



T. C.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ASTROSİTİK TÜMÖRLERDE VE REAKTİF GLİOZİS
OLGULARINDA CDC25B EKSPRESYONU VE
PROGNOSTİK ÖNEMİ: (POTANSİYEL BİR GRADE'LEME
ARACI OLARAK KULLANILABİLMESİ VE YENİ TEDAVİ
METOTLARINA IŞIK TUTMASI AMACIYLA)**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Dinç SÜREN**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Özlem Işıksaçan ÖZEN**

ANKARA – 2007

20.11.2006 tarih ve K06/263 sayı

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Araştırma görevlisi olarak eğitimim boyunca sundukları bilimsel, verimli ve destekleyici ortam için başta ana bilim dalı başkanımız Prof. Dr. Beyhan Demirhan olmak üzere, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim değerli hocalarım, Prof. Dr. Bülent Celasun'a, Doç. Dr. Banu Bilezikçi'ye, Doç. Dr. Handan Özdemir'e, Yrd. Doç. Dr. Ünser Arıkan'a, Yrd. Doç. Dr. Özlem Işıksaçan Özen'e, Öğr. Gör. Dr. Nihan Haberal'a ve Başkent Üniversitesi Adana, Alanya ve Konya Araştırma ve Uygulama Merkezlerindeki sevgili hocalarıma çok teşekkür ederim.

Tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar ki süreçte değerli vaktini ve bilimsel desteğini sunan Yrd. Doç. Dr. Özlem Işıksaçan Özen'e bir kez daha teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda değerli yardımları bulunan Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nur Altınörs'e ve Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. İrem Budakoğlu'na teşekkürlerimi borç bilirim.

Kendilerini tanımaktan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve personelimize teker teker teşekkür ederim.

Bu günlere gelebilmem için maddi ve manevi hiç bir fedakarlıktan kaçınmayan anneme, babama, kardeşime ve tanıdığım günden itibaren hep yanımda ve destek olan biricik güzel eşim Elçin'e çok teşekkür ederim, iyi ki varsınız.

Dr. Dinç Süren

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------------|
| TEŞEKKÜR | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2.1. Santral sinir sistem tümörleri, etiyoloji ve epidemiyoloji | 2 |
| 2.2. Santral sinir sistemi tümörlerinin sınıflaması | 5 |
| 2.3. Astrositik tümörlerin genel özellikleri..... | 11 |
| 2.4. Piloitik astrositoma (WHO grade I) | 12 |
| 2.5. Diffüz infiltrasyon gösteren astrositomaların genel özellikleri | 16 |
| 2.6. Diffüz astrositoma (WHO grade II)..... | 18 |
| 2.7. Anaplastik astrositoma (WHO grade III) | 23 |
| 2.8. Glioblastoma multiforme (WHO grade IV) | 25 |
| 2.9. Diffüz infiltrasyon gösteren astrositomalarda prognostik faktörler | 32 |
| 2.10. Astrositomalarda immünohistokimya..... | 34 |
| 2.11. Astrositomalarda Ki-67 proliferasyon indeksi | 35 |
| 2.12. Astrositomalarda p53 mutasyonu | 36 |
| 2.13. Astrositomalarda CDC25B ekspresyonu..... | 38 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM | 40 |
| 3.1. Olguların genel özellikleri | 40 |
| 3.2. İmmünohistokimyasal boyama yöntemleri | 41 |
| 3.3. İmmünohistokimyasal olarak boyanan kesitlerin değerlendirilmesi | 43 |
| 3.4. İstatistiksel analiz | 44 |
| 4. BULGULAR | 45 |
| 4.1. Klinik parametrelerin sonuçları | 47 |
| 4.2. CDC25B boyanma indeksinin klinik ve diğer immünohistokimyasal belirteç verileri ile ilişkisi sonuçları | 48 |
| 4.3. Ki-67 proliferasyon indeksi verilerinin sonuçları..... | 52 |

| | |
|---|----|
| 4.4. p53 ekspresyonu verilerinin sonuçları..... | 53 |
| 5. TARTIŞMA..... | 54 |
| 6. ÖZET..... | 58 |
| 7. KAYNAKLAR..... | 60 |

GİRİŞ ve AMAÇ

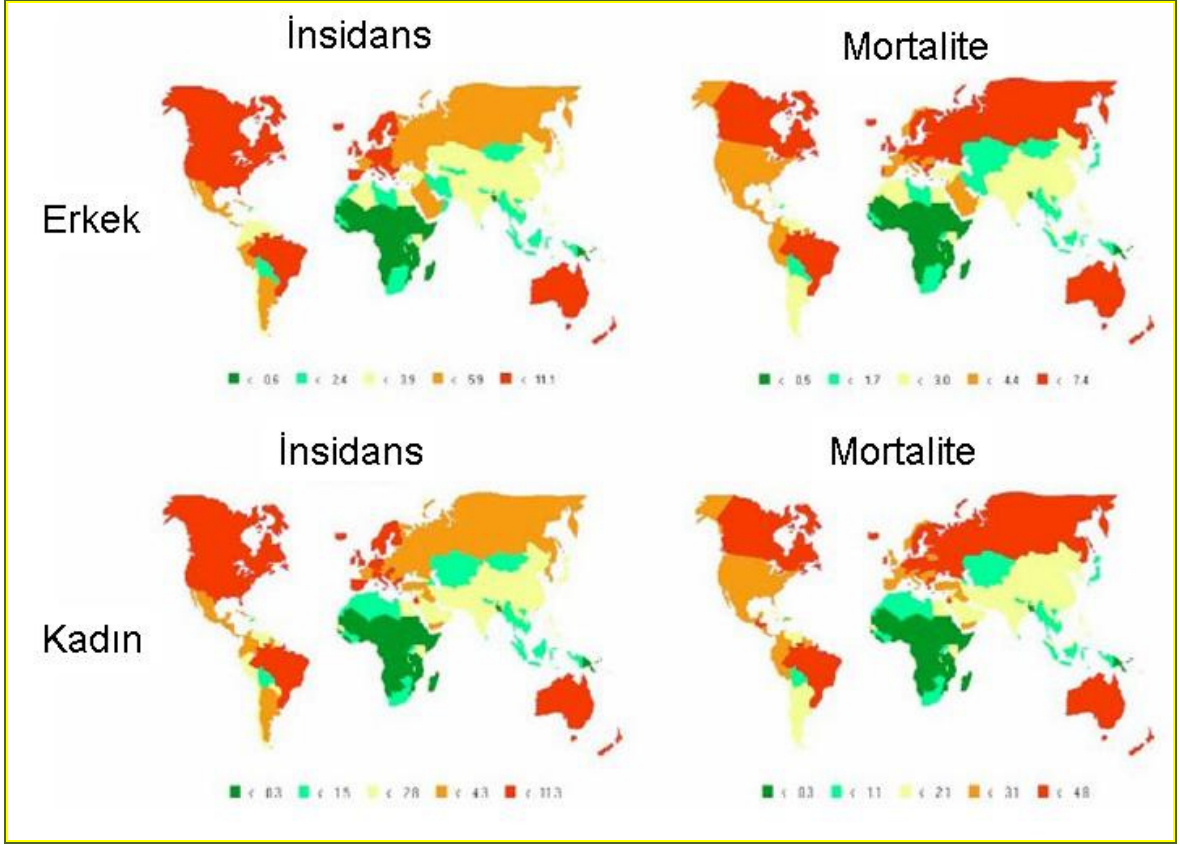
Astrositik tümörlerin histopatolojik tanısı ve grade'lenmesi özgün morfolojik bulgular varlığında zor olmamakla birlikte, bazı olguların tanısı ve grade'lenmesi gerek biyopsi materyalinin yetersizliği, gerekse özgün morfolojik bulguların biyopsi örneklerine yansımaması nedeniyle sorun yaratmaktadır (1). Literatürde sorunları çözebilmek amacıyla çeşitli immünohistokimyasal belirteçler ile yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ancak günümüze dek objektif sonuçlar elde edilememiştir. Astrositik tümörlerin histopatolojik tanısı, grade'lenmesi ve prognozu öngörebilme amacıyla, morfolojik bulgulara ek katkı sağlayabilecek immünohistokimyasal belirteç/belirteçlerin bulunması gerekmektedir. Hücre siklusu regülasyon bozukluklarının tümörogenesis ve tümörlerin progresyonu ile yakın ilişkisi bilinmektedir. Hücre siklusu karışık bir süreç olup oldukça fazla molekül ile ilişkilidir. Hücre siklus düzenleyici protein olan CDC25'in, hücre siklusu sırasında hücrelerin büyümesi ve ölmesinde kritik rolü vardır. CDC25, protein fosfataz ailesinden olup siklin bağımlı kinazları defosforilize ve aktive etmektedir. İnsan hücrelerinde CDC25 ailesinin üç üyesi bilinmektedir. CDC25B, CDC2/siklin B kompleksini aktive ederek G2M transisyonunu başlatmaktadır (2-19). Çeşitli insan tümörlerinde CDC25B'nin aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (20-25).

Bu çalışmada amacımız progresyon göstermediği bilinen ve invaziv potansiyeli bulunmayan pilositik astrositomalar ile diffüz infiltrasyon gösteren astrositomalarda CDC25B ekspresyon paternini araştırmak ve klinikopatolojik parametreler ile korelasyonunu yapmaktır. Ayrıca CDC25B ekspresyonunu, astrositomalarda grade yükseldikçe, ekspresyonu arttığı bilinen bir proliferasyon belirteci olan Ki-67 ve diffüz infiltrasyon gösteren astrositomaların progresyonunda rolü olduğu kesin olarak bilinen tümör süpresör gen p53 ekspresyonu ile karşılaştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Santral sinir sistemi tümörleri etiyoloji ve epidemiyoloji

IARC (International Agency For Research On Cancer-Uluslararası Kansere Araştırma Merkezi) verilerine göre santral sinir sistemi (SSS) tümörü insidansı her 100000 kişilik popülasyon için erkeklerde her yıl yeni 6-11 olgu, kadınlar için yeni 4-11 olgu şeklindedir (26). Gelişmiş ülkelerde oranlar, diğer ülkelere kıyasla yüksek bulunmaktadır (26,27). Örneğin Amerika Birleşik Devletleri Tümör Kayıtları esas alındığında (The Brain Tumor Registry of the United States-ABD Beyin Tümörü Kayıtları-CBTRUS) tüm SSS tümörlerinin yaş-standardize insidansı her 100000 kişi için 12.7 olarak karşımıza çıkmaktadır (28). İnsidans çalışmaları, yıllar içinde santral sinir sistemi tümörlerinin sıklığında artış olduğunu göstermektedir. Bunun oluşumunda çevresel etkenlerin derecesinin ne olduğu tartışmalı olmakla beraber, yüksek çözünürlüklü görüntüleme yöntemlerinin tanıyı kolaylaştırmasının ve hasta popülasyonunun yaş ortalamalarındaki artımın bu durumu kısmen açıkladığı düşünülmektedir (29). Ancak genetik farklılıklar da dışlanamamaktadır (Resim 1) (29). Beyaz ırkda SSS tümörü sıklığı siyah ırka göre belirgin olarak daha fazla görülmektedir (30,31). Örneğin Japonya'da, glioblastoma multiforme sıklığı Amerika Birleşik Devletleri'nin yarısı kadardır (32).



Resim 1: Santral sinir sistemi tümörlerinin küresel insidansı ve mortalite oranları Kaynak: IARC (International Agency For Research On Cancer-Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi) Globocan 2002 verileri.

SSS tümörlerinin yaş dağılımı incelendiğinde, 25 yaşından 80 yaşına kadar sıklığında artma, 80 yaşından sonra da azalma dikkati çekmektedir (33). Histopatolojik tiplerine göre görülme sıklığı incelendiğinde, çocukluk çağında pilositik astrositomalar ve medulloblastomalar diğer tümörlerden daha sık görülürken, erişkin yaş grubunda ise glial tümörler ve meningiomalar belirgin olarak daha sıklıkla görülmektedir. İlk 15 yaştaki primer beyin tümörlerin yaklaşık %40-45'i, erişkin yaş grubunda ise %60-70'i astrositik kökenli tümörlerdir (34-36).

SSS tümörleri ve çevresel ajanlar arasında ilişki kuran çok sayıda literatür çalışması yapılmıştır. İnsanlarda karsinojenik riskleri gösteren IARC monogramlarında, kanserojen etkili 900'den fazla kimyasal-kompleks karışımlar ile mesleki ve enfeksiyöz ajanlar

bildirilmiştir (37). Bunların sadece 9 tanesi (berilliyum, epiklorhidrin, klordan/hetaklor, metiltiourasil tiourasil, propiltiourasil, kurşun, diizopril sulfat ve diklormetan) insanlarda santral sinir sistemi tümörü ile ilişkili bulunmuştur (29). Beyin tümörü gelişimi ile ilişkisi kanıtlanmış en önemli çevresel faktör radyasyondur (29). 5 yaşından önce akut lenfoblastik lenfoma (ALL) tanısı nedeniyle profilaktik kranial radyoterapi alan çocuklarda beyin tümörü gelişimi riskinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (29, 38-40). Enfeksiyonlar için kesin olmamakla birlikte polyomavirüs simian virüs 40 (SV40) ve JC virüs (JCV) ile beyin tümörü arasında ilişki gösteren çalışmalar mevcuttur (41,42). Ailevi tümör sendromları ve bazı herediter hastalıklar (Li-Fraumeni sendromu, nörofibromatozis tip 1 ve 2, Turcot sendromu) artmış SSS tümörü sıklığı ile birliktelik göstermektedir (29). Tablo 1’de SSS tümörü etiyojisinde literatürde geçen faktörler özetlenmiştir.

Tablo 1: Santral sinir sistemi tümörlerinin etiyojik faktörleri

| |
|---|
| Bilinen risk faktörleri |
| Hereditör sendromlar: Li-Fraumeni sendromu, Turcot sendromu, tüberosklerozis, nörofibromatozis 1 ve 2, nevoid bazal hücre sendromu, von Hippel-Lindau sendromu, MEN tip 1, Gardner sendromu |
| Baş bölgesine yüksek doz terapatik iyonize radyasyon |
| Kadın cinsiyet: Meningioma, vestibüler schwannoma, hipofiz adenomu |
| Erkek cinsiyet: Medulloblastoma, yüksek grade’li gliomalar |
| Olası risk faktörleri (çalışmalar var ancak kuvvetli birliktelik yok) |
| Japonya’da atom bombasına bağlı yüksek doz iyonize radyasyon |
| Düşük doz iyonize radyasyon: Tanısal amaçlı veya intrauterin, nükleer santral emisyonları, mesleki maruziyet, |
| Noniyonize elektromanyetik alan: iletim ağları, elektrik ağları, analog ve dijital kablosuz telefonlar |
| Mesleksel faktörler: dişçiler, ressamalar, boyacılar, mekanikerler, itfaiyeciler, plastik ve petrol rafineri işçileri, pestisit çalışanları, pilotlar |
| Özgül kimyasallara maruziyet: vinil klorid, organik çözücüler, pestisitler |
| N-nitroz bileşenleri, nitrozamidler ve nitrozaminler: işlenmiş et, tütün ürünleri, bazı sebzeler, bira, kişisel temizlik ürünleri, bazı ilaçlar |
| Korucu diet elemanları: vitamin C ve E, β -karoten ve folat |
| Önceki medikal durumlar: Kafa travması, epilepsi ve epilepsi tedavisi, multipl sklerozis ve tüberküloz |
| Virüsler ve diğer enfeksiyöz ajanlar: polyomavirüsleri (SV40, JC, BK), Herpesvirusleri, Toxoplasma gondii |
| Genetik belirteçler: A kan grubu |

Veriler: Gurney ve ark. [27], Little [43], Davis ve Preston-Martin [44], Bondy ve Wrensch [45], Inskip ve ark. [46], Kuijten ve Bunin [47].

2.2. Santral sinir sistemi tümörlerinin sınıflaması

SSS tümörlerinin çok çeşitlilik göstermeleri nedeniyle ile herkes tarafından kabul görmüş bir sınıflama yapılması zordur. Beyin tümörlerinin bugünkü sınıflamasının temelini Virchow atmıştır. 1863 yılında beynin hücreler arası matriksi olan nörogliaı tariflemiş, tümörlerin makroskopik ve mikroskopik özellikleri arasında bağlantı kurulmasını sağlamış ve “*glioma*” terimini de ilk olarak o kullanmıştır (48). Histopatolojik sınıflama ise 1926 yılında Bailey ve Cushing tarafından yapılmıştır (49). Ancak bu sınıflama karmaşıklığı nedeniyle kabul görmemiştir. Yirminci yüzyılın ortasında Kernohan yeni ve basit bir sınıflama geliştirmiştir (50). Bu sınıflama ile daha önce tanımlanmış olan karmaşık histogenetik sınıflama, basit 5 glial tümör kategorisine (astrocitoma, ependimoma, nöroastrocitoma, medulloblastoma ve oligodendroglioma) indirgenmiştir. Glial tümörleri ise 4 evre şeklinde gruplandırılmıştır. Bu evrelendirmede temel alınan bulgu anaplazinin derecesi olmuştur. Ancak bu sınıflamada evre I-II ve evre III-IV arasında belirgin bir biyolojik davranış farklılığı olmamasından dolayı eksiklikler bulunmaktaydı. Ringertz 1950 yılında 3 evreli bir sistem önermiştir (51). Astrocitoma terminolojisinin gelişmesinde Zülch, Russell ve Rubinstein’in önemli katkıları olmuştur (52-56). 1993 yılında WHO (World Health Organisation-Dünya Sağlık Örgütü) beyin tümörlerini evre I-II-III-IV olacak şekilde sınıflandırmıştır (57, 58). Bu sınıflamada morfolojik özelliklerin yanı sıra sağ kalım süreleri de göz önüne alınmıştır. Günümüzde hemen hemen tamamen sınıflama patolojiye dayanmaktadır ve geniş kesimlerce kabul gören grade’leme sistemi 1993 yılında yapılan WHO sınıflamasının, 2000 yılında yeniden gözden geçirilmiş halidir (34, 59) (Tablo 2).

Tablo 2: WHO santral sinir sistemi tümörleri histolojik sınıflandırması

A) NÖROEPİTELYAL DOKU TÜMÖRLERİ

1. Astrositik tümörler

- a. Diffüz astrositoma
 - 1. Fibriler astrositoma
 - 2. Protoplazmik astrositoma
 - 3. Gemistositik astrositoma
- b. Anaplastik astrositoma
- c. Glioblastoma multiforme
 - 1. Dev hücreli glioblastoma
 - 2. Gliosarkom
- d. Pilositik astrositoma
- e. Pleomorfik ksantroastrositoma
- f. Subependimal dev hücreli astrositoma

2. Oligodendroglial tümörler

- a. Oligodendroglioma
- b. Anaplastik oligodendroglioma

3. Mikst gliomalar

- a. Oligoastrositoma
- b. Anaplastik oligoastrositoma

4. Ependimal tümörler

- a. Ependimoma
 - 1. Sellüler ependimoma
 - 2. Papiller ependimoma
 - 3. Şeffaf hücreli ependimoma
 - 4. Tanisitik ependimoma
- b. Anaplastik ependimoma
- c. Miksopapiller ependimoma
- d. Subependimoma

5. Koroid pleksus tümörleri

- a. Koroid pleksus papillomu
- b. Koroid pleksus karsinomu

6. Kökeni belli olmayan glial tümörler

- a. Astroblastoma
- b. Gliomatozis serebri
- c. 3. ventrikülün koroid glioması

7. Nöronal ve mikst nöroglial tümörler

- a. Gangliositoma
- b. Serebellumun displastik gangliositomu
- c. Desmoplastik infantil astrositoma/ganglioglioma
- d. Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör
- e. Ganglioglioma
- f. Anaplastik ganglioglioma
- g. Santral nörositoma
- h. Serebellar liponörositoma
- i. Filum terminalenin paragangliomu

8. Nöroblastik tümörler

- a. Olfaktor nöroblastoma (estesionöroblastoma)
- b. Olfaktor nöroepitelyoma
- c. Adrenal gland ve sempatik sinir sistemi nöroblastomu

9. Pineal parenkimal tümörler

- a. Pineasitoma
- b. Pineablastoma
- c. Orta derecede differansiasyon gösteren pineal parankimal tümör

10. Embriyonal tümörler

- a. Medulloepitelyoma
- b. Ependimoblastoma
- c. Medulloblastoma
 1. Desmoplastik medulloblastoma
 2. Büyük hücreli medulloblastoma
 3. Medullomyoblastoma
 4. Melanositik medulloblastoma
- d. Supratentoriyal primitif nöroektodermal tümörler
 1. Nöroblastoma
 2. Ganglionöroblastoma
- e. Atipik teratoid/rabdoid tümör

B) MENİNGİAL TÜMÖRLER

1. Meningotelyal hücre tümörleri

- a. Meningioma
 1. Meningotelyal meningioma
 2. Fibröz (fibroblastik) meningioma
 3. Transizyonel meningioma
 4. Psammomatöz meningioma
 5. Anjiyomatöz meningioma
 6. Mikrokistik meningioma
 7. Sekretuar meningioma
 8. Metaplastik meningioma
 9. Lenfoplazmasit zengin meningioma
 10. Şeffaf hücreli meningioma
 11. Kordoid meningioma
 12. Atipik meningioma
 13. Papiller meningioma
 14. Rabdoid meningioma
 15. Anaplastik meningioma

2. Mezenkimal meningotelyal hücre kökenli olmayan tümörler

- a. Lipoma
- b. Anjiolipoma
- c. Hibernoma
- d. Liposarkoma (intrakranial)
- e. Soliter fibröz tümör
- f. Fibrosarkoma
- g. Malign fibröz histiositoma
- h. Leiomyoma
- i. Leiomyosarkoma
- j. Rabdomyoma
- k. Rabdomyosarkoma
- l. Kondroma
- m. Kondrosarkoma
- n. Osteoma
- o. Osteosarkoma
- p. Osteokondroma
- q. Hemanjiyoma
- r. Epiteloid hemanjiyoendotelyoma
- s. Hemanjiyoperisitoma
- t. Anjiyosarkoma
- u. Kaposi sarkomu

3. Primer melanositik lezyonlar

- a. Diffüz melanositozis
- b. Melanositoma
- c. Malign melanoma
- d. Meningeal melanomatosis

4. Belirsiz histogenezi tümörleri

- a. Hemanjioblastoma

C) PERİFERİK SİNİR TÜMÖRLERİ

1. Schwannoma

- a. Sellüler schwannoma
- b. Pleksiform schwannoma
- c. Melanositik schwannoma

2. Nörofibroma

- a. Pleksiform nörofibroma

3. Perinöroma

- a. İntranöral perinöroma
- b. Yumuşak doku perinöromu

4. Malign periferik sinir kılıfı tümörleri (MPNST)

- a. Epitelioid MPNST
- b. Diverjant mezenkimal ve / veya epitelioid farklılaşma gösteren MPNST
- c. Melanotik MPNST
- d. Melanotik psammomatöz MPNST

D) LENFOMALAR VE HEMATOPOETİK TÜMÖRLER

1. Malign lenfoma

2. Plazmositoma

3. Granülositik sarkoma

E) GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER

1. Germinoma

2. Embriyonal karsinoma

3. Yolk sac tümör

4. Koryokarsinoma

5. Teratoma

- a. Matür teratoma
- b. İmmatür teratoma
- c. Malign transformasyon gösteren teratoma
- d. Mikst germ hücreli tümör teratoma

F) SELLAR BÖLGE TÜMÖRLERİ

1. Kraniofarinjioma

- a. Adamantinomatöz kraniofarinjioma
- b. Papiller kraniofarinjioma

2. Granüler hücreli tümör

G) METASTATİK TÜMÖRLER

2.3. Astrositik tümörlerin genel özellikleri

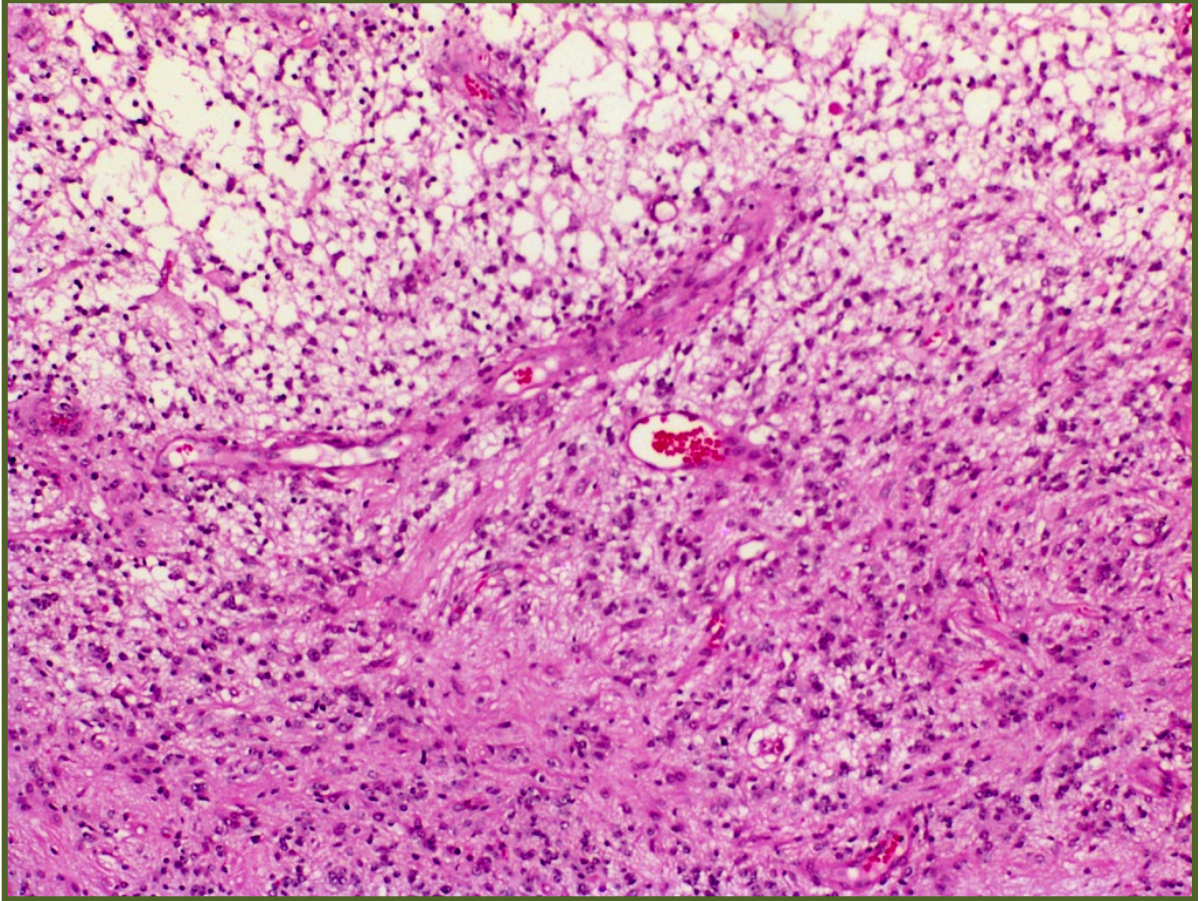
Neoplastik astrositlerden oluşan; santral sinir sisteminin farklı alanlarında yerleşim gösteren, yaş, cinsiyet, büyüme ve invaziv potansiyelleri, morfolojik bulguları, progresyon eğilimleri ve klinik davranışları oldukça geniş neoplazi grubudur. Klinikopatolojik olarak sınıflama şu şekildedir (59):

- Diffüz infiltrasyon gösteren astrositomalar
 - *Diffüz astrositoma (WHO grade II)*
 - *Anaplastik astrositoma (WHO grade III)*
 - *Glioblastoma multiforme (WHO grade IV)*
- Pilositik astrositoma (WHO grade I)
- Pleomorfik ksantoastrositoma (WHO grade II)
- Subependimal dev hücreli astrositoma (WHO grade I)

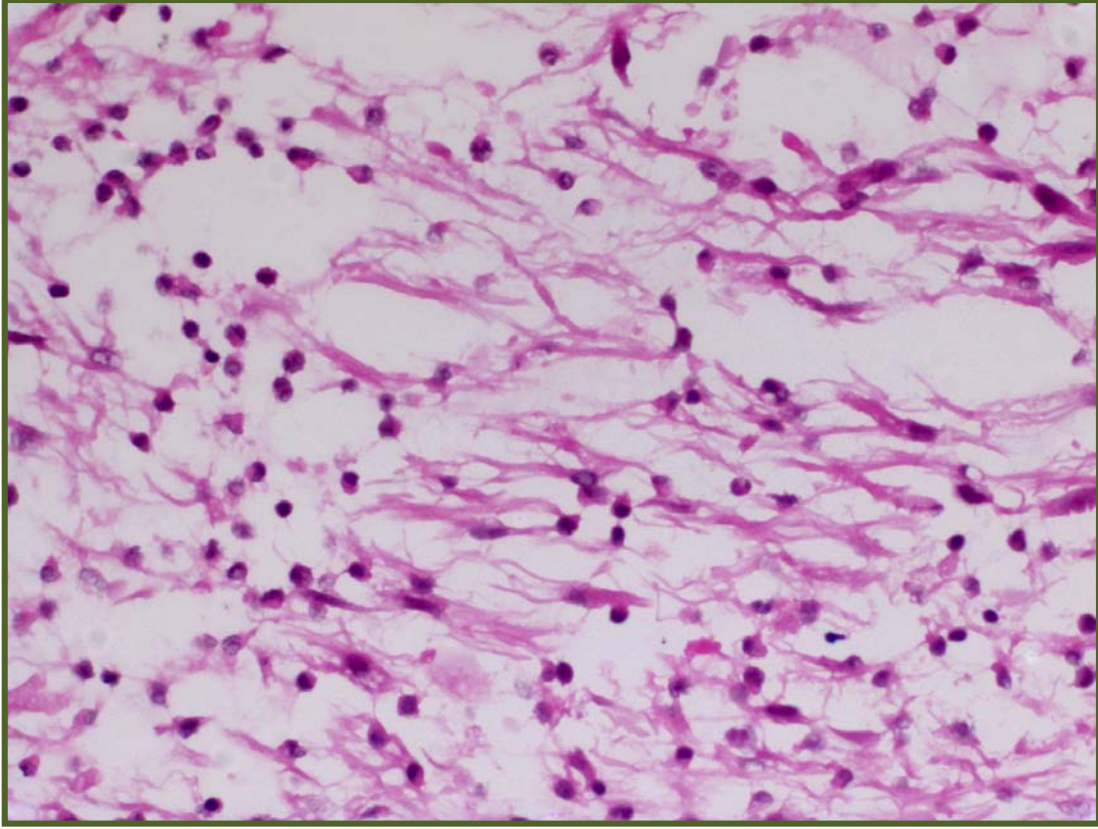
2.4. Pilositik astrositoma (WHO grade I)

Pilositik astrositoma (PA) tipik olarak ilk iki dekatta, cinsiyet ayrımı gözetmeksizin izlenir (59). 5-19 yaşlar arasında en sık görülen beyin tümörüdür (60). 50 yaş üzerinde görülmeleri enderdir. Serebral astrositomaların %10'u, serebellar astrositomaların ise %85'ini oluşturur (59). Nöroaksis boyunca herhangi bir yerde yerleşim gösterebilir. Sevdiği alanlar optik sinir (optik sinir gliomu), optik kiazma/hipotalamus, talamus, bazal ganglia, serebral hemisferler, serebellum (serebellar astrositoma) ve beyin sapıdır (dorsal egzofitik beyin sapı gliomu) (59). Lezyonlarda serebral korteks tutulumu sık olmadığından nöbet beklenen bulgulardan değildir (61, 62). Optik yolları tutarsa görme kaybına, intraorbital yerleşimlerinde proptozis olabilir. Hipotalamus veya hipofiz bezi tutulumuna bağlı şişmanlık, diabetes insipidus görülebilir (63). Serebellar PA genelde sakarlık, baş ağrısı, mide bulantısı ve kusma ile klinik verirler. PA, nörofibromatozis tip 1 (NF1)' de izlenen başlıca primer santral sinir sistemi neoplazisidir (64, 65). PA hem bilgisayarlı tomografi, hem de MRI' da iyi sınırlı ve kontrast tutan lezyonlardır (66). Kontrast tutulumu damardan çok zengin olmalarıyla açıklanmaktadır. Kontrast tutulumunun olması DA'dan (kontrast tutulumu yoktur) ayırımı önemlidir (59). Çok azı kalsifiedir ve kist formasyonu sıktır (67). Makroskopik olarak çoğu PA yumuşak ve gri renkli olup kistlerden zengindir. Histolojik olarak kompakt ve gevşek alanlar ile karakterli bifazik paterne sahiptir (Resim 2). Tümörün daha kompakt kısımlarında, bipolar piloid hücreler görülür. Bu hücrelerin oldukça uzun, kuvvetli GFAP ekspresyonuna sahip saç-benzeri hücre prosesleri ve uzamış nükleusları vardır (Resim 3). Bu alanlarda sıklıkla Rosenthal fibrilleri görülür. Rosenthal fibrilleri helezon şekilli, parlak eozinofilik hiyalen materyaldir (Resim 4). Tanıda yardımcı olmakla birlikte, patognomonik değildir. Reaktif glioziste de sık görülen bir bulgudur (59). Ultrastrüktürel olarak amorf elektron-dens yapılar ve bunları saran glial filamenlerden oluştuğu gösterilmiştir (68). Tümörün daha gevşek görümlü

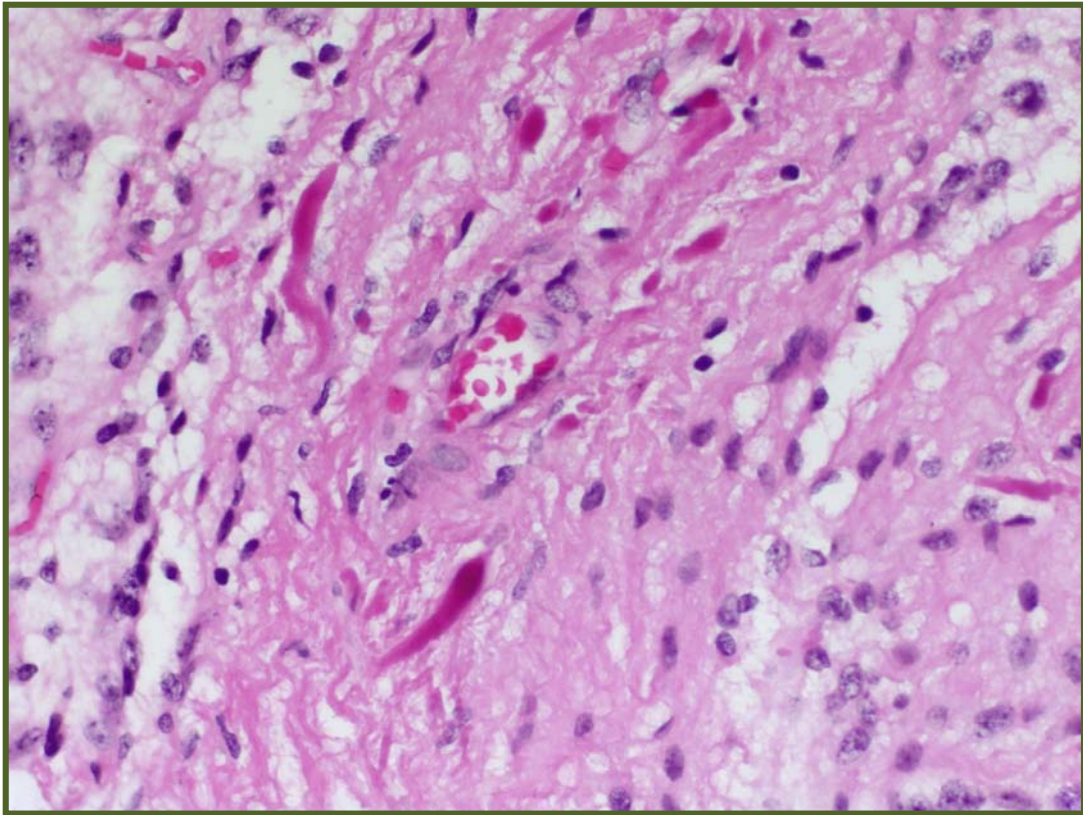
mikrokistik alanlardaki hücreler ise sıklıkla protoplazmik astrosit görünümündedir. Bu hücrelerde, nükleus yuvarlak-ovaldır. Hücreler küçük boyutta, hücre prosesleri ise kısa ve örümcek ağı şeklindedir. Piloid hücrelerin aksine bu hücreler fibrilden fakir olup zayıf GFAP ekspresyonu gösterirler. Bu alanlarda sıklıkla eozinofilik granüler cisimler izlenir (Resim 5). Eozinofilik granüler cisimler astrositik hücre çıkıntılarının globüler agregatlarıdır. Bunlar da patognomonik olmayıp; ganglion hücreli tümörlerde ve pleomorfik ksantoastroitomada da izlenir (59).



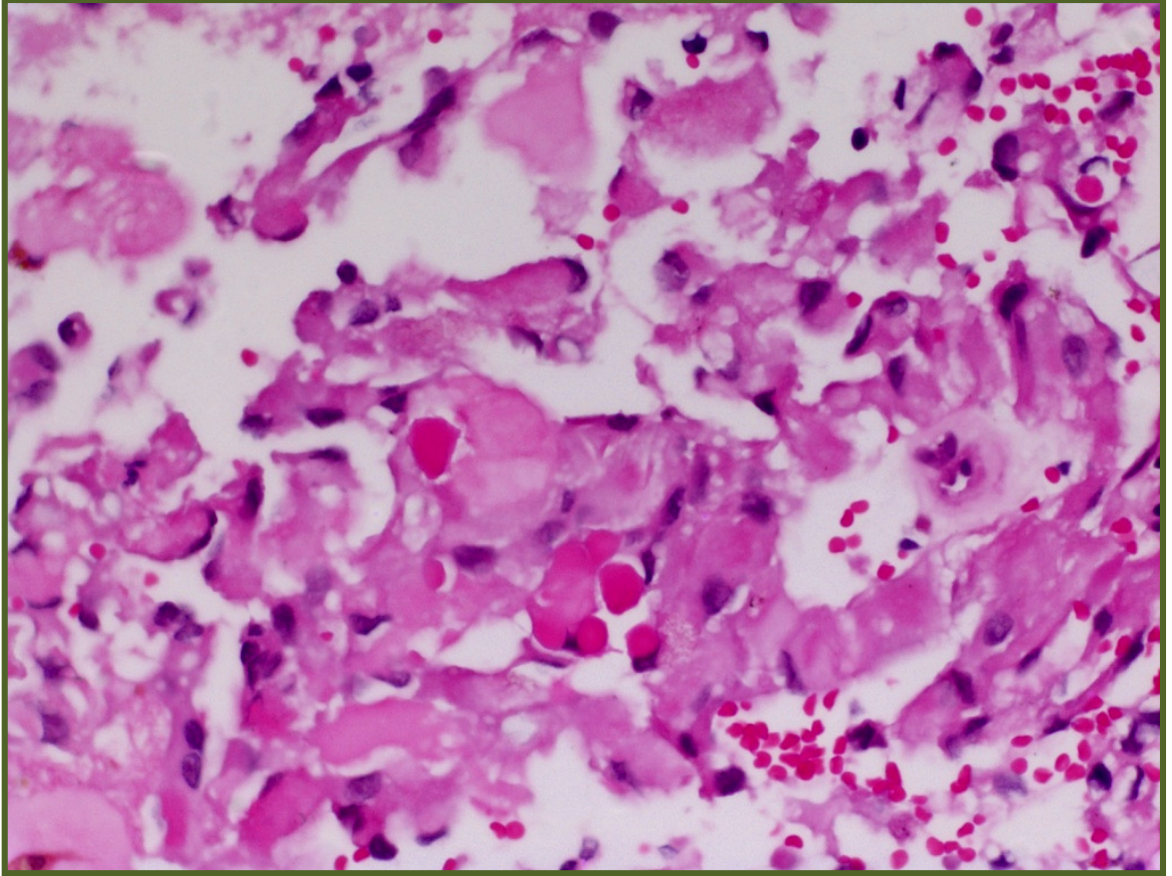
Resim 2: Piloitik astroitomada tipik bifazik patern. Kompakt, fibrilden zengin alanlar ile mikrokistlerin eşlik ettiği hiposellüler alanlar (Olgu 43, H&E x40).



Resim 3: Tümörün daha kompakt kısımlarında uzun, bipolar tümör hücreleri izlenir (Olgu 41, H&E x400).



Resim 4: Rosenthal fibrilleri, pilositik astrositoma tanısında yardımcı bulgulardan biridir (Olgu 42, H&E x400).



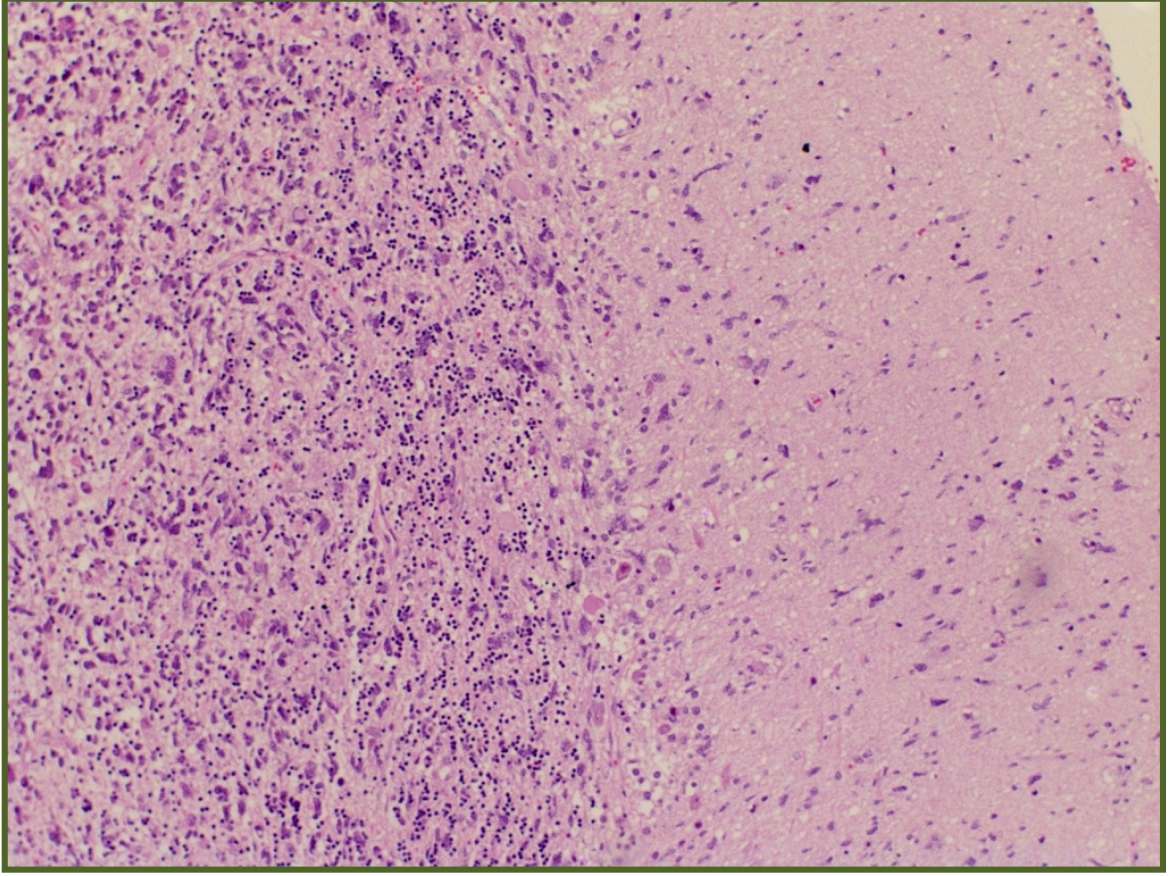
Resim 5: Eozinofilik granüler cisimlerde tıpkı Rosenthal fibrilleri gibi patognomonik olmayıp tanıya yardımcı bulgulardan biridir (Olgu 46, H&E x400).

PA yavaş büyüyen lezyon olduğu için regresif değişiklikler sıktır. Belirgin olarak hıyalinize, bazen telenjiyektatik damarlar, kalsifikasyon, lenfosit infiltrasyonu, regresyon bulgularındandır. Eski kanama odakları ve hemosiderin pigment birikimi sıktır. Akut hemoraji sık değildir. Ender mitoz (olguların %30'unda 50 büyük büyütme alanında 1-2 mitoz görülebilir), arada hiperkromatik nükleuslar, mikrovasküler proliferasyon, nekroz, meninklere infiltrasyon görülebilir. Bunların hiçbiri malignite kriteri değildir (69). Nekroz seyrek olarak görülebilir ve spontan tümör nekrozundan çok infarkta bağlıdır; ancak psödopalisatlanan neoplastik hücreler görülmez (59). Şaşırtıcı olarak PA'da nöroaksis boyunca yayılımı olabilir (70). Primer tümör ve implantlarda büyüme yavaş olduğu sürece bu bulgu da agresif büyüme bulgusu değildir (70). Genel kural olarak tümörün seyri anaplastik dönüşümden ziyade regresyon yönündedir (59). Ender de olsa malign transformasyona uğramış pilositik astrositomalar da vardır (69, 71, 72). Bunlarda belirgin

olarak artmış mitozun yanı sıra mikrovasküler proliferasyon ve palisatlanan nekroz izlenmiştir. Prognozlarının glioblastoma multiforme kadar kötü olmadığından bu lezyonlara anaplastik (malign) PA denmesi uygundur (59). Bu olgularda öyküde sıklıkla radyoterapi bulunduğundan, radyasyonun malign değişimi başlatan faktör olduğu düşünülmektedir (69, 71). Ayrıca, uzun süreli ve yineleyen hipotalamik ve beyin sap tümörleri lokalizasyonlarına bağlı olarak ölümcül seyredebilir (59).

2.5. Diffüz infiltrasyon gösteren astrositomaların genel özellikleri

Tüm primer beyin tümörlerinin %60'ından fazlasını oluşturan intrakranial neoplazi grubudur (73). Santral sinir sisteminin herhangi bir yerinde gelişebilmekle birlikte en sık serebral hemisferleri severler. Genelde yetişkin hastalarda görülürler (29). Histopatolojik bulguları ve biyolojik davranışları oldukça farklıdır (34). Histolojik grade'den bağımsız olarak beyin parankimine diffüz infiltrasyon göstermeleri önemli özelliklerinden biridir (Resim 6) (59). Bu grubun en malign olanı glioblastoma multiforme (GBM) olup diğer üyeleri diffüz astrositoma (DA) ve anaplastik astrositomadır (AA) (58). Günümüzde 2000 yılında modifiye edilen WHO sınıflaması kullanılmaktadır (34). Diffüz infiltrasyon gösteren astrositomaları grade'lemede kullanılan kriterler; 1988 yılında yayınlanan ve aynı zamanda yazarlarının adı (Daumas-Duport) ile de bilinen St. Anne/Mayo sistemi ile belirlenmiştir (74). Günümüzde geniş kesimlerce kabul gören bu sistemde 4 kriter esas alınmaktadır. Bunlar; nükleer atipi, mitotik aktivite, sellülarite, vasküler proliferasyon ve/veya nekrozdur (74). Bu grade'leme sistemi sağ kalımı ön görmede oldukça başarılıdır (75). Genel kural olarak, grade'leme anaplazinin en yüksek olduğu alana göre yapılır (59). Tablo 3'de WHO ve St. Anne/Mayo grade'leme sisteminin kıyaslaması gösterilmektedir.



Resim 6: Diffüz infiltrasyon gösteren astrositomalarda, histolojik grade'den bağımsız olarak beyin parankimine infiltrasyon tipik morfolojik özelliktir (Olgu 13, H&E x400).

Tablo 3: WHO ve St. Anne/Mayo grade'leme sisteminin kıyaslaması

| WHO grade | WHO tanımlaması | St. Anne/Mayo | |
|-----------|-------------------------|---------------------|---|
| | | Tanımlama | Histolojik kriter |
| I | Pilositik astrositoma | | |
| II | Diffüz astrositoma | Astrositoma grade 2 | Bir kriter: genelde nükleer atipi |
| III | Anaplastik astrositoma | Astrositoma grade 3 | İki kriter: genelde nükleer atipi ve mitotik aktivite |
| IV | Glioblastoma multiforme | Astrositoma grade 4 | Üç kriter: nükleer atipi, mitotik aktivite, endotelial proliferasyon ve/veya nekroz |

2.6. Diffüz astrositoma (WHO grade II)

Diffüz astrositoma (DA) tüm astrositik beyin tümörlerinin %10-15'ini oluşturur (73). Diğer infiltratif astrositomalar ile kıyaslandığında; daha sıklıkla genç yetişkinlerde görülürler. Ortalama görülme yaşı 2006 yılı CBTRUS verilerine göre 46, Züriç serisine göre 41'dir (29, 60, 73). Hafif bir erkek predominansı vardır (29). Diğer infiltratif astrositomalar gibi en sık serebral hemisferlerde gelişirler (59). Beyin sapı ve spinal kord diğer sevdiği alanlar olmakla birlikte; nadiren serebellumda görülürler (59). Tümörün en sık görülen başlangıç bulgusu nöbet ve kitle etkisine bağlı semptomlardır. Bu semptomlar arasında; konuşma güçlüğü, görme bozuklukları, his duyusunda değişme ve motor defisit sayılabilir. Bilgisayarlı tomografide DA'lar düzensiz sınırlı, düşük dansiteli ve kontrast tutmayan homojen kitle olarak karşımıza çıkar (76). Fokal kontrast tutulumu olan olgularda önceki radyoterapi öyküsü sorgulanmalıdır (59). Öykü yok ise anaplastik astrositomaya (AA) progresyon akla gelmelidir (76). Kontrast tutulumu olan ve radyolojik olarak düşük grade'li bir astrositoma düşündüren durumlarda, pilositik astrositoma (PA) düşünülmelidir (59). Kontrast tutulumu olan bir lezyonda histolojik görünüm sadece DA ile uyumlu ise yetersiz örnekleme açısından şüphelenilmelidir (59). Magnetik rezonans incelemesinde T1 ağırlıklı kesitlerde hipointens, T2 ağırlıklı kesitlerde ise hiperintens olarak görülürler (77). Gadolinium tutulumu sık değildir, ancak tümörün grade'i arttıkça tutulum olabilmektedir (59).

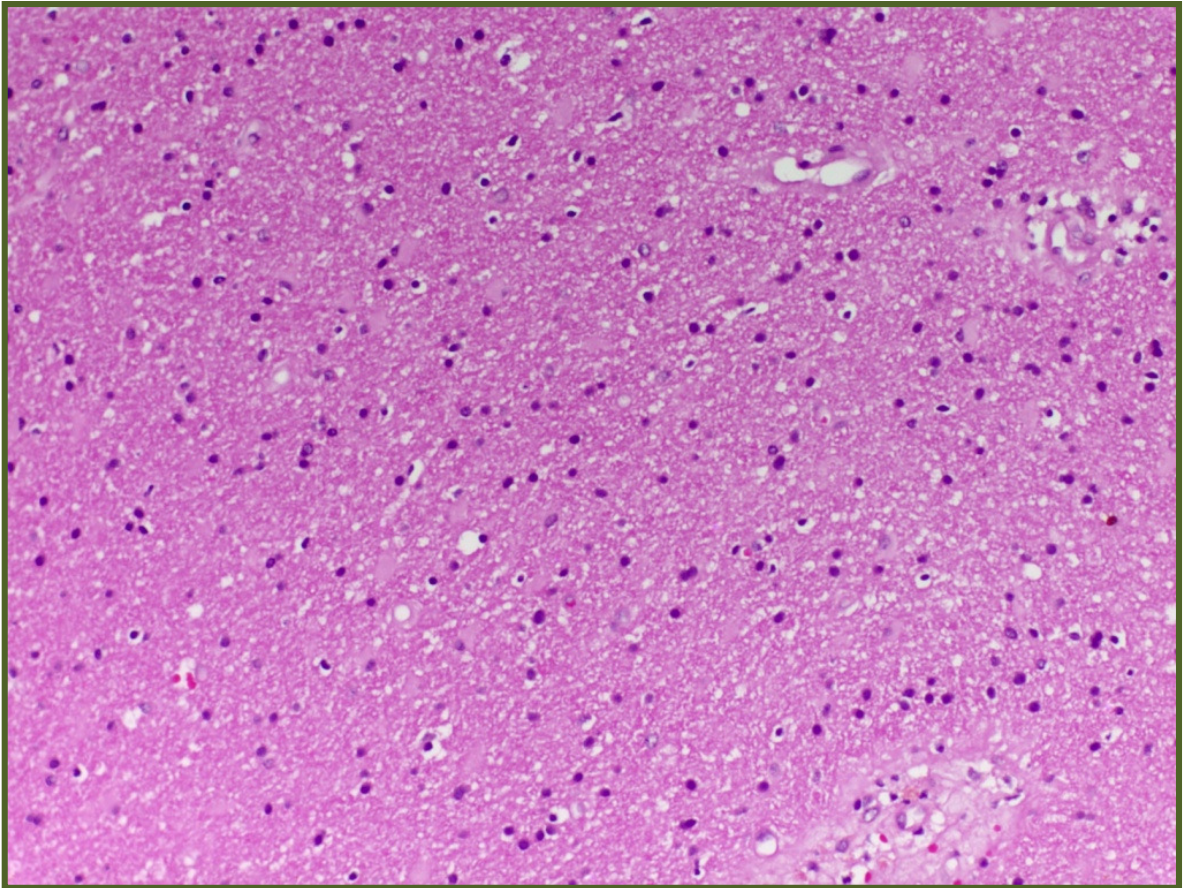
Makroskopik olarak, infiltratif olmaları nedeniyle sınırlarını belirlemek zordur. Tümör kesiti gri-sarı renkli olup yumuşak kıvamlıdır. Çok sayıda değişik çaplarda kistler bulunabilir. Yoğun mikrokist gelişimi olduğunda jelatinöz görünüm izlenebilir. Kist içerisinde berrak sıvı bulunabilir. Tümörde fokal kalsifikasyon olabilir. Sınırları belirgin,

kesit yüzü nekrotik ve hemorajik olan kısımlar varsa AA'ya transformasyon düşünülmelidir (59).

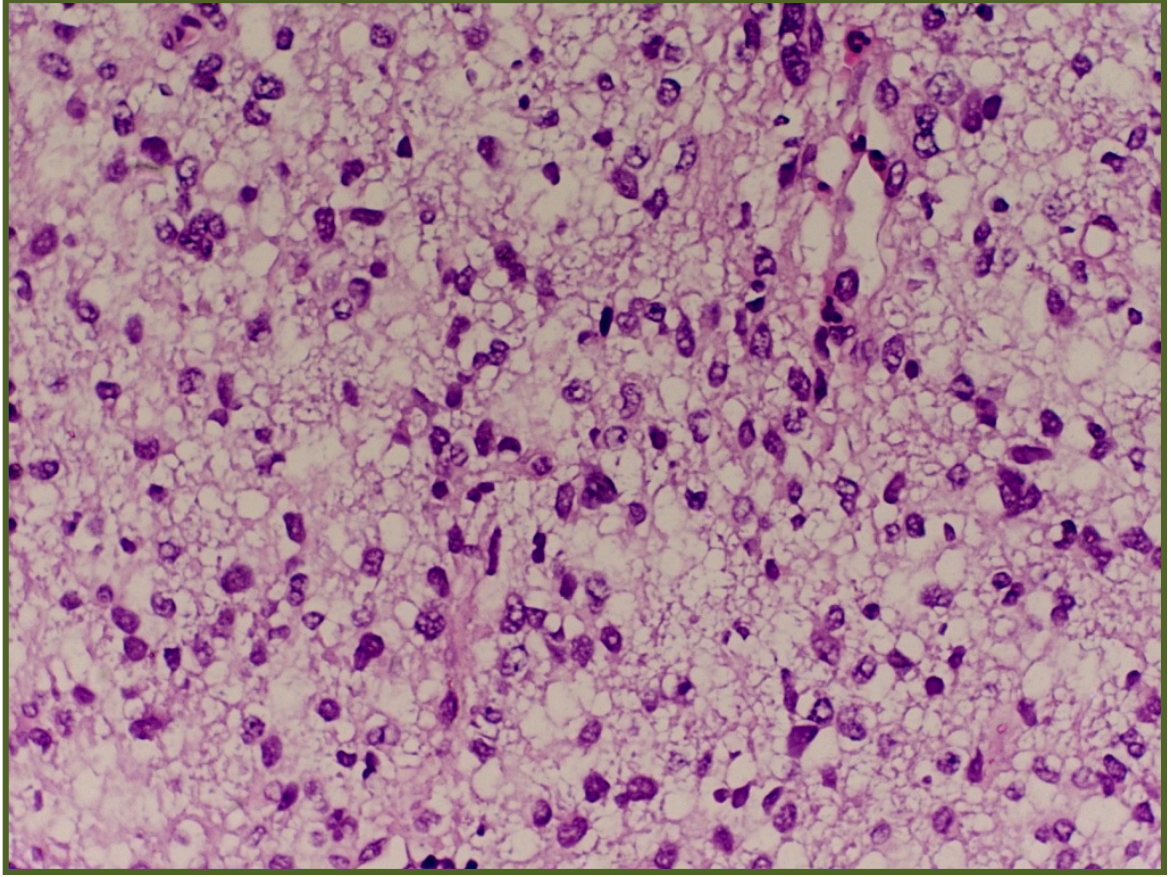
Histopatolojik olarak DA komşu beyin parankimine infiltre; gevşek, sıklıkla mikrokistik bir zeminde, iyi differansiye fibriler veya gemistositik morfolojide neoplastik astrositlerden oluşmaktadır. Sellülarite orta derecede artmıştır. Nükleer atipi fazla değildir. Mitotik aktivite beklenen bulgu değildir (74,75). Orijinal St. Anne-Mayo grade'leme şemasına göre tek mitozu olan astrositomalar grade III olarak sınıflanmaktadır (74). Ancak tek bir mitozun izlendiği grade III astrositoma, hiç mitozun izlenmediği grade II astrositomadan seyir olarak farklı davranmamaktadır (34). Sonuçta iyi örneklenmiş bir olguda, hazırlanan kesitlerde tek bir mitozun görülmesi halinde tanı DA olmalıdır. Nekroz ya da mikrovasküler proliferasyon DA'da görülmez. Hematoksilen & Eozin (H&E) boyamasında, neoplastik astrositlerin tanınması temelde nükleer özelliklere bağlıdır (78). Normal astrositlerde nükleus oval-elonge olup vezikülerdir. Nükleol belirgindir. Kromatin kümeleri orta büyüklüktedir. Zeminden ayırt edilebilen boyanabilir sitoplazma görülmez. Neoplastik astrositler ile ayırımı sorunlu olan reaktif astrositlerde ise nükleus büyümüş, sitoplazma ise belirginleşmiştir (78). Astrositler aktivite ve homojen dağılım gösterir. Bazılarının iri nükleusları vardır (Resim 7). DA'daki neoplastik astrositler ise hem sayıca ve hem de boyutça artmıştır. Tüm nükleuslar benzer görünümündedir. Hafif düzeyde anaplazi, sayıca artım ve morfolojik olarak monoton görünüm neoplastik olduklarının en önemli belirteçleridir (Resim 8). Tablo 4'te reaktif gliozis ve glioma ayırımında kullanılan özellikler özetlenmiştir.

Tablo 4: Gliozis ve astrositomanın başlıca farklılıkları

| | Gliozis | Astrositoma |
|--------------------------|------------------|--------------------|
| Sitoloji | Stellat hücreler | Değişken |
| Sellülarite | Hafif | Artmış |
| Dağılım | Homojen | Düzensiz |
| Gri-beyaz bileşke | Korunmuş | Kayıp |
| Mitoz | Ender | Sık değil |
| Mikrokistler | Ender | Sık |
| Kalsifikasyon | Yok | Bazen |



Resim 7: Reaktif gliozis. Homojen dağılım gösteren ve farklı evrelerde astrositler (Olgu 47, H&E x100).



Resim 8: Diffüz astrositoma. Mikrokistik tümör matrisi içerisinde sellülarite artımı ve nükleer atipi gösteren astrositler (Olgu 27, H&E x200).

Diffüz astrositomalarda aynı tümörün farklı alanlarında veya farklı tümörlerde değişik histolojik özellikler görülür. Ancak tümörü oluşturan neoplastik hücrelere göre kabaca 3 ana tip sayılabilir (34).

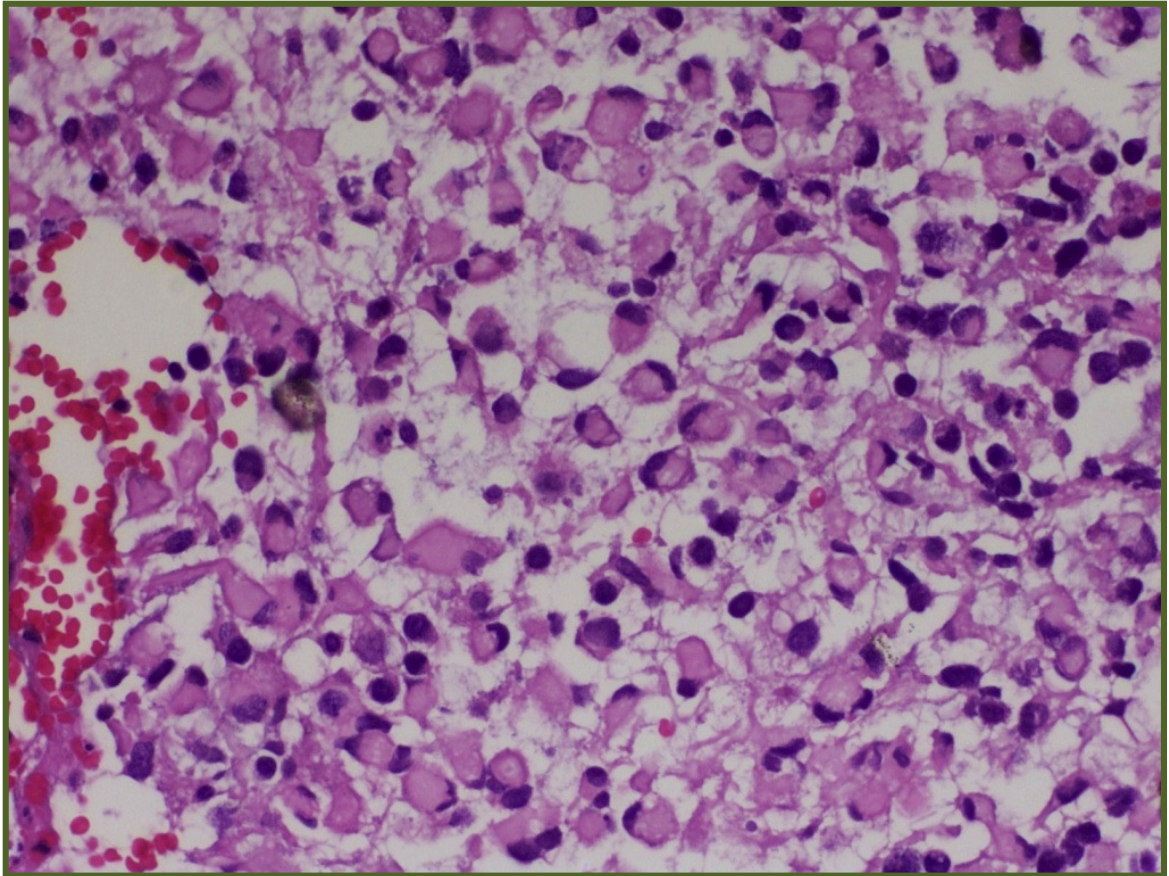
- *Fibriler astrositoma*
- *Gemistositik astrositoma*
- *Protoplazmik astrositoma*

1) Fibriler astrositoma

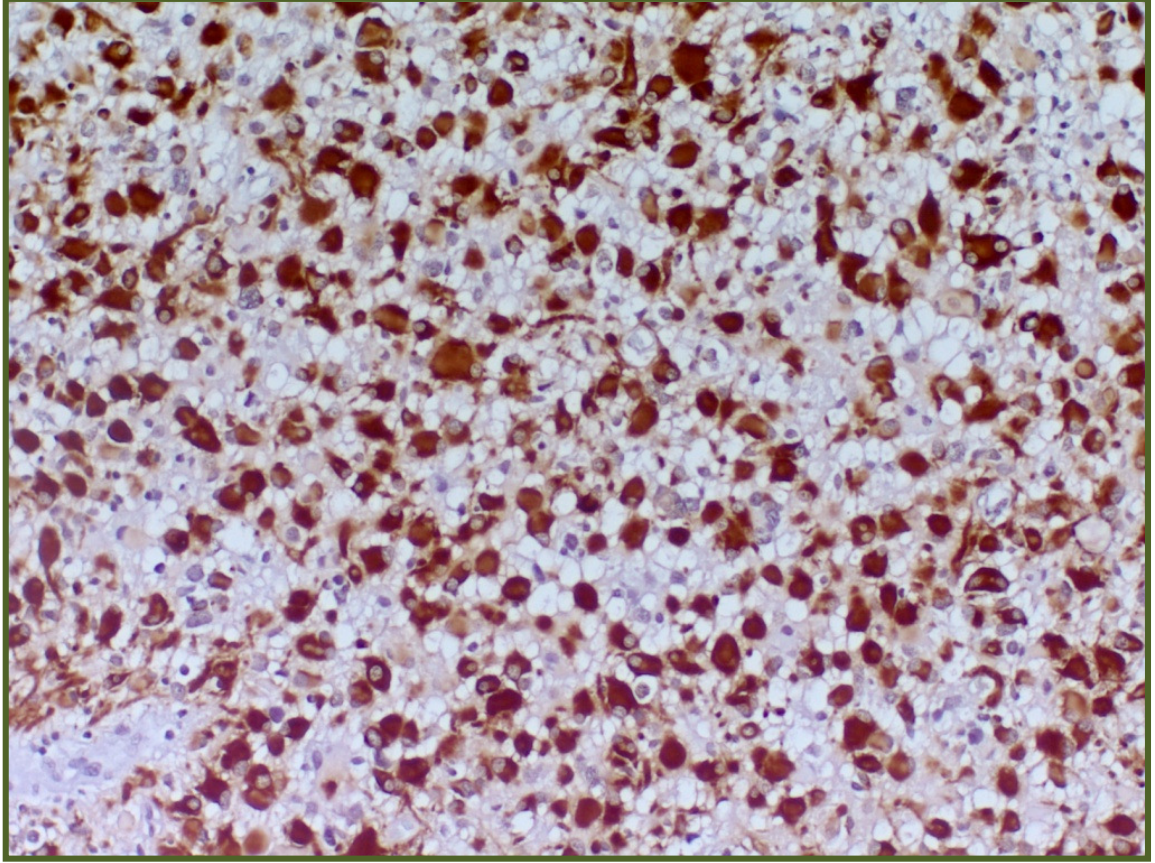
Diffüz astrositomanın en sık görülen varyantıdır. Fibriler neoplastik astrositler baskın hücre tipidir. Selülarite düşük ya da orta düzeydedir. Sitoplazma sıklıkla belirgin olmayıp; çıplak nükleus görünümü oluşmaktadır. Müsinöz sıvı içeren mikrokistler karakteristik özelliğidir (59).

2) Gemistositik astrositoma

Gemistositik neoplastik astrositlerin tüm tümör hücrelerinin %20 sinden fazlasını oluşturduğu diffüz astrositoma varyantıdır. Gemistositlerin oranı yaklaşık olarak %35' tir (79). "Cut-off" değeri olan %20, Krouwer ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir (80). Gemistositler histolojik olarak şişkin, camı, eozinofilik sitoplazmalı ve anguler şekillidir (Resim 9). Gemistositik neoplastik astrositler, perikarya ve hücre proseslerinde yapısal olarak glial fibriler asidik protein (GFAP) ekspresyonu gösterirler (Resim 10). Nükleus sıklıkla eksantrik yerleşimlidir, nükleol küçüktür. Elektromikroskopik incelemede sitoplazmada ve hücre proseslerinde yoğun, kompakt glial filamenler ile büyümüş mitokondri izlenir (81).



Resim 9: Gemistositik astrositoma. Tümör hücreleri iri, hafifçe eozinofilik sitoplazmalı ve nükleusları periferik yerleşimlidir (Olgu 28, H&E x200).



Resim 10: Gemistositik neoplastik astrositlerde perikarya ve hücre proseslerinde kuvvetli GFAP ekspresyonu (Olgu 28, immünperoksidaz x100).

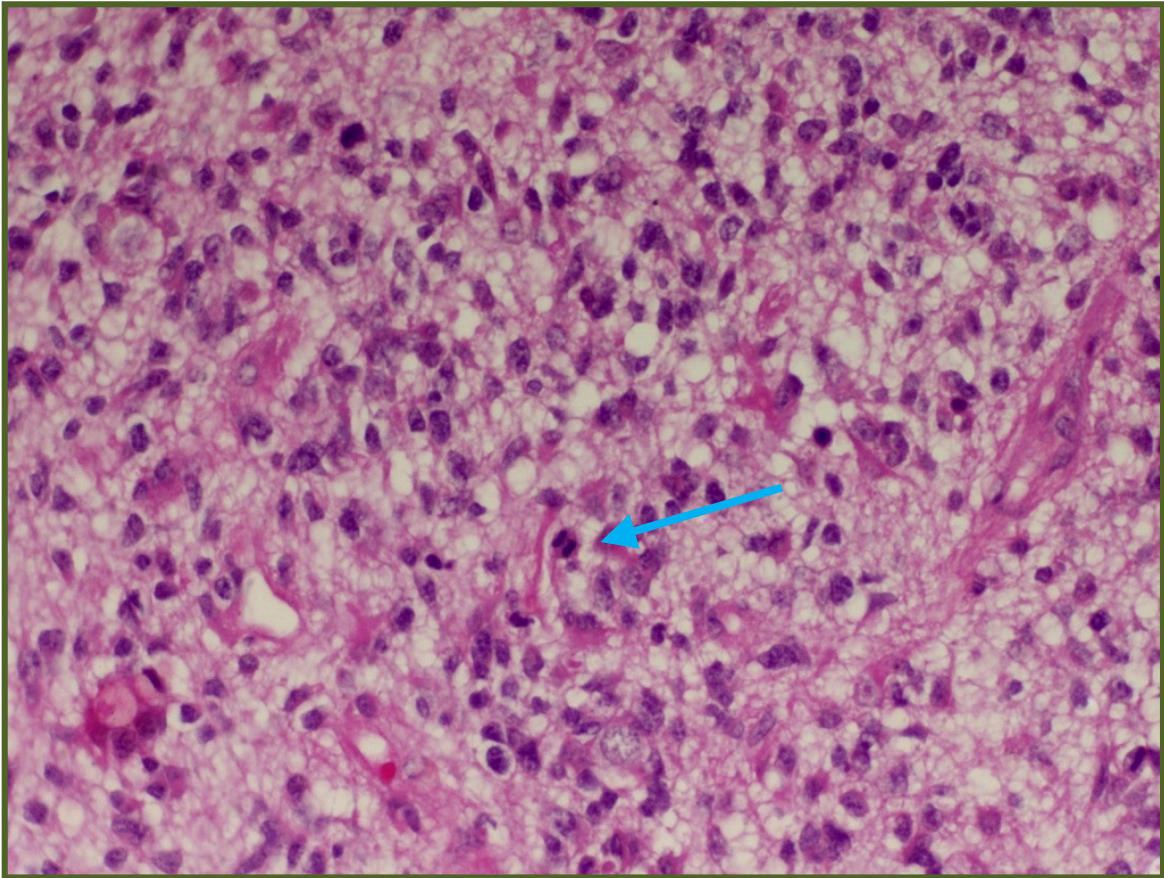
3) Protoplazmik astrositoma

En az görülen varyant olup başlıca küçük hücre cismine ve az sayıda kısa proseslere sahip, glial filamentlerden fakir ve GFAP ekspresyonu az olan, uniform görünümlü neoplastik astrositlerden oluşur. Mukoid dejenerasyon ve mikrokist formasyonu sık ve karakteristik bulgulardır (59).

2.7. Anaplastik astrositoma (WHO grade III)

Tanı anında ortalama yaş 2006 yılı CBTRUS verilerine göre 51, Zürich serisine göre ise 44'dür (29, 60). Ortalama tanı yaşı DA ile kıyaslandığında hafif yüksek, GBM (61 yaş) ile kıyaslandığında ise düşüktür. Erkeklerde daha sık görülmektedir (E/K oranı, 1.8/1) (29).

Lokalizasyon ve semptomlar DA'da görülenlere benzerdir. Radyolojik olarak anaplastik astrositoma düşük dansiteli, sınırları düzensiz kitle şeklindedir (59). DA'nın aksine, parsiyel kontrast tutulumu sıklıkla görülür fakat GBM'de görülen yüzük şeklinde tipik kontrast tutulumu yoktur (77, 82). Hızlı tümör büyümesine bağlı şift etkisi ve intrakranial basınç artışı görülmektedir. DA'ya kıyasla hücreden daha zengin oldukları için, makroskopik olarak daha belirgin tümör kitlesi oluşturma ve çevre beyin dokusundan daha keskin sınırla ayrılma eğilimindedir (59). Ana histopatolojik bulgular artmış sellülarite, belirgin nükleer atipi (nükleer boyutta artım, pleomorfizm, kromatinde kabalaşma ve dağılma, nükleol belirginliği ve nükleol sayısında artım) ve belirgin mitotik aktivitedir (Resim 11) (74). Mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekroz görülmez. AA'lar, DA'nın ilerlemesinden gelişebileceği gibi, de novo da gelişebilmektedir (59). GBM'ye ilerleme eğilimleri vardır. GBM'ye ilerleme en önemli prognostik faktördür (59).

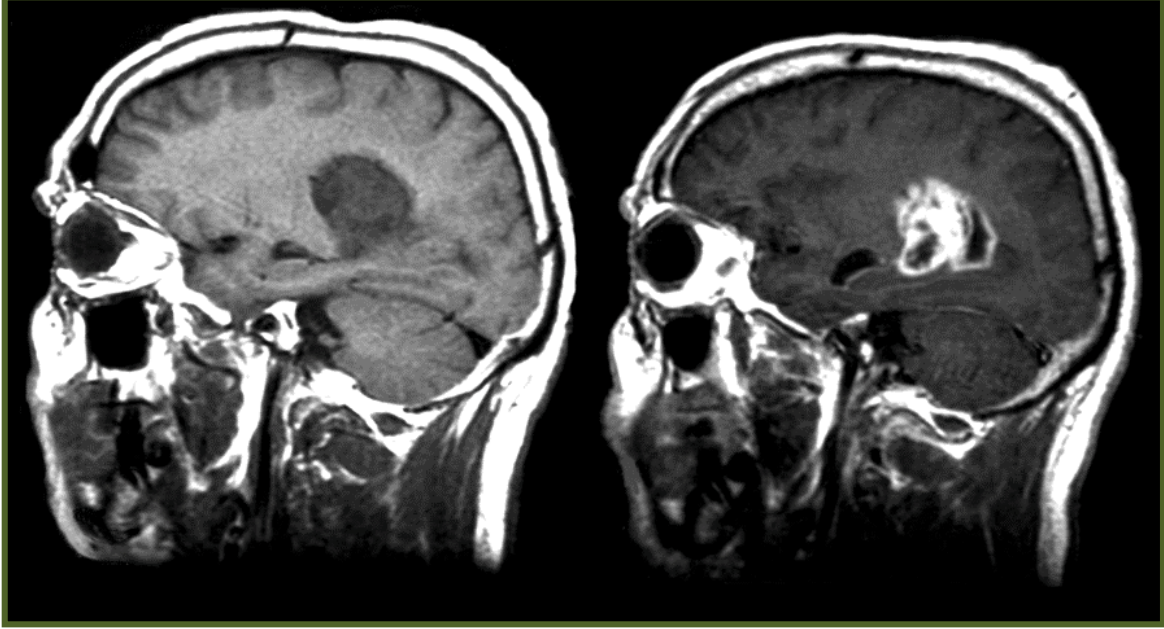


Resim 11: Anaplastik astrositoma. Yüksek sellülarite, belirgin nükleer atipi ve mitotik aktivite karakteristik özellikleridir. İşaretli alanda mitoz görülmektedir (Olgu 21, H&E x200).

2.8. Glioblastoma multiforme (WHO grade IV)

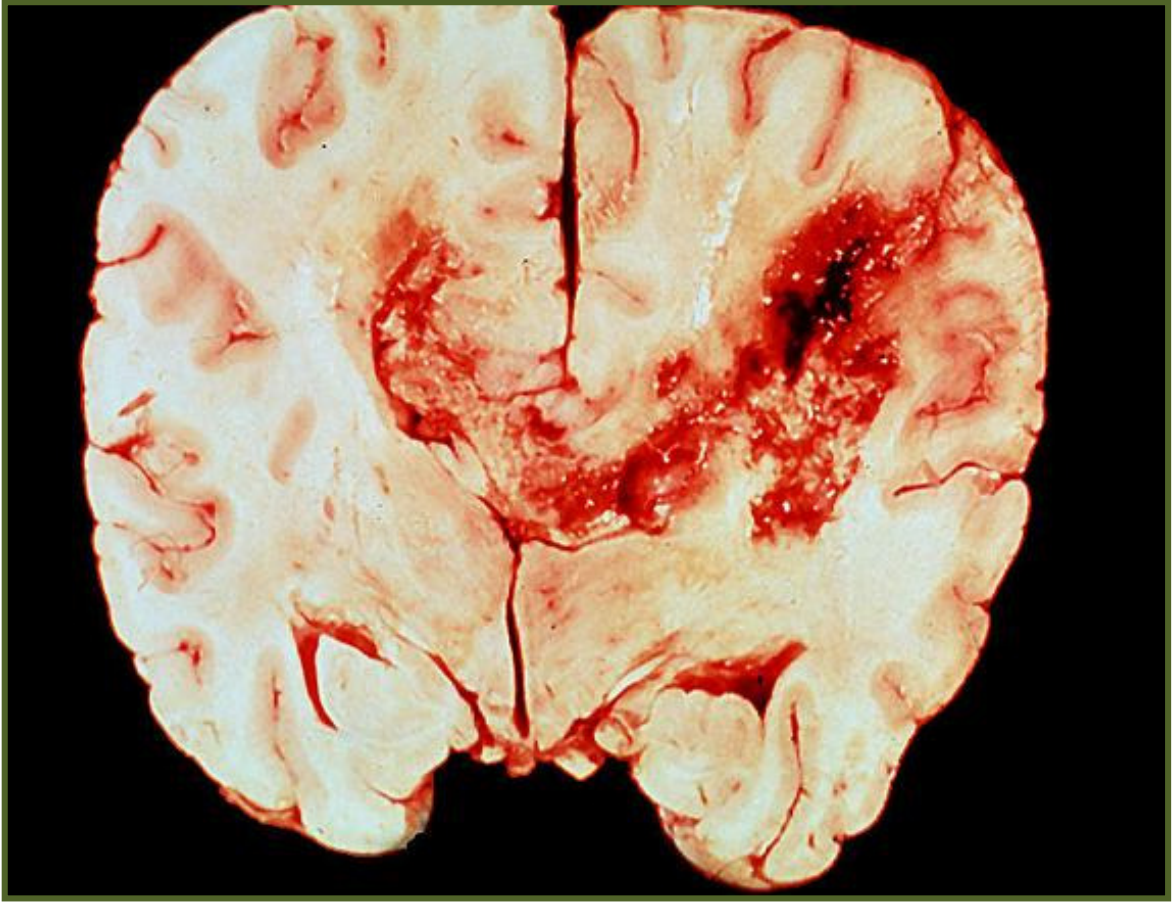
GBM'nin ilk olarak 1863 yılında Virchow tarafından "glial orijinli tümör" olarak tanımlandığını görmekteyiz (48). Strauss ve Globus ilk kapsamlı tarifi yapmışlar ve spongioblastoma multiforme terimini kullanmışlardır. (83). 1926 yılında Bailey ve Cushing, spongioblastoma multiforme terimini GBM olarak değiştirmiştir (49). Scherer ve Kernohan GBM'nin; malign astrositoma olduğunu ve bazen daha düşük dereceli lezyonların progresyonu ile geliştiğini söylemiştir (50). GBM astrositik tümör spektrumunun en malign üyesidir ve en sık görülen beyin tümörüdür (84,85). Tek başlarına intrakranial neoplazmların %12-15'ini, astrositik tümörlerin ise %50-60'ını oluşturmaktadırlar (29). İnsidansı erkekler için 100000'lik popülasyonda, her yıl yeni 3.32 olgu, kadınlar için 2.24 olgu şeklindedir (85). GBM her yaşta gelişebilmekle birlikte, pik insidansı 45-70 yaş arasındadır. Zürih Üniversitesi serilerinde olguların 2/3'ü bu yaş grubundadır (29). Tanı anında ortalama yaş 2006 yılı CBTRUS ve Zürih serisine göre 61'dir (29, 0). Erkeklerde daha sıklıkla görülürler (E/K oranı, 1.5:1) (29). GBM'ler sıklıkla serebral hemisferlerde, subkortikal beyaz cevherde gelişir (59). Zürih serilerinde en sık görüldüğü yer temporal lobdur (%31) (29). Bunu paryetal (%24), frontal (%23) ve oksipital (%16) loblar takip etmektedir. Kombine fronto-temporal lokalizasyon tipiktir. Tümör sıklıkla komşu dokulara (korteks, bazal ganglia ve kontralateral hemisfer) infiltridir. Beyin sapı, serebellum ve spinal korda az görüldüğü alanlardır. Beyin sapı yerleşimliler sıklıkla çocuklarda görülür (59). Düşük grade'li astrositik tümörün progresyonu ile karakterli sekonder GBM olguları dışında klinik öykü genelde 3 aydan azdır (85, 86). Hastalar sıklıkla epileptik nöbet sonrasında özgül olmayan nörolojik semptomlar, baş ağrısı ve kişilik değişiklikleri tarifler. Radyolojik olarak tipik görünümü; düzensiz şekilli, çevresinde yüzük şeklinde kontrast tutulumu olan, genelde hipodens santral nekroz alanı içeren lezyondur (77, 82). Bu kontrast alanları tümörün periferindeki hücreden ve

damardan zengin alanlardır (Resim 12). T2 ağırlıklı görüntülerde bu zon daha geniş, daha düzensizdir ve çevredeki vazojenik ödem ile birlikte.



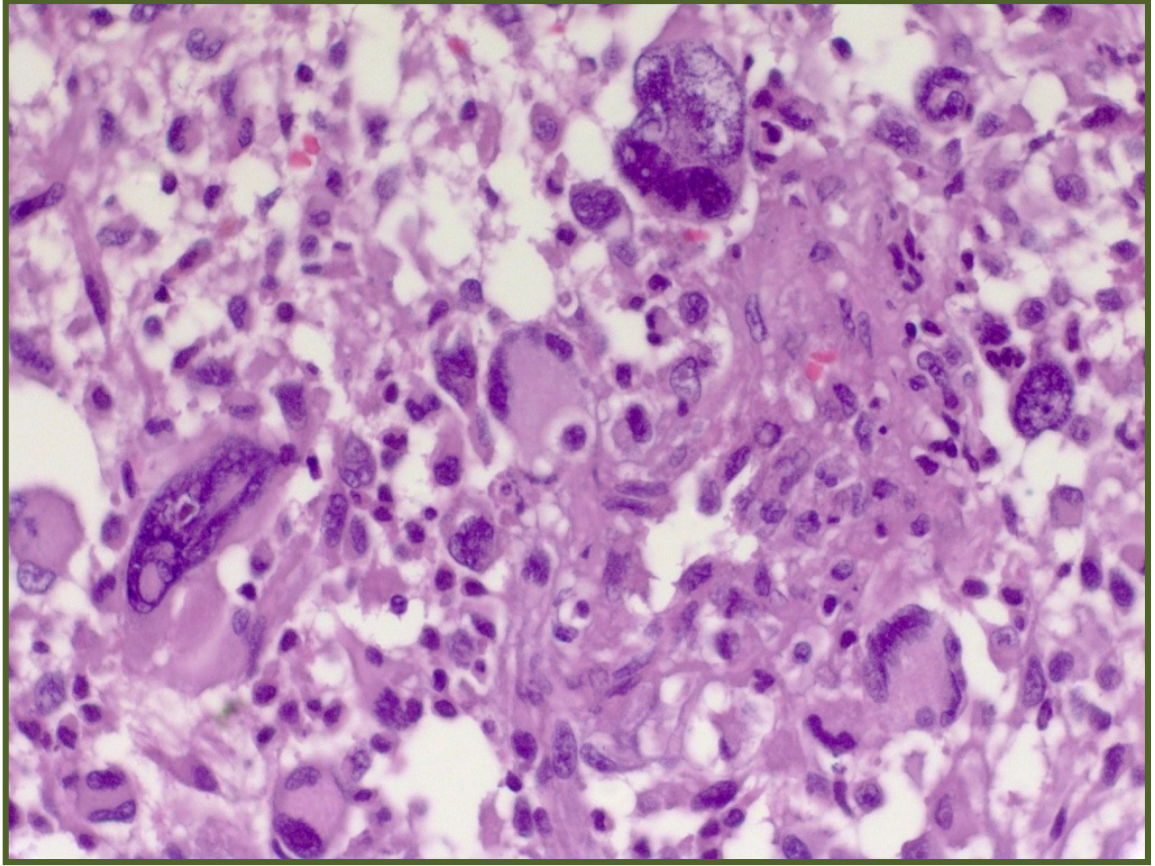
Resim 12: Glioblastoma multiformede T1 ağırlıklı kesitte, godolinium enjeksiyonu sonrasında tipik yüzük şekilli kontrast tutulumu (Kaynak: <http://www.home.physics.wisc.edu/gilbert/mri.gif>).

Makroskopik olarak zayıf sınırlı ve değişken renklere sahip olup gri renkli alanlar tümör, sarı renkli alanlar nekroz, kırmızı ve kahverenkli alanlar ise yeni ve eski kanama odaklarıdır (59). Lezyon genelde tek taraflı olmakla birlikte beyin sapı ve korpus kallosum yerleşimlerinde bilateral ve simetrik olabilir. Çoğu olguda klinik öykünün kısa olmasına rağmen tümörler şaşkıncı şekilde tanı anında büyüktür. İnfiltratif yayılım ve çevre dokulara hızlı invazyon sık bulgudur. Yine sık olarak korpus kollosum yoluyla, diğer hemisfere yayılım görülebilir. Bu tablo radyolojik olarak kelebek gliomu denen bilateral, simetrik lezyona neden olur (Resim 13). Perivasküler boşluklar boyunca yayılım diğer tipik bulgudur (87). Dura, venöz sinüs ve kemik invazyonu çok enderdir (59).



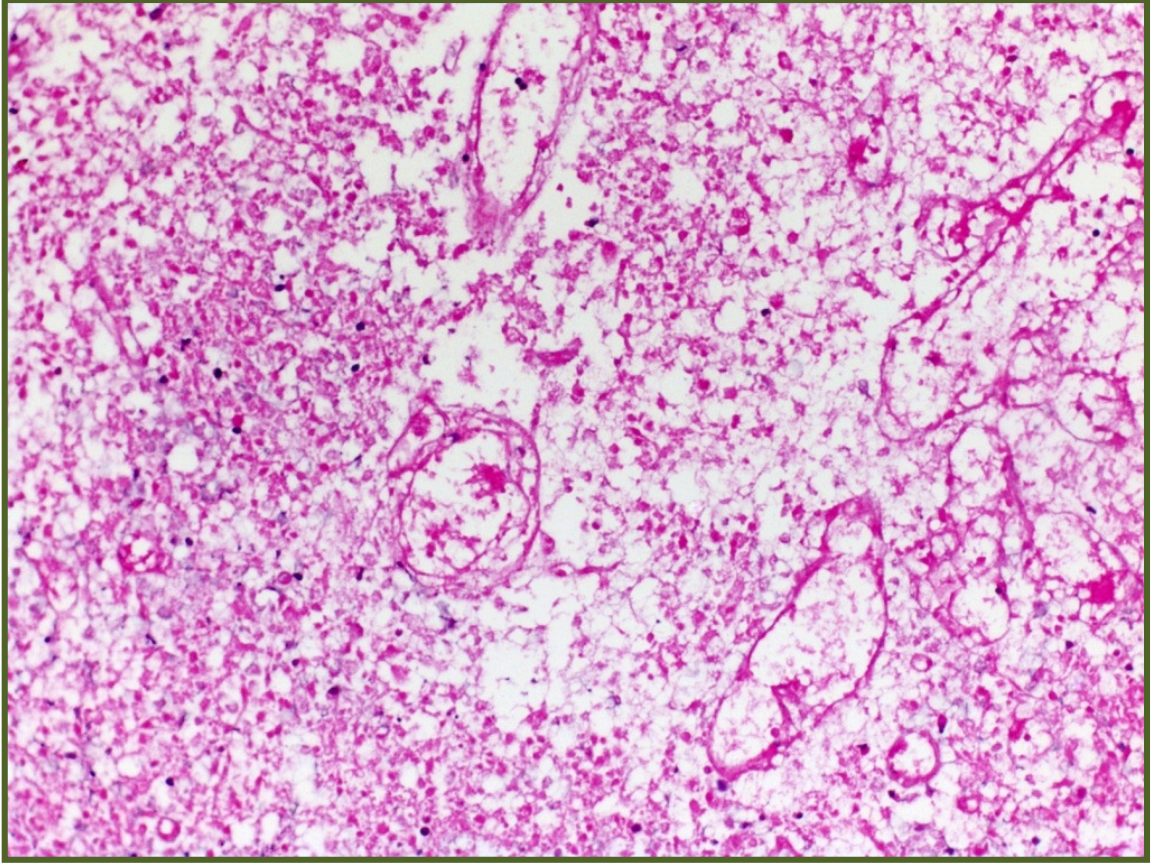
Resim 13: Glioblastoma multiformede belirgin nekroz ve hemoraji izlenmekte; korus kollosum yoluyla diğer hemisfere yayılım kelebek gliomu olarak adlandırılmaktadır (Kaynak: <http://www.pathguy.com/lectures/gbm.jpg>).

GBM'de histopatolojik bulgular; hücresel pleomorfizm, nükleer atipi, çok belirgin mitotik aktivite, mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekrozdur (74). Multinükleer dev hücreler GBM için tipik hücrelerdir (Resim 14) (59). Ancak bunlar tanı için gerekli değildir. Herhangi bir prognostik önemi de gösterilmemiştir (88). Dev hücreler tabloya çok hakim ise dev hücreli GBM terimi kullanılmaktadır (34). Her ne kadar az differansiye alanlar tabloya hakim dahi olsa en azından fokal bir alanda daha iyi differansiye neoplastik astrositler seçilebilir. Bu durum, özellikle sekonder GBM'de izlenmektedir (86).

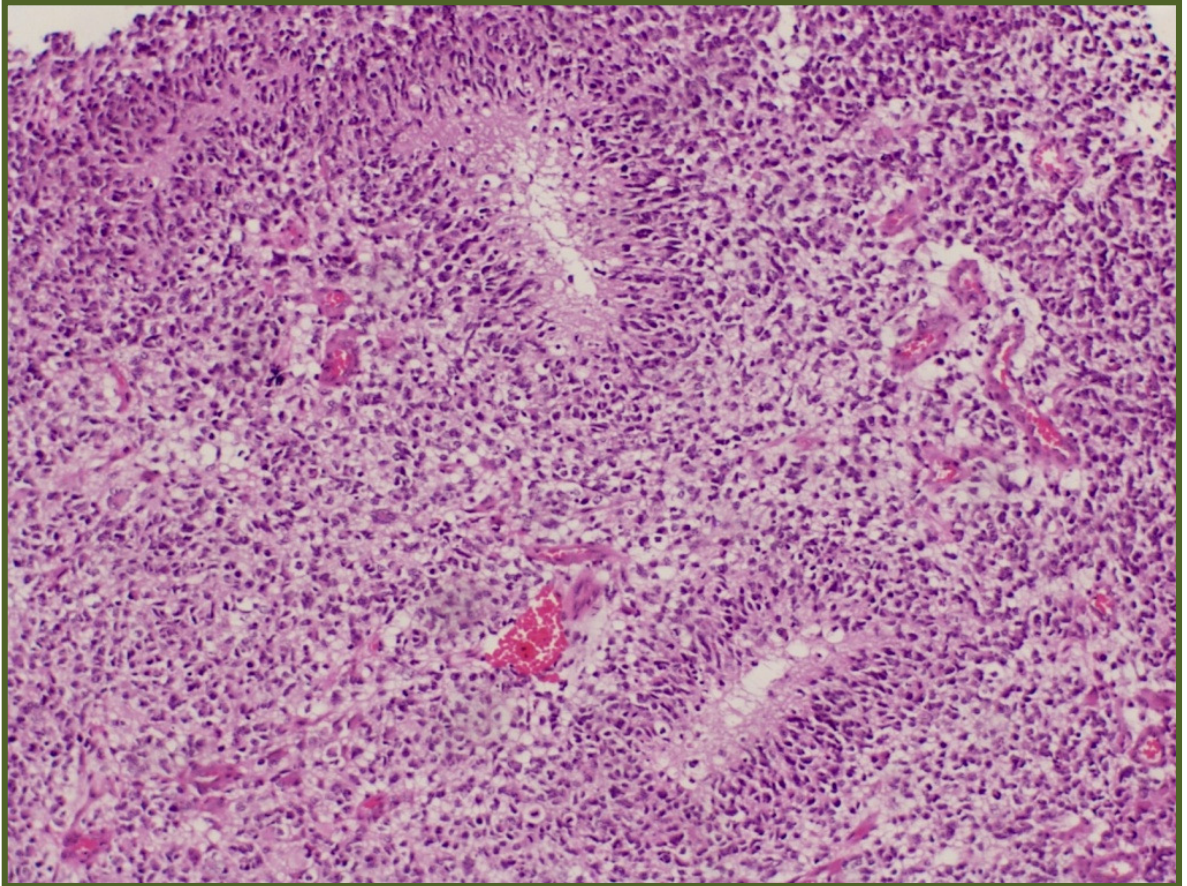


Resim 14: Glioblastoma multiforme. Yüksek derecede anaplazi ve multinükleer dev hücreler tipik morfolojik bulgulardır (Olgu 12, H&E x400).

GBM'de 2 nekroz tipi izlenir. Mikroskopik olarak görülen nekroz tipinin ilki (90-92), genelde geniş çaplı karşımıza çıkan koagülasyon nekrozudur (Resim 15). Bu büyük nekroz alanlarının kan akımı yetersizliğine bağlı geliştiği (iskemik nekroz) düşünülmektedir (59). Geniş iskemik nekroz alanları zayıf prognoz ile ilişkilidir (90-92). Diğer nekroz tipi ise çok sayıda, küçük, düzensiz şekilli solucan benzeri odaklar şeklinde nekrotik odaklar ve bunların etrafında radial olarak çit şeklinde dizilen küçük, fusiform glioma hücreleri ile karakterli psödopalisat paternde nekrozdur (Resim 16) (59). Psödopalisat paternde nekroz GBM tanısı için en önemli bulgulardan biridir (93).

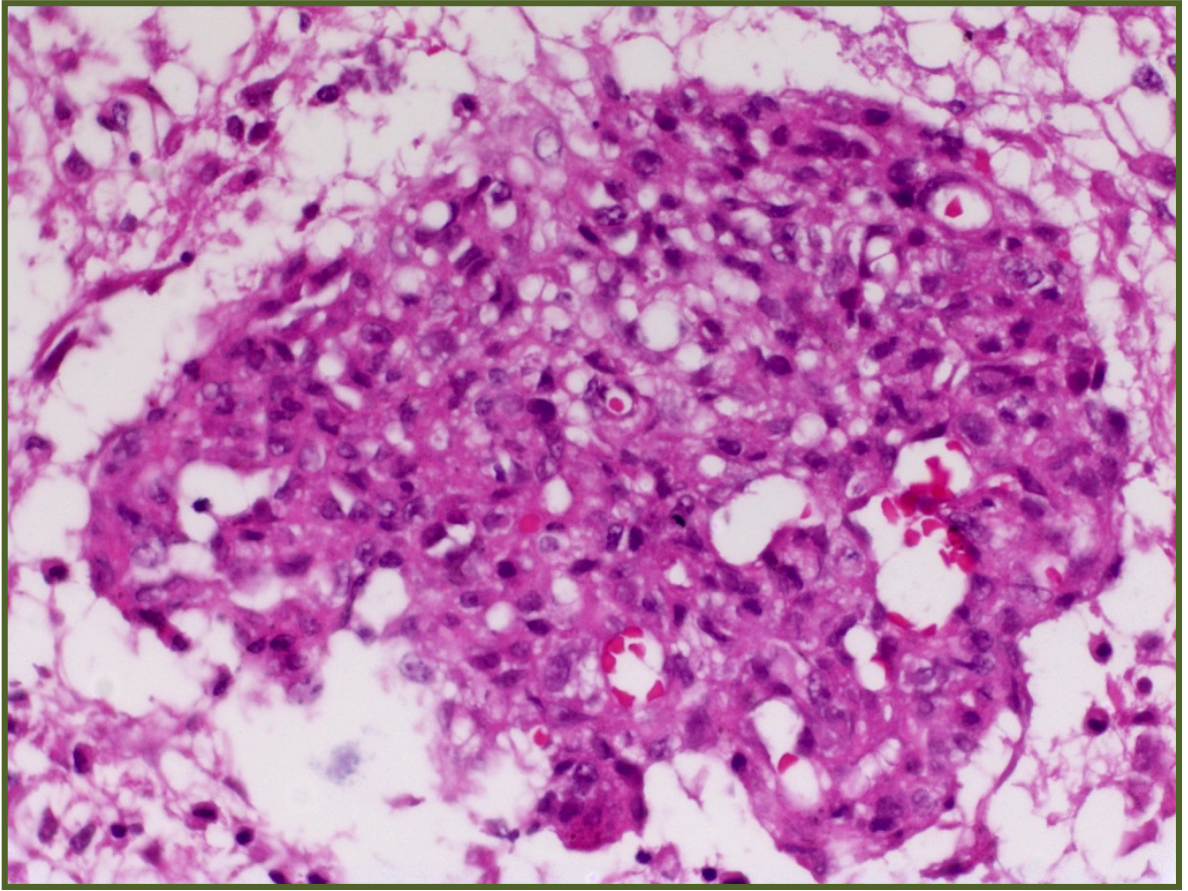


Resim 15: Glioblastoma multiformede geniş iskemik nekroz (Olgu 2, H&E x100).



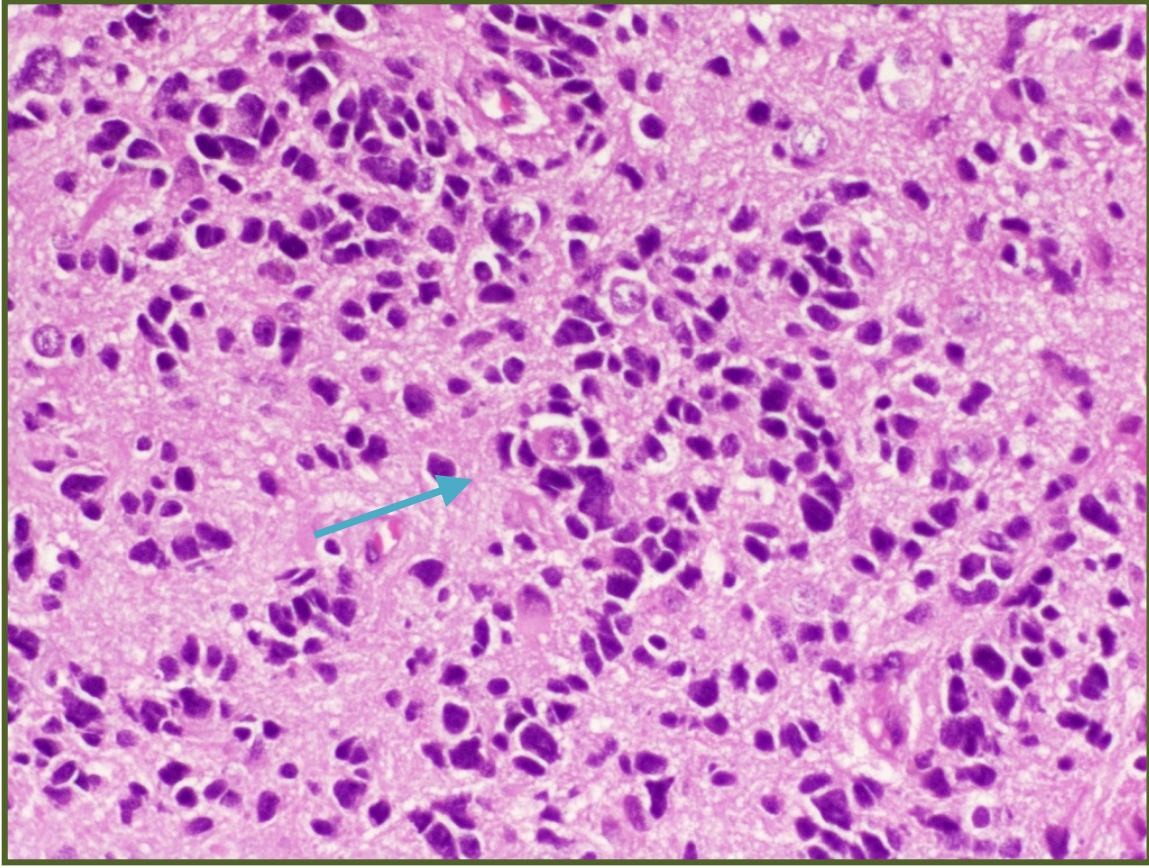
Resim 16: Psödopalizat paternde nekroz glioblastoma multiformede en önemli tanısal özelliklerden biridir (Olgu 7, H&E x100).

Mikrovasküler proliferasyon tipik olarak genelde nekroz alanları çevresinde glomerüloid küme şeklinde izlenmektedirler (Resim 17) (59). Orijinal St. Anne/Mayo grade'leme sisteminde mikrovasküler proliferasyon terimi yerine endotelial proliferasyonu terimi kullanılmaktaydı (74). Ancak çok tabakalı, mitotik yönden aktif endotelial hücrelerin yanı sıra bu alanlarda düz kas hücreleri ve perisitlerin de olduğu gösterilmiştir (94-96). Bu nedenle artık endotelial proliferasyonu terimi yerine mikrovasküler proliferasyona bırakmıştır.



Resim 17: Glioblastoma multiformede, mikrovasküler proliferasyon çok tabakalı glomerül benzeri yapı olarak karşımıza çıkar (Olgu 1, H&E x200).

GBM hücreleri santral sinir sisteminde bariyer oluşturan bir yapıya (korteksin subpial zonu, subependimal alan ve nöronlar) ulaştıklarında, bu alanlarda dizilme ve kümelenme eğilimindedir. Nöronlar etrafındaki dizilim satellitozis olarak adlandırılmaktadır (Resim 18). Bu görünüm oldukça tanısaldır (59).

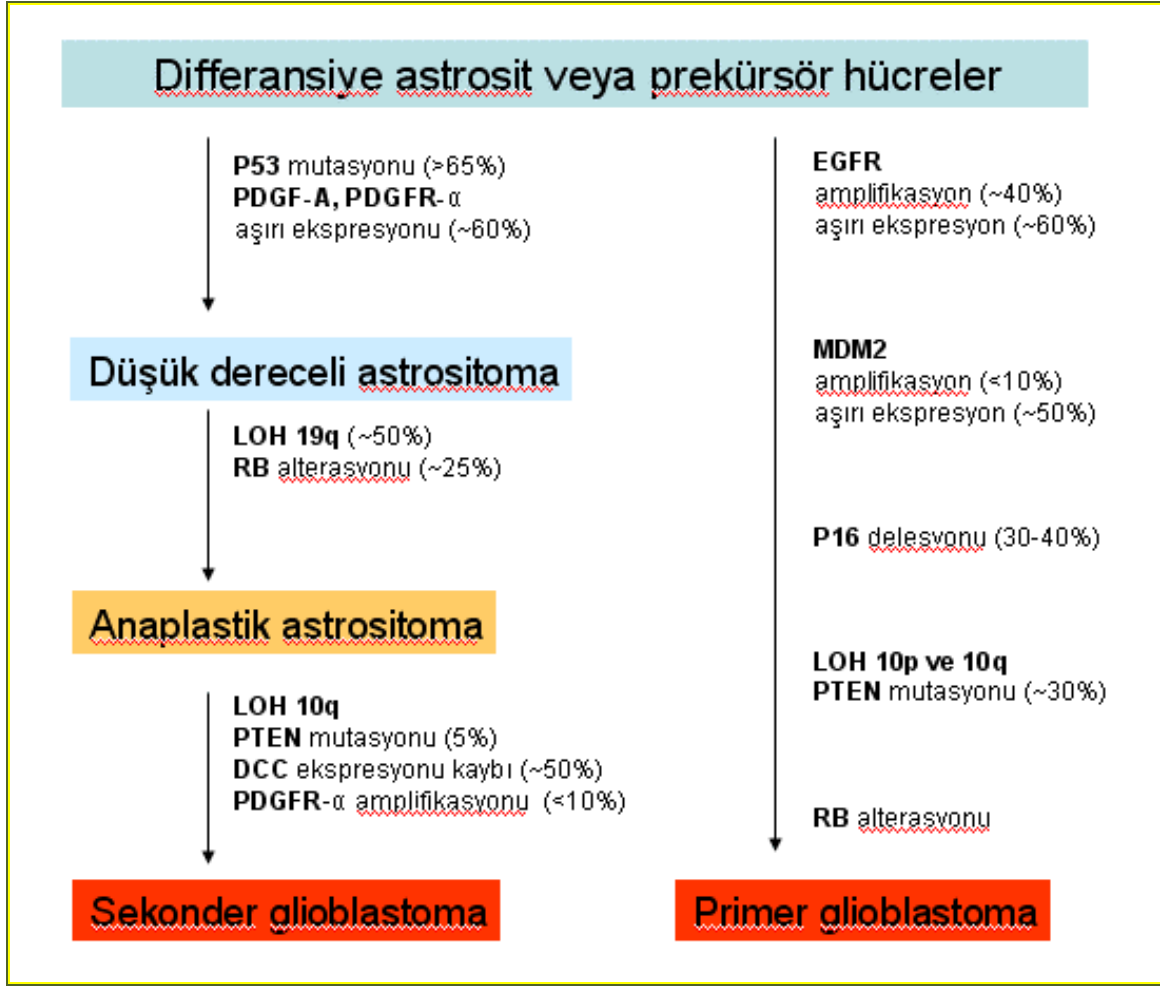


Resim 18: Nöronlar etrafında tümör hücrelerinin dizilimi satelitozis olarak adlandırılır (Olgu 3, H&E x400).

GBM, DA'nın ve AA'nın ilerlemesi şeklinde gelişebileceği (sekonder GBM) gibi, sıklıkla 3 aydan kısa bir klinik öykü sonrasında, daha az malign prekürsör lezyona ait bulgu olmadan; de novo (primer GBM) olarak da gelişir (85, 86). Primer GBM ortalama 55 yaşta, sekonder GBM ise tipik olarak daha genç hastalarda (<45 yaş) görülmektedir (59). Sekonder GBM'li hastaların prognozunun primer GBM'ye kıyasla hafifçe daha iyi olduğu öne sürülmektedir (97).

GBM'de 10q'da heterozigotluk kaybı (LOH) en sık görülen (%69) genetik değişimdir. Bunu EGFR amplifikasyonu (%34), p53 mutasyonu (%31), p16 delesyonu (%31) ve PTEN mutasyonu (%24) izler. Sekonder GBM'de p53 mutasyonu ve LOH 10q siktir (76). Primer ve sekonder GBM'nin farklı genetik yollar izledikleri gösterilmiştir (34, 59) (Tablo 5).

Tablo 5: Primer ve sekonder glioblastoma multiformenin izlediği genetik yollar



Kaynak: Kleiheus P, Cavenee WK (2000) Pathology & Genetics. Astrocytic tumors. In World Health Organisation, Tumors of The Nervous system. IARC Pres: Lyon 2000, pp 9-69.

2.9. Diffüz infiltrasyon gösteren astrositomalarda prognostik faktörler

Diffüz infiltrasyon gösteren astrositik tümörlerde başlıca prognostik faktörler (Tablo 6) genç yaş, yüksek preoperatif Karnofsky performans skoru, tümör lokalizasyonu ve uygulanan tedavidir (cerrahi rezeksiyonun genişliği, radyoterapi, kemoterapi) (59). Uygulanan tedaviler içerisinde, gross total tümör rezeksiyonu yanı sıra radyoterapinin GBM hastalarının uzun dönem sağ kalımlarıyla kuvvetli olarak ilişkilidir (98). Hastaların toplam yaşam süresi başlıca GBM'ye malign progresyon ile ilişkilidir (99). Bazı değişkenlikler

olmakla birlikte sağ kalım DA için 5 yıl, AA için 2-5 yıl ve GBM için genelde 1 yıldan azdır. Tümör zemininde çok sayıda mikrokistlerin varlığı ve perivasküler lenfositik infiltrasyonun daha iyi prognoz ile ilişkili olduğunu öne sürülmektedir (100, 101). Genel kanı olarak çok sayıda gemistositik astrosit içeren DA'ların sıradan fibriler astrositomalara kıyasla malign progresyonunun daha hızlı olduğu kabul edilmektedir (80). GBM'de nekrozun ve nekroz yaygınlığının prognoz üzerinde olumsuz etkileri vardır (102-104). Sekonder GBM'de, prognoz primer olana göre kısmen daha iyidir (97). Sekonder GBM'nin daha erken yaşta görülmesi ve geniş iskemik nekrozun ve/veya psödopalisat paternde nekrozun sekonder olanlarda daha az oranda görülmesi prognozun neden kısmen daha iyi olduğunu açıklamaktadır (88, 105, 106). Homma ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; uzun dönem sağ kalım gösteren GBM hastalarında, istatistiksel olarak anlamlı derecede sık, oligodendrogliyal komponent varlığı gösterilmiştir (106). Genetik çalışmalar bazında, EGFR (epidermal growth factor receptor) ve Cathepsin B ekspresyonu ile LOH 10q zayıf prognozla; yüksek oranda PTEN/MMAC1 (phosphatase and tensin homology/mutated in multiple advanced cancer) ekspresyonu ise daha uzun sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir (107-109).

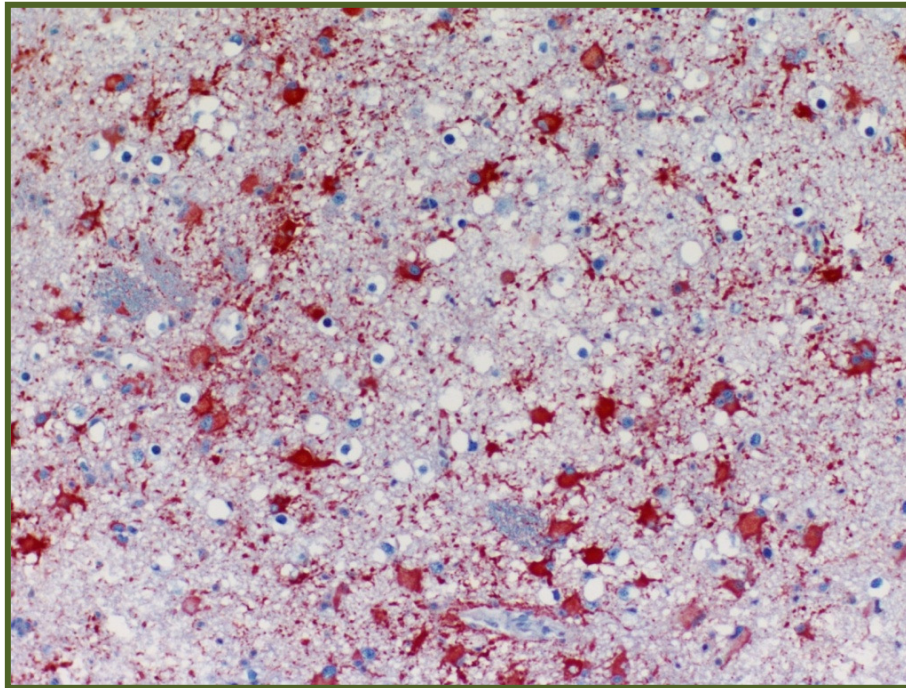
Tablo 6: Diffüz infiltrasyon gösteren astrositik tümörlerde prognostik faktörler

| | Prognozu olumlu yönde etkileyen faktörler | Prognozu olumsuz yönde etkileyen faktörler |
|--------------------|---|---|
| Hasta özellikleri | -Genç yaş -Yüksek preoperatif Karnofsky performans skoru -Uygulanan tedavi (cerrahi rezeksiyonun genişliği, | |
| Tümör özellikleri | -Zeminde çok sayıda mikrokistin varlığı -Perivasküler lenfositik infiltrasyonun varlığı -Oligodendroglial komponentin varlığı | -GBM'ye malign progresyon* -Tümörün hayati fonksiyonları düzenleyen alanlarda yerleşimi (örn; beyin sapı)* -Gemistositik astrositlerin çok sayıda olması -Nekroz varlığı ve yaygınlığı |
| Genetik özellikler | -PTEN/MMAC1 ekspresyonu | -EGFR ekspresyonu -Cathepsin B ekspresyonu -LOH 10q |

* Astrositoma olgularında toplam yaşam süresi başlıca GBM'ye malign progresyon ile ilişkilidir

2.10. Astrositomalarda immünohistokimya

Normal, reaktif ve neoplastik astrositlerde yapısal glial fibriler asidik protein (GFAP) ekspresyonu izlenir (Resim 19).



Resim 19: Astrositlerde GFAP immünoreaktivitesi hücre sitoplazmalarında ve uzantılarında izlenir (Olgu 33, immünperoksidaz x100)

Astrositomalarda GFAP immünoaktivitesi tümörden tümöre değişmekle birlikte, aynı tümörün farklı alanlarında da değişken yoğunlukta ekspresyon saptanır (59). Gemistositlerde güçlü pozitif reaksiyon izlenirken; özellikle sitoplazması ve uzantıları az olan küçük yuvarlak hücreler GFAP ekspresyon etmeme eğilimindedir. GFAP ekspresyonu tümör progresyonu ile azalma gösterir ancak, prognostik değeri yoktur (59). Vimentin immünoaktivitesi de GFAP ile benzerdir (110). Vimentin ekspresyonu perinükleer alanda görülürken; GFAP ekspresyonu ek olarak hücre uzantılarında da görülür. Ayrıca tümör hücreleri sıklıkla S-100 protein ve α B kristalin immünoaktivitesi gösterir (111).

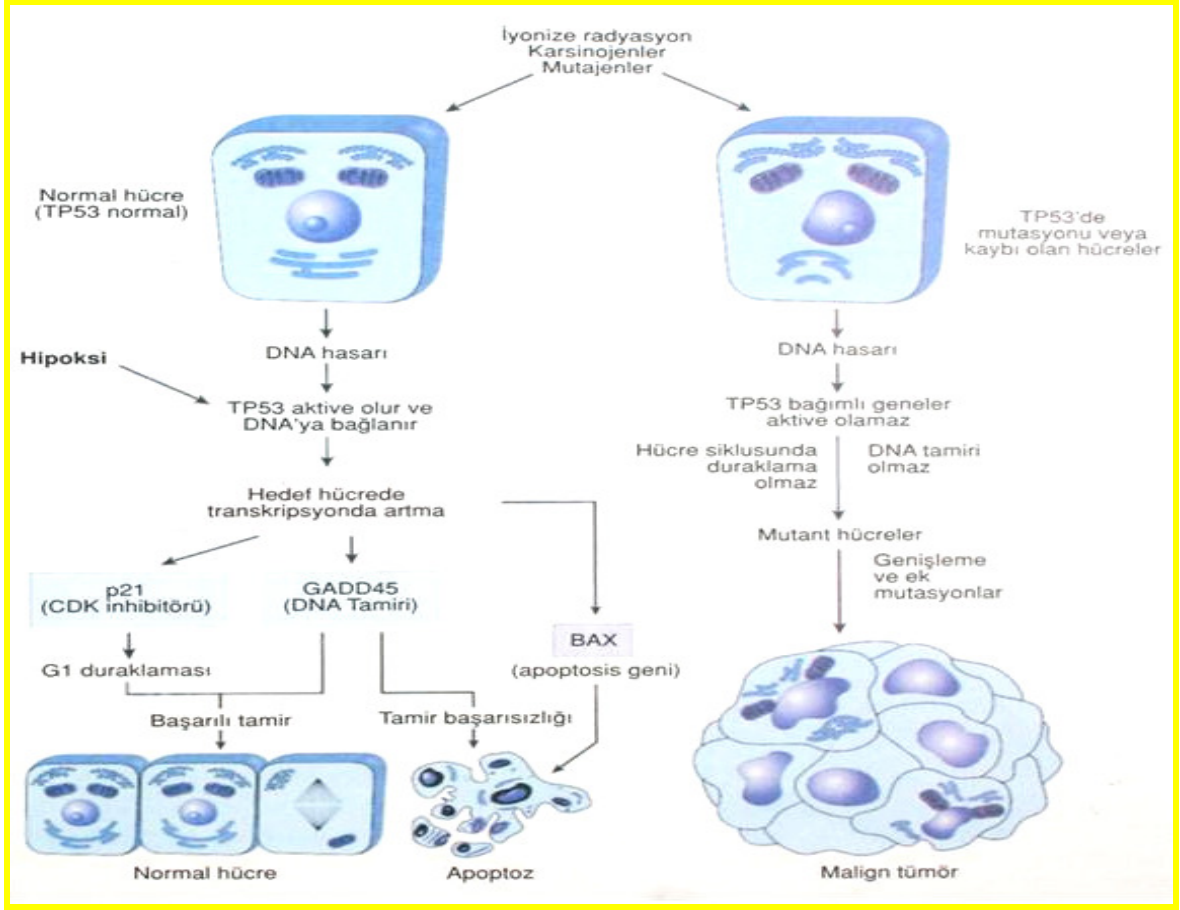
2.11. Astrositomalarda Ki-67 proliferasyon indeksi

Ki-67 ekspresyonu hücre proliferasyonu ile ilişkili nükleer non-histon proteindir. Ki-67 proteini hücre siklusunun tüm aktif fazlarında (G_1 , S, G_2 ve M) saptanırken; dinlenmekte olan hücrelerde (G_0) saptanmaz. Bu nedenle hücre popülasyonunda büyüme fraksiyonunun belirlenmesinde mükemmel bir belirteçdir (112). Ki-67 pozitif hücrelerin sıklığı (Ki-67 proliferasyon indeksi) çoğunlukla neoplastik hastalığın klinik seyri ile ilişkilidir. Proliferasyon indeksi immünohistokimyasal olarak boyanmış Ki-67 pozitif hücrelerin; total hücrelere oranı ile hesaplanmaktadır. Meme ve prostat kanseri ile ilgili çalışmalarda prognostik değeri gösterilmiştir (112). Astroitik tümörlere bakıldığında PA'da Ki-67 proliferasyon indeksi %0-3,9 arasındadır (ortalama %1,1) (113). DA'da mitotik aktivite beklenen bulgu değildir (74). Ki-67 proliferasyon indeksi fibriler ve gemistositik astrositomada %4' den azdır (80). Protoplazmik astrositomada ise bu oran %1'in altındadır (100). DA'nın aksine AA'lar ise mitotik yönden aktif tümörlerdir (59). Ki-67 proliferasyon indeksi genelde %5-10 aralığındadır (114, 115). Fakat bu değerlerde DA veya GBM'de

izlenen değerler yönünde kayma olabilmektedir. Glioblastoma multiforme de ise proliferatif aktivite genelde çok belirgindir ve çok sayıda tipik ve atipik mitoz görülür. Ki-67 proliferasyon indeksi bölgesel olarak çok fazla değişkenlik gösterir. Ortalama değer %15-20 aralığındadır (116-118). Küçük, andifferansiye, fusiform hücreler sıklıkla belirgin proliferatif aktivite gösterirken, neoplastik gemistositik hücrelerde tipik olarak daha az proliferasyon vardır (119). Genel kanı olarak diffüz infiltrasyon gösteren astrositomalarda proliferatif potansiyelin tümörün grade'i ile doğru orantılı olduğu yönündedir. Ancak Ki-67 proliferasyon indeksinin prognostik değeri olmadığı düşünölmektedir. (63, 113-119).

2.12. Astrositomalarda p53 mutasyonu

P53 geni kromozom 17p13.1'de lokalizedir. İnsan tümörlerinin %50'sinden fazlasında bu gende mutasyon saptanmıştır (120). Görevi hücre siklusunu durdurmak ve DNA hasarına ikincil apopitozisi başlatmaktır. DNA hasarında p53 düzeylerinde hızlı artışın yanı sıra eř zamanlı olarak DNA bağımlı protein kinaz ve ATM ("*ataxia-telangectasia mutated*") aktive olmaktadır. Bu enzimler p53'ü fosforile ederek, p53'ü DNA'ya bağlanmaya hazır hale getirirler. P53 ilişkili hücre siklus durması geç G1 fazında olmaktadır. Hücre siklusunda bu duraklama, hücreye DNA hasarını tamir etmek için gerekli zamanı kazandırmaktadır. Eğer DNA hasarı başarılı şekilde tamir edilemez ise normal p53, BAX gibi apopitozis indükleyen genleri aktive ederek, hücre ölümlünü geręekleřtirir (Resim 20). Homozigot p53 kaybında DNA hasarı tamir edilemez ve mutasyonların kalıcı olması sonucunda hücre malign dönüşüme uğrar (121).



Resim 20: P53'ün DNA hasarı varlığında molüler etkileri. (Kaynak: Mitchell RN, Kumar V. Robbins Temel Patoloji (Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, ed). 7. Edisyon. Nobel, İstanbul, s: 187.)

P53 mutasyonları, astrositik beyin tümörlerinde ilk saptanan genetik değişikliktir (122). Oligodendrogliomalar ve ependimomalarda mutasyon oranı astrositomalar kadar yüksek değildir (123). PA gelişiminde p53 gen mutasyonlarının rolü olmadığı kabul edilmektedir (59). DA'nın gemistositik varyantında %80'den fazla olguda p53 mutasyonu gösterilmekle birlikte; tüm DA'larda p53 mutasyon oranı %60'dır (124, 125). Chozick ve ark.'nın yaptıkları çalışmada DA'da p53 mutasyonunun olması daha kısa sağ kalımla ilişkili bulunmuş (126) ancak diğer çalışmalarda klinik seyir ile ilişki bulunamamıştır (127,128). AA'da, DA ile benzer sıklıkta p53 mutasyonu vardır (59) GBM olgularında p53 mutasyonunun sıklığı %25-30 arasındadır (59). Primer ve sekonder GBM'de p53 mutasyonları primer (de novo) GBM'de %10, sekonder GBM'de >%65 olduğu

görülmüştür (99,129). Ayrıca immünohistokimyasal olarak gösterilen p53 protein birikimi de sekonder glioblastomalarda daha fazladır (129). Hastalık ilerledikçe p53 protein ekspresyonu gösteren hücrelerin artması, p53 mutasyonu taşıyan hücrelerin klonal çoğalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (130). Fukushima ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, p53 mutasyonu olan hastaların, mutasyon olmayanlara göre sağ kalımlarının ortalama 2.6 ay kadar kısa olduğu gösterilmiş; ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (98). Sonuç olarak, astrositomalarda p53 aşırı ekspresyonunun prognostik değeri oldukça tartışmalıdır. Literatüre bakıldığında prognostik açıdan öneminin olmadığını öneren yayınlar daha üstün görünmektedir. (123, 127, 128, 131).

2.13. Astrositomalarda CDC25B ekspresyonu

Hücre siklus regülasyon bozukluklarının tümörögenезis ve tümörlerin progresyonu ile yakın ilişkisi bilinmektedir. Hücre siklusu karışık bir süreç olup oldukça fazla molekül ile ilişkilidir. Ökaryotlarda mitoz giriş CDC2-siklin B aktivasyonu ile olmaktadır. CDC2-siklin B kompleksinin inaktivasyonu, G2-M transisyonu olana kadar, Wee-1 veya Mik 1 fonksiyonu ile treonin 14 ve tirozin 15 fosforilasyonu neticesinde gerçekleşmektedir. (3,4). CDC2-siklin B kompleksinin aktivasyonu ise CDC25 tarafından fosforilize edilmesiyle gerçekleşir. CDC25, bir siklin bağımlı kinaz aktive edici fosfataz ailesidir. CDC25A, CDC25B, CDC25C olmak üzere bilinen üç üyesi vardır. Bunların hücre siklusunun farklı noktalarında rol oynadıkları düşünülmektedir (5-8). CDC25A, G1-S kompleksini düzenler. CDC25B ve CDC25C ise mitoz bölünme sırasında CDC2-siklin B aktivasyonundan sorumludur (9-11). CDC25B orijinal formunda CDC2-siklin B kompleksini aktive edebilirken (7, 8, 12), CDC25C ancak fosforile durumda CDC2-siklin B aktivasyonunu katalize edebilmektedir (9). CDC25B mitozu başlatmada CDC25C' ye kıyasla daha

etkilidir (7, 8, 12, 17, 18). CDC25B'nin mitoz bölünmede görevleri; geç G2 fazında sentrozomal mikrotübül nükleasyonu düzenlemek (5) ve mitozu başlatmaktır (11-16). CDC25B aşırı ekspresyonu çeşitli insan tümörlerinde bildirilmiştir. CDC25B'nin belirgin olarak aşırı ekspresyonu, agresif non-Hodgkin lenfomalarında gözlemlenmiştir (20). CDC25B proteininin kolorektal karsinomaların %43'ünde aşırı eksprese olduğu ve bu hastalarda bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (21). Yine başka bir yayımda over kanserli hastalarda CDC25B'nin yüksek ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır (22). Astrositik tümörlerde CDC25B'nin tanısal ve prognostik önemi hakkında, literatürde yapılmış yalnızca bir adet yayın bulunmaktadır (2). Bu çalışmada CDC25B ekspresyonunun tümörün grade'i ile artım gösterdiği ve prognozu olumsuz yönde etkilediği öne sürülmüştür.

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların genel özellikleri

Bu çalışma için 1995-2006 yılları arasında Başkent Üniversitesi, Ankara ve Adana Uygulama ve Araştırma merkezlerinin arşivleri kullanılarak; astrositoma tanısı almış olgular yeniden gözden geçirilmiş ve WHO 2000 beyin tümörleri sınıflamasına göre tekrar grade'lenmiştir. Biyopsi materyalleri küçük olanlar ve astrositik komponent dışında farklı morfolojide tümör alanları (örn; oligodenrogloma alanları) içeren olgular çalışmaya alınmamıştır. Dosya bilgileri yetersiz olan olgularda, hastalara veya hasta yakınlarına telefon ile ulaşılarak hastalığın seyri hakkında bilgi alınmıştır. Ulaşılamayan olgular ise çalışmadan çıkarılmıştır. Sonuçta çalışma kapsamına, diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma tanısı almış 36 olgu (10 DA, 6 AA, 20 GM), PA tanısı almış 10 olgu, tümör dışı nedenler ile opere edilen ve histopatolojik tanısı reaktif gliozis ile uyumlu 5 olgu ile kontrol amacı ile 10 adet normal beyin dokusu (beyin tümörü dışı hastalık nedeniyle eksitus gerçekleşmiş, otopsi olgularından) alınmıştır. Çalışmamıza dahil edilen biyopsi materyalleri %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilip, uygun takip işleminden sonra parafin bloklara gömülmüştür. Tüm olguların 3µ kalınlığında hematoksilin&eoizin (H&E) kesitleri mevcuttur. Formalin ile fikse, parafine gömülü rezeksiyon materyallerini içeren bloklardan hazırlanan kesitler, immünohistokimyasal boyama yöntemi ile CDC25B, Ki-67 ve p53 primer antikoru ile boyanmıştır.

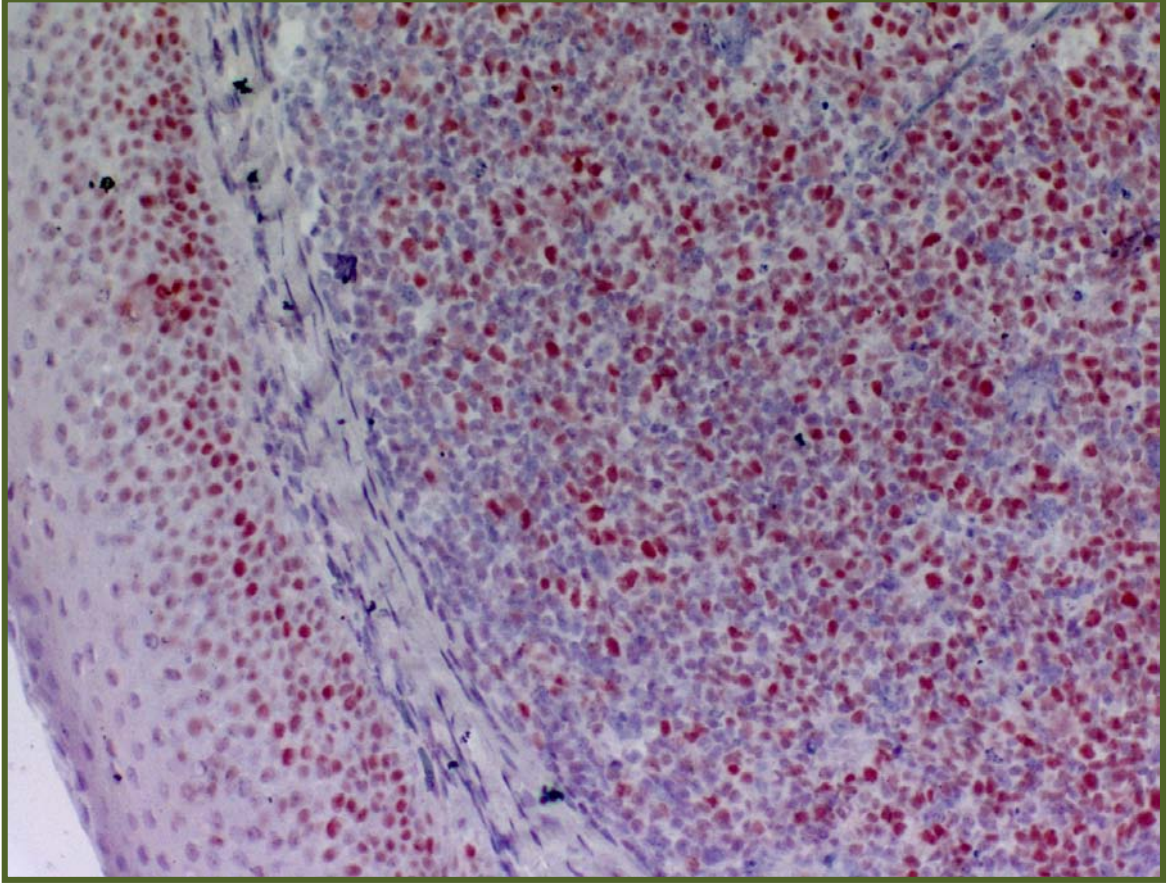
3.2. İmmünohistokimyasal boyama yöntemleri

- 1- Her olgunun, %10'luk formalin solüsyonunda fiske edilip, rutin takip işleminden sonra parafin bloklara gömülen biyopsi bloklarından polilizin kaplı lamlara 3-4µ kalınlığında kesitler hazırlanmıştır.
- 2- Kesitler, 56°C'lık etüvde 12 saat bekletildikten sonra, ksilolde deparafinize, alkolde rehidrate ve distile suda hidrate edilmiştir.
- 3- Antikorlar uygulanmadan önce antijenin geri kazanılması için "antigen retrieval" işlemi uygulanmıştır. Bunun için 10mM ve pH 6.0 olarak hazırlanan trisodyum sitrat tampon çözeltisi ("antigen retrieval" solüsyonu) hazırlanmıştır. Kesitleri sıvı seviyesi lamları örtecek şekilde hazırlanan sitrat solüsyonuna yerleştirip; mikrodalga fırında 20 dakika kaynatılmıştır.
- 4- Sitrat solüsyonunun soğuması için oda sıcaklığında 20 dakika beklendikten sonra, kesitler çeşme suyunda yıkanmıştır.
- 5- Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla oda ısında 15 dakika %3'lük hidrojen peroksit uygulanmıştır.
- 6- Daha sonra Tris-buffered saline (TBS) [(50mM Tris-HCl, 150 mM NaCl (pH 7.6)] ile yıkanan kesitlere; labeled streptavidin-biotin peroksidaz tekniği uygulanarak aşağıdaki basamakları izlemek yoluyla immünohistokimyasal boyama uygulanmıştır.
 - Kesitlere protein "blocking solution" damlatılarak oda ısında 10 dakika bekletilmiştir.
 - "Blocking solution" fazlası silindikten sonra kesitlere kullanıma hazır anti Ki-67 antikor (monoclonal rabbit, clone SP6, Neomarkers) oda ısında 2,5 saat uygulanmıştır.

- TBS ile yıkama işleminden sonra; kesitler biotinlenmiş multilink sekonder antikor damlatılarak oda ısında 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra TBS ile yıkanmıştır.
- Kesitlere konjuge streptavidin enzim damlatılıp; oda ısısında 15 dakika bekletildikten sonra TBS ile yıkanmıştır.
- Kesitlere AEC (“3-amino, 9 ethyl-carbazole”) kromojen damlatıldıktan sonra çeşme suyunda yıkanmıştır.
- Hematoksilen ile 10 saniye zıt boyama yapıp, çeşme suyunda yıkandıktan sonra; kesitler ıslakken sulu kapatma yöntemiyle kapatılmıştır.

Aynı basamaklar anti p53 antikor (polyclonal rabbit, clone SP5, Neomarkers) ve anti CDC25B için de (monoclonal mouse, clone 25B03, Neomarkers) farklı seri kesitlerde tekrarlanmıştır. CDC25B boyamasında tek farklı basamak “antigen retrieval” işlemi sırasında; trisodyum sitrat tampon çözeltisi yerine EDTA (ethilen--diamine-tetraacetic acid) pH 8,0 kullanılmasıdır.

Pozitif kontrol olarak Ki-67 ve anti CDC25B antikor için kuvvetli nükleer boyanma gösterdiği bilinen tonsilla palatina kesitleri; anti p53 antikor için ise yine kuvvetli nükleer boyanma gösterdiği bilinen kolon adenokarsinomu kesitleri kullanılmıştır (Resim 21).



Resim 21: CDC25B imünohistokimyasal boyamasında pozitif kontrol olarak, kuvvetli nükleer boyanma gösteren tonsilla palatina dokusu kullanılmıştır (immünperoksidaz x200).

3.3. İmmünohistokimyasal olarak boyanan kesitlerin değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal yöntem ile boyanan her kesit ışık mikroskopunda incelenerek, her üç antikor için de nükleer boyanmanın en yüksek olduğu alan seçilmiştir. CDC25B ve Ki-67 için, grid altında 1000 tümör hücresi sayılarak; nükleer boyanma gösteren tümör hücrelerinin, sayılan 1000 tümör hücresine oranı hesaplanarak boyanma indeksleri yüzde olarak saptanmıştır. CDC25B için ara değer %20 olarak belirlenip; boyanma indeksi \geq %20 ise yüksek CDC25B boyanma indeksi (CBİ) , $<$ %20 ise düşük CBİ olarak kabul edilmiştir (2). Ki-67 için boyanma indeksi \geq %10 ise yüksek boyanma indeksi, $<$ %10 ise düşük boyanma indeksi olarak sınıflanmıştır. P53 için nükleer ekspresyon gösteren tümör

hücrelerinin, tüm tümör hücrelerine oranı, yine grid altında hesaplanarak; oran \geq %10 ise yüksek ekspresyon, <%10 ise düşük ekspresyon olarak kabul edilmiştir.

Sitoplazmik boyanma p53 ve CDC25B için çok az tümör hücresinde nükleer boyanmaya eşlik etmiştir. Ancak sitoplazmik boyanma dikkate alınmadan sadece nükleer boyanma değerlendirilmiştir. Pozitif nükleer boyanma olmayan olgularda istatistiksel çalışmalarda değer taşıması için; düşük boyanma indeksi grubuna dahil edilmiştir.

3.6. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS yazılımı (Statistical Package for the Social Sciences for Windows, version 11.0, SPSS INC, Chicago, IL, USA) ile yapıldı. Sağ kalım sürelerinin belirlenebilmesi için Kaplan-Meier sağ kalım eğrisi, diğer verilerin incelenmesinde ki kare testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ ile uyumlu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmaya Hastane Klinik Araştırmalar ve Etik Kurul onayı alındıktan sonra başlanmıştır.

BULGULAR

Değerlendirilen veriler, aşağıdaki alt başlıklar halinde gruplandırılmıştır.

- 4.1. Klinik parametrelerin sonuçları
- 4.2. CDC25B boyanma indeksinin klinik ve diğer immünohistokimyasal belirteç verileri ile ilişkisinin sonuçları
- 4.3. Ki-67 proliferasyon indeksi verilerinin sonuçları
- 4.4. P53 ekspresyonu verilerinin sonuçları

Tablo 7' te olgu bazında hastaların çeşitli klinik verileri (cinsiyet, yaş, sağ kalım, canlı/eksitus) ile CDC25B, p53 ve Ki-67 boyanma yüzdeleri gösterilmektedir.

Tablo 7: Olguların genel özellikleri

| Olgu | Cinsiyet | Yaş | Sağ kalm (ay) | Canlı/eksitus | CDC25B (%) | p53 (%) | Ki-67 (%) | Tam |
|------|----------|-----|---------------|---------------|------------|---------|-----------|-----|
| 1 | K | 48 | 15 | C | 22,00 | 6,2 | 18,0 | GBM |
| 2 | E | 70 | 14 | E | 21,00 | 2,0 | 8,5 | GBM |
| 3 | E | 37 | 14 | E | 3,20 | 1,9 | 13,4 | GBM |
| 4 | E | 72 | 8 | E | 61,00 | 3,2 | 39,5 | GBM |
| 5 | K | 60 | 3 | E | 21,00 | 3,8 | 16,7 | GBM |
| 6 | E | 48 | 15 | E | 23,20 | 68,0 | 21,3 | GBM |
| 7 | K | 72 | 11 | E | 24,00 | 10,1 | 8,0 | GBM |
| 8 | K | 54 | 16 | E | 16,00 | 0,0 | 27,2 | GBM |
| 9 | K | 68 | 8 | E | 23,30 | 2,6 | 18,3 | GBM |
| 10 | K | 61 | 13 | E | 21,70 | 18,2 | 12,0 | GBM |
| 11 | K | 56 | 7 | E | 44,00 | 21,1 | 20,0 | GBM |
| 12 | K | 64 | 11 | E | 20,50 | 12,5 | 25,5 | GBM |
| 13 | E | 54 | 32 | C | 26,00 | 1,6 | 12,5 | GBM |
| 14 | E | 55 | 45 | E | 24,50 | 54,0 | 31,2 | GBM |
| 15 | E | 73 | 1 | E | 25,00 | 7,5 | 25,3 | GBM |
| 16 | E | 51 | 18 | E | 20,70 | 0,0 | 36,7 | GBM |
| 17 | E | 39 | 11 | E | 17,00 | 3,2 | 32,5 | GBM |
| 18 | E | 50 | 8 | E | 29,00 | 2,6 | 42,3 | GBM |
| 19 | K | 53 | 9 | E | 34,30 | 0,0 | 30,5 | GBM |
| 20 | E | 36 | 8 | E | 33,00 | 0,0 | 31,3 | GBM |
| 21 | E | 36 | 5 | E | 8,00 | 0,0 | 6,0 | AA |
| 22 | E | 27 | 63 | C | 5,80 | 1,0 | 7,1 | AA |
| 23 | K | 35 | 42 | E | 9,20 | 36,2 | 10,1 | AA |
| 24 | E | 73 | 21 | E | 7,50 | 19,4 | 4,0 | AA |
| 25 | K | 58 | 27 | C | 8,40 | 50,4 | 5,0 | AA |
| 26 | E | 40 | 2 | E | 7,50 | 0,0 | 0,1 | AA |
| 27 | E | 32 | 147 | C | 0,00 | 0,0 | 6,0 | DA |
| 28 | K | 29 | 71 | E | 1,60 | 9,6 | 1,7 | DA |
| 29 | E | 38 | 108 | C | 0,00 | 0,0 | 1,6 | DA |
| 30 | K | 37 | 19 | C | 1,00 | 27,8 | 2,5 | DA |
| 31 | K | 48 | 13 | C | 0,00 | 14,0 | 2,5 | DA |
| 32 | K | 36 | 87 | C | 1,20 | 0,0 | 3,0 | DA |
| 33 | E | 23 | 82 | C | 0,00 | 20,2 | 2,4 | DA |
| 34 | E | 47 | 32 | C | 0,00 | 48,5 | 12,5 | DA |
| 35 | E | 18 | 71 | E | 0,00 | 12,5 | 0,0 | DA |
| 36 | E | 40 | 45 | C | 0,00 | 2,6 | 4,3 | DA |
| 37 | K | 21 | 94 | C | 0,80 | 0,0 | 0,6 | PA |
| 38 | K | 24 | 42 | C | 1,10 | 0,0 | 2,2 | PA |
| 39 | E | 34 | 36 | C | 0,00 | 0,0 | 1,0 | PA |
| 40 | E | 20 | 18 | C | 0,00 | 0,0 | 1,4 | PA |
| 41 | K | 3 | 0,1 | E | 4,30 | 0,0 | 1,6 | PA |
| 42 | K | 15 | 13 | C | 0,00 | 0,0 | 0,2 | PA |
| 43 | K | 9 | 28 | C | 0,00 | 0,0 | 0,2 | PA |
| 44 | K | 14 | 9 | C | 0,00 | 0,0 | 1,5 | PA |
| 45 | E | 16 | 30 | C | 0,00 | 0,0 | 0,4 | PA |
| 46 | E | 5 | 20 | C | 0,00 | 0,0 | 1,0 | PA |

4.1. Klinik parametrelerin sonuçları

DA, AA, GBM ve PA için tanı anında ortalama yaş sırasıyla; $34,8\pm3$, $44,8\pm7$, $56\pm2,6$ ve $16,1\pm2,9$ ' dur. Cinsiyet dağılımı (erkek/kadın) ise sırasıyla; 6/4, 4/2, 11/9 ve 5/5' dir. DA olgularında en sık görülen semptomlar nöbet ve baş ağrısıyken, tümör yerleşimi en fazla paryetal lobda ve onu takip eden oksipital lobdadır. AA grubunda sık görülen semptom sırası nöbet ve dengesizlik; tümör yerleşimi ise frontotemporal ve temporal lobdur. GBM hastalarında baş ağrısı, hemiparezi ve nöbet en sık görülen üç semptomdur; tümör yerleşimi ise bu grupta en çok paryetal lobda olmak üzere, bu lokalizasyonu temporal ve frontal lob takip etmektedir. PA olgularında olguların büyük çoğunluğu serebelumdadır. Bu grupta en sık görülen üç semptom; sırasıyla baş ağrısı, görme bozukluğu ve dengesizlik olmuştur. Ortalama sağ kalım süresi, DA için 122 ± 15 ay, AA için 31 ± 10 ay, GBM için 15 ± 3 aydır. Sağ kalım hızı ise grade arttıkça azalma göstermiştir (Tablo 8).

Tablo 8: Diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma olgularının yaş, cinsiyet ve sağ kalım verileri

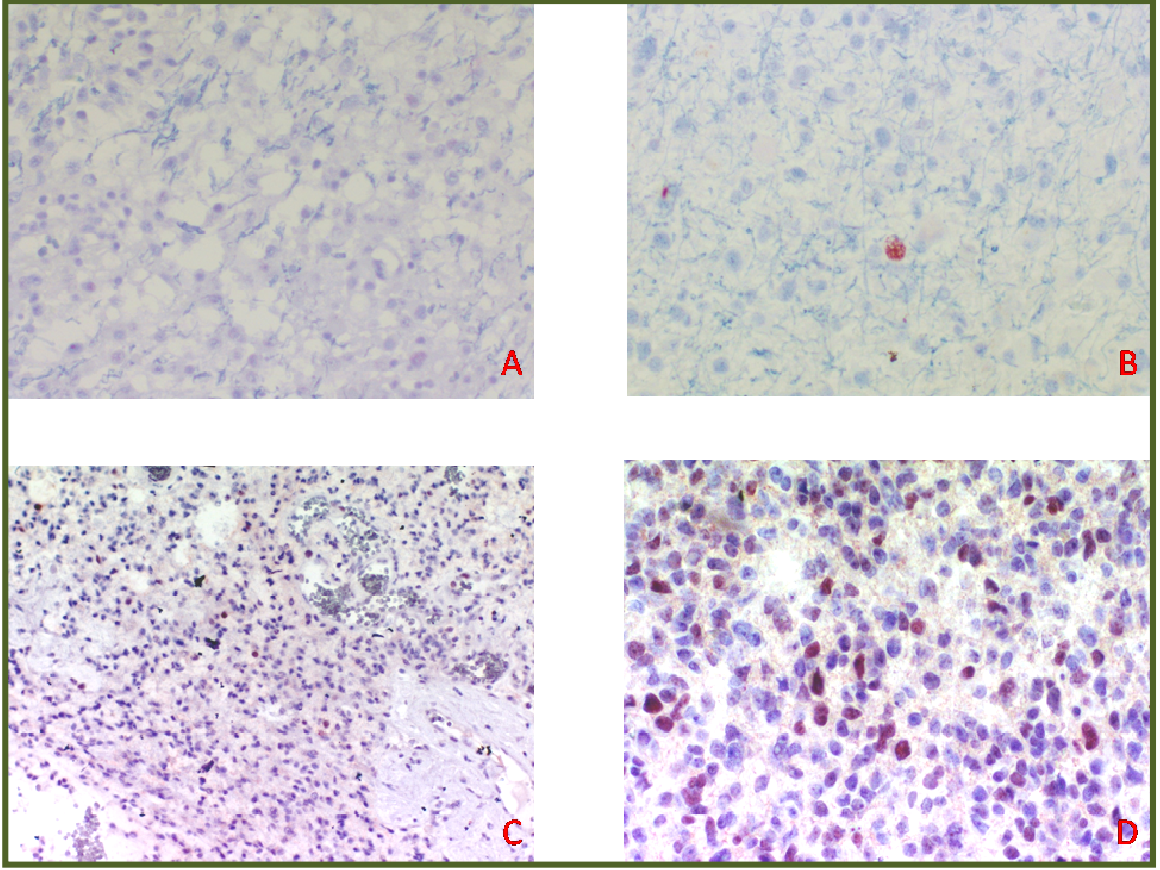
| Tümör | WHO grade | E/K oranı | Tanı anında ortalama yaş | Ortalama sağ kalım (ay) | Sağ kalım (%) | | | |
|-------------------------|-----------|-----------|--------------------------|-------------------------|---------------|-------|-------|--------|
| | | | | | 1 yıl | 2 yıl | 5 yıl | 10 yıl |
| Diffüz astrositoma | II | 1,5 | $34,8\pm3$ | 122 ± 15 | 100 | 80 | 60 | 10 |
| Anaplastik astrositoma | III | 2 | $44,8\pm7$ | 31 ± 10 | 66,7 | 50 | 16,7 | 0 |
| Glioblastoma multiforme | IV | 1,2 | $56\pm2,6$ | 15 ± 3 | 45 | 10 | 0 | 0 |

4.2. CDC25B boyanma indeksinin klinik ve diğer immünohistokimyasal belirteç verileri ile ilişkisi sonuçları

Nükleer CDC25B ekspresyonu pozitif olarak kabul edilmiştir. Arada seyrek hücrede izlenen sitoplazmik boyanma değerlendirme dışı bırakılmıştır. PA grubunda CBI ortalama %0,6, DA grubunda %0,4, AA grubunda %7,7 ve GBM grubunda ise %25,5 olarak saptanmıştır (p=0,001) (Tablo 9). Reaktif gliozis ve tümör içermeyen normal beyin dokusunda ekspresyon saptanmamıştır. Resim 22'de, astrositoma gruplarında örnek CDC25B boyanması gösterilmiştir.

Tablo 9: CDC25B boyanma indeksinin (CBI) astrositomalardaki ortalama değerleri

| WHO grade | CBI ortalama değeri (%) | Standart sapma | p=0,001 |
|-----------|-------------------------|----------------|---------|
| I | 0,6 | 1,4 | |
| II | 0,4 | 0,6 | |
| III | 7,7 | 1,1 | |
| IV | 25,5 | 11,5 | |



Resim 22: CDC25B boyanma indeksi. A- PA olgusunda (olgu 39) %0, B- DA olgusunda (olgu 28) %1,6, C- AA olgusunda (olgu 24) %7,5, D- GBM olgusunda (olgu 11) %44. (immünperoksidaz A,B,D x400, C x200).

CBİ; DA, AA ve PA'ların tamamında düşük bulunmuştur. PA grubunda sadece 2 olguda CDC25B ekspresyonu saptanmış; CBİ ilk olguda %1,1, ikinci olguda %4,3 olarak saptanmıştır. Bu ikinci olgu 3 yaşında olup tümör beyin sapı yerleşimliydi. Tümör çapı küçük olsa dahi (2cm) cerrahi komplikasyon nedeniyle postoperatif ikinci günde hızla eksitus gelişmiştir. GBM olgularının 17'sinde (%85) yüksek CBİ, sadece 3 olguda ise düşük (%15) CBİ saptanmıştır. Bu olgularda CBİ sırasıyla %3,2, %16, %17'dir. Bu veriler ışığında WHO grade'i arttıkça CBİ'nin artım göstermesi (p=0,001) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 10). 45 yaş ve üzeri 21 olgunun 16'sında (%76,2) yüksek CBİ, 45 yaş altı 25 olgunun 24'ünde (%96) düşük CBİ saptanmıştır (p=0,0001) (Tablo 10). GBM grubunda düşük CBİ olan 3 olgunun, ikisinin yaşlarının da 45'in altı olması (37 ve 39 yaş) dikkati çekmiştir. CBİ'nin yüksek olarak bulunduğu 17 GBM olgunun 9' u erkek (%52,9), 8'i ise kadındır (%47,1). Düşük CBİ grubunda ise 17 olgu erkek (%58,6), 12 olgu

kadındır (%41,3) (Tablo 10). Cinsiyet ve CBİ arasında istatistiksel olarak anlam saptanmamıştır (p=0,708). Tümör boyutunun ≥ 5 cm olduğu 14 olgunun 9'unda (%64,3) yüksek CBİ; < 5 cm olduğu 32 olgunun 24'ünde (%75) düşük CBİ saptanmıştır (Tablo 10). Tümör boyutu ve CBİ arasında istatistiksel olarak kuvvetli ilişki vardır (p=0,027). Ki-67 proliferasyon indeksinin yüksek olduğu 19 olgunun 15'inde (%78,9) CBİ de yüksek bulunmuş Ki-67 proliferasyon indeksinin düşük olduğu 27 olgunun 25'inde (%92,6) CBİ de düşük olarak saptanmıştır (Tablo 10). Ki-67 proliferasyon indeksi ve CBİ arasında istatistiksel olarak kuvvetli ilişki dikkati çekmiştir (p=0,001). P53 ekspresyonunun yüksek olduğu 14 olgunun 6'sında (%42,9) yüksek CBİ, düşük olduğu 32 olgunun 11'inde (%34,4) ise yüksek CBİ saptanmıştır (Tablo 10). Ki-67'nin aksine p53 ile CBİ arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (p=0,829).

Tablo 10: CDC25B boyanma indeksinin klinikopatolojik veriler ile ilişkisi

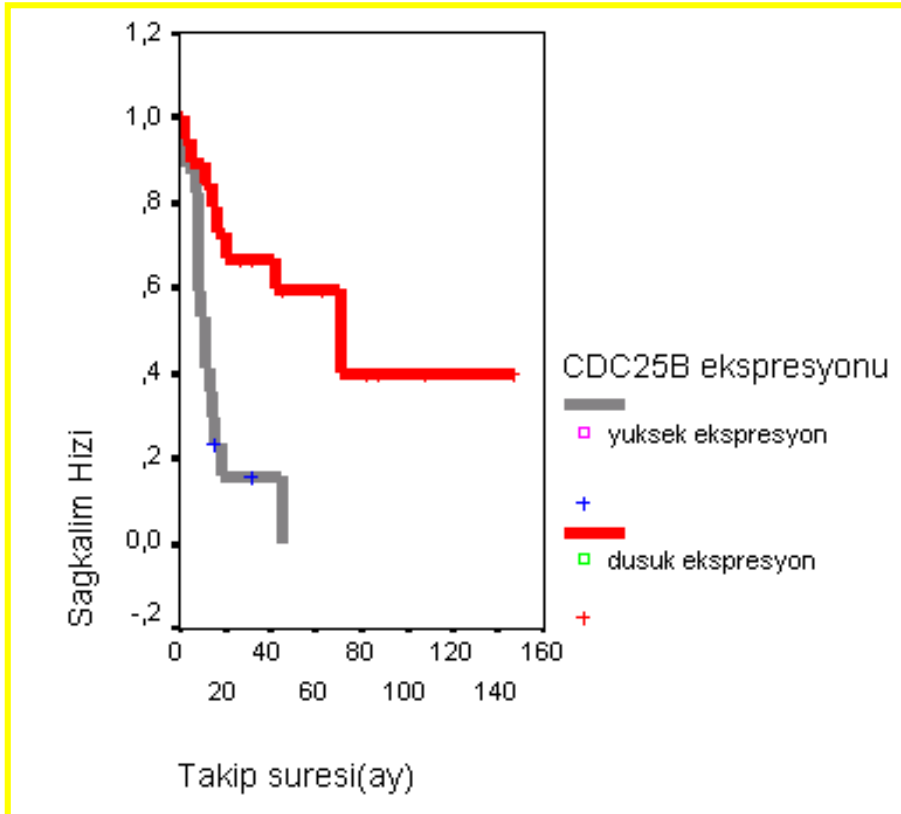
| | CDC25B protein ekspresyonu | | | | p değeri |
|---------------------------|----------------------------|------|------------------------|------|------------|
| | düşük (<20%) | | yüksek ($\geq 20\%$) | | |
| | Sayı | % | Sayı | % | |
| Total | 29 | 63 | 17 | 37 | |
| Yaş | | | | | |
| ≥ 45 | 5 | 23,8 | 16 | 76,2 | p=0,0001 * |
| <45 | 24 | 96 | 1 | 4 | |
| Cinsiyet | | | | | |
| Erkek | 17 | 65,4 | 9 | 34,6 | p=0,708 |
| Kadın | 12 | 60 | 8 | 40 | |
| WHO grade | | | | | |
| II | 10 | 100 | 0 | 0 | p=0,001 * |
| III | 6 | 100 | 0 | 0 | |
| IV | 3 | 15 | 17 | 85 | |
| I | 10 | 100 | 0 | 0 | |
| Ki-67 prolif. indeksi (%) | | | | | |
| ≥ 10 | 4 | 21,1 | 15 | 78,9 | p=0,001 * |
| <10 | 25 | 92,6 | 2 | 7,4 | |
| P53 ekspresyonu (%) | | | | | |
| ≥ 10 | 8 | 57,1 | 6 | 42,9 | p=0,829 |
| <10 | 21 | 65,6 | 11 | 34,4 | |
| Tümör boyutu (cm) | | | | | |
| ≥ 5 | 5 | 35,7 | 9 | 64,3 | p=0,027 * |
| <5 | 24 | 75 | 8 | 25 | |

* istatistiksel olarak anlamlı

Diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma grubunda, yüksek CBI' ne sahip olgularda sağ kalım ortalama 15 ay, düşük CBI' ne sahip olgularda ise ortalama sağ kalım 79 ay olarak bulunmuştur (Tablo 11, resim 23). Çalışmamızda GBM grubunda CBI'nin yüksek olmasının sağ kalımı azalttığı dikkati çekse de aradaki ilişki rastlantısal olup istatistiksel olarak anlam bulunmamıştır ($r = -0,415$, $p = 0,069$).

Tablo 11: CDC25B boyanma indeksinin sağ kalım ile ilişkisi

| CBI | Ortalama sağ kalım (ay) | Canlı | Eksitus | Sağ kalım hızı (%) |
|--------|-------------------------|-------|---------|--------------------|
| yüksek | 15 | 2 | 15 | 11,8 |
| düşük | 79 | 10 | 9 | 52,6 |



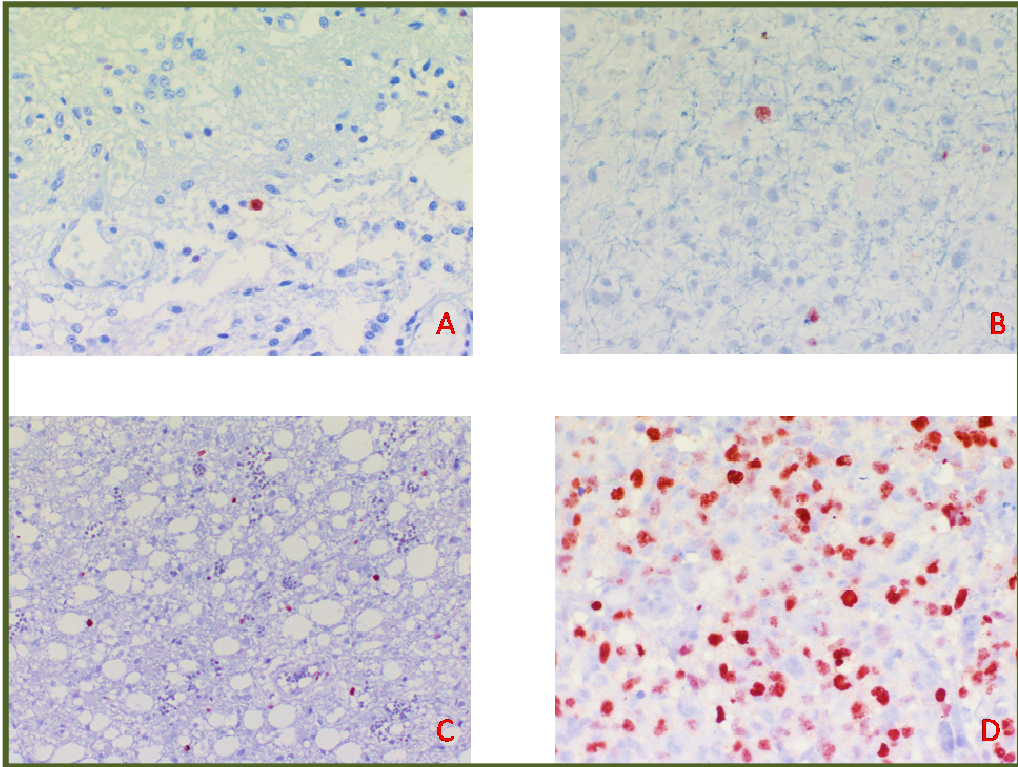
Resim 23: Kaplan-Meier sağ kalım eğrileri. Eğriler CDC25B ekspresyon düzeyine göre tanımlanmıştır. Düşük CDC25B ekspresyonu olan hastalarda hastalısız sağ kalım belirgin olarak uzamıştır.

4.3. Ki-67 proliferasyon indeksi verilerinin sonuçları

Diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma olgularında hastalığın grade'i arttıkça Ki-67 proliferasyon indeksinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır (p=0,001) (Tablo 12). Normal beyin dokusunda Ki-67 ile boyanmış hücre saptanmamıştır. Reaktif gliozis olgularında ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi 2,9 (standart sapma= 1,37) olarak bulunmuştur. Resim 24'de, astrositoma gruplarında örnek Ki-67 boyanması gösterilmiştir.

Tablo 12: Astrositomalarda Ki-67 proliferasyon indeksi

| WHO grade | Ortalama | Standart sapma | p=0,001 |
|-----------|----------|----------------|---------|
| I | 1 | 1,4 | |
| II | 3,7 | 3,5 | |
| III | 5,4 | 3,3 | |
| IV | 25,5 | 10,2 | |



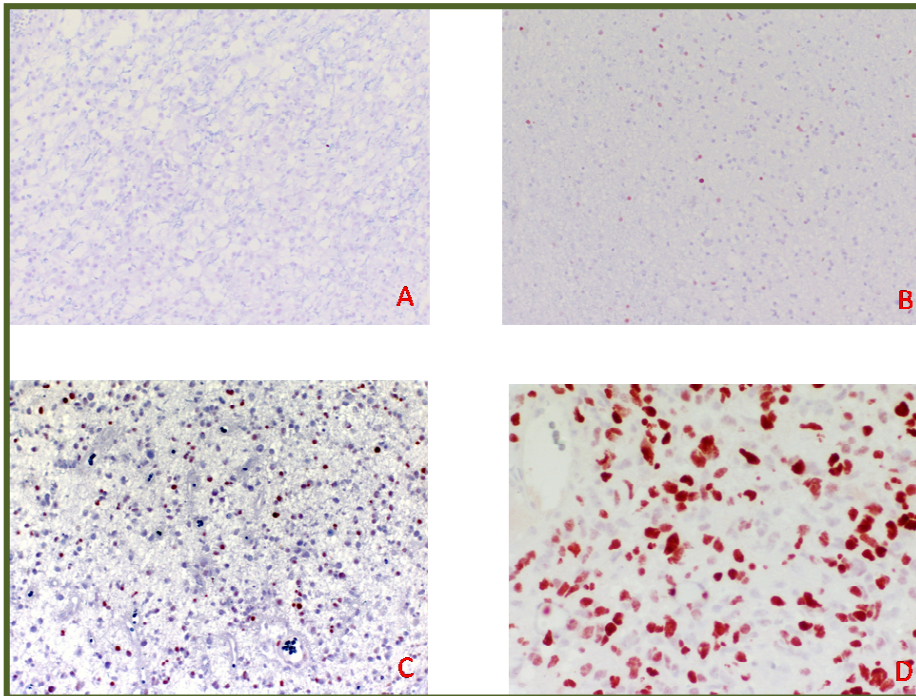
Resim 24: Ki-67 proliferasyon indeksi. A- PA olgusunda (olgu 45) %0,4 B- DA olgusunda (olgu 30) %2,6, C- AA olgusunda (olgu 23) %10,1, D- GBM olgusunda (olgu 4) %39,5 (immünperoksidaz A,B,D x400, C x200).

4.4. P53 ekspresyonu verilerinin sonuçları

Normal beyin dokusunda, reaktif gliozis olgularında ve PA olgularında p53 ile ekspresyon saptanmamıştır. Diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma olgularında (DA, AA, GBM) p53 ekspresyonu benzer seviyelerdedir. P53 ekspresyonu ile grade arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0,136$) (Tablo 13). Resim 25’ de, astrositoma gruplarında örnek p53 boyanması gösterilmiştir.

Tablo 13: Astrositomalarda p53 ekspresyonu

| WHO grade | Ortalama (%) | Standart sapma | p=0,136 |
|-----------|--------------|----------------|---------|
| I | 0 | 0 | |
| II | 13,5 | 15,5 | |
| III | 17,8 | 21,5 | |
| IV | 10,9 | 18,2 | |



Resim 25: P53 ekspresyonu. A- PA olgusunda (olgu 40) %0, B- DA olgusunda (olgu 27) %9,6, C- AA olgusunda (olgu 24) %19,4, D- GBM olgusunda (olgu 6) %68 (immünperoksidaz A,B,C x200, D x400).

TARTIŞMA

Hücre siklus regülasyon bozukluklarının tümörögenезis ve tümörlerin progresyonu ile yakın ilişkisi bilinmektedir. Ökaryotlarda mitozaya giriş CDC2-siklin B aktivasyonu ile olmaktadır. CDC25B ise CDC2-siklin B kompleksini aktive etmektedir (2-19). Kolon, over, tiroid, akciğer karsinomunda ve non-Hodgkin lenfomalarında CDC25B'nin aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (20-25). Astrositik tümörlerde CDC25B'nin tanısallık ve prognostik önemi hakkında, literatürde yapılmış yalnızca bir adet yayın bulunmaktadır (2). Nakayabashi ve ark. yaptıkları bu çalışmada hasta grubu olarak diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma olguları incelenmiş; CDC25B ekspresyonunun astrositomaların grade'i ile artım gösterdiği ve prognozu olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır (2). Değerlendirdikleri 21 DA olgusunun tamamında düşük CDC25B ekspresyonu, 17 AA olgusunun 10'unda ve 19 GBM olgusunun 18'inde yüksek CDC25B ekspresyonu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise benzer şekilde tüm DA olgularında (10 olgu) düşük ekspresyon saptanmışken; yine benzer şekilde GBM olgularının çoğunda (20 olgunun 17'sinde) yüksek CDC25B ekspresyonu bulunmuştur. Ancak bizim çalışmamızdaki en önemli farklılık, AA grubunda olmuştur. AA olgularımızın tamamında (6 olgu) düşük CDC25B ekspresyonu (ortalama CBI=%7,7) saptanmıştır. Bu oran DA olguları (ortalama CBI=%0,4) ile kıyaslandığında daha yüksek, GBM olguları (ortalama CBI=%25,5) ile kıyaslandığında belirgin olarak düşüktür. İki çalışmada da düşük ve yüksek grubu belirleyen ara değer ortak olup %20 olarak kabul edilmiştir. Ancak Nakayabashi ve ark. çalışmalarında CDC25B boyanması sitoplazmada olmuştur. Bizim çalışmamızda kullanılan CDC25B antikoru klon 25B03 olup sadece nükleer boyanma pozitif kabul edilmektedir. CDC25B antikoru ile hem tonsilla palatinadan hazırlanan kontrol kesitlerinde, hem de tümör kesitlerinde boyanma nükleer olmuştur. Sitoplazmik boyanma nükleer

boyanmaya eşlik eder şekilde, sadece çok az sayıda tümör hücresinde, ihmal edilecek düzeyde izlenmiştir. Sitoplazmik boyanma neoplastik gemistositik astrositlerde biraz daha fazla izlenimi vermektedir. Bu nedenle sadece nükleer boyanma esas alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. İki çalışma arasında boyanma paterninin farklılığı, değişik epitoplardan kullanılmasına bağlanmıştır. Bizim çalışmamızda ek olarak değerlendirilen PA grubunda CBI %0,6 olarak görülmüştür. Reaktif gliosis ve normal beyin dokusunda CDC25B ile boyanma saptanmamıştır. Reaktif gliosisin, düşük grade'li astrositoma olguları ile ayrımı özgün morfolojik bulgular varlığında kolay olmakla birlikte, bazı olgularda; gerek biyopsi materyalinin yetersizliği (stereotaktik biyopsiler), gerekse özgün morfolojik bulguların biyopsi örneklerine yansımaması nedeniyle sorunlu olmaktadır. Bu gibi olgularda CDC25B boyanmasının olması tanıyı astrositoma lehine kayırabilir görünmektedir. PA ve reaktif gliosis ayırıcı tanısında, yine en güvenilir tanı yardımcıları klinik ve radyolojik veriler olmalıdır. Çünkü olgu sayısı sınırlı olmakla birlikte CDC25B ekspresyon paterni benzerdir. Nakayabashi ve ark. çalışmasında olduğu gibi, bizim çalışmamızda da diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma olguları arasında CDC25B ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur ($p=0,001$).

Çalışmamızda 45 yaş ve üzeri olguların %76,2'sinde yüksek CBI, 45 yaş altı olguların %96'sında düşük CBI saptanmıştır. Diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma olgularında yaş ve CBI arasında kuvvetli ilişki ($p=0,0001$) görülse de GBM grubunun çoğunun 45 yaş ve üzeri olması bu sonuçları etkilemiş görünmektedir. GBM grubunda sadece 3 hasta 45 yaşın altındadır ve bu 3 hastanın ikisinin düşük CBI'ne sahip olması dikkat çekicidir. Bizim çalışmamızda, diğer çalışmada olduğu gibi CBI ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0,708$). Ayrıca, diğer çalışmadan farklı olarak biz çalışmamızda tümör boyutunun CBI ile ilişkisini de araştırdık ve tümör boyutunun ≥ 5 cm ve < 5 cm olduğu olguların, CBI ile istatistiksel olarak kuvvetli

ilişkini saptadık ($p=0,027$). CDC25B hücre siklusu düzenleyici protein olduğu için, yüksek CDC25B ekspresyonu izlenen tümörlerin daha büyük boyutlu olması şaşırtıcı değildir.

Diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma grubunda, yüksek CBİ' ne sahip olgularda ortalama sağ kalım 15 ay, düşük CBİ' ne sahip olgularda ise ortalama sağ kalım 79 ay olarak bulunmuştur. Çalışmamızda astrositoma olgularında düşük ve yüksek CDC25B ekspresyonu olan gruplar arasında, Kaplan-Meier sağ kalım analizler belirlenen hastaliksız sağ kalım oranlarına bakıldığında, düşük CBİ grubunda hastaliksız sağ kalım belirgin olarak yüksektir ($p=0,0001$). 20 GBM olgusunun 17'sinde (%85) yüksek, sadece 3 olguda düşük (%15) olarak saptanmıştır. Ancak GBM grubunda CBİ'nin düşük veya yüksek olduğu hastaların sağ kalım süreleri arasındaki farklılıklar rastlantısal olup istatistiksel olarak anlam bulunmamıştır ($r= -0,415$, $p=0,069$). CDC25B astrositoma olgularında prognostik faktör iken, GBM'de bir prognoz göstergesi olarak kullanılabilmesi için daha büyük seriler gerekmektedir.

Literatürde Ki-67 proliferasyon indeksi; PA olgularında ortalama %1,1, DA olgularında $<4\%$, AA olgularında %5-10 arasında ve GBM olgularında %15-20 arasında olduğunu görülmektedir (80,113-118,132). Bizim çalışmamızda PA grubunda Ki-67 proliferasyon indeksi; %1, DA grubunda %3,7, AA grubunda %5,4, GBM grubunda ise %25,5 olarak bulundu. GBM grubunda izlenen hafif yükseklik, popülasyonlar arasındaki genetik farklılıklara bağlı olabileceği düşünülmüştür. Yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ve yüksek CBİ arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0,001$).

Watanabe ve ark. yaptıkları çalışmada astrositomalarda tümör progresyonu ile immünohistokimyasal p53 birikiminin doğru orantılı olduğunu ve bunun mutant p53'ün klonal proliferasyonuna bağlı geliştiğini söylemektedirler (129). Bizim çalışmamızda DA, AA ve GBM olgularında benzer oranlarda immünohistokimyasal p53 birikimi görülmesi

(sırasıyla %13,5, %17,8, %10,9) bu çalışma ile uyumsuz görünmektedir. Bu sonuç GBM olgularımızın primer GBM olma olasılığını arttırmaktadır. PA'ların gelişiminde p53 mutasyonunun rolü olmadığı bilinmektedir (99, 124, 125). Bizim çalışmamızda PA olgularının hiçbirinde boyanmanın olmaması, literatür ile uyumludur. p53 ekspresyonunun yüksek olduğu 14 olgunun 6'sında (%42,9) yüksek CBI, düşük olduğu 32 olgunun 11'inde (%34,4) ise yüksek CBI saptanmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksinin aksine, p53 ekspresyonu ve CBI arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (p=0,829).

Tıptaki tüm yenilikler temelde hastalarımızın daha uzun ve kaliteli yaşamasını sağlamak amacı taşımaktadır. Bu amaçla hastalıkların, henüz hastalık oluşmadan saptanması ve önlenmesi çok önemlidir. CDC25B ekspresyonu astrositomalarda tümörün grade'i artışı, artım göstermekte ve prognozu olumsuz yönde etkilemektedir. CDC25B grade'lemenin özgün bulgularının olmadığı biyopsi örneklerinde ve tanısal olarak sorunlu olan küçük stereotaktik beyin biyopsi materyallerinde tanı koydurucu yöntem olarak kullanılabilir. Ayrıca astrositik tümörlerin hastalık oluşmadan genetik düzeyde erkenden tanınmasına ve tedavisine olanak sağlayabilmesi yanı sıra hastalık oluşuktan sonra teşhis edildiğinde, tedavide olası hedef molekül olabilir.

ÖZET

Bu çalışmanın hedefi; astrositik tümörlerin histopatolojik tanısı, grade'lenmesi ve prognozu öngörebilme amacıyla; invaziv potansiyeli olan diffüz astrositoma (WHO grade II), anaplastik astrositoma (WHO grade III) ve glioblastoma multiforme (WHO grade IV) ile non-invaziv potansiyele sahip pilositik astrositoma (WHO grade I) ve reaktif gliozisde CDC25B ekspresyonunun araştırılmasıdır. Ayrıca CDC25B ekspresyon düzeyi ile klinikopatolojik parametrelerin (yaş, cinsiyet, tümör boyutu ve sağ kalım süreleri) ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Bu çalışma için 1995-2006 yılları arasında Başkent Üniversitesi, Ankara ve Adana Uygulama ve Araştırma merkezlerinin arşivleri kullanılarak; astrositoma tanısı almış olgular yeniden gözden geçirilmiş ve WHO 2000 beyin tümörleri sınıflamasına göre tekrar grade'lenmiştir. Çalışma kapsamına, diffüz infiltrasyon gösteren astrositoma tanısı almış 36 olgu (10 DA, 6 AA, 20 GM), PA tanısı almış 10 olgu, tümör dışı nedenler ile opere edilen ve histopatolojik tanısı reaktif gliozis ile uyumlu 5 olgu ile kontrol amacı ile 10 adet normal beyin dokusu immünohistokimyasal olarak CDC25B, Ki-67 ve p53 primer antikoru ile boyanmıştır. Boyanma oranları, grid altında 1000 tümör hücresi sayılarak; nükleer boyanma gösteren tümör hücrelerinin, sayılan 1000 tümör hücresine oranı hesaplanarak yüzde olarak saptanmıştır. CDC25B için ara değer %20 olarak belirlenip; boyanma indeksi \geq %20 ise yüksek CDC25B boyanma indeksi (CBİ) , $<$ %20 ise düşük CBİ olarak kabul edilmiştir.

PA grubunda CBİ ortalama %0,6, DA grubunda %0,4, AA grubunda %7,7 ve GBM grubunda ise %25,5 olarak saptanmıştır (p=0,001). Reaktif gliozis ve tümör içermeyen normal beyin dokusunda ekspresyon saptanmamıştır. WHO grade'i arttıkça CBİ'nin artım göstermesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,001).

Sonuç olarak, alışmamızda, CDC25B ekspresyonunun astrositomalarda grade ile artım gösterdiğini ve prognozu olumsuz yönde etkilediğini gördük. CDC25B grade'lemenin özgün bulgularının olmadığı biyopsi örneklerinde ve tanısal olarak sorunlu olan küçük stereotaktik beyin biyopsi materyallerinde tanı koydurucu yöntem olarak kullanılabilir. Ayrıca astrositik tümörlerin hastalık oluşmadan genetik düzeyde erkenden tanınmasına ve tedavisine olanak sağlayabilmesi yanı sıra, hastalık oluştuktan sonra teşhis edildiğinde, tedavide olası hedef molekül olabilir.

KAYNAKLAR

1. Kleihues P, Cavenne WK, eds. Pathology & genetics: tumours of the nervous system. Lyon: IARC, 2000:10–21.
2. Nakayabashi H, Hara M, Shimizu K. Prognostic significance of CDC25B expression in gliomas. *J Clin Pathol* 2006;59:725-728.
3. Fetherstone C, Russell P. Fission yeast p107weel mitotic inhibitor is a tyrosine/serine kinase. *Nature (Lond)* 1991;349:808–11.
4. Parker LL, Atherton-Fessler S, Piwnica-Worms H. p107weel is a dual-specificity kinase that phosphorylates p34cdc2 on tyrosine 15. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:2917–21.
5. Gabrielli BG, De Souza CP, Tonks ID, Clark JM, Hayward NK, Ellem KA. Cytoplasmic accumulation of cdc25B phosphatase in mitosis triggers centrosomal microtubule nucleation in HeLa cells. *J Cell Sci* 1996;109:1081–93.
6. Jinno S, Suto K, Nagata A, Kanaoka Y, Nojima H, Okayama H. Cdc25A is a novel phosphatase functioning early in the cell cycle. *EMBO J* 1994;13:1549–56.
7. Nagata A, Igarashi M, Jinno S, Suto K, Okayama H. An additional homolog of the fission yeast cdc25+ gene occurs in human and is highly expressed in some cancer cells. *New Biol* 1991;3:959–68.
8. Sadhu K, Reed SI, Richardson H, Russell P. Human homolog of fission yeast cdc25 mitotic inducer is predominantly expressed in G2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:5139–43.
9. Gabrielli BG, Clark JM, McCormack AK, Ellem KA. Hyper-phosphorylation of the N-terminal domain of Cdc25 regulates activity toward cyclin B1/Cdc2 but not cyclin A/Cdk2. *J Cell Biol* 1997;272:28607–14.
10. Lammer C, Wagerer S, Saffrich R, Mertens D, Ansorge W, Hoffmann I. The cdc25B phosphatase is essential for G2/M phase transition in human cells. *J Cell Sci* 1998;111:2445–53.
11. Nishijima H, Nishitani H, Seki T, Nishimoto T. A dual-specificity phosphatase Cdc25B is an unstable protein and triggers p34 (cdc2)/cyclin B activation in hamster BHK21 cells arrested with hydroxyurea. *J Cell Biol* 1997;138:1105–16.
12. Galaktionov K, Jesus C, Beach D. Raf1 interaction with Cdc25 phosphatase ties mitogenic signal transduction to cell cycle activation. *Genes Dev* 1995;9:1046–58.
13. Karlsson C, Katich S, Hagting A, Hoffmann I, Pines J. Cdc25B and Cdc25C differ markedly in their properties as initiators of mitosis. *J Cell Biol* 1999;146:573–84.
14. Baldin V, Pospel K, Cazales M, Cans C, Ducommun B. Nuclear localization of CDC25B1 and serine 146 integrity are required for induction of mitosis. *J Biol Chem* 2002;277:35176–82.
15. Galaktionov K, Lee AK, Eckstein J, Draetta G, Meckler J, et al. CDC25 phosphatase as potential human oncogenesis. *Science* 1995;269:1575–77.

16. Galaktionov K, Chen X, Beach D. Cdc 25 cell-cycle phosphatase as a target of c-myc. *Nature* 1996;382:511–17.
17. Benazeraf B, Chen Q, Peco E, Lobjois V, Medevielle F, et al. Identification of an unexpected link between the Shh pathway and a G2/M regulator, the phosphatase CDC25B. *Dev Biol* 2006;294(1):133-47.
18. Davezac N, Baldin V, Gabrielli B, Forrest A, Theis-Febvre N, et al. Regulation of CDC25B phosphatases subcellular localization. *Oncogene* 2000;27:19(18):2179-85.
19. Woo ES, Rice RL, Lazo JS. Cell cycle dependent subcellular distribution of Cdc25B subtypes. *Oncogene* 1999;29:18(17):2770-6.
20. Hernandez S, Hernandez L, Bea S, Cazorla M, Fernandez PL, et al. Cdc25 cell cycle activating phosphatase and c-myc expression in human non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Res* 1998;58:1762–67.
21. Takamasa I, Yamamoto H, Sekimoto M, Ohue M, Noura S, et al. Overexpression of CDC25B phosphatase as a novel marker of poor prognosis of human colorectal carcinoma. *Cancer Res* 2000;60:3043–50.
22. Broggin M, Buraggi G, Brenna A, Riva L, Codegoni AM, et al. Cell-cycle related phosphatases CDC25A and B expression correlates with survival in ovarian cancer patients. *Anticancer Res* 2000;20:4835–40.
23. Ito Y, Yoshida H, Tomoda C, Uruno T, Takamura Y, et al. Expression of cdc25B and cdc25A in medullary thyroid carcinoma: cdc25B expression level predicts a poor prognosis. *Cancer Lett* 2005;18:229(2):291-7.
24. Sasaki H, Yukiue H, Kobayashi Y, Tanahashi M, Moriyama S, et al. Expression of the cdc25B gene as a prognosis marker in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett* 2001; 28:173(2):187-92.
25. Fernandez PL, Cardesa A, Campo E. Differential expression of cdc25 cell-cycle-activating phosphatases in human colorectal carcinoma. *Lab Invest* 2001;81(4):465-73
26. International Research on Cancer. *Cancer Mondial, Globocan 2002. Brain, nervous system, age-standardized incidence rate per 100000*. Erişim: (<http://www-dep.iarc.fr/>). Erişim tarihi: 12/02/2007.
27. Gurney JG, Smith MA, Bunin GR. CNS and miscellaneous intracranial and intraspinal neoplasms. In *Cancer Incidence and Survival Among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975–1995*, edited by Ries LAG, Smith MA, Gurney JG, et al. Bethesda, MD: National Cancer Institute Cancer Surveillance Research Programme; 1999:51–63.
28. Central Brain Tumor Registry of the United States: Statistical Report: Primary Brain Tumors in the United States, 1992–1997. Chicago: Central Brain Tumor Registry of the United States; 2000.
29. Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas, *Acta Neuropathol* 2005; 109:93-108.
30. Stiller CA, Nectoux J. International incidence of childhood brain and spinal tumors. *Int J Epidemiol* 1994;23:458-464.

31. Lonn S, Klaeboe L, Hall P, Mathiesen T, Auvinen A, et al. Incidence trends of adult primary intracerebellar tumors in four Nordic countries. *Int J Cancer* 2004;108:450-455.
32. Kuratsu J, Takeshima H, Ushio Y. Trends in the incidence of primary intracranial tumors in Kumamoto, Japan. *Int J Clin Oncol* 2001;6:183-191.
33. Gurney JG, Kadan-Lottick N. Brain and other central nervous system tumors: rates, trends, and epidemiology. *Current Opinion in Oncology* 2001;13:160–166.
34. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorle LB, Reifenberger G, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol and Exp Neurol* 2002; 61:3,215-225.
35. Lantos PL, Vandenberg SR, Kleihues P. Tumors of the nervous system. In *Greenfield's Neuropathology*, Graham DI, Lantos PL, 6th ed. Arnold: London.pp583-879,1996.
36. Ian F. Pollack. Brain Tumors in Children. *The New England Journal of Medicine*, 1994;331:1500-1507.
37. International Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Erişim: (<http://monographs.iarc.fr/monoeval/crthall.html>). Erişim tarihi: 16/02/2007.
38. Neglia JP, Maedows AT, Robison LL, Kim TH, Newton WA, et al. Second neoplasms after acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med* 1991; 325:1330-1336.
39. Walter AW, Hancoc ML, Pui CH, Hudson MM, Oshs JS, et al. Secondary brain tumors in children treated for acute lymphoblastic leukemia at St Jude Children's Research Hospital. *J Clin Oncol* 1998;16:3761-3767.
40. Relling MW, Rubnitz JE, Rivera GK, Boyett JM, Hancock ML, et al. High incidence of secondary brain tumors after radiotherapy and antimetabolites. *Lancet* 1999; 354:34-39.
41. Huang H, Reis R, Yonekawa Y, Lopes JM, Kleihues P, Ohgaki H. Identification in human brain tumors of DNA sequences specific for SV40 large T antigen. *Brain Pathol* 1999;9:33-44.
42. Del Valle L, Gordon J, Assimakopoulo M, Enam S, Geddes JF, et al. Detection of JC virus DNA sequences and expression of the viral regulatory protein T-antigen in tumors of the central nervous system. *Cancer Res* 2001;61:4287-4293.
43. Little J. Childhood cancer and neural tube defects. *Am J Hum Genet* 1999;61:1204-1205.
44. Davis FG, Preston-Martin S. Epidemiology: incidence and survival. In *Russell&Rubinstein's Pathology of Tumors of the Nervous System*, edn 6. Edited by Bigner DD, McLendon.
45. Bondy ML, Wrensch MR: Epidemiology of primary malignant brain tumors. *Baillieres Clin Neurol* 1996,5:251–270.
46. Inskip PD, Linet MS, Heineman EF. Etiology of brain tumors in adults. *Epidemiol Rev* 1995,17:382–414.

47. Kuijten RR, Bunin GR. Risk factors for childhood brain tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993;2:277–288.
48. Virchow R. (1863) *Die Krankhaften Geschwulste*. Hirschwald: Berlin.
49. Bailey P, Cushing H. (1926) *A Classification of Tumors of the Glioma group on a Histogenetic Basis with a Correlation Study of Prognosis*. Philadelphia: JB Lippincott; pp 146-167.
50. Kernohan JW, Mabon RF, Svien HJ. A simplified classification of gliomas. *Proc Staff Meetings, Mayo Clinic* 1949;24:71-74.
51. Ringertz N. Grading of gliomas. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1950;27(1):51-64.
52. Zulch KJ. *Brain Tumors. Their Biology and Pathology*. 1st edition, Springer-Verlag: New York, 1957.
53. Zulch KJ. *Histologic Typing of Tumors of the Central Nervous System*. World Health Organisation: Geneva, 1979.
54. Zulch KJ. *Brain Tumors. Their Biology and Pathology*. 3rd edition, Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1986.
55. Russell DS, Rubinstein LJ. *Pathology of Tumors of the Nervous System*. 4th edition, Arnold: London, 1977.
56. Russell DS, Rubinstein LJ. *Pathology of Tumors of the Nervous System*. 5th edition, Edward Arnold: London, 1989.
57. Kliehues P, Burger PC, Scheithauer BW. *Histological typing of tumours of the central Nervous System*. World Health Organisation International Histological Classification of tumors. 2nd ed., Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1993.
58. Kliehues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumors. *Brain Pathol* 1993;3:255-268.
59. Kleiheus P, Cavenee WK, et al. *Pathology&Genetics. Astrocytic tumors*. In World Health Organisation, *Tumors of The Nervous system* (Kleiheus P, Cavenee WK, eds) IARC Pres:9-69, 2000.
60. Central Brain Tumor Registry of the United States (2006) Erişim: (<http://www.cbtrus.org/reports//2005-2006/2006report.pdf>). Erişim tarihi: 14/03/207.
61. Clark GB, Henry JM, MvKeever PE. Cerebral pilocytic astrocytoma. *Cancer* 56: 1985; 128-1133.
62. Forsyth PA, Shaw EG, Scheithauer BW, O'Fallon JR, Layton DD Jr., Katzman JA. Supratentorial pilocytic astrocytomas. A clinicopathologic, prognostic, and flow cytometric study of 51 patients. *Cancer* 72 1993;1335-1352.
63. Rodriguez LA, Edwards MS, Levin VA. Management of hypothalamic gliomas in children: an analysis of 33 cases. *Neurosurgery* 1990; 26: 22-246.
64. Garner A, Klinworth GK. Tumors of the orbit, optic nevre and lacrimal sac. In: *pathobiology of Ocular Disease*, Marcel Dekker: New York. pp.741, 1982.

65. Lewis RA, Gerson LP, Axelson KA, Riccardi VM, Whitford RP. Von Reclinghausen neurofibromatosis I. Incidence of optic gliomata. *Ophthalmology* 1984;91:929-935.
66. Burger PC, Breiter SN, Fisher PG. Pilocytic and fibrillary astrocytomas of the brain stem – a comparative clinical, radiological and pathological study. *J Neurosurg* 1996;58:159-169.
67. Palma L, Russo A, Mercuri S. Cystic cerebellar astrocytomas in infancy and childhood: long-term results. *Childs Brain* 1983;10: 79-91.
68. Lach B, Sikoska M, Rippstein P, Gregor A, Staines W, Davie TR. Immunoelectron microscopy of Rosenthal fibers. *Acta Neuropathol* 1991;81: 503-509.
69. Tomlinson FH, Scheithauer BW, Hayostek CJ, Parisi JE, Meyer FB, et al. The significance of atypia and histologic malignancy in pilocytic astrocytoma of the cerebellum: a clinicopathologic and flow cytometric study. *J Child Neurol* 1994;9: 301-310.
70. Gajjar AJ, Bhargava R, Jenkins JJ, Heieman R, Sanford RA, et al. Low-grade astrocytoma with neuroaxis dissemination at diagnosis. *J neurosurg* 1995;83:67-71.
71. Dirks PB, Jay V, Becker LE, Drake JM, Humphreys RP, et al. Development of anaplastic changes in low grade astrocytomas of childhood. *Neurosurgery* 1994;34:68-78.
72. Nishio S, Takeshita I, Fukui M, Yamashita M, Tateishi J. Anaplastic evolution of childhood optico-hypothalamic pilocytic astrocytoma: report of an autopsy case. *Clin Neuropathol* 1988;7:254-258.
73. Okamoto Y, Di Patre PL, Burkhard C, Horstmann S, Jourde B, et al. Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade astrocytomas and oligodendrogliomas. *Acta Neuropathol* 2004;108:49–56.
74. Daumas-Duport C, Scheithauer BW, O’Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer* 1988;62:2152-2165.
75. Kim TS, Halliday AL, Hedley W, Convery K. Corralates of survival and the Daumas-Duport grading system for astrocytomas. *J Neorosurg* 1991;74:27-37.
76. Rosenblum KM, Bilbao JM, Ang LC. *Neuromuscular System. Rosai and Ackerman’s Surgical Pathology.* (Juan Rosai, eds). Ninth edition. Elsevier Inc, Vol 2, pp.2461-2682, 2004.
77. Stadnik TW, Chaskis C, Michotte A, Shabana WM, van Rompaey K, e al. Diffusion-weighted MR imaging of intracerebral masses: Comparison with conventional MR imaging and histologic Findings. *Am J Neuroradiol* 2001;22:969–976.
78. Parisi JE, Scheithauer BW. *Principles and Practice of Neuropathology. Glial tumors* (Nelson JS, Parisi JE, Schochet SS, eds) Mosby pp.123-183, 1993.
79. Watanabe K, Peraud A, Gratas C, Wakai S, Kleihues P, Ohgaki H. P53 and PTEN gene mutations in gemistocytic astrocytomas. *Acta Neuropathol* 1988;95:559-564.

80. Krouwer HG, Davis RL, Silver P, Prados M. Gemistocytic astrocytomas: a reappraisal. *J Neurosurg* 1991;74:399-406.
81. Duffell D, Farber L, Chou S, Hartmann JF, Nelson E. Electron microscopic observations on astrocytomas. *Am J Pathol* 1963;43:539-554.
82. Kono K, Inoue Y, Nakayama K, Shakudo M, Morino M, et al. The role of diffusion-weighted imaging in patients with brain tumors. *Am J Neuroradiol* 2001;22:1081–1088.
83. Globus JH, Strauss I. Spongioblastoma multiforme. *Arch Neurol Psychiatry* 1925;14:139-151.
84. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *American Association of Neuropathologists, Inc Volume 64(6)*, pp 479-489, 2005.
85. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, et al. Genetic pathways to glioblastoma: a population based study on incidence, survival rates, and genetic alterations. *Cancer Res* 2004;64:6892–6899.
86. Kleihues P, Ohgaki H. Primary and secondary glioblastomas. From concept to clinical diagnosis. *Neuro-Oncology*1999:44-51.
87. Bernstein JJ, Woodard CA. Glioblastoma cells do not intravasate into blood vessels. *Neurosurgery* 1995;36:124-132.
88. Burger PC, Green SB. Patient age, histologic features, and length of survival in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer*59: 1987;1617-1625.
89. Burger PC, Kleihues P. Cytologic composition of the untreated glioblastoma with implications for evaluation of needle biopsies. 1989;63:2014-2023.
90. Berker FG, Davis RL, Chang SM, Prados MD. Necrosis as a prognostic factor in glioblastoma multiforme. *Cancer*77: 1996;1161-1166.
91. Burger PC, Green SB. Patient age, histologic features, and length of survival in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer*59: 1987;1617-1625.
92. Nelson JS, Tsukada Y, Schoenfeld D, Fulling K, Lamarche J, Peress N. Necrosis as a prognostic criterion in malignant supratentorial, astrocytic gliomas. *Cancer*52: 1983;550-554.
93. Lantos PL, VandenBerg SR, Kleihues P. Tumors of the nervous system. In *Greenfield's Neuropathology*, Graham DI, Lantos PL (eds), 6th edition. Arnold: pp.583-89, 1996.
94. Hadda SF, Moore SA, Schelper RL, Goekan JA. Vascular smooth muscle hyperplasia underlies the formation of glomeruloid vascular structures of glioblastoma multiforme. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992;51:488-492.
95. Nagashima T, Hoshino T, Cho KG. Proliferative potential of vascular components in human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol* 1987;73:301-305.
96. Nevin S. Gliomatosis cerebri. *Brain*61: 1993;170-191.
97. Drophco EJ, Soong SJ. The prognostic impact of prior low grade histology with anaplastic gliomas: a case-control study. *Neurology* 1996;47:684-690.

98. Fukushima MD, Favereaux A, Huang H, Shimizu T, Yonekawa Y, et al. Genetic alterations in primary glioblastomas in Japan. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:12-18.
99. Watanabe K, Sato K, Biernat W, Tachibana O, von Ammon K, et al. Incidence and timing of p53 mutations during astrocytoma progression in patients with multiple biopsies. *Clin Cancer Res* 1997;5:523-530.
100. Schiffer D, Chio A, Giordana MT, Leona M, Soffietti R. Prognostic value of histologic factors in adult cerebellar astrocytoma. *Cancer* 1998;81:1386-1393.
101. Palma L, Di Lorenzo N, Guidetti B. Lymphocytic infiltrates in primary glioblastomas and recidivious gliomas: In 228 operated cases. *J Neurosurg* 1978;49:854-861.
102. Barker FG, Davis RL, Chang SM, Prados MD. Necrosis as a prognostic factor in glioblastoma multiforme. *Cancer* 1996;77:1161-1166.
103. Nelson JS, Tsukada Y, Schoenfield D, Fulling K, Lamarche J, Peress N. Necrosis as a prognostic criterion in malignant supratentorial, astrocytic gliomas. *Cancer* 1983;52:550-554.
104. Pierallini A, Bonamini M, Pantano P, Palmeggiani F, Ragusa M, et al. Radiological assesment of necrosis in glioblastoma: variability and prognostic value. *Neuroradiology* 1998;40:150-153.
105. Watanabe K, Tachibana O, Sato K, Yonekawa Y, Kleihaus P, Ohgaki H. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain Pathol* 1996;6:217-224.
106. Homma T, Fukushima T, Vaccarella S, Yonekawa Y, Di Patre PL, et al. Correlation among pathology, genotype, and patient outcomes in glioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:9,846-854.
107. Hurtt MR, Moossy J, Donovan-Peluso M, Locker J. Amplification of epidermal growth factor receptor gene in gliomas: histopathology and prognosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992;51: 84-90.
108. Sano T, Lin H, Chen X, Langford LA, Koul D, et al. Differential expression of MMAC/PTEN in glioblastoma multiforme: relationship to localization and prognosis. *Cancer Res* 1999;59:1820-1824.
109. Strojnik T, Kos J, Zidanik B, Golouh R, Lah T. Cathepsin B immunohistochemical staining in tumor and endothelial cells is a new prognostic factor for survival in patients with brain tumors. *Clin Cancer Res* 1999;5:559-567.
110. Yang HY, Lieska N, Shao D, Kriho V, Pappas GD. Proteins of the intermediate filament cytoskeleton as markers for astrocytes and human astrocytomas. *Mol Chem Neuropathol* 1994;21(2-3):155-76.
111. Kato S, Hirano A, Kato M, Herz F, Ohama E. Comparative study on the expression of stress-response protein (srp) 27, alpha B-crystallin and ubiquitin in brain tumours. An immunohistochemical investigation. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1993;19:436-442.

112. Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. *Semin Cancer Biol.* 1990;1(3):199-206.
113. Giannini C, Scheithauer BW, Burger PC, Christensen MR, Wollan PC, et al. Cellular proliferation in pilocytic and diffuse astrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999;58: 46-53.
114. Coons SW, Johnson PC. Regional heterogeneity in the proliferative activity of human gliomas as measured by the Ki-67 labeling index. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993;52: 609-618.
115. Raghavan R, Steart PV, Weller RO. Cell proliferation patterns in the diagnosis of astrocytomas, anaplastic astrocytomas and glioblastoma multiforme: a Ki-67 study. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1990;16:123-132.
116. Burger PC, Shibata T, Kleihues P. The use of the monoclonal antibody Ki-67 in the identification of proliferating cells: application to surgical neuropathology. *Am J Surg Pathol* 1986;10:611-617.
117. Deckert M, Reifenberger G, Wechsler W. Determination of the proliferative potential of human brain tumors using the monoclonal antibody Ki-67. *J Cancer Res Clin Oncol* 1989;115:179-185.
118. Schroder R, Brien K, Kott R, Meyers I, Vossing R. The relationship between Ki-67 labeling and mitotic index in gliomas and meningiomas: demonstration of the variability of the intermitotic cycle time. *Acta Neuropathol* 1991;82:389-394.
119. Watanabe K, Tachibana O, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Role of gemistocytes in astrocytoma progression. *Lab Invest* 1997;76: 277-284.
120. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B. P53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49-53.
121. Mitchell RN, Kumar V. Robbins Temel Patoloji (Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, ed) 7. Edisyon. Nobel, İstanbul, 165-211, 2003.
122. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989;342:705-708.
123. Kelley TW, Tubbs RR, Prayson RA. Molecular diagnostic techniques for the clinical evolution of gliomas. *Diagn Mol Pathol* 2005;14;1-8.
124. Watanabe K, Peraud A, Gratas C, Wakai S, Kleihues P, Ohgaki H. P53 and PTEN gene mutations in gemistocytic astrocytomas. *Acta Neuropathol* 1998;95: 559-564.
125. Reifenberger J, Ring GU, Gies U, Cobbers L, Oberstrass J, An HX, et al. Analysis of p53 mutation and epidermal growth factor receptor amplification in recurrent gliomas with malignant progression. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996;55:822-831.
126. Chozick BS, Pezzulo JC, Epstein MH, Finch PW. Prognostic implications of p53 overexpression in supratentorial astrocytic tumors. *Neurosurgery* 1994;35: 831-837.
127. Al Saraj S, Bridges LR. p53 immunoreactivity in astrocytomas and its relationship to survival. *BR J Neurosurg* 1995; 9:143-149.

128. Kraus JA, Bolln C, Wolf HK, Neumann J, Kinderman D, et al. TP53 alterations and clinical outcome in low grade astrocytomas. *Genes Chromosomes Cancer* 1994; 10:143-149.
129. Watanabe K, Tachibana O, Sato K, Yonekawa Y, Kleihaus P, Ohgaki H. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain Pathol* 1996;6: 217-224.
130. Sidransky D, Mikkelsen T, Schwechheimer K, Rosenblum ML, Cavenee WK, et al. Clonal expansion of p53 mutant cells is associated with brain tumour progression. *Nature* 1992;355:846-847.
131. Rasheed A, Herndon JE, Stenzel TT. Molecular markers of prognosis in astrocytic tumors. *Cancer*. 2002;94:2688-2697.
132. Watanabe K, Ogata N, von Ammon K, Yonekawa Y, Nagai M, et al. Immunohistochemical assessments of p53 protein accumulation and tumor growth fraction during the progression of astrocytomas. In: *Brain Tumor Research and Therapy*, Nagai M (eds). Springer-Verlag: Tokyo. pp. 255-262, 1996.