periferik yerleşimli nükleusa sahiptir. Uzantılar sitoplazmadan her yöne doğrudur. Kısa ve künttür. GFAP boyanması çoğunlukla hücrenin periferine sınırlıdır. Santral zon genellikle boyanmaz. Perivasküler lenfositler sıklıkla gemistositik bölgelerde birikir. İmmünohistokimyasal çalışmalar, neoplastik gemistositlerde, proliferasyon indeksinin düşük olduğunu vurgular. Buna rağmen, DSÖ grade II ya da III gemistositik astrositoma'lar GBM'ye hızla ilerlemeye yatkındır.(21)

Granüler hücreler:

PAS pozitif sitoplazmalı granüler büyük hücreler, GBM içinde dağınık olarak görülebilir. Nadir olgularda dominant olabilir. Granüler hücreli tümör izlenimini oluşturabilir. GFAP ekspresyonu olmayabilir. (6)

Lipidize hücreler:

Köpüklü sitoplazmalı hücreler GBM'lerde seyrek olarak görülen bir özelliktir. Nadir vakalarda dominant olurlar. Lipidize hücreli malign gliomalar olarak tanımlanırlar. Eğer bu lezyonlar genç bireylerde superfisiyal olarak yerleşmiş ve özellikle ksantomatöz hücreler retikülin ile pozitif boyanan bazal membran ile çevrelenmişler ise, pleomorfik ksantoastrositoma ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır. (22)

Perivasküler lenfositler:

Perivasküler lenfositik topluluklar, GBM'lerin büyük bir çoğunluğunda görülür. Tipik olarak gemistositik komponentin olduğu alanlarda bulunur. İmmünoaktivitelerine dayanarak fenotipik olarak özellikleri belirlenir. CD8 (+) T lenfositler baskındır ve tümörlerin yaklaşık %75' inde görülür. CD4 (+) lenfositler daha az sayıdadır. B lenfositler, %10' dan az olguda belirlenir. CD44 ve CAM-1 ekspresyonu glioma hücrelerinde gözlenirken, tümörü infiltre eden lenfositlerde yoktur. (6)

Metaplazi:

Sıklıkla epitelyal dokuların preneoplastik lezyonları olarak gözlenir. GBM'lerde skuamoz epitel özelliği sergileyen odaklar izlenebilir. (23)

Mikrovasküler proliferasyon:

Nekroza ek olarak mikrovasküler proliferasyonun bulunması, GBM'nin histopatolojik işaretidir. Mikrovasküler proliferasyon tipik olarak glomeruloid yumaklar olarak görülür. Sıklıkla nekrozun çevresine lokalize ve tipik olarak çok tabakalı, mitotik olarak aktif endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve perisitler ile birliktedir. Morfolojik olarak göze çarpmayan damarların Ki-67 indeksi %2-4 iken, proliferen tümör damarlarında %10' un üzerindedir. Vasküler trombozis sık görülür. İskemik tümör nekrozu patogeneğinde önemli rol oynar. (24)

Nekroz ve apoptozis:

Nekroz GBM'in temel özelliklerinden biridir. Diffüz astrositoma'larda agresif klinik gidişin kuvvetli işaretidir. Total tümör kitlesinin %80' inden fazlasını oluşturur. Seyrek olarak yoğun nekroz içinde canlı tümör hücrelerinin kümeleri ile korunmuş tümör damarları görülür. Geniş iskemik nekroz primer GBM'nin işaretidir. Kötü prognoz ile birliktedir. Apoptozis yaygın bir özellik değildir.

2.2.6. Dev Hücreli Glioblastoma:

Tanım:

Bizaar multinükleer dev hücrelerin hakim olduğu, arasıra yoğun stromal retikülün çatı ve yüksek sıklıkta p53 mutasyonu ile birlikte olan GBM tipidir. DSÖ grade IV tümörlerdir.

İnsidans, yaş, cinsiyet:

Dev hücreli GBM nadir bir varyanttır. Tüm beyin tümörlerinin %1' inden aha azını, glioblastomların %5 kadarını oluşturur. 55 olguluk bir seride klinik bulguların ortaya çıktığı yaş 41' dir. Ancak bu tümörlerin yaş dağılımı diğer diffüz astrositoma'lardan daha geniş bir yelpazeyi kapsar, çocukları da içine alır. (25) Kadın/erkek oranı: 1.1' dir.

Klinik özellikler:

Dev hücreli GBM, klinik ve radyolojik olarak, daha az malign öncü lezyon olmaksızın kısa bir klinik hikayeyi takiben de novo gelişir. Semptomlar GBM'e benzer.

Makroskopik özellikler ve lokalizasyon:

Dev hücreli GBM, tümör stromasının belirgin üretiminin yol açtığı sertlik ve iyi sınırlılığı nedeniyle GBM'den farklıdır. Sıklıkla subkortikal; temporal ve parietal loblarda lokalizedir.

Histopatolojik özellikler:

Çok sayıda dev hücreler, küçük fuziform sinsityal hücreler ve çeşitli dereceye kadar retikülün çatı ile birlikte olan bir GBM'dir. Dev hücreler sıklıkla oldukça bizaar olup, 500µm boyuttan daha büyük olabilir. Nükleus sayısının dağılımı birkaç taneden, 20' den fazlaya kadar değişir. Sıklıkla anguler şekilde olup, belirgin nükleolus içerirler. Arasıra sitoplazmik inklüzyonlar bulunur. Hem psödopalizatik, hem de geniş iskemik nekroz gözlenebilir. Atipik mitozlar sıktır. Ancak proliferasyon oranı, sıradan GBM ile benzerdir.

Prognoz:

Çoğu dev hücreli GBM kötü bir prognoza sahiptir.

2.3. OLİGODENDROGLİAL TÜMÖRLER:

2.3.1. *Oligodendroglial Tümörlerde Derecelendirme:*

Oligodendroglioma'ların çoğu düşük dereceli tümörlerdir. Son DSÖ derecelendirmesinde anaplastik oligodendroglioma'lar “fokal veya diffüz olarak sellülaritesi artmış, belirgin sitolojik atipi ve yüksek mitotik aktiviteye sahip” tümörler olarak tanımlanır ve vasküler proliferasyon ve nekrozun görülebileceği belirtilir. İyi diferansiye grade II tümörlerde az sayıda mitoz görülebilir.

Oligodendroglioma'ların derecelendirilmesinde astrositik tümörlerdeki gibi kesin objektif derecelendirme kriterleri bulunmamaktadır. Derecelendirme kriterlerinden hangilerinin oligodendroglioma için kullanılabilir olduğu tartışılmaktadır. Smith pleomorfizmin en önemli prognostik kriter olduğunu ileri sürerken, bazı araştırmacılar da nekroz ve mitozun önemini göstermişlerdir. Son bir çalışmada bu parametrelerin kullanılabilirliği ve prognostik önemi tartışılmış, oligodendroglioma'larda endotel proliferasyonu ve yaşın bağımsız prognostik göstergeler olduğu ortaya konmuştur.(6) Ayrıca bu çalışmada mitoz da gözlemciler arasında farklı değerlendirilse de tek bir gözlemci için önemli prognostik faktördür. Proliferasyon markerlerinden Ki-67 nin bağımsız prognostik faktör olabileceği de ileri sürülmektedir. Ancak bildirilen eşik değerler tartışmalıdır ve laboratuvarlar arası farklılıklar vardır. %5 ve %3 gibi eşik değerlerin yaşam süresine etkili olduğu bildirilmektedir.

Bu bilgiler ışığında;

- vasküler proliferasyon ve kontrast tutulumu anaplastik oligodendroglioma'ların bir özelliğidir.
- vasküler proliferasyon olmayan bir oligodendroglioma'da artmış sellülarite, pleomorfizm ve yüksek mitoz var ise anaplastik oligodendroglioma olarak değerlendirilmelidir.
- grade II oligodendroglioma'lar içinde mitoz ve yüksek Ki-67 değerine sahip olanların daha kötü bir prognoza sahip olabileceği belirtilmelidir.
- oligodendroglioma içinde gerçek gemistositik hücrelerin bulunuşu kötü prognostik göstergedir.

2.3.2. Oligodendroglioma:

Tanım:

Oligodendroglioma'lar morfolojik olarak oligodendrositlere benzer hücrelerin oluşturduğu infiltratif glioma'lardır. Son DSÖ klasifikasyonunda iyi diferansiye (grade II) ve anaplastik (grade III) olmak üzere iki grupta derecelendirilirler.

İnsidans, yaş, cinsiyet:

Genç ve orta yaş erişkinlerin tümörleri olan oligodendroglioma'lar daha ileri yaşlarda ve çocukluk yaş grubunda da bildirilmiştir. (14)

Lokalizasyon:

Serebral hemisferlerde, en sık olarak da frontal loblarda (%50-65) yerleşirler ve en karakteristik klinik semptomları baş ağrısı ve epileptik nöbetlerdir.

Radyolojik özellikler:

Subkortikal beyaz cevher yerleşimli ve korteksi infiltre eden oligodendroglioma'lar BT' de hipo veya izodens iyi sınırlı, MRI'de ise T1 de hipoidens, T2 de hiperindens, perifokal ödemi az olan tümörlerdir. Anaplastik örneklerinde kontrast tutulumu gösterirler. Kanama, kalsifikasyon ve kistik dejenerasyon bulguları görülebilir.

Histopatolojik özellikler:

İyi diferansiye oligodendroglioma'larda klasik histopatolojik bulgular şunlardır:

- monomorfik orta derecede bir sellülarite
- perinükleer halo
- kümes teli şeklinde tanımlanan yoğun, dallanmış kapıllar ağ
- yuvarlak konturlu, ince kromatinli, ufak nükleolus içeren hücreler
- GFAP pozitif minigemistositler ve gliofibriler oligodendrogliyal hücreler
- monoton sellülarite içinde tek tek serpilmiş büyük hiperkromatik nükleuslar
- korteks infiltrasyon alanlarında perinöral ve perivasküler satellitozis
- mikrokalsifikasyon ve mikrokistler

2.3.3. Astrositoma ve Oligodendrogloma Ayırıcı Tanısının Önemi:

Oligodendrogloma'lar aynı derecedeki astrositoma'lardan daha iyi prognozludur, hatta GBM içinde izlenen oligodendroglial alan prognozu olumlu etkiler. Oligodendrogloma tanısı hastaya kemoterapi şansı verir ve oligodendrogloma'ların rekürrenslerinde yüksek dereceli tümörlere ilerlemeleri astrositoma'lara göre daha az orandadır.

Sonuç olarak sadece histopatolojik bulgular ışığında perinükleer halo, kümes teli şeklinde vaskülarite gibi klasik oligodendrogloma görüntüleri olmayan bir glial tümörde monoton hücresellik ve yuvarlak konturlu nükleuslara eklenecek diğer bazı görüntüler ile (örneğin astrositoma nükleuslarına göre daha az dens kromatin, perinöral satellitozis) oligodendrogloma tanısına gidilebilir.

2.4. GLİAL TÜMÖRLERDE MOLEKÜLER VE GENETİK ÖZELLİKLER:

2.4.1. Hücre Döngüsü:

Hücre döngüsü M, G1, S ve G2 fazı olmak üzere dört farklı evreye ayrılır. S evresi DNA replikasyonunun gerçekleştiği dönemdir. M mitoz bölünmenin olduğu evredir. G2 evresi boyunca mitoz hazırlık için gerekli proteinler sentezlenir. Hücre G1, S ve G2' yi kapsayan interfaz boyunca büyür.

Hücrelerin bölünme döngüsü, farklı evrelerde yer alan çeşitli süreçleri denetleyen içsel sinyaller kadar, çevreden gelen hücre dışı sinyaller ile de düzenlenir. Hücre dışı sinyaller ile düzenlemede büyüme faktörleri önemlidir.

Hücre içi sinyaller üç ana grupta toplanabilir;

- siklinler (D, E, A, B)
- siklin bağımlı kinazlar (cdk)
- siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI): INK 4 ailesi (p15, p16, p18, p19) ve
Cip/Kip aileleri (p21, p27, p57)

Hücre döngüsünü düzenleyici noktalardan biri G1' den S' e geçiş noktasıdır. Hayvan hücrelerinde G1' in sonlarında bulunan restriksiyon noktası hücrelerin çoğunda en önemli kontrol noktasıdır. Uygun büyüme faktörlerinin varlığında , hücre restriksiyon noktasından geçerek S evresine girer. Hücre restriksiyon noktasından bir kere geçtikten sonra, büyüme faktörü uyarısı olmasa dahi, S evresine ve hücre

döngüsünün kalan kısmına ilerlemek zorundadır. G1' de uygun büyüme faktörleri yok ise hücre döngüsü restriksiyon noktasında durur.

Büyüme faktörleri Ras/Raf/ERK sinyal yolağı aracılığıyla, D- tipi siklin sentezini uyararak, hücre döngüsünün G1' deki restriksiyon noktasında ilerlemesini sağlar. Cdk ailesi üyeleri hücre döngüsünün farklı basamakları boyunca ilerlemeyi yönlendirmek için spesifik siklinlerle bağlanırlar. Örneğin G1' den S' ye geçiş, temel olarak, siklin D ve E ile bağlanan Cdk2, Cdk4 ve Cdk6 tarafından düzenlenir. Cdk4 ve Cdk6' nın D-tipi siklinlerle (D1, D2, D3) oluşturduğu kompleksler, G1' de restriksiyon noktasından geçişte kritik bir role sahiptir. (tablo 2)

Tablo 2: Cdk İnhibitörleri

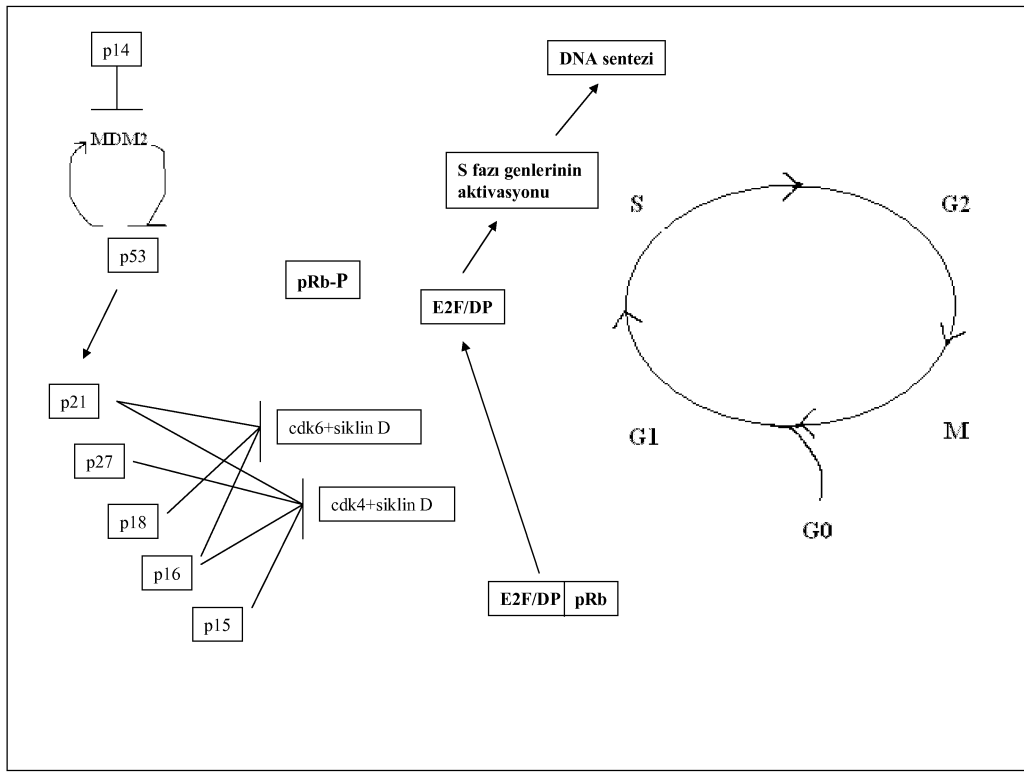
| İnhibitör | Cdk/ siklin kompleksi | Etkilenen evre |
|----------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Cip/ Kip ailesi (p21, p27, p57) | Cdk4/siklin D | G1 |
| | Cdk6/siklin D | G1 |
| | Cdk2/siklin E | G1/S |
| | Cdk2/siklin A | S |
| Ink4 ailesi (p15, p16, p18, p19) | Cdk4/siklin D | G1 |
| | Cdk6/siklin D | G1 |

Siklin D, büyüme faktörü sinyal iletiminin önemli hedeflerinden biri olduğundan, siklin D regülasyonundaki bozukluklar kanser hücrelerinin karakteristik özelliği olan kontrolsüz çoğalmaya neden olur. İnsan kanserlerinin çoğunun hücre döngüsü regülasyonundaki bozukluklar sonucu, diğer büyük bir kısmının da büyüme faktörleri reseptörleri tarafından aktive edilen hücre içi sinyal yollarındaki anormalliklerden kaynaklandığı bulunmuştur.

Geniş çeşitlilikteki insan tümörlerinde, Cdk 4,6/siklin D komplekslerinin önemli bir substrat proteini olan Rb (retinoblastom) kodlayan gende (tümör baskılayıcı gen) mutasyon sık bir bulgudur. Ras ve siklin D gibi onkogen proteinler hücre çoğalmasını desteklerken, tümör baskılayıcı genlerden kodlanan proteinler hücre döngüsü ilerlemesini yavaşlatan rol oynarlar. Tümör baskılayıcı genler tarafından kodlanan diğer önemli hücre döngüsü düzenleyicileri Ink 4 cdk inhibitörleri ve p53' tür.

Hücreler döngüde ilerlerken, Rb' nin aktivitesi, fosforilasyonundaki değişiklikler ile denetlenir. Hücre G1' deki restriksiyon noktasından geçerken Rb,

Cdk4,6/siklin D kompleksleri tarafından fosfatlanır. Fosfat eklenmemiş formdaki Rb, siklin E' yi kodlayan gen de dahil olmak üzere, hücre döngüsü ilerlemesinde yer alan birçok genin ekspresyonunu düzenleyen E2F (elongasyon faktör 2) transkripsiyon faktörleri ailesinin üyelerine bağlanır. E2F, Rb' nin varlığında ya da yokluğunda hedef dizilerine bağlanır. Ancak Rb baskılayıcı rol oynar ve Rb/E2F kompleksi E2F tarafından kontrol edilen genlerin transkripsiyonunu engeller. Rb' nin Cdk4,6/siklin D kompleksleri tarafından fosforillenmesi, E2F' den ayrılmasına neden olur ve böylece, E2F hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. (şekil 1)

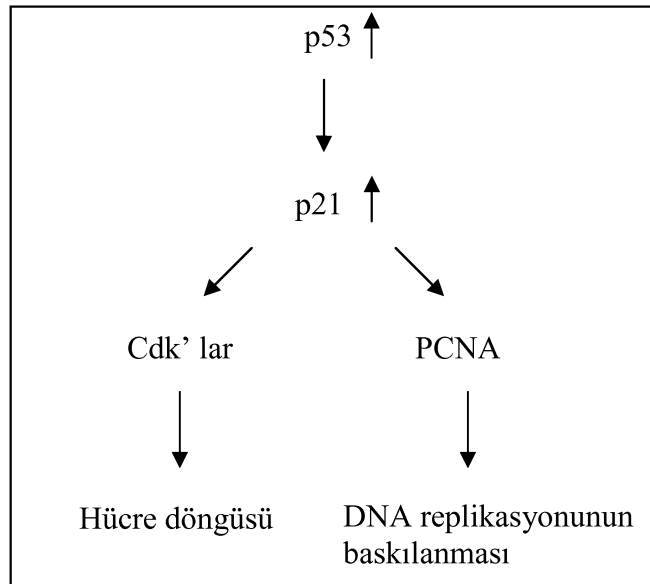


Şekil 1: Hücre Döngüsü

DNA hasarı ya da replikasyonunun olmadığı durumlarda, bu durum DNA' ya bağlanan protein kompleksler tarafından algılanır. Henüz tam olarak tanımlanmamış olan bu proteinler hem hücre döngüsünü duraklatan sinyal yollarını uyarır, hem de DNA onarımını ve programlı durumlarda hücre ölümünü aktive ederler. Algılayıcı proteinlerin doğrudan hedefleri ATM ve ATR olarak simgelenen, birbiriyle ilintili iki protein kinazdır ve bunlar DNA hasarına cevaben aktifleşirler. Bir kez aktifleşen ATM ve ATR sırasıyla Chk2 ve Chk1 kinazları fosfatlayarak aktive ederler. Chk1 ve

Chk2, hücre döngüsünü düzenleyen sistemin bileşenlerini fosfatlayarak, hücre döngüsünü duraksatırlar. Memeli hücrelerinde G1 kontrol noktasındaki duraksama , Chk2 ve ATM tarafından fosforillenen p53 proteini etkisiyle gelişir. Fosforillenme süratle yıkılacak olan p53' ü kararlı hale getirir ve DNA hasarı p53 miktarında hızla artışa neden olur. p53 proteini bir transkripsiyon faktörüdür ve ekspresyon artışı, hücre döngüsünü duraksatacak hedef genlerin uyarılmasına yol açar. İnsan kanserlerinde p53' ü kodlayan gen sıklıkla mutasyona uğramış durumdadır. p53 işlev kaybı hasarlı DNA' ya yanıt olarak G1' de duraksamayı engeller ve hasarlı DNA replike olarak onarılmadan yavru hücrelere geçer. Hasarlı DNA' ların kalıtımı, mutasyon sıklığında artışa ve genel bir genom kararsızlığına neden olur.

G1 kontrol noktasında DNA hasarına cevaben p53 proteini aracılığıyla hücre döngüsünün duraklatılması Cdk inhibitörlerinin etkisi ile gerçekleşir. Transkripsiyonel düzenleyici olarak fonksiyon gören p53 proteini Cdk inhibitörü p21' in ekspresyonunu uyarır. p21 proteini birçok Cdk/siklin kompleksini inhibe eder. p21 DNA replikasyonunu direk olarak de baskılayabilir. DNA polimeraz δ ' nın bir alt birimi olan çoğalan hücre nükleer antijenine (PCNA) bağlanır. Böylelikle p21, DNA hasarı ile uyarılan hücre döngüsü duraklatılmasında ikili rol oynar, hücre döngüsünü, sadece ilerlemesini engelleyen Cdk' lar aracılığıyla değil, aynı zamanda S evresindeki hücrelerin DNA replikasyonunu doğrudan baskılayarak da durdurur. (şekil 2) (26)

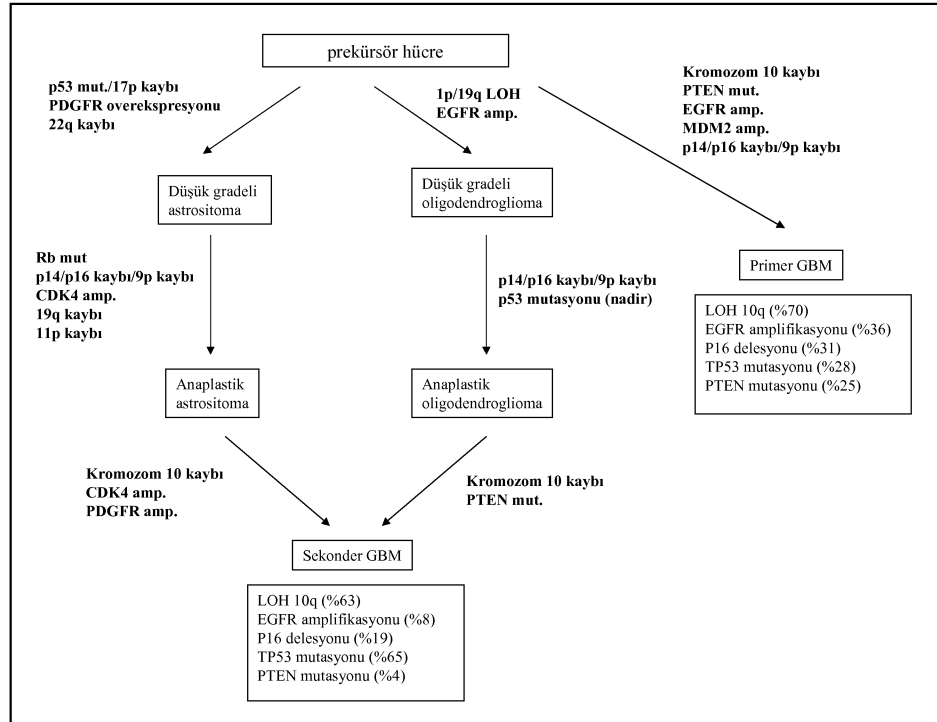


Şekil 2:p21'in DNA hasarıyla uyarılması

2.4.2. Glial Tümörlerde Neoplastik Transformasyon:

Son yıllarda yapılan çalışmalarda malign glial tümörlerin tek bir nöral prekürsör hücre (tümör kök hücresi) den geliştiği vurgulanmaktadır. Tümör kök hücresi doğrudan nöral kök hücreden gelişebileceği gibi, matürleşmiş glial hücreden de köken alabilir.

Tümör kök hücresinden astrositoma ya da oligodendroglioma yönünde farklılaşma, tümör mikroçevresinin de tetiklediği bir takım genetik değişiklikler sonucunda meydana gelir. Bunlardan en temel genetik değişiklikler astrositoma'lar için p53 mutasyonu, oligodendroglioma'lar için ise 1p ve 19q kaybıdır. Genellikle oligoastrositoma'ların üçte biri astrositoma, üçte biri de oligodendroglioma genotipine sahiptir. Bu aşamadan sonra gelişen, daha sonra ayrıntılı olarak bahsedilecek olan bir takım genetik değişiklikler ile tümörlerde progresyon meydana gelir. Bu genetik değişiklikler, tümörlere hücre siklus kontrol kaybı, klonal genişleme, invazyon ve anjiogenez yetenekleri kazandırarak malign progresyon gelişimini sağlarlar. Diffüz glioma'lar öncelikle düşük gradeli maligniteler olarak gelişir. Ancak sonuçta neredeyse tamamı yüksek grade'li (anaplastik) maligniteye progresyon gösterir. (şekil 3) (27)



Şekil 3: Glial tümörlerde genetik yolak

2.4.3. Flouresan in-situ hibridizasyon (“FISH”):

FISH yöntemi kromozom spesifik flouresan DNA-problarının kullanıldığı bir moleküler genetik tekniktir. Flörokrom işaretli kromozom spesifik problemler denatüre DNA ile hibridize olurlar. İşaretli DNA problemlerinin kromozomlara ulaşabilmesi için ekstrasellüler matriks, sellüler membran, sitoplazma ve nükleer membran gibi yapısal elemanları aşması gerekmektedir. Bu nedenle hibridizasyon işleminin verimini arttırmak amacıyla, hibridizasyon işlemi öncesinde “pretreatment” prosedürü uygulanarak DNA problemlerinin yapısal elemanların engeline uğramadan, kromozomlara ulaşabilmesi sağlanmaktadır. (28)

2.4.4. Astroitik Tümörlerde Moleküler ve Genetik Özellikler:

EGFR (“epidermal growth factor receptor”):

Normalde hücre proliferasyonunun kontrolünde yer alan bir transmembran glikoproteindir. EGF ve TGF α (“transforming growth factor”) gibi ekstrasellüler ligandlara bağlanır. GBM olgularının üçte birinden daha fazlasında amplifikasyon ve aşırı ekspresyon gösterir. EGFR amplifikasyonu gösteren GBM’ler tipik olarak 10. kromozomda kayıp gösterirler.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda primer GBM’lerin %60’ ından fazlasında ve sekonder GBM’lerin %10’ unda aşırı ekspresyonu gösterilmiştir. Amplifikasyonu ise yaklaşık %30-40 oranında görülmüştür.(17) Bazı çalışmalarda EGFR amplifikasyonunun kötü prognozla ilişkili olabileceği belirtilmekle birlikte, net bir ilişki ortaya konamamıştır. (9) GBM’de 35 yaşın altındaki hasta popülasyonunda EGFR amplifikasyonunun bulunmadığı, özellikle p53 mutasyonunun bulunduğu belirtilmektedir. 35 yaş üzerindeki olgularda böyle bir genetik dağılım bulunmamaktadır.(29, 9, 17)

p53:

Hücre siklusu, DNA hasarı tamiri, apoptozis ve neovaskülarizasyonda önemli rol oynayan kromozom 17p’ de lokalize bir tümör supresör genidir. Astroitik beyin tümörlerindeki ilk genetik değişiklik p53 mutasyonudur. Görülme sıklığı %25-30’ dur. p53 mutasyonları primer GBM’de daha düşük oranda izlenirken (%10), sekonder GBM’lerde daha yüksek oranda (%65) görülür. (30) p53 protein

akümülayonu, p53 mutasyonundan daha siktir ve yine sekonder GBM'de primere göre daha fazla görülür.

Bazı çalışmalarda p53 gen mutasyonunun varlığının iyi prognostik kriter olduğu bildirilmektedir. (9,17,15) Yapılan bir çalışmada p53 mutasyonu gemistositik astrositoma'da en sık ve %88, fibriler astrositoma'da %53, oligoastrositoma'da %44, oligodendroglioma'da %13 olarak saptanmıştır. (9)

MDM2:

p53 ile kompleks oluşturan MDM2 proteini, onun transkripsiyonel aktivitesini yok eder. Bu yüzden, MDM2 amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu, p53' ün düzenlediği hücre büyüme kontrolünden kaçışın alternatif yoludur. Amplifikasyonu GBM'lerde %10' dan az oranda görülür ve bunların hepsi p53 mutasyonu taşımayan primer GBM olgularıdır. (17, 31) MDM2 proteininin immünohistokimyasal olarak aşırı ekspresyonu, primer GBM'lerin %50' sinden fazlasında görülür. Bunun aksine, sekonder GBM'lerin %10' undan azında protein aşırı ekspresyonu görülür. (32) Özet olarak, gen amplifikasyonu olmadan MDM2' nin aşırı ekspresyonu, tipik olarak p53 mutasyonu taşımayan primer GBM'ler için genetik belirleyicidir. (17)

CDKN2A ve MDM:

CDKN2A lokusunun gen ürünleri p16 ve p14' tür. Tümör supresor olan p14, MDM2' nin indüklediği, p53' ün degradasyonu ve transkripsiyonel etkisizliğini bloke ederek, p53' ü aktif hale getirir. p14 ekspresyon kaybı GBM'lerde %76 oranında görülür. Bu durum delesyon veya metilasyonu şeklinindedir. Primer ve sekonder GBM'de p14 ekspresyon kaybı açısından fark yoktur. (33,17)

p16, Cdk4, Rb yolu:

p16 CDKN2A' nın diğer gen ürünüdür ve hücre büyümesini siklin bağımlı kinazlardan Cdk4 ve Cdk6' yı inhibe ederek kontrol eder. p16 ekspresyon kaybı durumunda, Cdk' ların aşırı ekspresyon ve amplifikasyonu veya Rb fonksiyon kaybı sonucunda hücre siklusunun kontrolü bozulur. Bu yoldaki bozukluklar, primer ve sekonder GBM'lerin her ikisinde de yaklaşık %40-50' nin üzerinde görülür. (34) Her ikisinde de Rb ekspresyon veya Cdk4 amplifikasyon sıklığı eşit oranda görülürken, p16 delesyonu belirgin olarak primer GBM'lerde daha sık görülmektedir. EGFR

amplifikasyonu olan GBM olgularının büyük kısmında p16 delesyonu görülür. Bu da; primer GBM'lerin üçte birinde görülen, ancak sekonder GBM'de görülmeyen p16 delesyonu bilgisini desteklemektedir. (17,31)

PDGFR ("platelet derived growth factor receptor"):

"Platelet growth factor" bağ dokusu ve glia için major mitojendir. A ve B zincirlerinin kombinasyonundan oluşur. Bu ligandlar tirozin kinaz reseptör ailesinden olan PDGFR- α ve PDGFR- β reseptörleri tarafından tanınır. PDGFR- α 'nın aşırı ekspresyonu, hem düşük hem de yüksek gradeli astrositoma'larda bulunur. PDGFR- α 'nın amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu, sekonder GBM oluşum yolu için tipiktir ve p53 mutasyonu gibi ilk görülen değişikliktir (31)

Kromozom 10' da LOH, PTEN (MMAC1) ve DMBT1:

10p, 10q23 ve 10q25-26 lokuslarında veya tüm kromozom 10' da heterozigosite kaybı (LOH), GBM'lerde en sık görülen genetik değişikliktir. (35, 9,17) Tümör süpresör gen olan PTEN, GBM'lerin yaklaşık %30' unda mutasyona uğramıştır. Mutasyon, diffüz astrositoma ve anaplastik astrositoma' da nadirdir. (36) "The gen deleted in malignant brain tumors 1" (DMBT1), kromozom 10q25-26' da yerleşir ve tümör süpresör gendir. GBM'li olguların %23-38' inde delesyonları görülür. (37)

Kromozom 10 kaybı GBM oluşumunda çok önemlidir. Diffüz astrositoma veya anaplastik astrositoma'dan GBM'ye transforme olan olgularda sıklıkla 10q' da heterozigosite kaybı vardır. Primer GBM'de tüm kromozom 10' da kayıp varken, sekonder GBM'de heterozigosite kaybı kromozom 10q' da sınırlıdır. (38)

Kromozom 11:

Kromozom 11p kaybı yüksek grade'li astrositoma'ların yaklaşık %30' unda gözlenir. Astrositik tümörlerin malign progresyonunda önemlidir. (31)

Kromozom 22:

Kromozom 22q' da kayıp astrositoma'larda erken görülen değişikliktir. Diffüz astrositoma'ların yaklaşık %20-30' unda mevcuttur.

Dev hücreli GBM'ler sıklıkla p53 mutasyonları (olguların %75-90' ında) ve PTEN mutasyonları (%33) ile birlikte. Ancak EGFR amplifikasyonu veya overekspresyonu tipik olarak yoktur. Bu sonuçlar; kısa klinik hikaye, daha önce düşük dereceli malign lezyon olmayışı, PTEN mutasyonunun sıklığı ile dev hücreli GBM, primer GBM'ye benzer. Sekonder GBM'ler düşük grade'li astrositoma'ların progresyonu ile gelişir. Sıklıkla daha genç hastalarda görülür ve oldukça sık p53 mutasyonuna sahiptir. (39)

Tablo 3: GBM'lerin ayırıcı tanısında klinik ve moleküler özellikler

| | Primer GBM | Dev hücreli GBM | Sekonder GBM |
|---------------------|-------------------|------------------------|---------------------|
| Klinik Başlangıç | de novo | de novo | sekonder |
| Preoperatif öykü | 1.7 ay | 1.6 ay | >25 ay |
| Tanı anında yaş | 55 | 42 | 39 |
| Kadın/erkek oranı | 1.4 | 1.1 | 0.8 |
| PTEN mutasyon | %32 | %33 | %4 |
| EGFR amplifikasyonu | %39 | %5 | %0 |
| p53 mutasyon | %11 | %84 | %67 |
| P16 delesyon | %36 | %0 | %4 |

2.4.5. Oligodendroglial Tümörlerde Moleküler ve Genetik Özellikler:

LOH 1p/19q:

1. kromozomun kısa kolu (1p) ve 19. kromozomun uzun kolu (19q)' unda bulunan, bir kısmı net olarak tanımlanmış, ancak büyük bir kısmı henüz tam olarak tanımlanamamış olan bazı tümör baskılayıcı genlerde kayıp (LOH), glial tümörlerde genetik yolakta, özellikle de oligodendroglioma'larda tümörögenizde sorumlu en önemli genetik değişiklik olarak bilinmektedir.(31) Vakaların büyük bir kısmında 1p ve 19q' da LOH'unun birlikte bulunduğu izlenmiş, bu durum bu bölgelerdeki tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunun oligodendroglioma onkogeninde temel rol oynadığını düşündürmüştür. (31)

Oligodendroglioma'larda 19q' nu allelik kaybı yaklaşık %50-80 olguda gözlenir. 19q delesyon insidansı düşük ya da yüksek gradeli oligodendroglioma'lar

arasında farklı değildir. Bu durum 19q delesyonunun oligodendroglioma'larda erken genetik değişiklik olduğunu düşündürmektedir. (40, 41, 42) Astrositoma'larda ise 19q LOH yalnızca yüksek grade'li tümörlerde gözlenir. (43) Olguların çoğunda 19q'daki LOH'un parsiyel olduğu bilinmektedir. 1p LOH primer ve sekonder GBM'de benzer oranda (%12-15) saptanır. 19q LOH tüm GBM vakalarının %20-25'inde görülürken, sekonder GBM'de (%54) primere göre (%6) daha sık saptanır. (44)

1p LOH oligodendroglioma olgularının %40-90'ında saptanmaktadır ve genellikle parsiyel delesyon şeklindedir. Yapılan pek çok çalışmada oligodendroglioma'larda 1p/19q LOH'unun iyi prognoz ve kemosensitivite ile yakından ilişkili olduğu vurgulanmaktadır. (45, 46)

p53:

Oligodendroglioma'larda da p53 mutasyonu özellikle anaplastik oligodendroglioma'ya ilerlemede nadir de olsa etkili bir moleküler değişiklik olarak görülmektedir. (31)

EGFR:

Oligodendroglioma'larda EGFR overekspresyonu genetik yolla erken dönemde izlenen bir moleküler değişikliktir. (47)

3. MATERYAL VE METOD:

3.1. Olgu seçimi ve “doku makro array” bloğunun hazırlanması:

Bu çalışmada 2000-2007 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda tanı almış 68 primer oligodendroglioma, mikst oligoastrocitoma, astrocitoma olgusu retrospektif olarak incelenmiştir. Olguların HE boyalı kesitleri tekrar incelenmiş ve histopatolojik değerlendirme ve grade’lendirme yapılmıştır. Her vaka için o tümörü temsil edecek ve tümüyle tümörden ibaret en yüksek grade’li bir alan işaretlenmiştir. Arşivden elde edilen, formalin tesbitli, parafine gömülü bloklarda, işaretlenen alanlardan “punch biopsi” aleti yardımıyla 4 mm çaplı doku silindirleri çıkartılmıştır. Önceden hazırlanmış olan haritaya bağlı kalınarak her biri 5 silindir içeren toplam 14 adet “makro array” bloğu hazırlanmıştır.

Hazırlanan “makro array” blokların her birinden kaplamalı lamlara, 4 mikronluk 7’şer kesit alınmış, bunlardan biri HE boyası, dördü IHK ve ikisi FISH boyamaları için kullanılmıştır.

3.2. İmmünohistokimya:

Doku makro array bloklarından hazırlanan kesitlerde deparafinizasyon sonrası GFAP (sıçan monoklonal, klon GA-5+6F2, dilüsyon 1/50, Neomarkers), EGFR (sıçan monoklonal, klon 111.6, dilüsyon 1/50, Neomarkers), Ki-67 (tavşan monoklonal, klon SP6, dilüsyon 1/200, Neomarkers), P53 (sıçan monoklonal, klon DO-7+BP53-12, dilüsyon 1/200, Neomarkers) antikorları kullanılarak, streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi ile immünohistokimyasal boyama yapılmıştır.

Boyamalar aşağıdaki işlem basamaklarını içermiştir.

1- Deparafinizasyon ve rehidratasyon:

- 1 gece 37 °C’lik etüvde bekleme sonrası ksilen (5 dakika) ile deparafinizasyon
- %100 ve %95’ lik alkolde 3’ er dakika rehidratasyon

2- “Antigen Retrieval” işlemi

- “Citrat buffer” (ph:6) içinde 95 °C’de 20 dk bekleme sonrası distile su ile yıkama

- 3- Preparatlar üzerindeki dokuların çevresini gümüş kalemiyle çizme işlemi
- 4- Hidrojen peroksit damlatılması (5 dk)
 - Distile su ile yıkama ve PBS' de 5 dk
- 5- Primer antikorun damlatılması (1/300 dilüsyon)-20 dk inkübasyon
 - PBS' de 5 dk
- 6- Biotin damlatılması-10 dk inkübasyon
 - PBS ile 5 dk
- 7- Streptavidin-HRP damlatılması- 10 dk inkübasyon
 - PBS ile 5 dk
- 8- DAB Substrat- Kromojen solüsyonunun damlatılması - 8 dk inkübasyon
 - PBS ile 5 dk
- 9- Hematoksilen ile 10 dk
- 10- Akan su altında yıkama

Değerlendirme yapılırken, boyanmalar her silindir için ayrı ayrı kaydedilmiştir. GFAP ile sitoplazmik boyanma spesifik kabul edilerek boyanma var ya da yok şeklinde değerlendirilmiştir.

Ki-67 ve p53 için nükleer boyanma spesifik kabul edilerek, boyanmanın en fazla olduğu alandan 100 hücre sayılmış, pozitiflik yüzde oranı verilerek değerlendirilmiştir. Her bir belirleyici için skor'lama yapılmıştır.

Buna göre;

Ki-67 için aşağıdaki şekilde skorlama yapılmıştır.

Skor 1: Tümör hücrelerinin %5' inden azında boyanma

Skor 2: Tümör hücrelerinin %5-10' unda boyanma

Skor 3: Tümör hücrelerinin %11-20' sinden boyanma

Skor 4: Tümör hücrelerinin %20' sinden fazlasında boyanma

p53 için aşağıdaki şekilde skorlama yapılmıştır.

Skor 1: Tümör hücrelerinin %5' inden azında boyanma

Skor 2: Tümör hücrelerinin %5-10' unda boyanma

Skor 3: Tümör hücrelerinin %10' undan fazlasında boyanma

EGFR ile membranöz boyanma spesifik olarak kabul edilmiş ve aşağıdaki şekilde skorlama yapılmıştır.

Skor 0: Boyanma yok

Skor 1: Tümör hücrelerinin %10' undan azında boyanma

Skor 2: Tümör hücrelerinin %10-50' sinden boyanma

Skor 3: Tümör hücrelerinin %50' sinden fazlasında boyanma

3.3. Flouresan in-situ hibridizasyon (“FISH”):

68 vakaya ait silindirleri içeren “makro array” bloklarından hazırlanan kesitlerde “LSI 1p36/ LSI 1q25 ve LSI 19q13/ LSI 19p13” dual probu (Vysis) kullanılarak FISH yöntemiyle 1p36 ve 19q13 gen bölgelerinin delesyonu (LOH) incelenmiştir.

Aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

A- DEPARAFİNİZASYON AŞAMALARI:

- 1- Kesitleri %100 ksilende 10 dakika bekletme
- 2- 80°C de etüvde 5 dakika bekletme
- 3- Oda sıcaklığında birkaç dakika soğutma

B- “1x TISSUE PRE-CONDITIONER” (INSITUS) İLE PRETREATMENT:

- 1- 80°C de su banyosunda bekleyen 1x tissue pre-conditioner içine lamaları yerleştirme ve 30 dakika bekletme
- 2- 2x5 dakika oda sıcaklığında distile suda yıkama

C- DIGESTION:

- 1- Kesitler üzerine hazırlanan “2x Tissue Digest Solution” (Insitus) damlatılması
- 2- 38°C de etüvde 1.5 saat bekletme
- 3- 2x5 dakika oda sıcaklığında distile suda yıkama

D- HİBRİDİZASYON:

- 1- Tüm silindirlerin üzerine denk gelecek şekilde, her kesite mikropipet yardımıyla 100µl prob damlatılması ve üzerinin lamel ile kapatılarak, lamel çevresinde “plastik çimento” sürülmesi
- 2- 6 dk 90°C de, 9 saat 42 °C de beklettikten sonra 37°de gece boyu inkübasyon

E- HİBRİDİZASYON SONRASI YIKAMALAR:

- 1- Lamelin kendiliğinden düşmesi için 42°de 2x SSC içinde 20-30 dk bekletme
- 2- 42°de 2x SSC / %50 formamid yıkama solusyonu içinde 10 dk
- 3- 42°de 2x SSC içinde 5 dk yıkama
- 4- Tüm silindirlerin üzerine denk gelecek şekilde DAPI (0.02 µg/ml) damlatılması
- 5- Lamel ile kapama

Flouresan mikroskobu ile inceleme yapılmış, her bir olgudan vakanın tamamını temsil edecek düzeyde (10-50 arası) resimler alınmıştır. Resimler genetik uzmanları ve patologlar tarafından çift kör değerlendirilmiştir. Alınan sonuçlar arasındaki uyum daha sonra birlikte değerlendirilerek, uyumsuz vakalar tekrar incelenmiş ve uyumsuzluğun nedenleri tartışılmıştır.

3.4. İstatistiksel analiz yöntemleri:

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için “Kruskal Wallis testi, “Mann Whitney” testi, “Chi Square test” gibi yöntemler kullanılmıştır. P değeri 0,05’ in altında ise istatistiksel olarak anlamlı fark var kabul edilmiştir.

4. BULGULAR:

4.1. Klinik bulgular:

Çalışmamız 68 primer beyin tümörü üzerinde yapılmıştır. Bu tümörlerin tanı gruplarına göre dağılımı, 30 oligodendroglioma, 3 oligoastrocitoma, 24 astrocitoma, 11 GBM olarak belirlenmiştir. Olgular DSÖ 2007 kriterlerine göre derecelendirilmiş, oligodendroglioma olgularının 15' i grade II, 15'i grade III, astrocitoma olgularının 8'i grade I (pilositik astrocitoma), 7'si grade II ve 8'i grade III anaplastik astrocitoma şeklinde derecelendirilmiştir. 1 astrocitoma vakasının pleomorfik ksantoastrocitom (PXA) olduğu anlaşılarak çalışma dışında bırakılmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen oligodendroglioma olgularımızın yaş ortalaması 42,75 olarak saptanmış, kadın/erkek oranı 13/17 bulunmuştur. Bu olguların %87 (26/30)'sinin arşiv taramasında lokalizasyon bilgisine ulaşılabilmektedir. Buna göre oligodendroglioma olgularımızın 10'u frontal lob, 5'i temporal lob, 5'i parietal lob, 1'i oksipital lob, 1'i tempoparietal bölge, 1'i frontoparietal bölge, 1'i frontoparietotemporal bölge, 1'i intraventriküler ve 1'i serebellum lokalizasyonludur.

Serimizde grade I (pilositik), grade II, grade III (anaplastik) astrocitoma olgularımızın yaş ortalaması sırasıyla 30,37, 35, 46,25 olarak saptanmış ve kadın/erkek oranları sırasıyla 7/1, 3/4, 4/4 olarak bulunmuştur. Astrositik tümörlerimizin arşiv taramasında grade I, grade II ve grade III tümörlerimizin sırasıyla %50 (4/8), %72 (5/7) ve %63 (5/8) 'ünün lokalizasyon bilgisine ulaşılabilmektedir. Grade I (pilositik) astrocitoma olgularımızdan 2'si temporal lob, 1'i optik sinir, 1'i ventrikül duvarı yerleşimlidir. Grade II astrocitoma olgularımızdan 1'i frontal lob, 1'i temporal lob, 1'i parietal lob, 1'i serebellum, 1'i amigdala bölgesinde lokalizedir. Grade III anaplastik astrocitoma olgularımızdan 1'i frontal lob, 1'i temporal lob, 1'i parietal lob, 1'i frontoparietal bölge, 1'i spinal kord lokalizasyonludur. GBM olgularımızın yaş ortalaması 52,5 olarak saptanmış, kadın/erkek oranı 3/8 olarak bulunmuştur. GBM olgularımızın %64 (7/11)'ünde lokalizasyon bilgisine ulaşılabilmek, bunlardan 4'ünün parietal lob, 1'inin frontal lob, 2'sinin temporal lob yerleşimli olduğu saptanmıştır.

4.2. İmmünohistokimyasal bulgular:

DSÖ 2007 kriterlerine göre değerlendirilen ve tanı konulan 30 oligodendroglioma, 3 oligoastrozitoma, 23 astrozitoma ve 11 glioblastoma (GBM) vakası immünohistokimyasal olarak değerlendirilebilmiştir.

4.2.1. p53:

p53 boyanma ortalama yüzde değerleri ve skorları, histopatolojik tanı grupları arasında karşılaştırıldığında; oligodendroglioma'lar için %6,26 (skor:1,56), oligoastrozitoma'lar için %28,66 (skor:2,33), astrozitoma'lar için %14 (skor:1,91), glioblastoma'lar için %26,9 (skor:2,27) olarak saptanmıştır (tablo 4). Bu değerlere göre p53 ortalama yüzde ve skor değerlerinin oligodendroglioma'larda astrozitoma'lardan, astrozitoma'larda ise glioblastoma'lardan daha az olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. (Kruskal-Wallis testi, p=0,061 ve p=0,136)

Tablo 4: Glial tümörlerde histopatolojik tanı gruplarına göre ortalama p53 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı

| Histopatolojik tanı | p53 (%) ort±SD | p53 skor ort±SD |
|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Oligodendroglioma (n=30) | 6,26 ±7,87 | 1,56 ±0,77 |
| Oligoastrozitoma (n=3) | 28,66 ±24,58 | 2,33 ±1,15 |
| Astrozitoma (n=23) | 14 ±15,38 | 1,91 ±0,94 |
| GBM (n=11) | 26,9 ±27,09 | 2,27 ±1 |
| p değeri | 0,061 | 0,136 |

Oligodendroglioma'larda ortalama p53 yüzde değerleri ve skorları grade'ler arasında karşılaştırıldığında; 15 grade II olguda p53 ortalama değeri 5,66 (skor: 1,4), 15 grade III olguda 6,86 (skor:1,73) olarak saptanmıştır (tablo 5). Bu bulgular ile oligodendroglioma'larda grade II ve III arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı saptanmıştır. (Mann Whitney testi, p=0,161 ve p=0,25)

Tablo 5: Oligodendroglioma'larda grade'lere göre ortalama p53 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı

| Histopatolojik tanı: Oligodendroglioma | p53 (%) ort±SD | p53 skor ort±SD |
|---|---------------------------------|----------------------------------|
| Grade II (n=15) | 5,66 ±9,52 | 1,4 ±0,73 |
| Grade III (n=15) | 6,86 ±6,06 | 1,73 ±0,79 |
| p değeri | 0,161 | 0,25 |

Oligodendroglioma'larda p53 skorlarının grade'lere göre dağılımına bakıldığında; grade III olguların %53' ünde, %5 ve üzerinde boyanma izlenirken, grade III olguların %20' sinde p53 skoru %10' dan fazla bulunmuştur. Grade II olgularda ise olguların %74' ünde p53 boyanması %5' in altındadır (tablo 6).

Tablo 6: Oligodendroglioma'larda p53 skorlarının grade'lere göre dağılımı

| p53 | Grade II Oligodendroglioma n(%) | Grade III Oligodendroglioma n(%) |
|---------------|--|---|
| Skor 1 (n=18) | 11 (%74) | 7 (%47) |
| Skor 2 (n=7) | 2 (%13) | 5 (%33) |
| Skor 3 (n=5) | 2 (%13) | 3 (%20) |
| toplam | 15 | 15 |

Astrofitik tümörlerde ortalama p53 yüzde değerleri ve skorları grade'ler arasında karşılaştırıldığında, 8 grade I vakada p53 ortalama değeri %2 (skor:1), 7 grade II vakada %19,85 (skor:2,57), 8 grade III vakada %20,87 (skor:2,25), 11 grade

IV (GBM) vakada 26,9 (skor:2,27) olarak saptanmıştır (tablo 7). Grade I vakalardan 1' inde ve grade III vakalardan 2' sinde p53 ile boyanma elde edilememiştir. Bu bulgular ile astrositik tümörlerde p53 boyanması açısından grade I ile grade II arasında çok büyük fark mevcut iken (Kruskal-Wallis ikili karşılaştırma testi, p=0,004), grade II' den grade IV' e geçerken minimal bir artışın bulunduğu saptanmıştır.

Tablo 7: Astrositoma'larda grade'lere göre ortalama p53 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı

| Histopatolojik tanı: Astrositoma | p53 (%) ort±SD | p53 skor ort±SD |
|---|---------------------------------|----------------------------------|
| Grade I (n=8) | 2 ±1,6 | 1 ±0 |
| Grade II (n=7) | 19,85 ±11,96 | 2,57 ±0,53 |
| Grade III (n=8) | 20,87 ±19,12 | 2,25 ±1,03 |
| Grade IV (n=11) | 26,9 ±27,09 | 2,27 ±1 |
| p değeri | 0,018 | 0,002 |

Astrositik tümörlerde p53 skorlarının grade'lere göre dağılımına bakıldığında; grade II, grade III ve grade IV olguların sırasıyla %57, %62, %64' ünde p53 değeri %10' nun üzerinde (skor 3) bulunmuştur (tablo 8). Astroisitoma'larda p53 skorlarının ile grade arasında istatistiksel anlamlı ilişkisi tespit edilememiştir (p=0,095) Grade I olguların tamamında p53 değeri %5' in altındadır (skor:1).

Tablo 8: Astrositoma'larda p53 skorlarının grade'lere göre dağılımı

| p53 | Grade I Astrositoma n(%) | Grade II Astrositoma n(%) | Grade III Astrositoma n(%) | Grade IV Astrositoma n(%) |
|---------------|---|--|---|--|
| Skor 1 (n=15) | 8 (%100) | 0 | 3 (%38) | 4 (%36) |
| Skor 2 (n=3) | 0 | 3 (%43) | 0 | 0 |
| Skor 3 (n=16) | 0 | 4 (%57) | 5 (%62) | 7 (%64) |
| Toplam | 8 | 7 | 8 | 11 |

4.2.2. EGFR:

Oligodendroglioma'ların üçte ikisinde (20/30) EGFR overekspresyonunun bulunmadığı görülmüştür. EGFR overekspresyonunun bulunmadığı bu olguların yaklaşık yarısı (9/20) grade III özelliğindedir. EGFR overekspresyonu grade II oligodendroglioma olgularının %27' sinde (4/15), grade III olgularının %40' ında (6/15) tespit edilmiştir. (tablo 9)

Tablo 9: Oligodendroglioma'larda EGFR skorlarının grade'lere göre dağılımı.

| EGFR | Grade II Oligodendroglioma n(%) | Grade III Oligodendroglioma n(%) |
|---------------|--|---|
| Skor 0 (n=20) | <i>11 (%73)</i> | <i>9 (%60)</i> |
| Skor 1 (n=1) | <i>1 (%7)</i> | 0 |
| Skor 2 (n=4) | <i>2 (%13)</i> | <i>2 (%13)</i> |
| Skor 3 (n=5) | <i>1 (%7)</i> | <i>4 (%27)</i> |
| Toplam | 15 | 15 |

Astrositik tümörlerde EGFR skorlarının grade'lere göre dağılımına bakıldığında, grade I ve grade II astrositoma'larda EGFR overekspresyonunun bulunmadığı saptanmıştır. Grade III ve grade IV astrositoma'larda sırasıyla %88 (7/8) ve %73 (8/11) kadarında EGFR overekspresyonu bulunmamaktadır. 8 grade III astrositoma olgusundan 1' inde ve 11 grade IV astrositoma olgusundan 1' inde %10' dan az (skor:1) boyanma saptanmıştır . Grade IV astrositoma olgularından 2' sinde %50' den fazla ekspresyon (skor:3) tespit edilmiştir (tablo 10).

Tablo 10: Astrositoma’larda EGFR skorlarının grade’lere göre dağılımı.

| EGFR | Grade III Astrositoma n(%) | Grade IV Astrositoma n(%) |
|---------------|---|--|
| Skor 0 (n=15) | 7 (%88) | 8 (%73) |
| Skor 1 (n=2) | 1 (%12) | 1 (%9) |
| Skor 2 (n=0) | 0 | 0 |
| Skor 3 (n=2) | 0 | 2 (%18) |
| Toplam | 8 | 11 |

4.2.3. Ki-67:

Ki-67 proliferasyon indeksi ortalama yüzde değerleri ve skorları, histopatolojik tanı grupları arasında karşılaştırıldığında; oligodendroglioma’lar için %15,5 (skor:2,33), oligoastrositoma’lar için %17 (skor:3), astrositoma’lar için %7,04 (skor:1,73), glioblastoma’lar için %36,81 (skor:3,72) olarak saptanmıştır. Bu değerlere göre Ki-67 proliferasyon indeksinin ortalama yüzde ve skor değerlerinin oligodendroglioma’larda astrositoma’larda, glioblastoma’larda farklı olduğu görülmüştür. Histopatolojik tanı grupları karşılaştırıldığında Ki-67 proliferasyon indeksi açısından yüzde ve skor değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Kruskal- Wallis testi, p=0) (tablo 11)

Tablo 11: Gliyal tümörlerde histopatolojik tanı gruplarına göre ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı

| Histopatolojik tanı | Ki-67 (%) ort ±SD | Ki-67 skor ort ±SD |
|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Oligodendroglioma (n=30) | 15,5 ±18,99 | 2,33 ±0,95 |
| Oligoastrositoma (n=3) | 17 ±11,53 | 3 ±1 |
| Astrositoma (n=23) | 7,04 ±7,67 | 1,73 ±0,96 |
| GBM (n=11) | 36,81 ±24,75 | 3,72 ±0,64 |
| p değeri | 0 | 0 |

Oligodendroglioma'larda ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorları grade'ler arasında karşılaştırıldığında; 15 grade II vakada Ki-67 proliferasyon indeksi ortalama değeri %5,73 (skor: 1,6), 15 adet grade III vakada ortalama değeri 25,26 (skor:3,06) olarak saptanmıştır (tablo 12). Bu bulgular ile, oligodendroglioma'larda grade II ve III arasında Ki-67 proliferasyon indeksi yüzde ve skor değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu sonucuna varılmıştır. (Mann Whitney testi, p=0)

Tablo 12: Oligodendroglioma'larda grade'lere göre ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı.

| Histopatolojik tanı: Oligodendroglioma | Ki-67 (%) ort±SD | Ki-67 skor ort±SD |
|---|-----------------------------|------------------------------|
| Grade II (n=15) | 5,73 ±2,21 | 1,6 ±0,5 |
| Grade III (n=15) | 25,26 ±23,2 | 3,06 ±0,7 |
| p değeri | 0 | 0 |

Oligodendroglioma'larda Ki-67 skorlarının grade'lere göre dağılımına bakıldığında, 15 grade II olgunun tamamının (7' si skor:1, 8' i skor:2) Ki-67 indeksi değerinin %10' dan az olduğu saptanmıştır (tablo 13). 15 Grade III anaplastik oligodendroglioma olgusunun 3'ünde Ki-67 skor: 2 olarak saptanmıştır. Bu olgulardan 1'inde bu değer %9 iken, diğer grade III olguların tümünde %10 ve üzerinde bulunmuştur. Bu bulgular ile oligodendroglioma olgularında Ki-67 proliferasyon indeksinde saptanan %10 sınır değerinin olguların grade'lendirilmesinde faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Tablo 13: Oligodendroglioma’larda Ki-67 skorlarının grade’lere göre dağılımı.

| Ki-67 | Grade II Oligodendroglioma n(%) | Grade III Oligodendroglioma n(%) |
|---------------|--|---|
| Skor 1 (n=7) | 7 (%47) | 0 |
| Skor 2 (n=11) | 8 (%53) | 3 (%20) |
| Skor 3 (n=8) | 0 | 8 (%53) |
| Skor 4 (n=4) | 0 | 4 (%27) |
| Toplam | 15 | 15 |

Astrositik tümörlerde ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorları grade’ler arasında karşılaştırıldığında; 8 grade I astrositoma olgusunda Ki-67 ortalama değeri %5,25 (skor:1,5), 7 grade II olguda %4,71 (skor:1,42), 8 grade III olguda %10,87 (skor:2,25), 11 GBM olguda 36,81 (skor:3,72) olarak saptanmıştır. İstatistiksel değerlendirme sonucunda astrositik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksi yüzde ve skorlamasında istatistiksel anlamlı korelasyon kurulamamıştır. (Kruskal-Wallis testi, p= 0,524, p=0.331) (tablo 14)

Tablo 14: Astrositoma’larda grade’lere göre ortalama Ki-67 yüzde değerleri ve skorlarının dağılımı.

| Histopatolojik tanı: Astrositoma | Ki-67 (%) ort ±SD | Ki-67 skor ort ±SD |
|---|------------------------------|-------------------------------|
| Grade I (n=8) | 5,25 ±5,03 | 1,5 ±0,75 |
| Grade II (n=7) | 4,71 ±3,9 | 1,42 ±0,53 |
| Grade III (n=8) | 10,87 ±10,99 | 2,25 ±1,28 |
| Grade IV (n=11) | 36,81 ±24,75 | 3,72 ±0,64 |
| p değeri | 0,524 | 0,331 |

Astrositik tümörlerde Ki-67 skorlarının grade'lere göre dağılımına bakıldığında; 5/8 grade I olguda Ki-67 değerinin %5' den az olduğu saptanmış, 2/8 (%25) olguda ise bu değer %5-10 arasına çıkabildiği görülmüştür. GBM olgularının 9/11 (%82)' inde Ki-67 indeksinin %20' nin üzerinde olduğu saptanmıştır. Ayrıca Ki-67 proliferasyon indeksinin, 7 grade II astrositoma olgusunun tamamında ve 8 grade III astrositoma olgusunun yaklaşık yarısında (%63) %10 ve altında olduğu tespit edilmiştir (tablo 15).

Tablo 15: Astrositoma'larda Ki-67 skorlarının grade'lere göre dağılımı

| Ki-67 | Grade I Astrositoma n(%) | Grade II Astrositoma n(%) | Grade III Astrositoma n(%) | Grade IV Astrositoma n(%) |
|---------------|---|--|---|--|
| Skor 1 (n=12) | 5 (%63) | 4 (%57) | 3 (%38) | 0 |
| Skor 2 (n=8) | 2 (%25) | 3 (%43) | 2 (%25) | 1 (%9) |
| Skor 3 (n=3) | 1 (%12) | 0 | 1 (%12) | 1 (%9) |
| Skor 4 (n=11) | 0 | 0 | 2 (%25) | 9 (%82) |
| Toplam | 8 | 7 | 8 | 11 |

4.3. Flouresan in-situ hibridizasyon (FISH) bulguları:

“FISH” bulguları tablo 16’da özetlenmiştir. Oligodendroglioma olgularında 9/15 grade II olguda ve 9/14 grade III olguda 1p/19q kodelesyon LOH (delesyon) saptanmıştır. Bununla birlikte 4/15 grade II ve 3/14 grade III olguda her iki lokusda da LOH saptanmamıştır. Ayrıca 3 oligodendroglioma olgusunda sadece 1p bölgesinde LOH izlenmiştir. Bunlardan biri grade II, diğer 2’si ise grade III özelliğindedir. İki oligodendroglioma olgusunda sadece 19q değerlendirilebilmiş, 1p teknik olarak değerlendirilememiştir. Bunlardan biri grade II, diğeri ise grade III özelliğindedir. Grade III olan olguda 19q bölgesinde LOH izlenmiştir. Grade II olan olguda 19q delesyonu bulunmamıştır. Oligodendroglioma olgularının grade III olan 1 tanesinde sadece 1p değerlendirilebilmiştir. Bu olguda 1pbölgesinde LOH saptanmıştır.

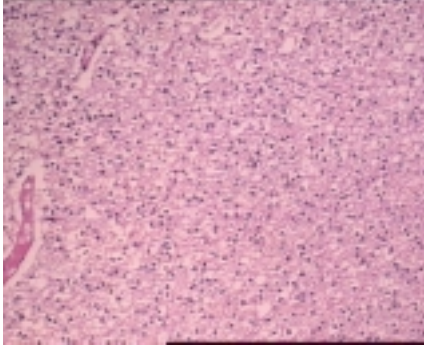
Astrositoma olgularında, grade I olgulardan 1 tanesinde 1p, 1 tanesinde 19q; grade II olgulardan 1 tanesinde 1p, 1 tanesinde 19q değerlendirilmesi doku

dökülmesi nedeniyle yapılamamıştır. Sadece 1 GBM olgusunda 1p bölgesinde LOH saptanmıştır. Diğerlerinde 1p ve 19q delesyonu saptanmamıştır.

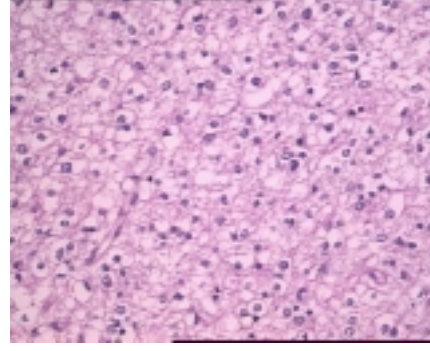
Tablo 16: Glial tümörlerde histopatolojik tanı grupları ve grade'lere göre LOH dağılımı

| Histopatolojik tanı | Kodelesyon LOH (+) | LOH (-) | Sadece 1p LOH | Sadece 19q LOH |
|------------------------------------|---------------------------|----------------|----------------------|-----------------------|
| Oligodendroglioma Grade II (n=15) | 9 | 4 | 1 | 1 |
| Oligodendroglioma Grade III (n=14) | 9 | 3 | 2 | 0 |
| Astrositoma Grade I (n=6) | 0 | 6 | 0 | 0 |
| Astrositoma Grade II (n=5) | 0 | 5 | 0 | 0 |
| Astrositoma Grade III (n=6) | 0 | 6 | 0 | 0 |
| GBM Grade IV (n=10) | 0 | 9 | 1 | 0 |

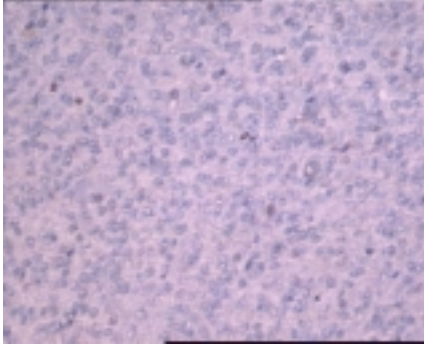
Çalışmamızda 1p/19q bölgesinde LOH (delesyon) varlığı ya da yokluğu arasındaki genetikçi ve patolojik uyumluluğu %91 (58/65) olarak saptanmıştır. Uyumluluk bulunamayan olgular birlikte tekrar değerlendirildiğinde, bu olguların büyük bir kısmının poliploid ya da monozomik hücrelerden zengin tümörler olduğu görülmüştür.



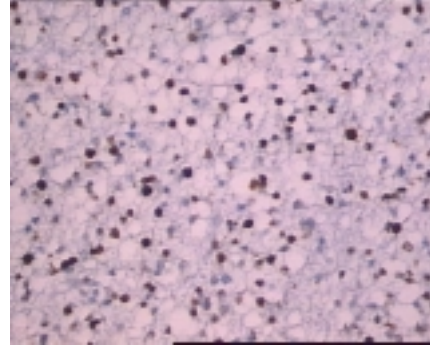
Resim 1: Grade II oligodendroglioma (HEx20)



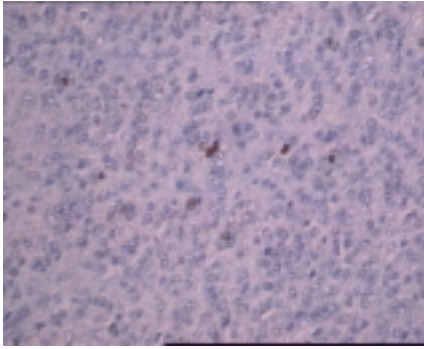
Resim 2: Grade II oligodendroglioma (HEx40)



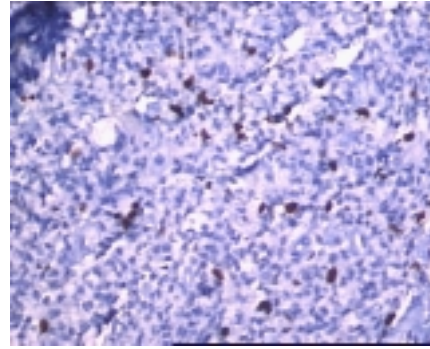
Resim 3: Grade II oligodendroglioma olgusunda p53 ile düşük düzeyde boyanma (x40)



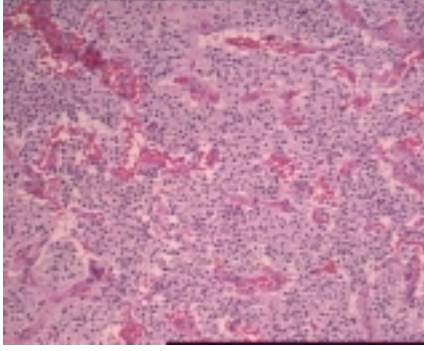
Resim 4: Grade II oligodendroglioma olgusunda p53 ile yüksek düzeyde boyanma (x40)



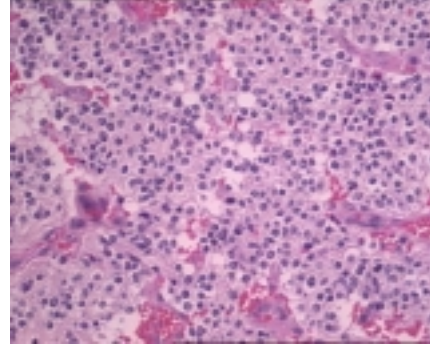
Resim 5: Grade II oligodendroglioma olgusunda Ki-67 ile düşük düzeyde boyanma (x40)



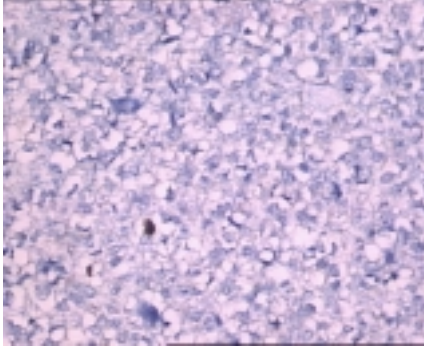
Resim 6: Grade II oligodendroglioma olgusunda Ki-67 ile yüksek düzeyde boyanma(x40)



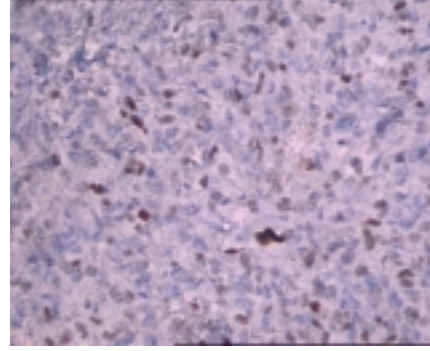
Resim 7: Grade III oligodendroglioma (HEx20)



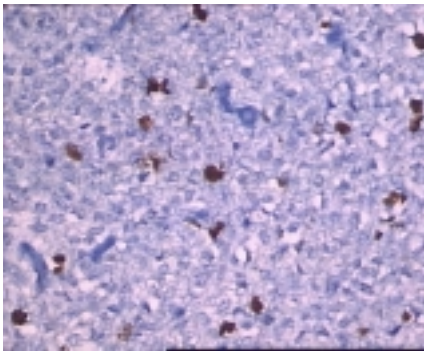
Resim 8: Grade III oligodendroglioma (HEx40)



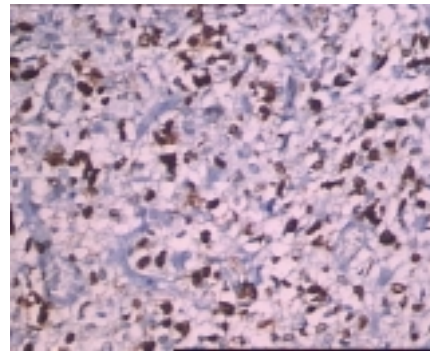
Resim 9: Grade III oligodendroglioma olgusunda p53 ile düşük düzeyde boyanma (x40)



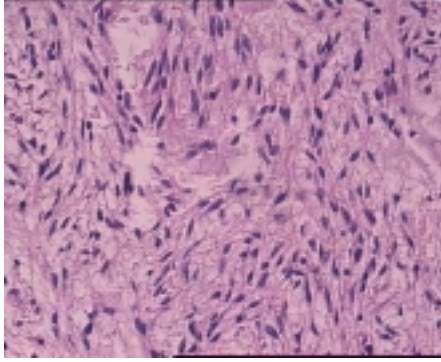
Resim 10: Grade III oligodendroglioma olgusunda p53 ile yüksek düzeyde boyanma (x40)



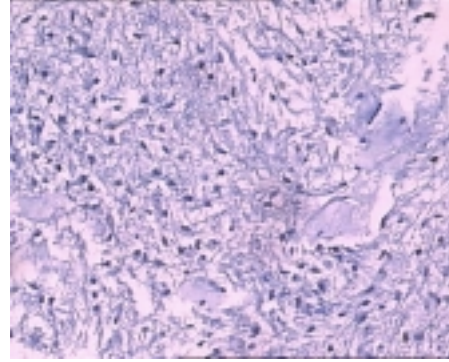
Resim 11: Grade III oligodendroglioma olgusunda Ki-67 ile düşük düzeyde boyanma (x40)



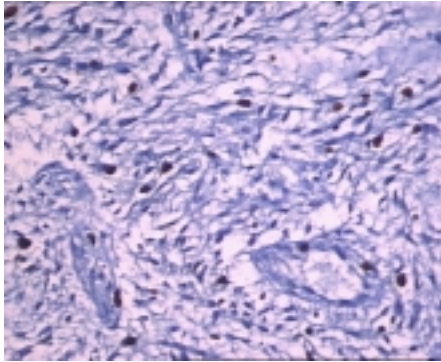
Resim 12: Grade III oligodendroglioma olgusunda Ki-67 ile yüksek düzeyde boyanma(x40)



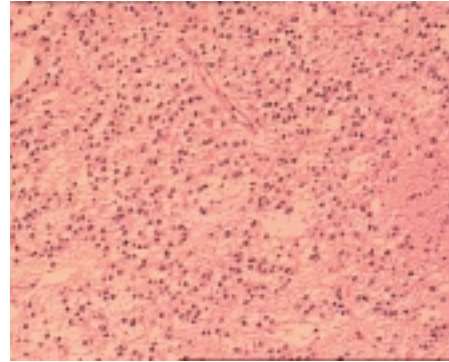
Resim 13: Grade I astrositoma (HEx40)



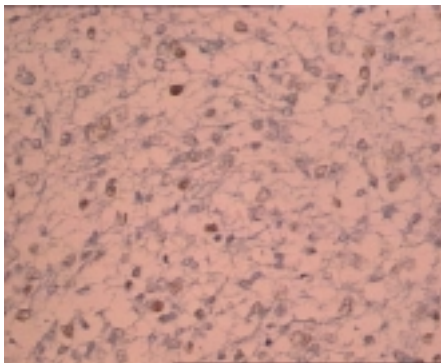
Resim 14: Grade I astrositoma p53 boyanması (x40)



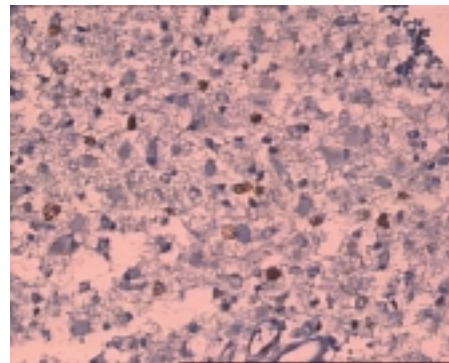
Resim 15: Grade I astrositoma Ki-67 boyanması (x40)



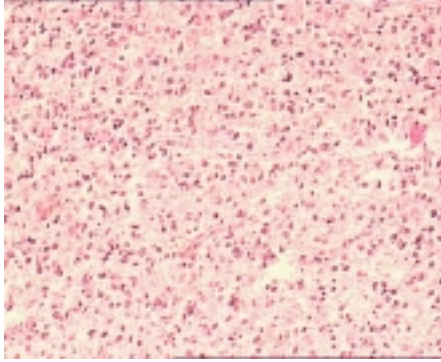
Resim 16: Grade II astrositoma (HEx20)



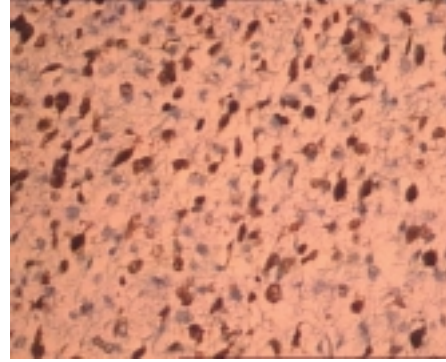
Resim 17: Grade II astrositoma p53 boyanması (x40)



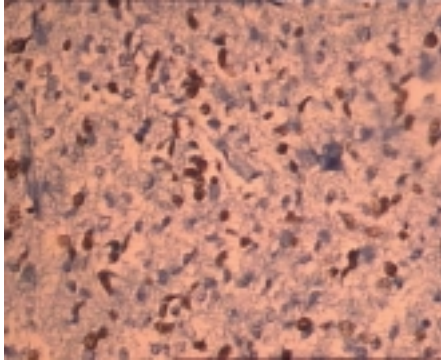
Resim 18: Grade II astrositoma Ki-67 boyanması (x40)



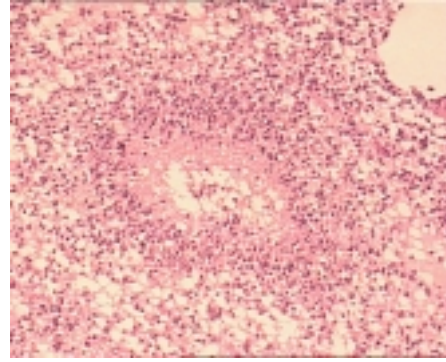
Resim 19: Grade III astrositoma (HEx20)



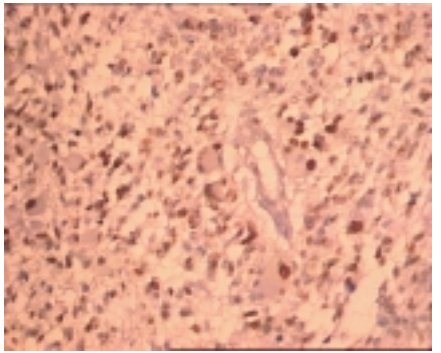
Resim 20: Grade III astrositoma p53 boyanması (x40)



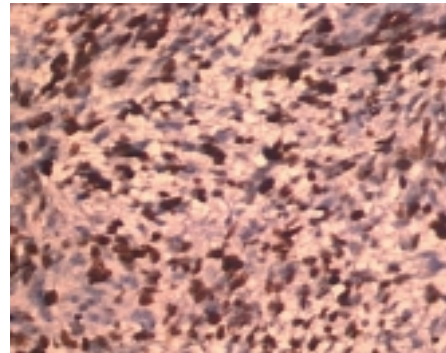
Resim 21: Grade III astrositoma Ki-67 boyanması (x40)



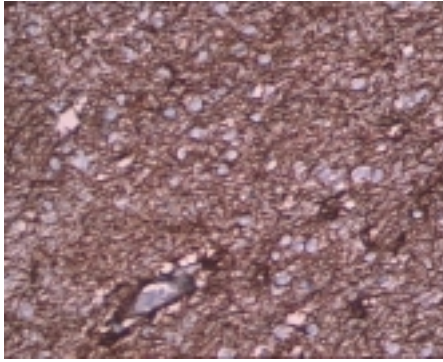
Resim 22: Grade IV astrositoma (GBM) (HEx20)



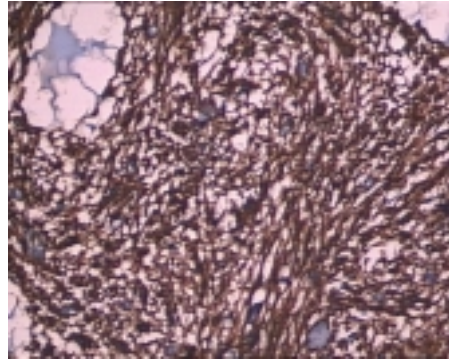
Resim 23: GBM p53 boyanması (x40)



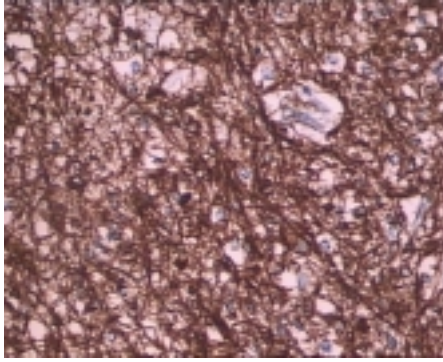
Resim 24: GBM Ki-67 boyanması (x40)



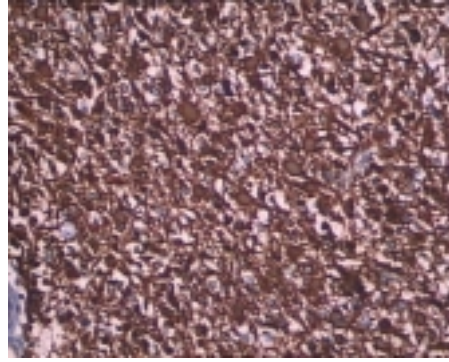
Resim 25: Grade III oligodendroglioma GFAP boyanması (x40)



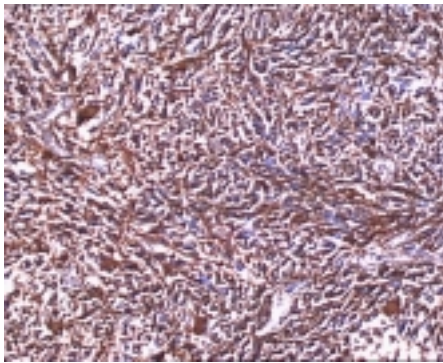
Resim 26: Grade I astrocitoma GFAP boyanması (x40)



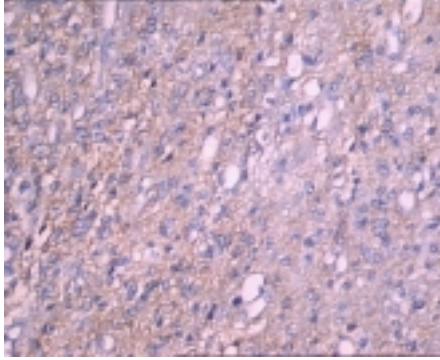
Resim 27: Grade II astrocitoma GFAP boyanması (x40)



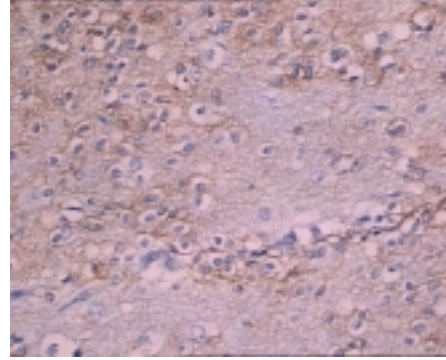
Resim 28: Grade III astrocitoma GFAP boyanması (x40)



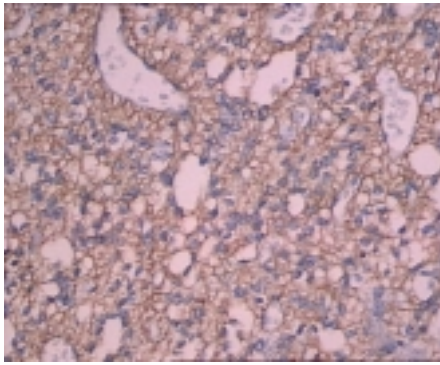
Resim 29: GBM GFAP boyanması (x40)



Resim 30: Grade II oligodendroglioma
EGFR boyanması skor:1 (x40)



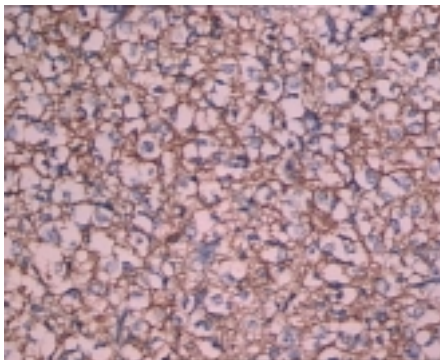
Resim 31: Grade II oligodendroglioma
EGFR boyanması skor:2 (x40)



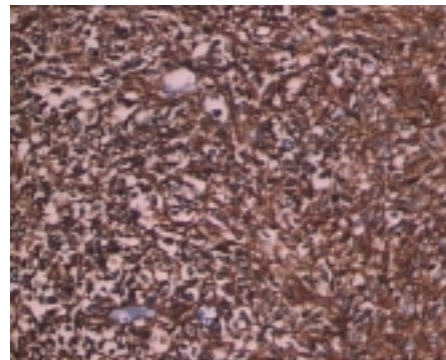
Resim 32: Grade II oligodendroglioma
EGFR boyanması skor:3 (x40)



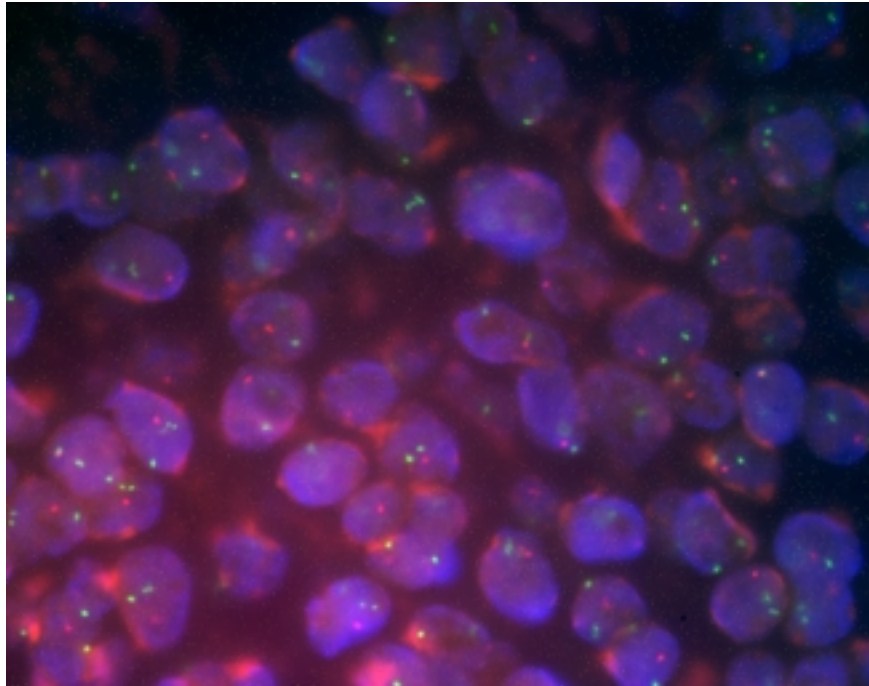
Resim 33: Grade III
oligodendroglioma EGFR boyanması
skor:2 (x40)



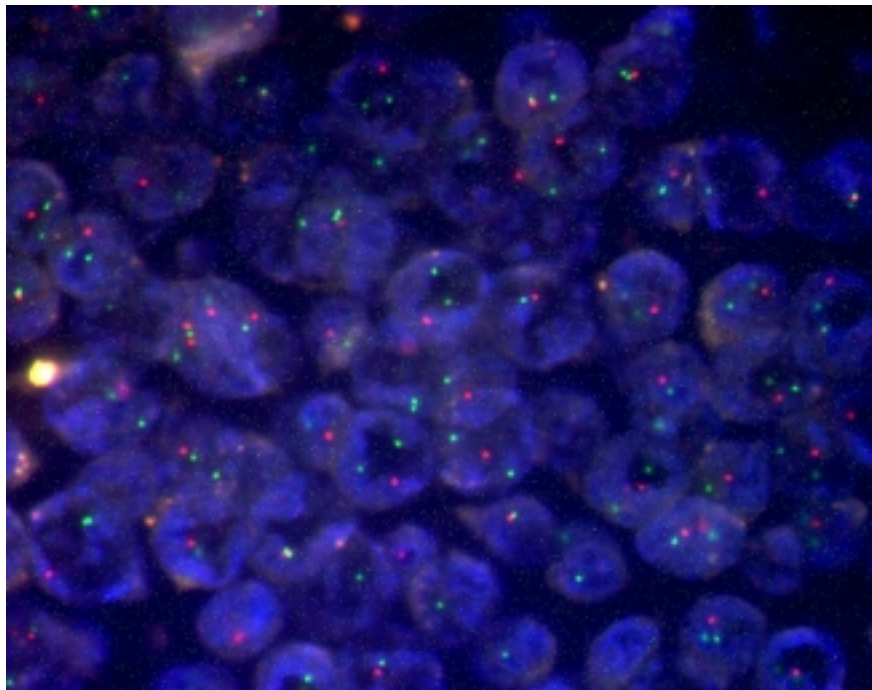
Resim 34: Grade III
oligodendroglioma EGFR boyanması
skor:3 (x40)



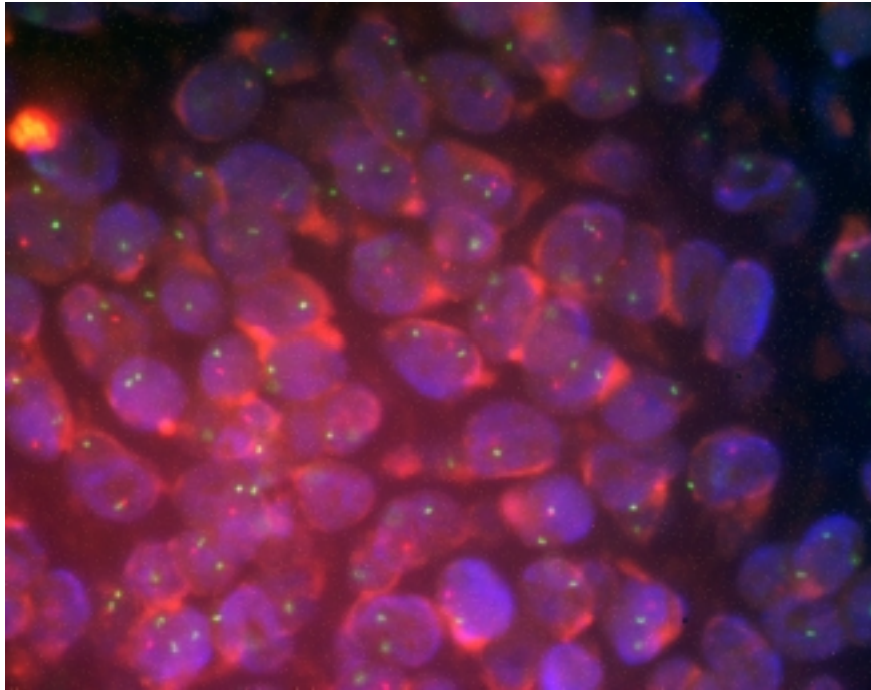
Resim 35: GBM EGFR boyanması
skor:3 (x40)



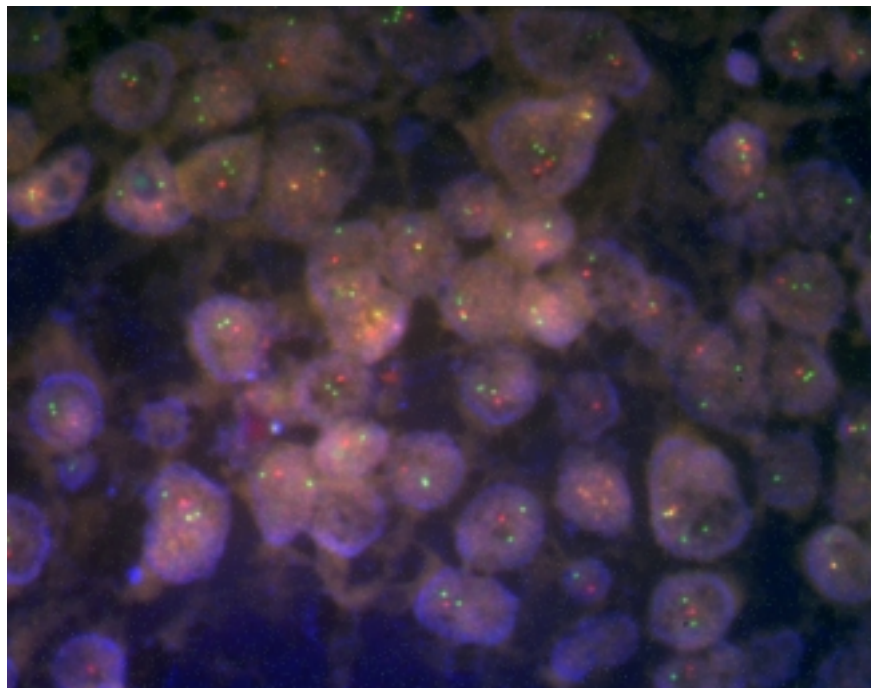
Resim 36: Grade II oligodendroglioma LOH-1p



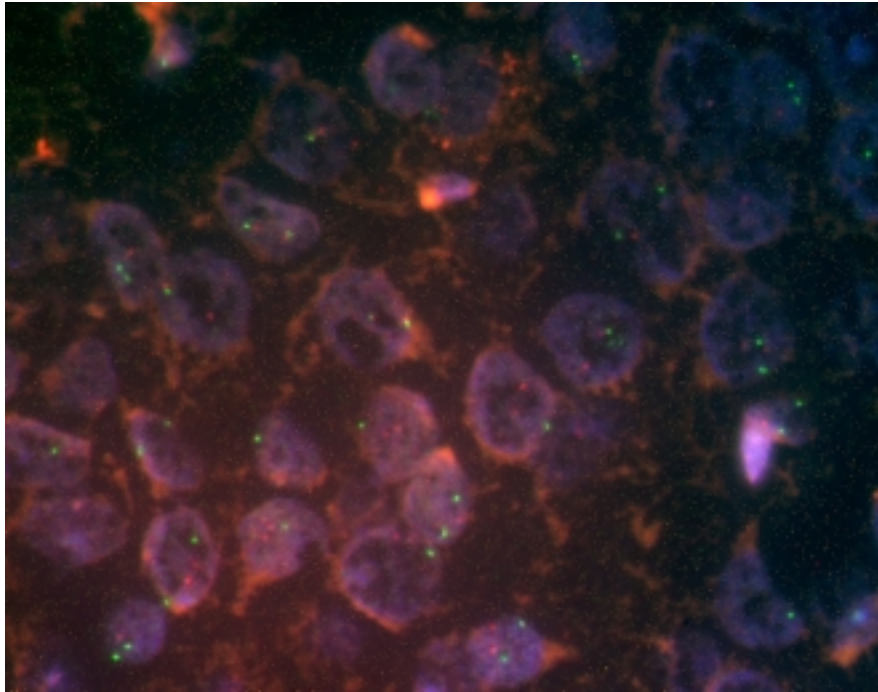
Resim 37: Grade II oligodendroglioma LOH-19q



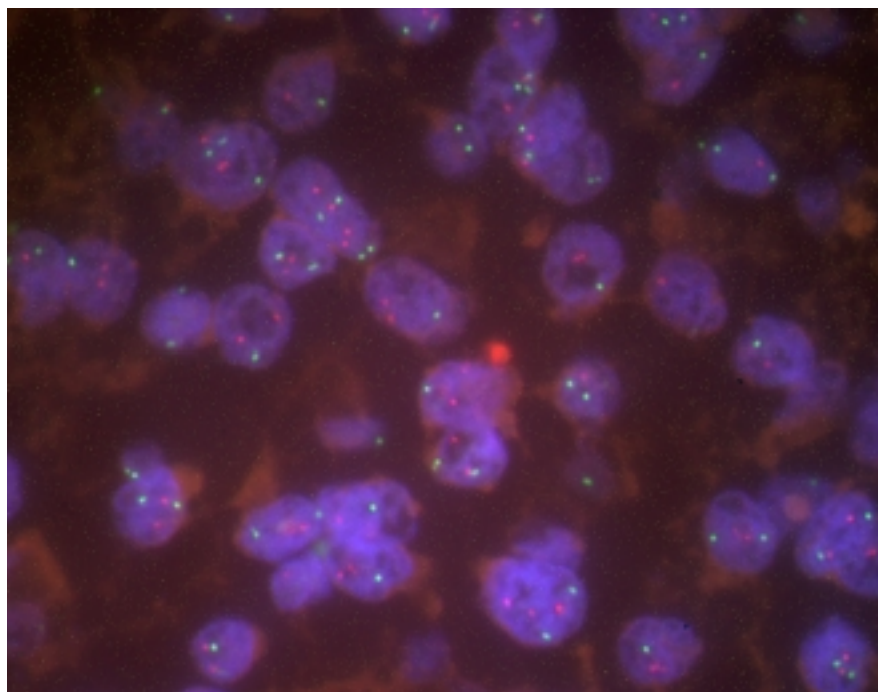
Resim 38: Grade III oligodendroglioma LOH-1p



Resim 39: Grade III oligodendroglioma LOH-19q



Resim 40: Grade II oligodendroglioma LOH (-)



Resim 41: Grade III oligodendroglioma LOH (-)

5. TARTIŞMA:

Glial tümörler en sık saptanan primer santral sinir sistemi tümörleridir. Farklı klinik seyir ve prognoz sergileyebilen farklı tümör tiplerinden oluşmaktadır. Her olguda sadece histopatolojik parametrelerle tümör tiplerinin ayrımı mümkün olamamaktadır. Ayrıca astrositik tümörlerde derecelendirme nükleer atipi, sellülarite, mitoz, vasküler endotel proliferasyonu ve nekroz gibi morfolojik kriterler üzerinden yapılmakta, ancak oligodendroglioma' larda astrositik tümörlerdeki kadar kesin kriterlere dayanan bir grade'leme şeması bulunmamaktadır.

Bu çalışmamızda 1p/19q delesyonu, p53, EGFR overekspresyonu, Ki-67 proliferasyon indeksinin glial tümör ayırıcı tanısı ve grade'lendirilmesindeki yerinin ve değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

68 primer beyin tümörü üzerinde yaptığımız çalışmada, bu tümörlerin tanı gruplarına göre dağılımı, 30 oligodendroglioma, 3 oligoastrozitoma, 24 astrozitoma, 11 GBM olarak belirlenmiştir. Olgular DSÖ 2007 kriterlerine göre derecelendirilmiş, oligodendroglioma olgularının 15'i grade II, 15'i grade III, astrozitoma olgularının 8'i grade I (pilositik astrozitoma), 7'si grade II ve 8'i grade III anaplastik astrozitoma şeklinde derecelendirilmiştir. 1 astrozitoma vakasının pleomorfik ksantoastrozitom (PXA) olduğu anlaşıl原因 olarak çalışma dışında bırakılmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen oligodendroglioma olgularımızın yaş ortalaması 42,75 olarak saptanmış, kadın/erkek oranı 13/17 bulunmuştur. Bu olguların %87 (26/30)'sinin arşiv taramasında lokalizasyon bilgisine ulaşılabilmektedir. Buna göre oligodendroglioma olgularımızın 10'u frontal lob, 5'i temporal lob, 5'i parietal lob, 1'i oksipital lob, 1'i tempoparietal bölge, 1'i frontoparietal bölge, 1'i frontoparietotemporal bölge, 1'i intraventriküler ve 1'i serebellum lokalizasyonludur. Literatürde çalışmamız ile benzer şekilde, oligodendroglioma'ların daha çok frontal lobda lokalize olduğu, azalan oranlarda temporal, parietal ve oksipital lobda yerleştiği bildirilmektedir. (48)

Serimizde grade I (pilositik), grade II, grade III (anaplastik) astrozitoma olgularımızın yaş ortalaması sırasıyla 30,37, 35, 46,25 olarak saptanmış ve

kadın/erkek oranları sırasıyla 7/1, 3/4, 4/4 olarak bulunmuştur. Astrositik tümörlerimizin arşiv taramasında grade I, grade II ve grade III tümörlerimizin sırasıyla %50 (4/8), %72 (5/7) ve %63 (5/8) 'ünün lokalizasyon bilgisine ulaşılabilmektedir. Grade I (pilositik) astrositoma olgularımızdan 2'si temporal lob, 1'i optik sinir, 1'i ventrikül duvarı yerleşimlidir. Pilositik astrositoma'nın görme yolları ve serebellumda yerleşen en sık astrostioma tipi olguyu bilinmektedir.(6) Bizim çalışmamızda 1 pilositik astrositom olgusu optik sinir lokalizasyonludur. Grade II astrositoma olgularımızdan 1'i frontal lob, 1'i temporal lob, 1'i parietal lob, 1'i serebellum, 1'i amigdala bölgesinde lokalizedir. Grade III anaplastik astrositoma olgularımızdan 1'i frontal lob, 1'i temporal lob, 1'i parietal lob, 1'i frontoparietal bölge, 1'i spinal kord lokalizasyonludur.

GBM olgularımızın yaş ortalaması 52,5 olarak saptanmış, kadın/erkek oranı 3/8 olarak bulunmuştur. GBM olgularımızın %64 (7/11)'ünde lokalizasyon bilgisine ulaşılabilmiş, bunlardan 4'ünün parietal lob, 1'inin frontal lob, 2'sinin temporal lob yerleşimli olduğu saptanmıştır. GBM'lerin daha çok temporal ve parietal lob lokalizasyonunda yerleştiği bilinmektedir. (9) Çalışmamızda lokalizasyonu bilinen GBM olgularımızın %58'i parietal, %29'u temporal lob yerleşimlidir.

5.1. p53:

p53 hücre siklusu, DNA hasarı tamiri, apoptozis ve neovaskülarizasyonda önemli rol oynayan kromozom 17p' de lokalize bir tümör supresör genidir. Bu genin mutasyonu durumunda üretilen anormal p53 proteini immünohistokimyasal olarak saptanabilmektedir. p53 mutasyonu, epitelyel solid tümörlerde olduğu gibi, astrositik tümör gelişiminde de en erken ve en sık görülen moleküler değişikliktir. p53 mutasyonu düşük grade'li ve anaplastik astrositoma'ların yaklaşık %40'ında bulunur. GBM'lerde p53 mutasyonu genetik yolla daha çok anaplastik astrositoma'lardan gelişen sekonder GBM'lerde görülür. Primer GBM'lerde nadir bir bulgudur. Oligodendroglioma'larda da p53 mutasyonu özellikle anaplastik oligodendroglioma'ya ilerlemede nadir de olsa etkili bir moleküler değişiklik olarak görülmektedir. (31) Çalışmamızda p53 ekspresyonunun oligodendroglioma ve astrositik tümörlerde histopatolojik tanı grupları arasında ve bu tanı grupları içerisindeki farklı grade'ler arasında görülme oranları karşılaştırılarak, p53

mutasyonunun genetik yolaktaki yerinin belirlenmesi ve tümörlerin grade'lendirilmesindeki öneminin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda histopatolojik tanı grupları arasında p53 ortalama yüzde değerleri karşılaştırıldığında, oligodendroglioma'larda %6,26, astrositoma'larda %14, GBM'lerde %26,9 oranında olduğu ve bu değerlerin sırasıyla oligodendroglioma, astrositoma ve GBM'lerde arttığı saptanmıştır. Serimizde oligodendroglioma'larda grade'lere göre ortalama p53 yüzde değerleri grade II olgularda %5,66, grade III olgularda %6,86 olarak saptanmıştır. Nayak ve ark.'nın benzer bir çalışmasında bu oranlar grade II olgular için %6,6, grade III olgular için %8,5 olarak bulunmuştur (49). Moleküler çalışmalarda p53 mutasyonunun oligodendroglioma'larda anaplastik tümöre dönüşüm basamağında görevli olduğu ileri sürülmektedir.(31) Serimizde oligodendroglioma'larda grade artışı ile ortalama p53 yüzde değerinde artış tespit edilmiştir. Bu bulgu, oligodendroglioma'larda ortalama p53 yüzde değerinin, moleküler yolaktaki yeri ile uyumlu olarak, tümörün grade' i ile doğru orantılı olarak arttığını düşündürmüştür. Ancak grade II oligodendroglioma'larda %5,66, grade III anaplastik oligodendroglioma'larda %6,86 olarak bulunan p53 ortalama yüzde değerlerimiz farklı görünmesine karşın istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamaktadır(p=0,161). İstatistiksel anlamlı fark bulunmamasının nedeninin, bu gruplarda standart deviasyonun çok yüksek olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Saito ve ark (50). ile Kros ve ark.(51)' larının yaptıkları benzer çalışmalarda da grade III tümörlerde p53 değerinin bizim sonuçlarımıza benzer oranlarda ve grade II olgulardan yüksek olduğu belirtilmiştir. Literatürdeki bazı çalışmalarda da bizim sonuçlarımız ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. (52)

İmmünohistokimya sonuçlarımıza göre, oligodendroglioma olgularının yüksek grade'li olanlarında daha fazla p53 ekspresyonu görmemize karşın, grade II olgularda da p53 ekspresyonu izlememiz nedeniyle, bu gruptaki tümörlerin bir kısmında p53 mutasyonunun erken dönemlerde de olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu durum gen düzeyindeki değişikliği yansıtmayacağından moleküler yöntemler ile bunun doğrulanması planlanmaktadır. Sonuç olarak, p53 mutasyonu anaplastik oligodendroglioma'larda bir miktar daha fazla olmakla birlikte grade II ve grade III

grubunda izlenebilecek bir değişiklikdir. Bu nedenle oligodendroglioma'ların bir kısmının oluşumunda etkili olduğu düşünölmüştür.

Farklı serilerde oligodendroglioma'larda p53 ekspresyonunun eşik değerine bakıldığında; bazı çalışmalarda p53 ekspresyonu için %10 oranı eşik değer olarak kabul edilmiş, %10' nun altında ekspresyon yok, üzerinde ise ekspresyon var şeklinde değerlendirilerek, oligodendroglioma'larda p53 ekspresyon oranlarının %30-%75 arasında değiştii vurgulanmıştır. (53,54) Mcdonald ve ark. ise çalışmalarında bu eşik değeri %5 olarak kabul etmişler ve 46/127 (%36) oligodendroglioma olgusunda p53 ekspresyonu saptamışlardır. (55) Bizim serimizde oligodendroglioma'larda grade'den bağımsız olarak %5 ve üzeri boyanma 12/30 (%40) olguda, %10 ve üzeri boyanma 5/30 (%17) olguda saptanmıştır. p53 skorlarının grade'lere göre dağılımı incelendiğinde, skorlamada kullandığımız eşik değerler doğrutusunda, grade III anaplastik oligodendroglioma' larda p53 ekspresyonunun yarısından çoğunda (%53) bu değerin %5 ve üzerinde olduğu, grade II olgularda ise bu değerin olguların çoğunda (%74) %5' in altında bulunduğu saptanmıştır. Dolayısıyla oligodendroglioma'ların grade'lendirilmesinde objektif kriterler bulunmadığı için p53 ekspresyonunun değerlendirilmesinde %5 eşik değerinin faydalı olabileceği düşünölmüştür. Ayrıca oligodendroglioma'larda p53 ekspresyonu %5 ve üzerinde olan olguların %67'sinin grade III anaplastik oligodendroglioma özelliğinde olması, p53 mutasyonunun özellikle anaplastik döneme geçişte daha belirgin moleküler değişiklik olduğunu düşündürmüştür.

p53 mutasyonu astrositik tümör gelişiminde en erken ve en sık görölen moleküler değişiklikdir.(31) Çalışmamızda p53 ekspresyonunun astrositoma' lardaki dağılımına bakıldığında, diffüz astrositoma' larda %73 (19/26) olguda p53 ekspresyonunun %5'in üzerinde olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu olguların %62'sinde p53 değeri %2'nin altında bulunmuştur. Çalışmamızda p53 ile pilositik astrositoma'lardan hiçbirinde %5'in üzerinde boyanma tespit edilmemiştir. Hagel ve ark. da astrositik tümörlerde p53 eşik değerinin %2 olarak kabul edilmesinin, tümör grade'lendirmesinde daha doğru bir yaklaşım olduğunu vurgulamaktadır. (56) p53 değerlerinin diffüz astrositoma'larda grade'lere göre dağılımı incelendiğinde ise, bu değerlerin grade'den bağımsız olduğu dikkati çekmiştir. Serimizde p53 ortalama

yüzde değerleri, astrositoma'larda grade I olgularda %2, grade II olgularda %19,85, grade III olgularda %20,87, GBM'lerde %26,9 bulunmuştur. Kruskal-Wallis ikili karşılaştırma testinde p53 yüzde değerleri açısından grade I ile grade II olgular arasında çok büyük fark bulunduğu ($p=0,004$), grade II' den grade IV' e geçerken minimal bir artışın bulunduğu saptanmıştır. Nayak ve ark.'nın çalışmasında 15 grade I, 38 grade II, 29 grade III, 70 grade IV astrositoma olgusunda p53 ortalama yüzde değerleri sırasıyla %0, %18,8, %16,9, %16,2 olarak saptanmış ve farklı grade'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı vurgulanmıştır (49). Ayrıca Nayak ve ark.'nın çalışmasında pilositik astrositoma (grade I) olgularında p53 ekspresyonunun bulunmadığı saptanmış, Burger ve ark., Lang ve ark. ve Patt ve ark.'nın yaptığı benzer çalışmalarda (57,58,59) pilositik astrositoma olgularında p53 ekspresyonunun olmadığı ya da nadiren bulunduğu vurgulanmıştır. Bu durumda pilositik astrositoma'nın, diğer astrositoma'lardan farklı olarak başka bir genetik yoldan (örneğin nörofibromatozis tip 1 geni ilişkili yolak) gelişebileceğini belirtmişlerdir. Bizim bulgularımız da pilositik astrositoma'larda p53 mutasyonunun tümörögenizde nadiren rol aldığını düşündürmüştür. Ayrıca p53 mutasyonunun diffüz astrositoma'larda grade'lendirme için ek bir katkı sağlamadığı tespit edilmiştir. Ancak histopatolojik olarak pilositik astrositoma, diffüz astrositoma ayırıcı tanı sorunu yaşandığı durumlarda p53 ekspresyonuna bakılmasının faydalı olabileceği düşünülmüştür. Stereotaksik biopsi gibi özellikle küçük materyallerde p53 mutasyonu izlenen bir tümörde (özellikle de %5'in üzerinde ise) pilositik astrositoma tanısının yeniden gözden geçirilmesinin gerekli olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda astrositik tümörlerin %73'ünde, oligodendroglioma'ların %40'ında %5 ve üzerinde p53 ekspresyonu tespit edilmiştir. Literatürdeki çalışmalarda da bizim bu sonuçlarımızla benzer şekilde p53 ekspresyonu, oligodendroglioma'larda diffüz astrositoma'lardan anlamlı olarak daha düşük oranlarda bulunmuştur. (60,61) Bunun nedeninin p53 mutasyonunun astrositik tümör yolağında erken bir olay olması, oligodendroglioma yolağında ise daha az oranda ve grade II'den grade III' e ilerleme aşamasında daha geç bir moleküler değişiklik olabileceği düşünülmektedir.

5.2. EGFR:

EGFR hücre proliferasyonunun kontrolünde görevli bir transmembran glikoproteindir. Glial tümörlerde tümörögenезin farklı basamaklarında rol almaktadır. (31) EGFR gen amplifikasyonu immünohistokimyasal olarak “overekspresyon” şeklinde değerlendirilir. Literatürde glial tümörlerde EGFR gen amplifikasyonu GBM’lerin yaklaşık %40’ında, grade III anaplastik astrositoma’ların ise %10’undan azında bildirilmiştir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda primer glioblastomaların %60’ından fazlasında ve sekonder glioblastomaların %10’unda EGFR overekspresyonu gösterilmiştir. (17) Literatürde EGFR overekspresyonu daha çok astrositik tümörlerde (özellikle GBM’lerde) araştırılmış, tümörlerin tiplendirilmesi, grade’lendirmedeki yeri ve daha çok prognostik önemi vurgulanmıştır. (62,63,64,65) Oligodendroglioma’larda ise EGFR overekspresyonu genetik yolda erken dönemde izlenen bir moleküler değişikliktir. (47) Çalışmamızda EGFR overekspresyon oranlarının oligodendroglioma’lar ve astrositik tümörlerde histopatolojik tanı grupları ve grade’ler arasındaki farklılığı değerlendirilmiştir.

Serimizde toplam 64 glial tümörün 14’ünde EGFR overekspresyonu saptanmıştır. Bunlardan %71’i (10 olgu) oligodendroglioma, %21’i (3 olgu) GBM ve %7’si (1 olgu) grade III anaplastik astrositoma özelliğindedir. Diffüz astrositoma ve pilositik astrositoma’larda EGFR overekspresyonu saptanmamıştır. Çalışmamızda histopatolojik tanı kriterlerine göre EGFR overekspresyonuna bakıldığında, oligodendroglioma’ların %33, astrositik tümörlerin %12’inde EGFR overekspresyonu saptanmıştır. Serimizdeki oligodendroglioma’ların yaklaşık %33’ünde EGFR overekspresyonunun izlenmesi, bu yolağın oligodendroglioma’larda tümörögenезde rolü olduğu literatür bilgisini desteklemektedir. (31)

Bizim çalışmamızda EGFR overekspresyonu açısından oligodendroglioma grade’leri arasında anlamlı farklılık bulunmama ile birlikte, anaplastik olguların %40’ında, grade II olguların ise %27’inde overekspresyonun bulunması nedeniyle, grade’lendirme açısından sorunlu olgularda EGFR overekspresyonunun değerlendirilmesinin ek katkı sağlayabileceği düşünülmüştür. Reifenberger ve

ark.'nın 14 grade II ve 24 anaplastik oligodendroglioma olgusunda yaptıkları çalışmada, iki anaplastik oligodendroglioma olgusu dışındaki tümörlerde değişik derecelerde EGFR overekspresyonunun bulunduğu saptanmış, grade II ve grade III tümörler arasında EGFR immünoaktivitesi açısından anlamlı fark bulunmadığı tespit edilmiştir. (47) Başka pek çok çalışmada benzer bulgular saptanmıştır. (66,67,68,69,70)

Literatürde astrositik kökenli tümörlerde EGFR overekspresyonunu araştıran çalışmalarda, grade I tümörlerde overekspresyonun bulunmadığı, grade II, grade III ve grade IV tümörlerde, tümörün grade'i ile paralel olarak artış gösterdiği belirtilmiştir.(71,62,63) Bizim serimizde EGFR, grade I ve grade II astrositoma olgularında eksprese edilmemektedir. Grade III olgulardan 1'inde (%12) overekspresyon saptanmıştır. GBM' lerde %27 oranında overekspresyon bulunmuştur. Bu durum astrositoma'larda EGFR overekspresyonunun ileri dönemde tabloya eklendiğini düşündürmektedir. Oligodendroglioma grubunda da benzer şekilde grade ilerledikçe EGFR overekspresyonunun görülmesi bize, EGFR ekspresyonunun glial tümörlerde yüksek grade göstergesi olabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle bir glial tümörde EGFR overekspresyonunun görülmesi durumunda, bunun yüksek dereceli bir tümör olabileceğinin akılda bulundurulmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

Literatürde EGFR genellikle GBM'lerde çalışılmıştır. Maiti ve ark.'nın çalışmasında astrositoma'lar ve GBM' ler bizim serimizde olduğu gibi birlikte değerlendirilmiştir. Ancak bu seride grade II astrositoma'larda da boyanma izlenmiş, grade ile paralel olarak boyanma yüzdesinin arttığı tespit edilmiştir. GBM' lerle yapılan çalışmalarda farklı oranlarda EGFR overekspresyonunun varlığı ve yaygınlığı bildirilmiştir. Torp ve ark., Van der Valk ve ark. ve Smith ve ark. (62,63,64) da yaptıkları çalışmada astrositik tümörlerde benzer oranlar elde etmişlerdir. Bizim serimizde bu oran %27 oranında gözlenmektedir. Seriler arasındaki boyanma farklılığının, çalışılan farklı antikor klonlarına ve de daha önemlisi incelenen GBM'lerin primer/sekonder GBM olmasına bağlı olarak değiştiği düşünülmüştür. Çünkü EGFR overekspresyonunun primer GBM gelişiminde rol oynadığı moleküler çalışmalarla gösterilmiştir.(72) Serimizde izlenen 3 EGFR

overekspresyonu bulunan GBM olgusuna ait arşiv taramamızda, yalnız 1 olgunun diffüz astrositoma'dan geliştiği tespit edilmiştir. Diğer olgulara ait herhangi bir arşiv kaydına ulaşılamadığı için, bunların primer/sekonder GBM olması konusunda yorum yapılamamıştır. Serimizde astrositik grupta 1 anaplastik astrositoma dışında, yalnız GBM'lerde EGFR overekspresyonunun izlenmesi ve izlenen olguların büyük kısmında bunun %50'nin üzerinde bulunması nedeniyle, özellikle stereotaksik bir biopside bir anaplastik tümörde nekroz ve vasküler endotel proliferasyonun değerlendirilmesinde sorun yaşandığı durumlarda, EGFR overekspresyonunun yüksek oranlarda tespit edilmesinin GBM lehinde bir bulgu olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür.

5.3. Ki-67:

Ki-67 hücre siklusunda Go fazı dışındaki bütün fazlarda hücre çekirdeğinde eksprese edilen bir belirleyicidir. Dolayısıyla proliferasyon hızını göstermektedir. Glial tümörlerin grade'lendirilmesinde, tümör hücrelerinin proliferasyon hızı ve oranı da parametrelerden birini oluşturmaktadır.

Serimizde Ki-67 proliferasyon indeksi histopatolojik tanı gruplarına göre incelendiğinde, ortalama Ki-67 indeksi değerlerimiz oligodendroglioma olgularında (%15,5) astrositoma olgularından (%7,04) daha yüksek olarak bulunmuştur. Ancak literatürde astrositoma olgularında Ki-67 proliferasyon indeksinin oligodendroglioma olgularından daha yüksek olduğu belirtilmektedir. (73) Çalışmamızdaki bazı oligodendroglioma olgularının oldukça sellüler olması ve örnekleminin tümörün en sellüler olan alanlarından yapılması, bu farklılığın nedenlerinden biri olarak düşünülebilir. Richard A ve ark'nın oligodendroglioma'larda Ki-67 değerlendirilmesinde, değerlendiriciler arasındaki farklılığın nedenleri konusunda yaptıkları bir çalışmada, farklılığın nedenleri arasında bu tümörlerin oldukça heterojen bir yapıya sahip olmaları, ve özellikle küçük biopsilerde tümörün tamamını temsil etmeyeceği için bu sorunun yaşanabileceği vurgulanmaktadır. (74)

Çalışmamızda literatür ile de uyumlu olarak, oligodendroglioma olgularındaki Ki-67 değerleri grade ile korele olarak artmaktadır. Bu değer grade II olgularda genellikle %10' nun altında iken, anaplastik olgularda %10' nun üzerinde

saptanmıştır. Bu bulgular ile oligodendroglioma olgularında, Ki-67 proliferasyon indeksinde saptanan, %10 eşik değerinin, olguların grade'lendirilmesinde faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır. Grade ile Ki-67 değerlerinin karşılaştırıldığı bir çalışma mevcut değildir. Ancak yapılan çalışmalarda Ki-67 için eşik değerin %5 olarak kabul edilmesinin hastaların prognostik farklılıkları açısından daha doğru olacağı vurgulanmaktadır. (75,76,73)

GBM olgularımızın %82' sinde Ki-67 proliferasyon indeksi %20' nin üzerindedir. Bu nedenle, özellikle materyal miktarının küçük olması nedeni ile tanısal sorun yaratan stereotaksik biopsilerde, nekroz yok ise ve vasküler endotelial proliferasyon şüpheli ise Ki-67 oranına bakılması özellikle GBM tanısı için faydalı olabilir.

Kayaselçuk ve ark.'nın çalışmasında astrositik tümörlerde, Ki-67 değerlerinde bizim çalışmamız ile benzer olarak grade ile paralel bir artış bulunmaktadır.(77). Karamitopoulou ve ark.'nın çalışmalarında da pilositik astrositoma olgularında Ki-67 proliferasyon indeksi oranları düşük bulunmuştur. (78,79)

İmmünohistokimyasal bulgularımızı topladığımızda, anaplastik oligodendroglioma'larda p53 değerlerinin genellikle %5'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Pilositik astrositoma'larda p53 ekspresyonu genellikle izlenmemiştir. EGFR overekspresyonu grade II oligodendroglioma'larda ve grade III anaplastik oligodendroglioma'larda izlenmekle birlikte, grade III anaplastik oligodendroglioma'larda daha fazla sayıda olguda ve daha yaygın olarak izlenmekte iken, GBM hariç astrositik seriye ait tümörlerin hemen hiçbirinde izlenmemiştir. GBM'lerde ise %50 ve üzerinde tespit edilmiştir. Ki-67 değerinin %10'nun üzerinde olması, hem oligodendroglial, hem de astrositik seriye ait tümörlerde anaplastik değişikliklere eşlik etmektedir. Ayrıca GBM'lerin hemen tümünde bu oran %20'nin üzerinde bulunmuştur. Bu belirleyicilerin birlikte, bir panel şeklinde kullanılmasının grade'leme açısından yardımcı irdelendiğinde, p53 ve Ki-67 immünohistokimyasal boyamalarının birlikte kullanılması durumunda; grade III anaplastik oligodendroglioma'ların %27'sinde, grade III astrositoma'ların %38'inde Ki-67 değeri %10'nun üzerinde, p53 değeri %5'in üzerinde bulunmuştur. Bu sonuç, her iki

grupta da %10' nun üzerinde Ki-67 değerinin ve %5'in üzerinde p53 ekspresyonunun birlikteliğinin anaplastik glial tümör göstergesi olabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgular ile, grade III anaplastik oligodendroglioma olgularında EGFR overekspresyonunun varlığı, %10'nun üzerinde Ki-67 indeksi, %5'in üzerinde p53 ekspresyonunun gözlenmesinin, oligodendroglioma'larda anaplazi göstergesi olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca özellikle stereotaksik biopsilerde pilositik astrositoma ve grade II astrositoma ayırıcı tanısı sorunu yaşandığı durumlarda p53 ekspresyonunun %2'nin üzerinde olması halinde, bunun diffüz astrositoma lehinde bir bulgu şeklinde değerlendirilmesinin uygun olacağı dşnlmştr.

5.4 FISH:

1. kromozomun kısa kolu (1p) ve 19. kromozomun uzun kolu (19q)' unda bulunan, bir kısmı net olarak tanımlanmış, ancak büyük bir kısmı henüz tam olarak tanımlanamamış olan bazı tümör baskılayıcı genlerde kayıp (LOH), glial tümörlerde genetik yolakta, özellikle de oligodendroglioma'larda tmrogenezde sorumlu en önemli genetik değişiklik olarak bilinmektedir.(31) Glial tümörlerde 1p ve 19q LOH'unun araştırıldığı çalışmalar daha çok oligodendroglioma olgularına odaklanmış görülmektedir. Bu alışmalar oligodendroglioma tümör yolağında 1p ve/veya 19q LOH'unun çok sık olduğunu, 19q LOH'unun 1p LOH' undan daha sık görüldüğünü göstermiştir. (31, 80, 81) Astrositik tümörlerdeki çalışmalarda ise, 1p ve 19q LOH'unun GBM'lerde saptanabileceği, ancak oligodendroglioma'lardan daha az sıklıkta izlenen bir moleküler değişiklik olduğu bildirilmiştir. 19q LOH'unun sekonder GBM'lerde primer olanlara göre daha sık olduğu saptanmıştır. (72)

Bizim alışmamızda oligodendroglioma olgularımızın %73'ünde (22/30) 1p ve/veya 19q LOH tespit edilmiştir. Bunların %82'sinde (18/22) 1p/19q kodelesyonu bulunmaktadır. Oligodendroglioma olgularımızın %23'ünde (7/30) 1p ve /veya 19q LOH saptanmamıştır. 3 olguda (%10) sadece 1p, 1 olguda (%3) sadece 19q LOH saptanmıştır. Literatürdeki çalışmalarda da 1p, 19q LOH'u açısından bizim çalışmamıza benzer oranlar saptanmıştır. Jeon ve ark. 2006' da yaptıkları bir çalışmada oligodendroglioma'larda 1p ve /veya 19q LOH oranı %67,9 bulunmuştur (80). Ayrıca çalışmalarda 1p/19q LOH kodelesyon oranları oligodendroglioma'lar için %60-%80 oranında saptanmıştır. Literatürde 1p/19q kodelesyon LOH

bulunduran oligodendroglioma olgularının daha iyi prognozlu olduğu ve kemoterapi duyarlılığının daha fazla olduğu bildirilmiştir. (46,81,82,) Bizim çalışmamızın sonuçlandırılmış olan kısmında hastalara ait prognostik veriler bulunmamakla birlikte, ileride seriyi oluşturan olguların 1p/19q kodelesyon durumunun prognostik öneminin araştırılması planlanmıştır.

Literatürde astrositoma'lar için 1p/19q kodelesyon oranı %1-10 arasında değişmektedir.(83) Sadece 19q LOH'un astrositoma'ların yaklaşık %30-%40'ında bulunduğu belirtilmiştir.(46,84,85) Ayrıca genetik yolda 19q LOH ' un astrositik tümörlerde yüksek grade' lerde ortaya çıkabileceği ileri sürülmektedir. (31, 43) Bizim serimizde ise diffüz ve anaplastik astrositoma olgularında literatürden farklı olarak 1p ve/veya 19q LOH'u saptanmamıştır.

Serimizde 1 GBM olgusunda 1p LOH bulunmuş, diğer astrositik tümörlerin hiçbirinde LOH saptanmamıştır. Bu olgunun HE kesiti yeniden incelendiğinde, tümörde oligodendroglial komponentin eşlik ettiği dikati çekmiştir. Takeuchi ve ark. oligodendroglial komponenti olan glial tümörlerde 1p delesyonunun beklenebilecek bir bulgu olduğunu vurgulamışlardır .(86)

Çalışmamızda 1p/19q LOH varlığı ya da yokluğu arasındaki genetikçi ve patoloğ uyumluluğu %91 (58/65) olarak saptanmıştır. Uyumluluk bulunamayan olgular birlikte tekrar değerlendirildiğinde, bu olguların tümünün poliploid ya da monozomik hücrelerden zengin tümörler olduğu dikkati çekmiştir. Bu nedenle özellikle poliploid ya da monozomik tümörler söz konusu olduğunda LOH değerlendirilmesinde patoloğun genetikçiden yardım almasının faydalı olacağı dşnlmştir.

Sonuç olarak serimizde HE inceleme ile astrositoma tanısı alan hiçbir olguda 1p/19q LOH saptanmamıştır. Bu nedenle 1p/19q LOH'un araştırılmasının oligodendroglioma ve astrositoma ayırıcı tanısında rutin HE incelemeye herhangi bir üstünlüğünün olmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte 1p/19q LOH'un, çok küçük stereotaksik biopsilerde anaplastik görünümdeki bir glial tümörde ayırıcı tanıda katkısı olabileceği dşnlmştir. 1p/19q kodelesyon izlenen bir stereotaksik

bir biopside, olgu oligodendroglioma lehinde değerlendirilmeli, ancak 1p veya 19q'nun tek başına LOH'u durumunda tümörün oligodendroglioma komponenti içeren yüksek grade'li bir glial tümör olabileceği düşünölmelidir. Bununla birlikte, literatür bilgileri de göz önüne alındığında klinik olarak tedavi açısından gerekli görülür ise bu incelemenin yapılmasının uygun olacağı düşünölmüştür.

6. SONUÇLAR

1- Çalışmamızda p53 mutasyonu anaplastik oligodendroglioma'larda bir miktar daha fazla olmakla birlikte, grade II ve grade III oligodendroglioma grubunda saptanmıştır. Bu nedenle oligodendroglioma'ların bir kısmının tümörögenizde etkili olduğu düşünülmüştür.

2- Farklı serilerde oligodendroglioma'lar p53 ekspresyonu açısından grade'lere göre karşılaştırıldığında farklı sonuçlar bulunmaktadır. Bizim serimizde oligodendroglioma'larda grade'den bağımsız olarak %5 ve üzeri boyanma 12/30 (%40) olguda saptanmıştır. Dolayısıyla p53 ekspresyonunun değerlendirilmesinde %5 eşik değerinin faydalı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca oligodendroglioma'larda p53 ekspresyonu %5 ve üzerinde olan olguların %67'sinin grade III anaplastik oligodendroglioma özelliğinde olması, p53 mutasyonunun özellikle anaplastik döneme geçişte daha belirgin moleküler değişiklik olduğunu düşündürmüştür.

3- Çalışmamızda p53 ekspresyonunun astrositoma' lardaki dağılımına bakıldığında, diffüz astrositoma' larda %73 (19/26) olguda p53 ekspresyonunun %5'in üzerinde olduğu saptanmıştır. Bu olguların %62'sinde p53 değeri %2'nin altında bulunmuştur. Piloitik astrositoma'lardan hiçbirinde %5'in üzerinde boyanma tespit edilmemiştir.

4- p53 değerlerinin diffüz astrositoma'larda grade'lere göre dağılımı incelendiğinde, bu değerlerin grade'den bağımsız olduğu saptanmıştır. Kruskal-Wallis ikili karşılaştırma testinde p53 yüzde değerleri açısından grade I ile grade II olgular arasında çok büyük fark bulunduğu ($p=0,004$), grade II' den grade IV' e geçerken minimal bir artışın bulunduğu saptanmıştır. Bu durum pilositik astrositoma'nın, diğer astrositoma'lardan farklı olarak başka bir genetik yoldan gelişebileceğini düşündürmektedir.

5- Diffüz astrositoma'larda p53 ekspresyonunun araştırılmasının, stereotaksik biopsilerdeki gibi grade'leme sorunu olan olgularda, ek bir katkı sağlamayacağı düşünülmüştür. Ancak bulgularımız, p53 mutasyonu izlenen bir tümörde (özellikle %5'in üzerinde ise) pilositik astrositoma tanısının yeniden gözden geçirilmesinin gerekli olduğunu göstermektedir.

6- Çalışmamızda p53 ekspresyonu, oligodendroglioma'larda diffüz astrositoma'lardan anlamlı olarak daha düşük oranlarda bulunmuştur. (T2-2,3) Bunun nedeninin, p53 mutasyonunun astrositik tümör yolağında erken bir olay olması, oligodendroglioma yolağında ise daha az oranda ve grade II'den grade III'e ilerleme aşamasında, daha geç bir moleküler değişiklik olabileceği düşünülmektedir.

7- Çalışmamızda histopatolojik tanı kriterlerine göre EGFR overekspresyonuna bakıldığında, oligodendroglioma'ların %33, astrositik tümörlerin %12'inde EGFR overekspresyonu saptanmıştır. Serimizdeki oligodendroglioma'ların yaklaşık %33'ünde EGFR overekspresyonunun izlenmesi, bu yolağın oligodendroglioma'larda tümörögenizde rolü olduğu literatür bilgisini desteklemektedir.

8- Çalışmamızda EGFR overekspresyonu açısından oligodendroglioma grade'leri arasında anlamlı farklılık bulunmamakla birlikte, grade III olguların %40'ında, grade II olguların ise %27'inde overekspresyonun bulunması nedeniyle, grade'lendirme açısından sorunlu olgularda EGFR overekspresyonunun değerlendirilmesinin ek katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

9- Bizim serimizde EGFR, grade I ve grade II astrositoma olgularında eksprese edilmemektedir. Grade III olgulardan 1'inde (%12) overekspresyon saptanmıştır. GBM'lerde %27 oranında overekspresyon bulunmuştur. Bu durum astrositoma'larda EGFR overekspresyonunun ileri dönemde tabloya eklendiğini düşündürmektedir. Oligodendroglioma grubunda da benzer şekilde grade ilerledikçe EGFR overekspresyonunun görülmesi bize, EGFR ekspresyonunun glial tümörlerde yüksek grade göstergesi olabileceğini düşündürmüştür.

10- Serimizde astrositik grupta 1 anaplastik astrositoma dışında, yalnız GBM'lerde EGFR overekspresyonunun izlenmesi ve izlenen olguların büyük kısmında bunun %50'nin üzerinde bulunması nedeniyle, özellikle stereotaksik bir biopside bir anaplastik tümörde nekroz ve vasküler endotel proliferasyonun değerlendirilmesinde sorun yaşandığı durumlarda, EGFR overekspresyonunun yüksek oranlarda tespit edilmesinin GBM lehinde bir bulgu olduğu düşünülmüştür.

11- Çalışmamızda literatür ile de uyumlu olarak, oligodendroglioma olgularındaki Ki-67 değeri grade ile korele olarak artmaktadır. Bu değer grade II olgularda genellikle %10' nun altında iken, grade III olgularda %10' nun üzerinde

saptanmıştır. Bu bulgular ile oligodendroglioma olgularında, Ki-67 proliferasyon indeksinde saptanan %10 eşik değerinin, olguların grade'lendirilmesinde faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

12- GBM olgularımızın %82' sinde Ki-67 proliferasyon indeksi %20' nin üzerindedir. Bu nedenle, özellikle materyal miktarının küçük olması nedeni ile tanısal sorun yaratan stereotaksik biopsilerde, nekroz yok ise ve vasküler endotelial proliferasyon şüpheli ise Ki-67 oranına bakılması özellikle GBM tanısı için faydalı olabilir.

13- Bu belirleyicilerin birlikte, bir panel şeklinde kullanılmasının grade'leme açısından yardımı irdelendiğinde, p53 ve Ki-67 immünohistokimyasal boyamalarının birlikte kullanılması durumunda; grade III oligodendroglioma'ların %27'sinde, grade III astrositoma'ların %38'inde Ki-67 değeri %10'nun üzerinde, p53 değeri %5'in üzerinde bulunmuştur. Bu sonuç, her iki grupta da %10' nun üzerinde Ki-67 değerinin ve %5'in üzerinde p53 ekspresyonunun birlikteliğinin anaplastik glial tümör göstergesi olabileceğini düşündürmüştür.

14- Bu bulgular ile, grade III anaplastik oligodendroglioma olgularında EGFR overekspresyonunun varlığı, %10'nun üzerinde Ki-67 indeksi, %5'in üzerinde p53 ekspresyonunun gözlenmesinin, grade II oligodendroglioma ve grade III anaplastik oligodendroglioma ayırıcı tanısında faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

15- Ayrıca özellikle stereotaksik biopsilerde pilositik astrositoma ve grade II astrositoma ayırıcı tanısı sorunu yaşandığı durumlarda, p53 ekspresyonunun %2'nin üzerinde olması halinde, bunun diffüz astrositoma lehinde bir bulgu şeklinde değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

16- 1p/19q LOH'un araştırılmasının oligodendroglioma morfoloji gösteren tümörler (oligodendroglioma) ve bu morfolojiyi göstermeyen tümörler (astrocitoma) ayırımında rutin HE incelemeye herhangi bir üstünlüğünün olmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte 1p/19q LOH'un, çok küçük stereotaksik biopsilerde anaplastik görünümdeki bir glial tümörde ayırıcı tanıda katkısı olabileceği düşünülmüştür. 1p/19q kodelasyon LOH varlığı durumunda olgu oligodendroglioma lehinde değerlendirilmeli, ancak 1p veya 19q' nun tek başına LOH'u durumunda tümörün oligodendroglioma komponenti içeren yüksek grade'li bir glial tümör olabileceği düşünülmelidir.

17- Çalışmamızda oligodendroglioma olgularımızın %73'ünde (22/30) 1p ve/veya 19q LOH tespit edilmiştir. Bunların %82'sinde (18/22) 1p/19q kodelesyonu bulunmaktadır. Oligodendroglioma olgularımızın %23'ünde (7/30) 1p ve /veya 19q LOH saptanmamıştır. 3 olguda (%10) sadece 1p, 1 grade II olguda (%3) sadece 19q LOH saptanmıştır.

18- Serimizde diffüz ve anaplastik astrositoma olgularında 1p ve/veya 19q LOH'u saptanmamıştır. 1 GBM olgusunda 1p LOH bulunmuştur. Bu olgunun HE kesiti yeniden incelendiğinde, tümörde oligodendroglial komponentin eşlik ettiği dikkati çekmiştir.

19- Çalışmamızda 1p/19q LOH varlığı ya da yokluğu arasındaki genetikçi ve patoloğ uyumluluğu %91 (58/65) olarak saptanmıştır. Uyumluluk bulunamayan olgular birlikte tekrar değerlendirildiğinde, bu olguların tümünün poliploid ya da monozomik hücrelerden zengin tümörler olduğu dikkati çekmiştir. Bu nedenle özellikle poliploid ya da monozomik tümörler söz konusu olduğunda LOH değerlendirilmesinde patoloğun genetikçiden yardım almasının faydalı olacağı düşünülmüştür.

ÖZET

AMAÇ: Patoloji rutininde glial tümörlerin ayırıcı tanısında sadece morfolojik kriterlere dayanılarak oligodendroglioma ve astrositoma ayırımının yapılamadığı olgular bulunmaktadır. Bunların bir kısmı mikst oligoastrozitoma diye ayrı bir alt grupta sınıflandırılmakla birlikte, DSÖ sınıflamasında net tanı kriterleri bulunmamaktadır. Farklı otörlere göre farklı uygulanan parametreler bildirilmektedir. Aynı tanısız karmaşa ve değerlendirmedeki belirsizlikler özellikle bazı oligodendroglioma olgularının grade'lenmesinde yaşanmaktadır. Oligodendroglioma'lar genellikle astrositoma'lara göre daha iyi prognozlu olarak bilinmekle birlikte, düşük grade'li olsa bile kötü prognozla seyreden oligodendroglioma olguları da bildirilmektedir. Bu çalışmada 1p/19q delesyonu (LOH), p53 ve EGFR "overekspresyonu" ile Ki-67 proliferasyon indeksinin glial tümörlerin ayırıcı tanısında ve grade'lendirilmesinde rutin kullanımdaki yerinin ve değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: 68 primer glial tümör olgusunda (30 oligodendroglioma, 3 mikst oligoastrozitoma, 35 astrositoma) HE kesitlerde histopatolojik değerlendirme ve grade'lendirme yapılmıştır. Bunlarda immünohistokimyasal olarak GFAP (glial fibrillary acidic protein) ekspresyonu araştırılarak tümörlerin glial natürü ispatlanmıştır. FISH yöntemiyle 1p/19q durumu ve immünohistokimyasal yöntemlerle p53, EGFR ekspresyonu ve Ki-67 proliferasyon indeksleri araştırılmıştır. FISH ve immünohistokimya sonuçları üç histopatolojik grupta ve farklı grade'ler arasında karşılaştırılmıştır.

SONUÇLAR: İmmünohistokimyasal olarak p53, Ki-67 ve EGFR'nin birlikte, bir panel şeklinde kullanılmasının grade'leme açısından yardımcı irdelendiğinde, her iki grupta da %10' nun üzerinde Ki-67 değerinin ve %5'in üzerinde p53 ekspresyonunun birlikteliğinin anaplastik glial tümör göstergesi olabileceğini düşündürmüştür.

Ayrıca özellikle stereotaksik biopsilerde pilositik astrositoma ve grade II astrositoma ayırıcı tanısı sorunu yaşandığı durumlarda, p53 ekspresyonunun %2'nin üzerinde olması halinde, bunun diffüz astrositoma lehinde bir bulgu şeklinde değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

1p/19q LOH'un araştırılmasının oligodendroglioma ve astrositoma ayırıcı tanısında rutin HE incelemeye herhangi bir üstünlüğünün olmadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte 1p/19q LOH'un, çok küçük stereotaksik biopsilerde anaplastik görünümdeki bir glial tümörde ayırıcı tanıda katkısı olabileceği düşünülmüştür. 1p/19q kodelesyon LOH varlığı durumunda olgu anaplastik oligodendroglioma lehinde değerlendirilmeli, ancak 1p veya 19q' nun tek başına LOH'u durumunda tümörün oligodendroglioma komponenti içeren yüksek grade'li bir glial tümör olabileceği düşünülmelidir.

YORUM: Glial tümörlerde immünohistokimyasal olarak p53, Ki-67 ve EGFR'nin birlikte değerlendirilmesinin tümörlerin ayırıcı tanısında ve grade'lendirilmesinde faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu tümörlerde FISH yöntemiyle 1p/19q değerlendirmesi, özellikle çok küçük stereotaksik biopsilerde, anaplastik görünümdeki bir glial tümörde ayırıcı tanıda katkıda bulunabilir. Özellikle poliploid ya da monozomik tümörler söz konusu olduğunda LOH değerlendirilmesinde patoloğun genetikçiden yardım almasının faydalı olacağı düşünülmüştür.

SUMMARY

PURPOSE: In the daily practice of pathology, there are some glioma cases which can not be differentiated as oligodendroglioma or astrocytoma by using only morfologic criterias. According to WHO classification there are no clear diagnostic criterias. Also there are some confusions and subjectivities in grading of oligodendroglioma cases. Because oligodendrogliomas have better prognosis and different therapeutic shcemes than astrocytomas. It is important to make the differential diagnosis between these two antities. For this reason we aimed to investigate the importance of 1p/19q LOH (loss of heterozygosity), p53 and EGFR overexpression and Ki-67 proliferation index in differential diagnosis and grading of glial tumors.

MATERIALS AND METHODS: In 68 primary glial tumor cases (30 oligodendroglioma, 3 mixed oligoastrocytoma, 35 astrocytoma) histopathological evaluation and grading were performed. The glial nature of these tumors demonstrated by presence of GFAP (glial fibrillary acidic protein) expression in immunohistochemical analysis. 1p/19q status analysed by FISH and p53, EGFR expression and Ki-67 proliferation index were evaluated by immunohistochemical methods. The results of FISH and immunohistochemical analysis were compared in three histopathological groups and between different grades.

RESULTS: In researching of p53, Ki-67 and EGFR immunohistochemical analysis together in grading of oligodendroglioma and astrocytoma, the coexistence of more than 10% Ki-67 value and more than 5% p53 expression value considered as an indication of anaplastic glial tumor.

Especially in the evaluation of stereotactic biopsies having difficulties about differential diagnosis of the pilocytic astrocytoma and grade II astrocytoma, we thought that more than 2% p53 expression supports the diagnosis of diffuse astrocytoma.

However, in small stereotactic biopsies 1p/19q LOH analysis helps to differentiate anaplastic astrocytoma from anaplastic oligodendroglioma. It has no advantage in the differential diagnosis of oligodendroglioma and astrocytoma in operation materials.

CONCLUSION: Immunohistochemically evaluation of p53, Ki-67 and EGFR together in glial tumors can be used for differential diagnosis and grading of these tumors. In these tumors, 1p/19q evaluation by using FISH analysis can support differential diagnosis of glial tumors particularly in small stereotactic biopsies. Especially for poliploid or monosomic tumor evaluation, the pathologist can get help from the genetician about the LOH investigation.

KAYNAKLAR

- 1- Richard A. Prayson. Glial and glioneuronal tumors, Neuropathology, Philadelphia, syf 421-488, 2005
- 2- Kleihues P, Cavenee WK: Pathology and genetics of tumours of the nervous systems, World Health Organization Classification of Tumours, IARC Press, Lyon, syf 10-19, 2000
- 3- Louis DN, Holland EC, Cairncross JG: Glioma Classification, A Molecular Reappraisal. Am J Pathol, 159(3): 779-786, 2001
- 4- Daumos-Dupport C: Grading of Astrocytomas. Cancer, 10: 2152-65, 1988
- 5- Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW et al: The WHO Classification of Tumors of the Nervous System. J Neuro Pathol Exp Neurol, 61(3): 215-25, 2002
- 6- David N. Louis, Hiroko Ohgaki, Otmar D. Wiestler, Webster K. Cavenee. Astrocytic tumours, Oligodendroglial tumours. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, 4. bası, Lyon, syf 8-67, 2007
- 7- Peter C. Burger, Bernd W. Scheitauer. Tumors of the neuroglia. Tumours of the Central Nervous System, Washington, syf 33-88, 122-144, 2007
- 8- Juan Rosai. Central nervous system, Glial tumors. Ackerman's Surgical Pathology, 9. bası, Mosby, St. Louis, syf 2503-2525, 2004
- 9- Ohgaki H, Kleihues P ve ark. Population-Based Studies on Incidence, Survival Rates, and Genetic Alterations in Astrocytic and Oligodendroglial Gliomas. J Neuropathol Exp Neurol 64 :479-489, 2005
- 10- Jaros E, Perry RH ve ark. Prognostic implications of P53 protein, epidermal growth factor receptor and Ki-67 labelling in brain tumors. Br J Cancer 66:373-385, 1992
- 11- Brooks WH, Markesbery WR ve ark. Relationship of lymphocyte invasion and survival of brain tumour patients. Ann Neurol 4:219-224, 1978
- 12- Palma L, Di Lorenzo N ve ark. Lymphocytic infiltrates in primary glioblastomas and recidivous gliomas: Incidence, fate and relevance to prognosis in 228 operated cases .J Neurosurg 49:854-861, 1978

- 13- Raghavan R, Steart PV ve ark. Cell proliferation patterns in diagnosis of astrocytomas ,anaplastic astrocytomas and glioblastoma multiforme: a KI-67 study. *Neuropathol Appl Neurobiol* 16:123-133, 1990
- 14- Central Brain Tumor Registry of The United States (2006)
- 15- Guido Reifenberger, Vincent Peter Collins. Pathology and molecular genetics of astrocytic gliomas. *J Mol Med* 82:656-670, 2004
- 16- Lee TT, Manzao GR. Third ventricular glioblastoma multiforme: case report. *Neurosurg Rev* 20: 291-294, 1997
- 17- Ohgaki H. Genetic pathways to glioblastomas. *Neuropathology* 25: 1-7, 2005
- 18- Laws ER ve ark. Migration of human malignant astrocytoma cells in the mammalian brain: Scherer revisited. *Int J Dev Neurosci* 11:691-697, 1993
- 19- Burger PC, Kleihues P. Cytologic composition of the untreated glioblastoma with implications for evaluation of the needle biopsies. *Cancer* 63: 2014-2023,1989
- 20- Fujisawa H, Kurrer M ve ark. Acquisition of the glioblastoma phenotype during astrocytoma progression is associated with LOH on 10q25-qter. *Am J Pathol* 155:387-394, 1999
- 21- Tsukayama C, Arakawa Y. A papillary glioneuronal tumor arising in an elderly woman: a case report. *Brain Tumor Pathol* 19: 35-39,2002
- 22- Kepes JJ. Pleomorphic xanthoastrocytoma: the birth of a diagnosis and a concept. *Brain Pathol* 3:269-274, 1993
- 23- Mork SJ, Rubinstein LJ ve ark. Patterns of epithelial metaplasia in malignant gliomas II. Squamous differentiation of epithelial-like formations in gliosarcomas and glioblastomas. *J Neuropath Exp Neurol* 47:101-118, 1988
- 24- Rong Y, Durden DL ve ark. 'pseudo palisading' necrosis in glioblastoma : a familiar morphologic feature that links vascular pathology, hypoxia, and angiogenesis. *J Neuropathol Exp Neurol* 65:529-539, 2006
- 25- Peraud A, Watanabe K, Plate KH, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. p53 Mutations versus EGF receptor expression in giant cell glioblastomas. *J Neuropath Exp Neurol* 56: 1235-1241, 1997
- 26- Geoffrey M. Cooper, Robert E. Hausman. Hücre Döngüsü. Hücre, Moleküler yaklaşım, 3. bası, İzmir, syf 591-629, 2006

- 27- Louis DN. Molecular Pathology of Malignant Gliomas. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis* 1:97-117, 2006
- 28- Isinsu Kuzu and Meral Beksac, Identification of bone marrow derived nonhematopoietic cells by double labeling with immunohistochemistry and in situ hybridization. *Methods in molecular medicine* 134:145-157
- 29- Ohgaki, Desen P ve ark. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res* 64:6892-6899, 2004
- 30- Watanabe K, Tachibana O ve ark. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain Pathol* 6:217-224, 1996
- 31- Smith JS, Jenkins RB. Genetic alterations in adult diffuse glioma: occurrence, significance, and prognostic implications, *Frontiers in Bioscience* 5:213-231, 2000
- 32- Biernat W ,Kleihues ve ark. Amplification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 56:180-185, 1997
- 33- Nakamura M,Watanabe T ve ark. p14ARF deletion and methylation in genetic pathways to glioblastomas. *Brain Pathol* 11:159-168, 2001
- 34- Biernat W, Tohma Y ve ark. Alterations of cell cycle regulatory genes in primary (de novo) and secondary glioblastomas. *Acta Neuropathol* 94:303-309, 1997
- 35- Rasheed BK, McLendon RE ve ark. Chromosome 10 deletion mapping in human gliomas:a common deletion region in 10q25.*Oncogene* 10:2243-2246, 1995
- 36- Teng DH, Hu R ve ark. MMAC1/PTEN mutations in primary tumor specimens and tumor cell lines. *Cancer Res* 57:5221-5225, 1997
- 37- Mollenhauer J, Wiemann S ve ark. DMBT1, a new member of the SRCR superfamily, on chromosome 10q25.3-26.1 is deleted malignant brain tumours. *Nat Genet* 17:32-39, 1997
- 38- Fujisawa H,Reis RM ve ark. Loss of heterozygosity on chromosome 10 is more extensive in primary (de novo) than in secondary glioblastomas. *Lab Invest* 80:65-72, 2000

- 39- Peraud A, Watanabe K ve ark. Genetic profile of the giant cell glioblastoma. *Lab Invest* 79:123-129, 1999
- 40- Bello M J, E ve ark. Allelic loss at 1p and 19q frequently occurs in association and may represent early oncogenic events in oligodendroglial tumors. *Int J Cancer* 64, 207-210 ,1995
- 41- Reifen J, G. Reifenberger ve ark. Molecular genetics analysis of oligodendroglial tumors shows preferential allelic deletions on 19q and 1p. *Am J Pathol* 145, 1175-1190, 1994
- 42- Kraus J A ve ark. Shared allelic losses on chromosomes 1p and 19q suggest a common origin of oligodendrogliomas and oligoastrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 54, 91-95, 1995
- 43- Smith J S, B. Alderete ve ark. Localizations of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their associations with histological subtype. *Oncogene* 18, 4144-4152, 1999
- 44- Nakamura M, Yang F ve ark. Loss of heterozygosity on chromosome 19 in secondary glioblastomas.in preparation.59:539-543, 2000
- 45- Cairncross J G, K. Ueki ve ark. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendroglioma. *J Natl Cancer Inst* 90, 1473-1479, 1998
- 46- Smith JS ve ark. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol.* 18:636-645, 2000
- 47- Reifenberger ve ark. Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Oligodendroglial Tumors, *American Journal of Pathology*, 149:29-35, 1996
- 48- Shaw EG, Scheithauer BW, O'Fallon JR, Tazelaar HD, Davis DH Oligodendrogliomas: the Mayo Clinic experience. *J Neurosurg* 76: 428-434, 1992
- 49- Nayak ve ark. p53 protein alterations in adult astrocytic tumors and oligodendrogliomas. *Neurology India* 52:228-232, 2004
- 50- Saito A ve ark. Evaluation of malignant features in oligodendroglial tumors. *Clin Neuropathol* 18:61-73, 1999

- 51- Kros JM ve ark. Expression of p53 in oligodendrogliomas. *J Pathol* 171:285-90, 1993
- 52- Hagel C ve ark. Demonstration of p53 protein and TP53 gene mutation in oligodendrogliomas. *Eur J Cancer* 32A: 2242–2248, 1996
- 53- Idbaih ve ark. TP53 codon 72 polymorphism, p53 expression, and 1p/19q status in oligodendroglial tumors, *Cancer Genetics and Cytogenetics* 177:103-107, 2007
- 54- Mokhtari K ve ark. Olig2 expression, GFAP, p53 and 1p loss analysis contribute to glioma subclassification. *Neuropathol Appl Neurobiol* 31:62-9, 2005
- 55- McDonald ve ark. The Prognostic Impact of Histology and 1p/19q Status in Anaplastic Oligodendroglial Tumors, *Cancer* 104: 1468–77, 2005
- 56- Hagel C, Krog B, Laas R ve ark. Prognostic relevance of TP53 mutations, p53 protein, Ki-67 index and conventional histological grading in oligodendrogliomas. *J Exp Clin Cancer Res.*18:305-9, 1999
- 57- Burger ve ark. Pilocytic astrocytoma. In: Kleihues P, Cavenee WK, (Ed). *Pathology and genetics of tumors of the nervous system*. Lyon: IARC Pres 2000:45-51
- 58- Lang FF ve ark. High frequency of p53 protein accumulation without p53 gene mutation in human juvenile pilocytic, low grade and anaplastic astrocytomas. *Oncogene* 9:949-54, 1994
- 59- Patt S ve ark. p53 gene mutations in human astrocytic brain tumors including pilocytic astrocytomas. *Hum Pathol* 27:586-9, 1996
- 60- Perry A: Oligodendroglial neoplasms: current concepts, misconceptions, and folklore. *Adv Anat Pathol* 8: 183–189, 2001
- 61- Reifenberger ve ark. *Tumours of the Nervous System; Pathology and Genetics: World Health Organization International Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon, pp 56–67, 2000
- 62- van der Valk ve ark. Growth factor profiles of human gliomas: Do non-tumour cells contribute to tumour growth in glioma? *Ann Oncol* 8:1023-9, 1997

- 63- Smith JS ve ark. PTEN mutation, EGFR amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. *J Natl Cancer Inst* 93:1246-56, 2001.
- 64- Torp SH ve ark. Epidermal growth factor receptor expression in human gliomas. *Cancer Immunol Immunother*, 33:61-64, 1991
- 65- Etienne MC ve ark. Epidermal growth factor receptor and labeling index are independent prognostic factors in glioma outcome. *Clinical Cancer Research*. 4:2383-2390,1998
- 66- Ekstrand AJ ve ark. Genes for epidermal growth factor receptor, transforming growth factor- α , and epidermal growth factor and their expression in human gliomas in vivo. *Cancer Res* 51 :2164-2172, 1991
- 67- Diedrich U ve ark. Amplification of the c-erb-B oncogene is associated with malignancy in primary tumors of neuroepithelial tissue. *J Neurol*, 238:221-224, 1991
- 68- Hawkins RA ve ark. Epidermal growth factor receptors in intracranial and breast tumors: their clinical significance. *Br J Cancer* 63:553-560, 1991
- 69- Reifenberger G ve ark. Epidermal growth factor receptor expression and growth fraction in human tumors of the nervous system. *Virchows Arch A Pathol Anat* 414:147-155, 1989
- 70- Torp SH ve ark. Epidermal growth factor receptor expression in human gliomas. *Cancer Immunol Immunother*, 33:61-64, 1991
- 71- Maiti ve ark. Epidermal growth factor receptor and proliferating cell nuclear antigen in astrocytomas. *Neurology India* 56:456-462, 2008
- 72- Hiroko Ohgaki and Paul Kleihues. Genetic Pathways to Primary and Secondary Glioblastoma. *The American Journal of Pathology*, 170:1445–1453,2007
- 73- Yakut ve ark. Correlation of chromosomal imbalances by comparative genomic hybridization and expression of EGFR, PTEN, p53, and MIB-1 in diffuse gliomas, *Oncology Reports*. 17: 1037-1043, 2007
- 74- Richard A. Prayson ve ark. Interobserver Variability in Determining MIB-1 Labeling Indices in Oligodendrogliomas, *Ann Diagn Pathol* 7: 9-13, 2003

- 75- Dehghani F ve ark. Prognostic implication of histopathological, immunohistochemical and clinical features of oligodendrogliomas: a study of 89 cases. *Acta Neuropathol (Berl)* 95: 493–504, 1998
- 76- Reis-Filho JS ve ark. Evaluation of cell proliferation, epidermal growth factor receptor and bcl-2 immunorexpression as prognostic factors for patients with World Health organization grade 2 oligodendrogliomas. *Cancer* 88: 862–869, 2000
- 77- Kayaselcuk ve ark. PCNA and Ki-67 in central nervous system tumors: correlation with the histological type and grade. *Journal of Neuro-Oncology* 57: 115–121, 2002.
- 78- Karamitopoulou E ve ark. Proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity in human central nervous system neoplasm. *Acta Neuropathol* 85: 316–322, 1993
- 79- Karamitopoulou E ve ark. Ki-67 immunoreactivity in human central nervous system tumors: a study with MIB1 monoclonal antibody on archival material. *Acta Neuropathol* 87: 47–54, 1994
- 80- Hagel C ve ark. Demonstration of p53 protein and TP53 gene mutation in oligodendrogliomas. *Eur J Cancer* 32A: 2242–2248, 1996
- 81- Hamlat ve ark. Oligodendroglioma: clinical study and survival analysis correlated with chromosomal anomalies , *Neurosurg Focus* 19 (5):E15, 2005
- 82- Cairncross JG ve ark. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst.* 90:1473-1479, 1998
- 83- Gupta ve ark. Clarifying the Diffuse Gliomas An Update on the Morphologic Features and Markers That Discriminate Oligodendroglioma From Astrocytoma, *Am J Clin Pathol* 124:755-768, 2005
- 84- Smith JS ve ark. Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene.* 18:4144-4152, 1999
- 85- Ritland SR ve ark. Region-specific loss of heterozygosity on chromosome 19 is related to the morphologic type of human glioma. *Genes Chromosomes. Cancer.* 12:277-282, 1995

- 86- Hiroaki Takeuchi ve ark. Chromosome 1p and 19q deletions in malignant glioneuronal tumors with oligodendroglioma-like component, *J Neurooncol* 91:33–38, 2009