

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PİLOSİTİK VE PİLOMİKSOİD ASTROSİTOMLARDA
HİSTOMORFOLOJİK BULGULARA VE LOKALİZASYONA GÖRE
B-RAF, pMEK1 ve pERK1/2 EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

Dr. Serdar BALCI

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA
2010

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PİLOSİTİK VE PİLOMİKSOİD ASTROSİTOMLARDA
HİSTOMORFOLOJİK BULGULARA VE LOKALİZASYONA GÖRE
B-RAF, pMEK1 ve pERK1/2 EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ**

Dr. Serdar BALCI

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Figen SÖYLEMEZOĞLU

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA
2010

TEŞEKKÜR

Yazar, bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişi ve kuruluşlara teşekkür eder:

Sayın Prof.Dr. Figen Söylemezoğlu tez danışmanı olarak çalışmanın planlamasında, yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında yol gösterici ve teşvik edici olmuştur.

Sayın Doç.Dr.Gaye Güler Tezel çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde yol gösterici olmuştur.

HÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri ve görevlileri, patoloji asistanlığı eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşmışlar, bu sürede destek ve katkılarını esirgememişlerdir.

Sayın Biyolog Özlem Kalaycı ve Lokman Kale'nin teknik alandaki özverili ve titiz çalışmaları sayesinde bu çalışma gerçekleşebilmiştir.

HÜTF Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Sayın Anıl Dolgun çalışmanın istatistiksel analizlerini gerçekleştirmiştir.

Eşim Dr. Özlem Balcı hem asistanlığım hem de tez çalışmam süresince desteğini esirgememiştir.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Balcı, S. Piloitik ve Pilomiksoit Astrositomlarda histomorfolojik bulgulara ve lokalizasyona göre B-RAF, pMEK1 ve pERK1/2 ekspresyonlarının incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Tezi, Ankara, 2010.

Piloitik astrositomlar çocukluk çağının en sık görülen glial tümürüdür. Pilomiksoit astrositom ise sınıflamaya yeni kabul edilmiş bir varyanttır. Piloitik astrositomlar üzerinde pek çok morfolojik ve genetik çalışmalar yapılmasına karşın genetik profili ve patogenezi net aydınlatılmış değildir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda pilolitik astrositomlarda B-RAF gen yeniden düzenlenmeleri ve MAPK yolağı üzerinde yoğunlaşmıştır. Lokalizasyon ve mikroçevre üzerindeki çalışmalar da devam etmektedir. Bu çalışmada pilolitik astrositomun histolojik varyantları ve lokalizasyonlarının MAPK yolağı ile olan ilişkisi irdelenmeye çalışılmıştır. Çalışmada bölümümüz arşivinde yer alan 103 pilolitik ve pilomiksoit astrositom olgusuna ait 136 tümörün histomorfolojik özellikleri incelenmiştir. Bu varyantların yaş, baskın histolojik patern ve lokalizasyon açısından farklılık gösterdikleri saptanmıştır. Piloitik astrositomlarda bifazik alan, mikrokistik alan, leptomeningeal infiltrasyon, ince vasküler çatı, perivasküler lenfosit, oligodendroglia benzeri hücre, Rosenthal lif, eozinofilik granüler cisim ve *pennies in plate* morfolojisi tespit edilirken pilomiksoit astrositomda mukoid matriks ve anjiosentrik dizilenme izlenmiştir. Serebral tümörlerin ve regresif histomorfolojik değişikliklerin daha ileri yaşlarda görüldüğü tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal inceleme ile B-RAF, pMEK1 ve pERK1/2'nin hemen tüm pilolitik astrositomlarda pozitif oldukları izlenmiştir. Tanımlanan pMEK1 skorunun ortancasının pilomiksoit astrositomlarda pilolitik astrositoma göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. pMEK1'in immünohistokimyasal olarak bulunan bu sonucunun protein analizi ile de teyit edilmesi ve kantitatif sonuçlarla doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Astrositom derece I, astrositom derece II, hipotalamik neoplaziler, MAPK, intraselüler sinyal ileten proteinler. Destekleyen Kurum:HÜTF BAP Fonu

ABSTRACT

Balci, S. Immunohistochemical evaluation of B-RAF, pMEK1 and pERK1/2 expression in pilocytic and pilomyxoid astrocytomas according to histomorphologic findings and localization. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Medical Pathology, Ankara, 2010. Pilocytic astrocytoma is the most common childhood glioma and Pilomyxoid astrocytoma is a recently accepted variant in the WHO classification. Many studies have been performed on morphology and genetics of pilocytic astrocytomas but its genetic profile and pathogenesis is not yet resolved. Recent studies have focused on B-RAF gene rearrangements and the MAPK pathway. Studies on localization and microenvironment are ongoing. This study aimed to determine the relationship between the MAPK pathway and the localization and variants of pilocytic astrocytoma. One hundred and thirty-six tumors from our archive belonging to 103 pilocytic and pilomyxoid astrocytomas patients were evaluated. Pilocytic and pilomyxoid astrocytomas were evaluated histomorphologically and it was found that these tumors differed from each other in terms of age, prominent histomorphologic pattern and localization. Biphasic and microcystic areas, leptomeningeal infiltration, fine vascular network, perivascular lymphocytic infiltration, oligodendroglia like cells, Rosenthal fibers, eosinophilic granular bodies and cells with pennies in plate morphology were common in pilocytic astrocytomas. On the other hand mucoid matrix and angiocentric cell arrangement were seen in pilomyxoid astrocytomas. Regressive changes and cerebral tumors were seen in older patients. Immunohistochemical evaluation revealed that B-RAF, pMEK1 and pERK1/2 were positive in almost all pilocytic astrocytomas. A defined pMEK1 score median was found to be higher in pilomyxoid astrocytomas compared to pilocytic astrocytomas. This difference in pMEK1 score should be reevaluated with protein analyses and quantitative measures.

Key words: Astrocytoma grade I, astrocytomas grade II, hypothalamic neoplasms, MAPK, Intracellular Signaling Proteins. Supported by :HÜTF Research Fund

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
TABLolar.....	xi
1 Giriş.....	1
1.1 Konu.....	1
1.2 Amaç.....	1
1.3 Kapsam.....	2
2 Genel Bilgiler.....	3
2.1 Pilositik astrositom.....	3
2.1.1 Tanım.....	3
2.1.2 İnsidans, yaş, cinsiyet ve lokalizasyon.....	3
2.1.3 Derecelendirme.....	4
2.1.4 Klinik, belirti ve bulgular.....	4
2.1.5 Radyolojik özellikler.....	4
2.1.6 Makroskopik özellikler.....	5
2.1.7 Mikroskopik özellikler.....	6
2.1.8 Malign dönüşüm.....	11
2.1.9 Proliferasyon.....	12
2.1.10 Histogenez.....	12
2.1.11 Prognostik ve prediktif faktörler.....	12
2.2 Pilositik astrositom varyantı: “Pilomiksoid astrositom”.....	13
2.2.1 Tanım.....	13
2.2.2 İnsidans, yaş, cinsiyet, lokalizasyon ve klinik bulgular.....	14
2.2.3 Radyolojik özellikler.....	14
2.2.4 Makroskopik özellikler.....	14

2.2.5	Mikroskopik özellikler	14
2.2.6	Proliferasyon.....	15
2.2.7	Histogenez:	15
2.3	Pilositik astrositomda tedavi ve prognoz	16
2.4	Pilositik astrositomlarda genetik	17
2.4.1	Nörofibromin-RAS-RAF-MAPK yolağı	18
2.4.2	Tümörlerde RAS-RAF-MAPK yolağı.....	21
2.4.3	Pilositik astrositomlarda RAS-RAF-MAPK yolağı	22
2.5	Lokalizasyon patogenez ilişkisi	24
3	Gereç ve Yöntem	26
3.1	Olguların seçilmesi.....	26
3.2	Olguların değerlendirilmesi.....	26
3.3	İmmünohistokimya uygulaması ve değerlendirilmesi	35
3.3.1	Antikorların özellikleri ve boyanma paternleri	36
3.3.2	İmmünohistokimya sonuçlarının değerlendirilmesi	37
3.4	İstatistik analizleri	38
4	Bulgular	39
4.1	Genel bulgular	39
4.1.1	Olguların yaş ve cinsiyet özellikleri	39
4.1.2	Olguların histomorfolojik özellikleri.....	40
4.2	Tümör varyantlarına göre özellikler.....	43
4.2.1	Tümör varyantlarına göre yaş ve cinsiyet özellikleri	43
4.2.2	Tümör varyantlarının histomorfolojik özellikleri.....	43
4.3	Lokalizasyona göre özellikler	46
4.3.1	Histomorfolojik özelliklerin lokalizasyona göre karşılaştırılması	47
4.4	Rezidü/rekürren tümör nedeniyle birden fazla biyopsisi olan olguların özellikleri.....	49
4.4.1	Rezidü/rekürren olgularla tek biyopsisi olan olguların karşılaştırılması.....	49
4.4.2	Rezidü/rekürren tümörü olan olgular	50
4.5	İmmünohistokimya sonuçları.....	51

4.5.1	Genel sonuçlar	51
4.5.2	B-RAF sonuçları	53
4.5.3	pMEK1 sonuçları	54
4.5.4	pERK1/2 sonuçları	56
5	Tartışma	60
5.1	Demografik bilgiler	60
5.2	Pilositik ve Pilomiksoid astrositomun özelliklerinin tartışılması.....	60
5.3	Lokalizasyon ile yaş, tümör varyantı, baskın histomorfolojik patern ve histomorfolojik özelliklerin ilişkisinin tartışılması	65
5.4	Histogenez ve immünohistokimyasal bulguların tartışılması	68
6	Sonuçlar ve Öneriler	75
	KAYNAKLAR	77

EKLER:

EK 1: Tek biyopsisi olan olgularda ve tekrarlayan biyopsisi olan olgulardan histolojik inceleme yapılabilen ilk biyopsilerde doku paterni, damar özellikleri, regresif değişiklikler ve hücre özellikleri

EK 2: Histomorfolojik özelliklerin lokalizasyona göre karşılaştırılması

EK 3: İmmünohistokimyasal uygulamaların intensite ve yaygınlıklarının tüm vakalar içinde dağılımı

EK 4: Tümör varyantlarına göre immünohistokimyasal uygulama sonuçları

EK 5: İmmünohistokimyasal uygulamaların intensite, yaygınlık ve skor sonuçlarının tümör lokalizasyonlarına göre dağılımı

EK 6: B-RAF ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

EK 7: pMEK1 ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

EK 8: pERK1/2 ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

EK 9: Tekrarlayan cerrahisi olan olgularda yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tanı, immünohistokimya skor sonuçları

EK 10: Çalışmada yer alan olguların biyopsi numaraları ve yılları

KISALTMALAR

PA	Pilositik astrositom
PMA	Pilomiksoid astrositom
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
NF1	Nörofibromatozis tip 1
GFAP	Glial fibriller asidik protein
MAPK	Mitojen aktifleştirilmiş protein kinaz (Mitogen-activated protein kinase)
ERK	Hücre dışı sinyalle düzenlenen protein kinaz (Extracellular signal regulated protein kinase)
MEK	Mitojen aktifleştirilmiş protein kinaz kinaz (Mitogen activated protein kinase kinase)
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
BT	Bilgisayarlı Tomografi
LFB	“luxol fast blue”
PTAH	Fosfotungstik asit hematoksilen
HSP	Isı şok proteini (heat shock protein)
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
G-CSF	Granülosit koloni uyarıcı faktörü
PDGFR	Trombosit kökenli büyüme faktörü reseptörü
PBS	Fosfat tamponlu salin
DAB	Diaminbenzidin
H+E	Hematoksilen ve eozin

ŞEKİLLER

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Posterior fossa lokalizasyonlu bir PA'nın makroskopisi.	5
2.2: MAPK yolağının şematik gösterimi.....	20
3.1: Baskın histolojik paternler	28
3.2: Doku özellikleri.....	31
3.3: Damar özellikleri	32
3.4: Regresif / dejeneratif değişiklikler	33
3.5: Hücre özellikleri.....	34
3.6: Kontrol dokularda immünohistokimyasal ekspresyon.....	37
4.1: Olguların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı	40
4.2: PA'larda immünohistokimyasal ekspresyon.....	58
4.3: PMA'da immünohistokimyasal ekspresyon.....	59
5.1: İlk biyopsileri PMA, tekrarlayan biyopsileri PA olan olgular	62

TABLOLAR

<u>Tablolar</u>	<u>Sayfa</u>
3.1: Çalışmada kullanılan antikorların özellikleri ve kontrol dokuları	36
3.2: İmmünohistokimyasal skorlama sistemi.....	38
4.1: Regresif değişikliklerin olguların yaşlarıyla ilişkisi	42
4.2: Tümör varyantlarına göre cinsiyetin dağılımı.....	43
4.3: Baskın histomorfolojik paternlerin PA ve PMA'ya göre dağılımı	43
4.4: Histomorfolojik özelliklerin PA ve PMA'larda karşılaştırılması	45
4.5: Olguların lokalizasyonlara göre dağılımları	46
4.6: Lokalizasyona göre olguların yaş ortalamaları ve lokalizasyona göre en küçük ve en büyük yaşlar.....	47
4.7: Lokalizasyona göre cinsiyetin dağılımı	47
4.8: Baskın histolojik paternlerin lokalizasyonlara göre dağılımı	48
4.9: Tekrarlayan biyopsi varlığının lokalizasyona göre dağılımı	50
4.10: Rezidü/rekürren tümörü olan olguların ilk biyopsi özellikleri.....	50
4.11: Olguların immünohistokimya skorları.....	52
4.12: Tümör varyantlarına göre immünohistokimya skorları	52
4.13: Tümör lokalizasyonlarına göre immünohistokimya skorları.....	52
4.14: Baskın histomorfolojik paternlere göre immünohistokimya skorları	52

1. GİRİŞ

1.1 Konu

Pilositik astrositom (PA) çocuklarda en sık görülen glial tümördür. Çocuklarda genellikle infratentorial yerleşim göstermekle birlikte, optik sinir, optik kiazma/hipotalamus, talamus, bazal ganglia ve serebral hemisferlerde de görülebilir. Yavaş gelişim gösteren bu tümörler lokalizasyonlarına göre belirti ve bulgu vermekte ve komplikasyonları yine lokalizasyona göre değişmektedir. PA'lar DSÖ'ye göre derece I olarak kabul edilmektedir ¹.

Pilomiksoid astrositom (PMA), PA'nın nadir görülen ve yeni tanımlanmış bir varyantıdır ². Daha çok hipotalamik/kiazmatik ve talamik lokalizasyonlu bu varyant, tanımlanmış katı morfolojik özellikleriyle PA'lardan ayrılmaktadır. PMA'ların PA'lardan daha agresif klinik seyir gösterdiği, lokal rekürrens ve serebrospinal yayılım gösterdiği bildirilmektedir. PMA'lar, infiltratif gelişim paterni sergilemeleri ve klinik özellikleri nedeniyle DSÖ'ye göre derece II olarak kabul edilmektedir ¹.

Posterior fossada gelişen PA'lar ile supratentoryal PA'ların farklı genetik ekspresyonlara sahip oldukları bildirilmiştir ³.

Bu çalışmada PA'lar varyantlarına, lokalizasyonlarına ve lokalizasyondan bağımsız olarak rekürrens göstermelerine göre gruplanıp, B-RAF ve yolağındaki pMEK1 ve pERK1/2 ekspresyonlarındaki farklılık açısından incelenecektir.

1.2 Amaç

Araştırma sonucunda serebral, hipotalamik/kiazmatik, posterior fossa ve spinal lokalizasyonlu PA'lar histomorfolojik olarak yeniden sınıflandırılacaktır. PA'lar, varyantlarına, lokalizasyonlarına ve lokalizasyondan bağımsız olarak rekürrens göstermelerine göre gruplanıp, B-RAF ve yolağındaki pMEK1 ve pERK1/2 ekspresyonları açısından incelenecektir.

B-RAF ve yolağındaki kinazları ilgilendiren, deneysel hedefe yönelik tedavi çalışmaları devam etmektedir ⁴. B-RAF ve yolağındaki aktivasyonun PA ve PMA'larda gösterilmesi, hem cerrahi rezeksiyonun güç olduğu, rekürrens ve leptomeningeal yayılımın görüldüğü durumlarda alternatif tedavi şansını ortaya koyacak, hem de bu tümörlerin patogenezinin aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

1.3 Kapsam

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2000-2008 yılları arasında tanı alan PA ve PMA'lar incelenecektir. Çalışmaya lokalizasyon bilgilerine ulaşılabilen ve parafin bloklarında yeterli miktarda doku içeren tümörler dahil edilecektir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Pilositik astrositom

2.1.1 Tanım

Pilositik astrositomlar (PA), genellikle iyi sınırlı, yavaş büyüyen, kistik komponenti olan, erişkin ve çocukluk yaş grubunda izlenen, değişik histomorfolojik özelliklere sahip, düşük dereceli glial tümörlerdir ¹. PA'lar genelde diffüz astrositomlar ile birlikte “düşük dereceli gliom” olarak adlandırılırsalar da, bu tümörler birbirlerinden bağımsız patogeneze sahip olup, infiltrasyon ve malign transformasyonda farklılık gösterirler ⁵.

2.1.2 İnsidans, yaş, cinsiyet ve lokalizasyon

PA'lar tüm gliomların %5-6'sını oluşturmakta olup, çocuklarda en sık görülen glial tümördür ¹. İnsidansı yılda milyonda 9.3'tür; 14 yaşa kadar tüm tümörlerin %20'sini ve 15-18 yaş arası tüm tümörlerin %15'ini oluşturmaktadır ⁶. Cinsiyetler arasında belirgin fark görülmez ¹.

Çocukluk yaş grubunda en sık görülme yeri serebellumdur. Çocuklarda genellikle infratentorial yerleşim göstermekle birlikte optik sinir, optik kiazma/hipotalamus, talamus, bazal ganglia ve serebral hemisferlerde de görülebilir. Serebral tümörler daha sıklıkla genç erişkinlerde izlenir. Serebellar tümörler ise genelde ikinci dekada görülür ^{1, 5}. PA'lar spinal kordda daha nadir olarak görülmektedir. Pediatrik yaş grubunda spinal bölge tümörlerinin %86'sını DSÖ derece I astrositomlar oluşturmaktadır ⁷.

PA'ların optik sinirde gelişenlerine “optik gliom”, serebellar bölgede gelişenlerine “serebellar astrositom”, beyin sapında gelişenlerine “dorsal ekzofitik beyin sapı gliomu” isimleri de verilmektedir. Hipotalamik, talamik ve beyin sapında izlenen iri tümörlerde tümörün orijin aldığı bölge net değerlendirilemeyebilir ^{1, 5, 8}. Optik yol ve serebellumdaki astrositik tümörlerin çoğunluğunu PA'lar oluşturur ⁵. Bilateral optik sinir tutulumu özellikle NF1 ilişkili PA'larda görülür ⁵.

2.1.3 Derecelendirme

Pilositik astrositomlar DSÖ 2007 sınıflamasında derece I olarak derecelendirilmektedir ¹. Nadir olarak bildirilen anaplastik özellikler taşıyan ve kötü klinik seyir gösteren tümörler için “malign, anaplastik ve atipik” sıfatları kullanılmış olsa da bu vakaların sınıflaması konusunda bir görüş birliği mevcut değildir ⁵.

2.1.4 Klinik, belirti ve bulgular

Yavaş büyüyen bu tümörler oluşturdukları kitle etkisiyle belirti ve bulgu verirler. Belirti ve bulgular kitlenin lokalizasyonuna göre değişkenlik göstereceğinden özgün olmayabilirler. Ventrikül obstrüksiyonunda makrosefali, baş ağrısı, endokrinopati ve kafaiçi basınç artışı; nadir olan korteks tutulumunda ise epileptik ataklar görülebilir. Optik gliomlar görme kaybına ve proptozise, hipotalamik tutulumlar ise görme alan kayıplarına ve endokrinopatilere neden olabilir. Hipotalamik tümörler 3. ventrikül içine uzanıp orada kitle oluştururlar. Talamik tümörler ise internal kapsül basısına neden olabilirler. Serebellar tümörler BOS akışını engelleyebilir ve serebellar disfonksiyona neden olabilirler. Beyin sapında izlenen pilositik astrositomlar hidrosefali ve beyin sapı fonksiyon bozukluğuna neden olurlar. Spinal tümörlerde kord basısına ikincil bulgular saptanır ^{1, 5, 8}.

2.1.5 Radyolojik özellikler

Radyolojik görüntüleme yöntemleri (MRG veya BT) PA'ların makroskopik bulguları ve büyüme paternleri ile ilgili ipucu verebilir. İyi sınırlı ve nadir olarak kalsifiye görülürler. Kontrast tutulumu göstermeleri ile diffüz astrositomlardan ayrılırlar. Optik gliomlar genellikle sinir kılıfı içinde kalıp posteriora doğru füziform şekilde uzanırlar. Beyin sapı, serebellar, spinal ve serebral yerleşimli pilositik astrositomlarda kist oluşumu radyolojik tanıda önemlidir. Beyin sapında izlenen tümörler iyi sınırlı, ekzofitik büyüyen multikistik tümörlerdir. Bir kısmı ventriküller içine uzanabilir. Spinal tümörler füziform şekillidir ^{1, 5, 8}.

2.1.6 Makroskopik özellikler

PA'lar çevre parankimi infiltrate etmekten daha çok itici ve yer değiştirici tarzda gelişim gösterirler⁵. Çoğunlukla yumuşak, gri renkli ve frajil niteliktedirler. Tümör içinde veya çevresinde kist izlenebilir. Spinal tümörlerde sirinks oluşumları göze çarpar. Eski/kronik lezyonlarda kalsifikasyon veya eski kanama alanları izlenebilir. Optik sinir tümörlerinde subaraknoid mesafenin manşon tarzında tutulduğu görülür. Primer diffüz leptomeningeal yayılım nadirdir^{1,8}. Optik gliomlar optik siniri içeriden genişletirler. Selülarite artmış veya belirsizdir. Ayrıca mikrokistik alanlar nadirdir⁵. Serebellar tümörler iyi sınırlı görülmelerine karşın hem beyaz maddeye hem de leptomeningeal mesafeye infiltrasyon gösterirler⁵. Serebral ve serebellar tümörlerde sıklıkla kist ve mural nodül oluşumu görülür⁵ (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Posterior fossa lokalizasyonlu bir PA'nın makroskopisi. Kist duvarı ve gri-beyaz renkli, jelatinöz nitelikte mural nodül.

2.1.7 Mikroskopik özellikler

PA'ların histomorfolojik yansıması hem yayma preparatlarda hem de parafin kesitlerde çok değişken olabilir. Selülarite düşük veya orta derecededir. Klasik olarak, kompakt bipolar hücreler ve Rosenthal lifler içeren bileşen ile multipolar hücreler ve eozinofilik granüler cisimcikler içeren gevşek, mikrokistik bileşenden oluşan bifazik bir patern sergilerler. Ender mitoz, hiperkromatik ve pleomorfik nükleuslar, kompleks vasküler yapılar, infarkt benzeri nekroz alanları ve leptomeningeal infiltrasyon değişken oranda görülebilir ^{1, 5, 8}.

Hücre özellikleri

Kompakt alanlardaki hücreler bipolar piloid nitelikte olup, yayma preparatlarda izlenen saçsı uzantıları nedeniyle neoplazm, Yunanca "saç" kökünden türetilen pilositik astrositom olarak isimlendirilmiştir. Kompakt alanlarda Rosenthal lifleri de belirgindir ^{1, 8-9}.

Mikrokistik alanlardaki hücreler protoplasmik astrositler olarak adlandırılırlar. Bu hücreler yuvarlak-oval, monoton nükleuslu olup, küçük bir hücre gövdesi ve ince ağ şeklinde fibrilden fakir uzantılar içerirler ve GFAP ile zayıf pozitifler. Bu alanlarda eozinofilik granüler cisimcikler (hiyalen damlacıklar) görülür ^{1, 8-9}.

Nükleuslar üniform, açık kromatinli olup, şekil ve boyutları çok az değişkenlik gösterir. Mikrokistik alanlarda nükleuslar yuvarlak, piloid alanlarda ise elonge görünümündedirler ⁵.

İri veya dev hücreler içerisinde izlenen çevresel diziliimli hücreler, tabaktaki bozuk paralar (*pennies in the plate*) olarak adlandırılırlar ^{1, 8}.

Oligodendroglia benzeri hücreler özellikle serebellar örneklerde görülür. Tabaka halinde parankim içine gömülmüş olarak izlenen bu hücreler, özellikle küçük biyopsilerde oligodendroglioma benzerler. Klasik pilositik astrositom alanlarının varlığı tanı için yardımcıdır ^{1, 8}. Serebellar lokalizasyonda tümör hücrelerinde

%25'ten fazla oligodendroglial morfoloji görülmesi daha kötü klinik gidişle ilişkili bulunmuştur. Diğer lokalizasyonlarda ise böyle bir ilişki mevcut değildir¹⁰.

Palizatlanan, kümeler oluşturan, organoid yapılar sergileyen ve müsinden zengin içsi hücrelerden oluşan alanlar da gözlenebilir¹. "Spongioblastom benzeri" olarak nitelenen palizatlanma gösteren paternin prognostik önemi bilinmemektedir⁵. Anaplastik olarak tanımlanan vakalarda rabdoid morfoloji ve belirgin pleomorfizm görülebildiği bildirilmiştir¹¹.

Rosenthal lifleri:

Rosenthal lifleri tirbişon şeklinde, parlak eozinofilik, intrasitoplazmik yerleşimli 10-40 mikrometre çapında, 100 mikrometre uzunluğunda, bir uca doğru incelen, hiyalen birikimlerdir. Daha çok tümörün kompakt piloid alanlarında görülür. LFB boyasıyla parlak mavi, PTAH ile mor, Masson trikrom ile kırmızı renkli görülürler^{1, 5, 12}. Rosenthal lifleri pilositik astrositolar için spesifik olmayıp neoplazi belirteci değildirler¹. Tanı için yardımcı olsalar da gerekli değildirler^{1, 5, 12}. İnceyapısal olarak astrositik uzantılar içinde yer alan, intermediate filamanlar çevresinde dizilmiş amorf elektron yoğun elemanlardır¹. Alfa-B kristalin, HSP27 ve ubikuitinden ve GFAP benzeri bir intermediate filamandan oluşurlar¹². GFAP liflerin çevresini boyarken, Rosenthal lifleri alfa-B kristalin ile boyanırlar⁵.

Eozinofilik granüler cisimcikler:

Eozinofilik granüler (globoid) cisimcikler astrositik uzantılar içinde yer alırlar. PAS, alfa-1-antikimotripsin ve alfa-1-antitripsin ile pozitif olup, hematoksilen eozin boyasında parlak eozinofilik görülürler^{1, 8}. İnceyapısal olarak lipid damlacıkları, myelin ve granüler debri içerirler^{5, 13}. Doku kesitlerinde intraselüler lokalizasyonları net seçilemeyebilir¹.

Doku paternleri

PA'lar aynı tümör içinde dahi değişik histomorfolojik paternler sergileyebilirler^{1, 8}. Klasik bifazik görünümün yanısıra değişken oranda kompakt alanlar ve kistik ya da gevşek alanlar izlenebilir. Kimi tümörler mikrokistik alanlardan oluşurken kimi tümörler soliddir ve piloid gliozise ya da diffüz astrositoma benzer görünümde olabilirler^{5, 8}. Bu histomorfolojik paternler 4 grupta toplanabilir:

1- Klasik bifazik patern: Solid-yoğun ve gevşek alanlar içiçe ve değişken olarak izlenir.

2- Mikrokistik patern: Gevşek yapıda geniş boşluk alanları ve içinde proteinöz madde izlenir.

3- Yoğun piloid patern: Solid yoğun piloid hücre grupları ve çok sayıda Rosenthal lifi içerir

4- Paternsiz patern: Diffüz astrositomdan (DSÖ derece II) ayırt edilmesi zor olan gruptur¹⁰.

Klasik bifazik patern daha çok serebellar tümörlerde görülür^{1, 10}. Bifazik paternde mikrokistik ve solid-kompakt gelişim izlenir. Piloid hücreler ve Rosenthal lifleri kompakt alanlarda, protoplasmik astrosit benzeri hücreler ve eozinofilik granüler cisimcikler ise mikrokistik alanlarda gözlenir. Mikrokistik alanlarda periferde vakuolizasyon gösteren kolloid bulunur. Gevşek alanlarda hücrelerin arasında müsin izlenir. Bu görünümde hücreler daha pleomorfiktir. Leptomeningeal infiltrasyon sırasında oluşan dezmoplastik reaksiyon ile lobüler bir patern gözlenir^{1, 5}.

Histolojik paternler lokalizasyonlara göre farklılık göstermektedirler, ancak kötü klinik gidişle ilişkili değildirler. Histolojik paternler yanısıra infiltratif gelişim, selülarite, nükleer atipi, mitoz, Rosenthal lifleri, eozinofilik globüler cisimler,

mikrovasküler proliferasyon, kalsifikasyon, inflamasyon ve nekrozun da kötü klinik seyirle ilişkisi bulunmamıştır¹⁰.

Kist:

Kistler tek ya da birden fazla olabilir. Kist içeriğinin vasküler proliferasyonu uyarıcı etkisi vardır. Kist çevresindeki vasküler proliferasyonun çevresinde yoğun Rosenthal liflerin eşlik ettiği yoğun piloid alan mevcuttur^{1,8}.

Büyüme paterni:

PA'lar genellikle çevre parankimden iyi ayrılırlar. Bu nedenle serebellar ve serebral hemisfer gibi anatomik lokalizasyonun izin verdiği durumlarda total rezeksiyon uygulanabilir. Mikroskopik olarak ise sınırlar net değildir. Tipik olarak tümör birkaç milimetreden birkaç santimetreye kadar çevre parankime ilerler. Tümör içinde nöron varlığı da görülebilir. Ancak infiltratif astrositomlara kıyasla daha solid bir büyüme paterni gösterirler ve çevre parankimi daha az ortadan kaldırırlar^{1,8}. Nörofilaman boyasıyla tümör içinde aksonların gösterilememesi ile diffüz astrositomlardan ayırım yapılabileceği tartışmalıdır^{1,5}. Optik sinir ve kiazma bölge tümörlerinde makroskopik ve mikroskopik sınırlar daha az belirgindir¹. Piloitik astrositomların diffüz varyantı olduğu öne sürülse de klinik ve morfolojik bir ayrı varyantı tanımlayacak veriye ulaşılamamıştır^{1,14}.

Leptomeningeal infiltrasyon:

Sık görülen leptomeningeal infiltrasyon agresif ve malign bir seyri ya da subaraknoid yaygın yayılımı göstermez. Bu infiltrasyon PA'ların karakteristik ve tanısal bir özelliğidir ve her lokalizasyonda görülebilmesine karşın en sık serebellar ve optik sinir tümörlerinde izlenir. Optik sinir çevresindeki leptomeningeal infiltrasyon, serebellar olana göre daha belirgin retikülün içerir¹. Perivasküler boşluklara ilerleme ve perivasküler boşluklarda genişleme de görülebilir ancak bunun prognostik önemi yoktur. Leptomeningeal alanlarda hücreler küçük lobüller halinde kümelenir ve bazen belirgin fibroblastik aktivite görülür⁵.

Serebellar tümörlerde olguların %34,7'sinde leptomeningeal infiltrasyon görülmektedir. Bu tümörlerde klinik gidiş leptomeningeal yayılım göstermeyenlere göre daha iyi olarak bulunmuştur. Bu durum bu tümörlerin yüzeysel olması, kolayca görülüp rezeke edilebilmesi ile açıklanabilir ¹⁰.

Uzak yayılım ve metastaz:

Pilositik astrositomlar ana tümör farkedilmeden çok önce nöroaksis yayılımı gösterebilirler. Yayılım gösteren vakalarda proliferasyon indeksi değişken olmakla birlikte düşüktür. Genellikle hipotalamus tümörleri yayılım gösterirler. Primer lezyonun da, ekilim alanının da büyümesi oldukça yavaş olduğundan, yayılım tümörün ilerideki agresif davranışı hakkında fikir vermez. İmplantlar asemptomatik olabilirler ve tedavisiz takip edilebilirler ¹.

Damar özellikleri

PA'lar vasküler yapılardan zengindirler. Hiyalinize ve kompleks damar yapıları pilositik astrositomların belirgin özelliklerindedir. Bu nedenle radyolojik olarak kontrast tutarlar. Kollajen IV, laminin gibi bazal membran belirteçleri ve CD31 ve CD34 gibi endotel belirteçleri ile vasküler yapılar daha belirgin olarak izlenebilir. Kist duvarı ve tümör çevresinde kompleks vasküler yapılar izlenebilir. Yüksek dereceli tümörlerde görülen endotel proliferasyonu mevcut değildir ¹. "Çelenk şekilli" olarak da tarif edilen bu damarsal yapılar gevşek, dilate ve telenjiektatik görünümündedirler ⁵. Özellikle üçüncü dekatta görülen tümörlerde kavernöz anjiomları andıran belirgin hiyalinizasyon gösteren damar yapıları izlenir ⁵. PA'ların ilk bulgusu tümör içi kanama olabilir ancak tümör içi kanama ile vaskülarizasyon arasında bir ilişki saptanmamıştır ¹⁵.

PA'ların %44'ünde immünohistokimyasal olarak VEGF pozitifliği bildirilmişse de belirgin vasküler proliferasyon alanları içeren tümörlerde negatif bulunması nedeniyle bunun tümör vaskülaritesi ile ilişkisi olmadığı düşünülmüştür. PA'larda diğer düşük dereceli gliomlarda saptanan b-FGF ya da G-CSF gibi moleküllerin damarlanma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir ¹⁶. Düşük damar

yoğunluğunun optik/kiazmatik bölge tümörlerinde progresyonsuz sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur ¹⁷.

Regresif / dejeneratif değişiklikler

Yavaş seyri nedeniyle PA'larda regresif değişiklikler sıktır. Belirgin hiyalinizasyon ve damarlarda genişleme izlenebilir. Eski kanama alanları görülebilir. Bu histolojik özellikler nedeniyle bazen kavernoöz anjiom ve çevresindeki piloid gliozisi ile pilositik astrositom birbirinin ayırıcı tanısında yer alır ¹.

İnfarkt benzeri nekroz, kalsifikasyon ve lenfositik infiltrasyon regresif değişiklik örnekleridir. Optik sinir ve talamik/hipotalamik bölge ve serebral tümörlerde kalsifikasyon nadirdir ¹. Nekroz infarkt benzeri olup psödopalizatlanma görülmez ¹. Nekroz glioblastomlardaki gibi granüler görünümde olmayıp daha homojen ve hiyalinizasyon benzeri bir değişiklik şeklindedir ⁵.

Hiperkromazi, pleomorfizm ve multinükleer hücreler de dejeneratif değişiklikler içinde değerlendirilmekte olup, prognostik olarak önemli değildirlir ⁵. Dejeneratif atipi, hiyalinize damar varlığı ile ilişkili ancak mikrokistik yapı ve nekrozla ilişkisizdir ¹⁰. Yaşın vasküler proliferasyon ve hiyalinizasyonla ilişkili olduğu bulunmuştur ¹⁸.

Nekroz, vasküler hiyalinizasyon ve kalsifikasyonun, azalmış olaysız sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır ¹⁹. Dejeneratif atipi varlığında, lokalizasyondan bağımsız olarak, kötü klinik gidişte belirgin azalma izlenir ¹⁰.

2.1.8 Malign dönüşüm

Atipi, selülarite artışı, nükleer anomaliler ve artmış mitoz izlenen olguların prognostik olarak farklılık göstermedikleri saptanmıştır. Ancak seyri sırasında malign özellikler gösteren nadir tümörlerden bahsedilmektedir. Ancak histomorfolojik olarak bir büyük büyütme alanında birden fazla mitoz, mikrovasküler proliferasyon ve palizatlanma nekrozu izlenen vakalarda da prognoz

glioblastomdan daha iyidir. Bu tümörler genellikle radyoterapi alan vakalar olduğundan bu değişikliklerin tedaviye ikincil oldukları düşünülmektedir ^{1,8}.

Anaplastik özellikler içeren PA'ların incelendiği bir çalışmada tüm ve progresyonsuz sağkalımın radyoterapi alan, artmış mitotik aktivite gösteren ve nekroz içeren vakalarda daha düşük olduğu bulunmuştur ¹¹.

2.1.9 Proliferasyon

PA'ların proliferasyon hızları düşüktür. Mitoz miktarı değişkendir; on büyük büyütme alanında sıfır ile dört arasında gözlenebilir. DNA S-faz belirteçleri ile %1, MIB-1 indeksleri ile %0 ila %3.9 arasında pozitiflik saptanmasına karşın bu indeksler tanıda, ayırıcı tanıda ve prognostik anlamda önemli değildir ¹.

2.1.10 Histogenez

Sporadik PA'ların gen ekspresyon analizlerinde tümörlerin nonneoplastik beyaz madde ve düşük dereceli gliomlardan farklı oldukları; fetal astrositler ve oligodendroglial hücrelerle benzerlik taşıdıkları bulunmuştur ¹.

Rosenthal lif ve saçsı piloid uzantılar gibi özellikler, reaktif glioziste görülen astrositlerde de izlenir. Benzer hücreler normal pineal bezin glial stromasında da izlenir. Bu gibi histolojik ve sitolojik özellikler nedeniyle astrositler PA'nın prekürsörleri olarak düşünülmektedir ^{1,8}.

Oligodendroglial diferansiyasyon belirteçlerinin (*myelin basic protein*, PDGFR- α ve SOX10) ekspresyonu nedeniyle PA'ların oligodendrosit progenitör/prekürsör hücrelerinden geliştikleri de öne sürülmüştür ²⁰⁻²¹. Mikrokistik alanlarda izlenen GFAP negatif hücrelerin de Olig2 ile pozitif olduğu gösterilmiştir ²².

2.1.11 Prognostik ve prediktif faktörler

PA'lar yavaş büyüyen, stabil kalan ve bazen spontan regresyon gösterebilen tümörlerdir. Uzun sağkalım kuraldır. Supratentorial lokalizasyonlu ve radyoterapi gerektiği halde geciken hastalarda progresyonsuz sağkalım kısadır. Çok sayıda lokal

rekürrens gösteren hipotalamik ve beyin sapı tümörleri fatal seyrederler. Klinik rekürrens solid tümör alanı oluşmasından çok, kistin yeniden oluşmasından kaynaklanır. NF1 ilişkili tümörler, özellikle optik gliomlar, genellikle stabil kalır veya yavaşça büyürler. NF1 ilişkili tümörlerde de regresyon görülebilir¹. Optik sinir gliomlarının azalmış olaysız sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmektedir¹⁹.

2.2 Pilositik astrositom varyantı: “Pilomiksoid astrositom”

2.2.1 Tanım

PA'nın bir varyantı olarak tanımlanan pilomiksoid astrositom (PMA), belirgin mukoid matrikse sahip, anjiosentrik dizilenme eğiliminde olan monomorfik, bipolar, piloid hücrelerden oluşan tümördür. Tipik olarak Rosenthal lifleri ve eozinofilik granüler cisimcikler izlenmez¹.

Agresif seyri ve daha sık kraniospinal yayılımı nedeniyle DSÖ derecelendirmesine göre derece II olarak kabul edilir^{1,5}.

PMA daha önceleri “infantil tip pilositik astrositom” terimi ile nitelenen tümörlerle benzer özellikler taşımaktadır^{1,5,8}. Janisch ve ark. diensefalon yerleşimli, yavaş büyüyen, infiltratif ve Rosenthal liflerinden yoksun 12 adet düşük dereceli astrositom olgusu tanımlamış, ancak PA'ya biyolojik ve morfolojik benzerlikleri nedeniyle bu tümörleri ayrı tümör antitesi olarak değerlendirmemişlerdir²³. Başka gruplar da gevşek file benzeri bir zeminde kalın uzantılar içeren, damarlar etrafında dizilim gösteren, Rosenthal lif ve eozinofilik granüler cisimcik içermeyen infantil tip pilositik astrositomlar tanımlamıştır²⁴⁻²⁵. En son Tihan ve ark. monomorfik pilomiksoid morfoloji gösteren hipotalamik kiazmatik tümörlerin daha kötü klinik seyir sergilediklerini öne sürmüş ve sonuç olarak bu neoplazm DSÖ 2007 sınıflamasında PA'nın ayrı bir varyantı olarak kabul edilmiştir¹⁻².

2.2.2 İnsidans, yaş, cinsiyet, lokalizasyon ve klinik bulgular

PMA insidansı bilinmemektedir¹. Tipik olarak ortalama 10 haftalık çocuklarda görüldüğü tanımlamasına karşın daha büyük çocuklarda ve erişkinlerde de bildirilmiştir^{1, 26-28}. Kadın erkek oranı eşittir¹.

PMA'larda hipotalamik/kiazmatik bölgenin en sık görülen lokalizasyon olmasına karşın, talamus, serebellum, beyin sapı, temporal lob, spinal kord ve sellar bölge yerleşimli PMA'lar da bildirilmiştir^{1, 26-27, 29-32}.

PMA'larda klinik bulgular tümörün lokalizasyona bağlıdır. Tanı anında BOS yayılımı izlenebilir¹.

2.2.3 Radyolojik özellikler

PMA'lar radyolojik olarak göreceli iyi sınırlı olup, tipik olarak T1 sekanslarında hipointens, T2 sekanslarında hiperintens ve homojen kontrast tutulumu gösteren kitleler olarak tanımlanırlar¹. T2 sekansında izlenen bu kontrast tutulum özelliği ile klasik PA'lardan farklılık gösterirler⁵.

2.2.4 Makroskopik özellikler

PMA'lar solid jelatinöz bir kitle olarak izlenirler. Parankime infiltrasyon gösterebildiklerinden tam cerrahi sağlanamayabilir¹.

2.2.5 Mikroskopik özellikler

PMA'da mikroskopik olarak mukoid matriks, monomorfik bipolar hücreler ve anjiosentrik dizilenme belirgindir. Kompakt solid yapı izlenebilir ve tümörlerin bir kısmı infiltratif karakterdedir. Anjiosentrik dizilenme ve psödorozet görünümü tipiktir. Hücreler damarların uzun ekseni boyunca da dizilenebilirler. Tanım olarak Rosenthal lifleri ve eozinofilik granüler cisimcikler izlenmez. Mitoz görülebilir. Vasküler proliferasyon kistik dejenerasyonla ilişkili olan kompleks yumakları içermez. Nadiren fokal nekroz alanları da izlenebilir^{1, 5}. İmmünohistokimyasal olarak

diffüz S100, GFAP ve vimentin ekspresyonu görülür. Sinaptofizin ile pozitiflik izlenebilirken nörofilaman protein ve kromogranin tipik olarak negatiftir ¹.

Küçük bir alanda pilomiksoid özellikler taşıyan, diğer alanları klasik PA özelliğindeki tümörlere PMA tanısı verilmemesi önerilmektedir ¹. Ancak literatürde fokal klasik pilositik astrositom özelliği taşıyan ve Rosenthal lif içeren pilomiksoid astrositom örnekleri mevcuttur ²⁶.

2.2.6 Proliferasyon

Ki-67 işaretlenme indeksi %2-20 arasında değişkendir ¹.

2.2.7 Histogenez:

PMA'nın histogenezi net değildir. PMA'nın, PA'nın infantil bir formu olabileceği düşünülmektedir. Optik sinirlerin gelişimine yardımcı olan radial glianın PMA'ların orijini olabileceği düşünülmektedir. Hipotalamik tümörlerinse tanisitlerden geliştiği düşünülmektedir ³³. Monomorfik hücrelerin perivasküler dizilimi epandimomlardaki psödorozet yapılarına benzetilmektedir. Sitolojik ve inceyapısal özellikleri ile tanisitik epandimomla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Mikrovillus, sitoplazmik veziküller, membrandaki çöküntüler ve nadir sil varlığı tanisitik/ependimal bir diferansiyasyonu düşündürmektedir ^{5, 33-34}.

Rekürren tümör rezeksiyonlarında klasik PA alanlarının görülmesi nedeniyle PA ve PMA'ların ortak kökenli oldukları ve PMA'ların PA gelişiminde bir basamak oldukları öne sürülmüştür ^{5, 35}. İçinde klasik PA alanları gözlenen PMA'lar da rapor edilmiştir ²⁶.

Sinaptofizin pozitifliği ve inceyapısal analiz sonucunda nöronal diferansiyasyon varlığı ve PMA'ların glionöronal tümör grubunda olabileceği de öne sürülmüştür ³⁶.

2.3 Pilositik astrositomda tedavi ve prognoz

PA'lar oldukça yavaş gelişen tümörlerdir. Tümüyle çıkarılmayan tümörler büyüseler bile 10-20 yıllık takipte çok az progresyon gösterirler. Diğer düşük dereceli tümörler gibi rezeksiyonun tam olup olmaması prognoz için en belirleyici faktördür⁵. Optik sinir, beyin sapı ve talamik lokalizasyonlu pilositik astrositomlar tümüyle rezeke edilemeyebilir¹⁹. Çoğu hastanın seyri radyoterapi ve kemoterapisiz oldukça iyidir. Onyıllar içinde tümörün histolojik görünümü çok fazla değişmeden kalır. Hızlı rekürrens sebebi ise daha çok kistin oluşup büyümesine bağlıdır. Malign değişim daha çok radyoterapiye ikincil gelişen glioblastom şeklindedir. Nadir olarak PA'lar diffüz spinal leptomeningeal yayılım gösterirler. Bu metastatik odaklar da oldukça yavaş büyürler⁵.

Supratentorial PA'larda 10 ve 20 yıllık sağkalım %82 olarak bildirilmiştir³⁷. Optik gliomlar tam çıkartılabildiklerinde oldukça iyi seyrederler. NF1 ilişkili tümörlerde tümör çıkarılmadığında takip edilir. Optik gliomlarda ve diğer bölgelerde, NF1 ilişkili ya da ilişkisiz tümörler regresyon gösterebilirler^{5, 38-40}.

Kiazmatik/hipotalamik tümörler cerrahinin yeterince yapılamadığı bölgelerde olduklarından rekürrens ve fatal seyir izlenebilir. PMA'lar lokal rekürrens ve subaraknoid yayılım gösterirler. Bazıları ise stabil hale gelir veya PA'ya dönüşürler⁵.

Serebellar tümörler genelde tümüyle rezeke edildiklerinden oldukça iyi seyirlidirler⁵. Beş, 10 ve 20 yıllık sağkalımlar sırasıyla %85, %81 ve %79 olarak bildirilmiştir⁴¹. Beyin sapında izlenen tümörler tekrarlayan cerrahi gerektirebilir. Spinal tümörler ise genelde tümüyle çıkartılamazlar. Bu bölge tümörlerinin seyri ile ilgili bilgiler sınırlıdır⁵.

Total rezeksiyon, cerrahi tedavi uygulanabildiğinde yeterli tedavi olarak kabul edilmektedir. Leptomeningeal yayılım gösteren olgularda, rekürren tümörlerde ve 3 yaş altında, radyoterapiyi geciktirmek için kemoterapi uygulanabilmektedir⁴²⁻⁴³.

2.4 Pilositik astrositomlarda genetik

PA'lar normal karyotip gösterirler. Ancak gen kopya sayı değişiklikleri, dengeli translokasyonlar ve epigenetik değişiklikler hakkında çalışmalar devam etmektedir ¹.

Kromozom kazancı tespit edilen çalışmalarda etkilenen kromozomlar genellikle 5. ve 7. kromozomlar olsa da değişik çalışmalarda diğer kromozomlarda da kayıp ve kazançlar bildirilmiştir. 15 yaş altı olgularda tek kromozom etkilenirken 15 yaş üstü vakalarda etkilenen kromozom sayısı birden fazladır. Küçük lokus kayıpları ve kazançları da bildirilmiştir ^{1, 44-45}. Onyedinci kromozomun uzun kolunda kayıp olan vakalar bildirilmiştir. Bu lokusta NF1 geni olduğu için bu kaybın hem sporadik hem de NF1 ilişkili PA'ların patogenezinde rol alabileceği düşünülmüştür ⁴⁶.

PMA'larda yapılan öncü çalışmalarda konvansiyonel karşılaştırmalı genomik hibridizasyonda genomik anormallik tespit edilmemiştir ^{1, 47}.

PA'lar nörofibromatozis tip 1 ile ilişkili olabildiği gibi sıklıkla sporadik gelişen neoplazilerdir.

NF1 zemininde gelişen PA'lar sporadik tümörlerden moleküler olarak farklıdır. Tipik olarak normal NF1 geninin allelik kaybı ya da mutasyonu sonrası ekspresyon kaybı sürekli bir RAS aktivasyonuna neden olur ¹. Sporadik ve NF1 ilişkili PA'larda gen mikroarray çalışmaları ile farklı gen ekspresyon paternleri bulunmuştur ⁴⁸. NF1 ilişkili PA'larda, sporadik PA'lardan farklı olarak izlenen gen ekspresyonlarının nörofibromin yokluğundan bağımsız olduğu da bildirilmiştir ³. NF1 ilişkili PA'larda NF1 gen bölgesinde heterozigosite kaybı saptanırken sporadik PA'larda bu durum nadiren saptanmıştır. Bu farklılıklar nedeniyle bu iki tümörün aynı yolağın farklı noktalarının etkilenmesi ile oluştuğu düşünülmüştür ⁴⁹. NF1 promotor bölge metilasyonu NF1 ilişkili ve sporadik astrositomlarda gözlenmemiştir ⁵⁰.

NF1'de en sık görülen gliom PA'dır⁵¹⁻⁵². NF1'li hastaların %15'inde PA gelişir. Optik gliom hastalarının üçte birinde de NF1 mevcuttur¹. NF1'li hastalarda sıklıkla bilateral optik gliom görülmekle birlikte bu hastalarda serebral, talamik, hipotalamik, beyin sapı, serebellum ve medulla spinalis lokalizasyonlarında da PA görülebilir. NF1'li hastalarda görülen optik gliomlar sporadik vakalarda görülenlere göre daha sessiz seyirlidirler ve spontan regresyon NF1'li hastalarda daha sık görülür⁵¹⁻⁵².

Nörofibromatozis tip 1 zemininde genellikle PA'lar gelişmekle birlikte yüksek dereceli glial tümörler de gelişebilir⁵³. NF1 ilişkili PMA da bildirilmiştir⁵⁴.

2.4.1 Nörofibromin-RAS-RAF-MAPK yolağı

Nörofibromatozis tip 1 ve nörofibromin

Nörofibromatozis tip 1 otozomal dominant olarak kalıtım gösteren bir hastalıktır. Onyedinci kromozomda (17q11.2 lokusunda) yer alan, nörofibromin proteinini kodlayan, gendeki mutasyonlardan kaynaklanır. Yüksek hızda görülen spontan mutasyonlar hastalığın genetik havuzunu zenginleştirdiğinden en sık görülen Mendelian kalıtım gösteren hastalıklardandır⁵¹. Ancak NF1'li hastaların yarısında aile hikayesi yoktur. Bu hastalarda germ hücrelerindeki de novo mutasyonlar sıklıkla spermatogenez sırasında meydana gelen mutasyon ile olmaktadır⁵⁵.

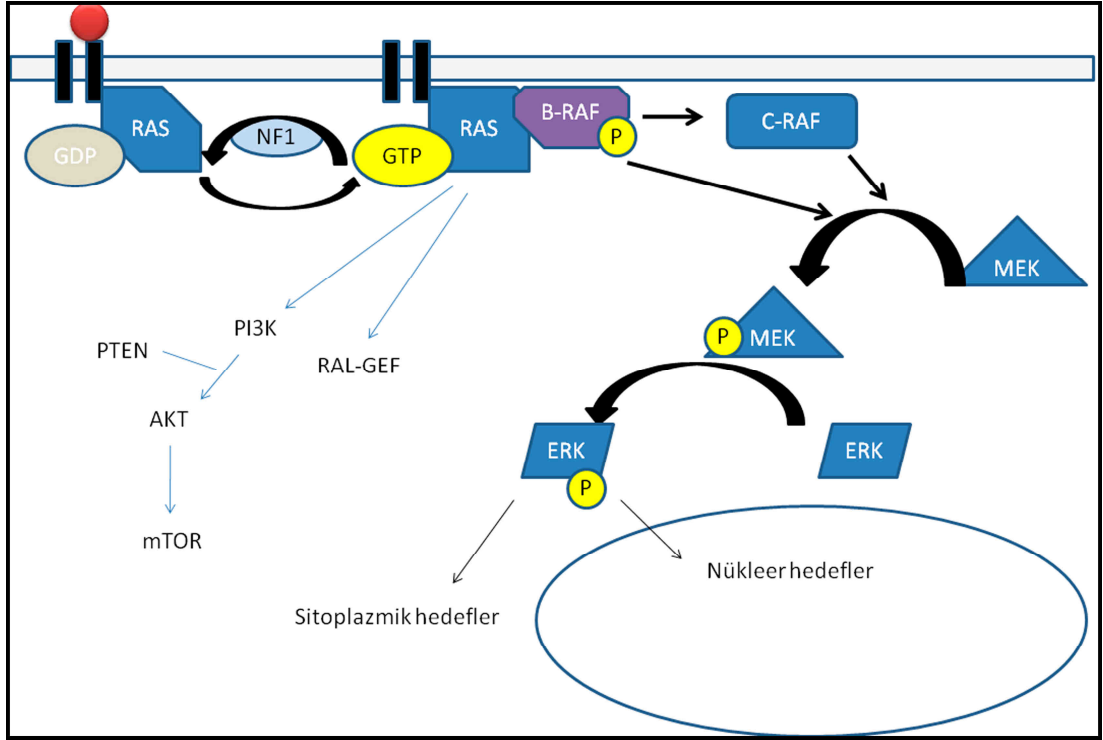
NF1 geni 350 kb'lık bir alanda yer alan 59 ekzonlu büyük bir gendir. Transkripti yaklaşık 13 kb uzunluktadır ve doku tipi ve diferansiyasyonuna göre 3 farklı alternatif izoformu vardır. Genin ürünü olan nörofibromin sitoplazmik bir proteindir ve iki majör izoformu bulunmaktadır. Nörofibromin RasGTPaz aktive edici protein grubunda yer almaktadır. Aktif kısmındaki alternatif düzenlenme ve mutasyonların fonksiyonel olarak önemi henüz net değildir. Nörofibromin kaybının selektif olarak RAS izoformlarını aktive ettiği ve bunun da cAMP, AKT, ERK1/2, RAF, PI3K, mTOR ve S6K gibi RAS'la ilişkili yolakların ve mitojenik düzenleyicilerin aktive olmasına neden olduğu bilinmektedir^{52, 56}.

Nörofibrominin ekspresyonu hemen tüm dokularda görülmesine karşın en yüksek seviyeleri santral ve periferik sinir sistemi ile adrenal bezlerde izlenmektedir^{52, 55}. Hücelere büyüme faktörü uyarısı geldiğinde nörofibromin parçalanabilir ve RAS sinyali aktivitesini sürdürür. Ancak 60 ila 90 dakika sonra nörofibromin seviyeleri normale döner ve RAS sinyal iletimini kapatır. Nörofibrominin olmadığı hücrelerde RAS GTP bağlı aktif formunda daha uzun süre kalır. Nörofibrominin kaybı mutant RAS onkogen varlığına benzer bir durum oluşturur⁵⁵.

NF1 geninin büyük olması, psödogenlerin bulunması ve sık görülen lokalizasyonunun bulunmaması nedeniyle NF1 geninde mutasyon göstermek zordur. Sporadik ve NF1 ilişkili tümörlerde nörofibrominin bir tümör süpresör gen olarak davrandığı gösterilmiştir. Heterozigosite kaybı veya ikinci allelde mutasyon varlığı nörofibromlarda, malign periferik sinir kılıfı tümörlerinde, optik gliomlarda ve diğer NF1 ilişkili tümörlerde gösterilmiştir^{52, 57}.

RAS-RAF-MAPK yolağı

MAPK yolağı hücre membranından nükleusa mesaj iletimini sağlayan bir dizi protein kinazdan oluşan sinyal iletim mekanizmasıdır⁵⁸. Yolağı oluşturan protein kinazlar hedef proteinlerin belirli noktalarındaki serin, treonin ve tirozin aminoasitlerini kovalen bağlarla fosforile ederler. Fosforile enzimler aktive olurlar ve bir sonraki enzimi fosforile ederler⁵⁸ (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: MAPK yolağının şematik gösterimi. Literatürden uyarlanmıştır ⁵⁸⁻⁶⁵.

Büyüme faktörleri membrana bağlı reseptörleri aktive ederler. Genelde büyüme faktörü ile karşılaşan reseptörler dimer oluşturur ve konformasyon değişiklikleri sonrasında sitoplazmik kısımlarında fosforlanmayla birlikte kendi yollarında aktivasyona yol açarlar. Membrana bağlı RAS proteini aktif hale geldikten sonra PI3K, RAF ve Ral-GEF ile başlayan temelde üç yolağı aktive eder. Bu RAS-efektörleri, RAS GTP'ye bağlı olduğunda yüksek afinite gösterirken GDP'ye bağlı olduğunda düşük afinite gösterirler ⁶⁵.

B-RAF, fare sarkom virusda yer alan bir serin-treonin kinaz proteininin analogudur ⁶⁶. İnsanda üç RAF paraloğu bulunmaktadır: A-RAF, B-RAF ve C-RAF (Raf-1) ⁵⁹. RAF proteinlerinde üç ortak alan bulunur: N ucundaki CR1 ve CR2 bölgesi ile C ucundaki kinaz domaini taşıyan CR3 bölgesi ⁵⁹. İnsanda iki B-RAF lokusu tanımlanmıştır. B-RAF-1 7q34 bölgesinde bulunmaktadır ve fonksiyonel 9

kDa ağırlığındaki B-RAF proteinini kodlamaktadır. B-RAF-2 ise Xq13 bölgesindedir, inaktif bir psödogen olarak kabul edilmekle birlikte karsinogenezde rolü olabileceği de düşünülmektedir ⁶⁷.

İnaktif formda sitoplazmada serbest halde bulunan RAF, RAS'a bağlandığında plazma membranına iştirilmiş olur. Bu bağlanma sonrası meydana gelen üç boyutlu yapı değişikliği sonrasında RAF fosforile olup , aktive olur ⁶⁵.

RAF sitoplazmik başka bir kinaz olan MEK'i aktive eder. MEK çift özgünlüğe sahiptir ve serin-treonin yanısıra tirozini de fosforile edebilir. MEK aktif olduğunda ERK1 ve ERK2'yi fosforile eder. Bu proteinler de transkripsiyonu da içerecek şekilde değişik hücre içi olayları düzenlerler. Bu yolak mitojen aktiveleştirici protein kinaz yolağı (MAPK) olarak adlandırılır. MEK, MAPK-kinaz, RAF ise MAPKK-kinaz olarak sınıflandırılır ⁶⁵. Bu yolaktaki basamaklar kanserlerde yaklaşık %30 oranında aktiftir ⁵⁹.

ERK1 ve ERK2 birbirine büyük oranda, özellikle substrat bağlayan bölgelerinde benzerlik göstermektedirler ⁶⁸. ERK gen ekspresyonunu, hücre iskeletinin yeniden yapılandırılmasını, ekstraselüler sinyallere verilecek cevaplar ve büyümenin kontrolünü, diferansiyasyonu, yaşlanmayı ve apoptozu düzenler ⁵⁹. ERK için yaklaşık 160 sübstrat tanımlanmış olup çoğu nükleusta lokalizedir ve gen transkripsiyonu ile ilişkilidir ⁶⁹.

ERK'in substratları büyüme kontrol eden genlerin ekspresyonunu artırır. Devamlı bir ERK sinyali hücre siklusunda S fazına geçişe neden olur ⁶⁴⁻⁶⁵.

MAPK yolağının aktive olması hücrelerin bağlanma ihtiyacını ortadan kaldırır, kontakt inhibisyon kaybına ve hücre şeklinde değişikliklere neden olur ⁶⁵.

2.4.2 Tümörlerde RAS-RAF-MAPK yolağı

Yüzey reseptörlerinin sayıca artmış olması, aktivasyon mutasyonları ya da bu yolaktaki bir genin başka bir genle birleşmesi sonucu sürekli aktif olması, MAPK yolağının tümör oluşumunda gösterilmiş mekanizmalarıdır ⁵⁸.

RAF mutant (onkogen) formunda olduğunda RAS onkoproteini tarafından oluşturulan çoğu transformasyonu gerçekleştirir⁶⁵.

Mutant B-RAF (V600E) *wild* tip proteine göre 500 kat fazla kinaz aktivitesine sahiptir. Hücre kültürlerinde ve hayvan modellerinde artmış ERK sinyaline, proliferasyon, transformasyon ve tümöral gelişime neden olması bir onkogen olduğunu göstermektedir. Ancak B-RAF (V600E) mutasyonu nevüslerde ve kolon poliplerinde de görülmektedir. Bu nedenle B-RAF aktivasyonun tümör oluşumunda bir başlangıç basamağı olduğu ancak kendi başına tümör oluşturamadığı da öne sürülmektedir⁵⁹.

Melanomların %27-70'inde, tiroid papiller karsinomların %36-53'ünde, kolorektal kanserlerin %5-22'sinde, seröz over kanserlerin %30'unda B-RAF mutant ve sürekli aktif haldedir^{59, 70}. En sık görülen mutasyon timidinin adenine dönüştüğü bir mutasyon sonrası valine 600'ün glutamata dönüştüğü mutasyondur⁵⁹.

B-RAF mutant olduğunda MEK'i ya direkt ya da C-RAF üzerinden aktive edebilir⁵⁹.

2.4.3 Piloitik astrositomlarda RAS-RAF-MAPK yolu

NF1 geninin MAPK yoluındaki rolü nedeniyle spontan PA'larda da MAPK yolu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır⁵⁸. Tüm genom mRNA profillemeye çalışmaları sporadik ve NF1 ilişkili PA'larda benzer MAPK sinyal iletimi olduğunu düşündürmektedir⁶. PTEN mutasyonları düşük dereceli astrositomlarda oldukça nadir olarak saptanmıştır⁵⁸. Onuncu kromozomda PTEN'i içeren heterozigosite kaybı ve p16'nın homozigot delesyonu da NF1 ilişkili tümörlerin küçük bir kısmında gösterilmiştir¹. K-RAS mutasyonları PA'ların %4-7'sinde gösterilmiştir⁵⁸. NF1'i normal eksprese eden sporadik PA'larda, RAS mutasyonlarla aktive olabilmektedir⁷¹. Sporadik PA'larda mTOR yolu da aktive olabilmektedir⁶.

Düşük dereceli astrositomlarda MAPK yolunun regülasyonu bozulmuştur. PA'lar ve diğer düşük dereceli astrositomlarda MAPK yolunda gen füzyonları ve

aktive edici mutasyonlar tespit edilmiştir ^{58, 72-74}. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda 7q34 bölgesinde *tandem* (tekrarlayan) duplikasyonlar tespit edilmiştir. Bu bölgedeki B-RAF onkogeninin bu nedenle aktive olduğu düşünülmektedir ^{6, 72-73, 75-76}.

B-RAF geninde insersiyon sonucu aktivasyon olduğu gösterilmiştir ⁷⁷. Değişik ekzonların füzyonu sonucunda RAF'ın N (amino) ucu yerine KIAA1549 ve SRGAP3 gelmektedir. RAF'ın otoinhibitör N ucu kaybolduğu ve C (karbositil) ucundaki kinaz domaini korunduğu için, bu füzyon sonucunda MAPK yolağı sürekli aktif hale gelmektedir ⁵⁸. *Tandem* duplikasyon sırasında B-RAF ile birleşen KIAA1549 ve SRGAP3 segmentlerinin tümör oluşumuna bir katkıda bulunup bulunmadığı ise bilinmemektedir ^{58, 74}.

B-RAF (V600E) mutasyonu da PA'da düşük oranlarda gösterilmiştir ⁷².

7q34 bölgesindeki HIPK2 tümör süpresör geninin de bu gen çoğalmasından etkilendiği öne sürülmüştür. HIPK2'nin immünohistokimyasal ekspresyonu düşük dereceli astrositomlarda yüksek derecelilere göre daha fazladır. HIPK2'nin glioblastom hücre kültürlerinde inhibisyonu ile hücre çoğalması azalmıştır ⁷⁸. B-RAF ve HIPK2 gen yeniden düzenlenmeleri birlikte veya ayrı ayrı görülebilmektedir ⁷⁹.

7q34 bölgesinde duplikasyon olmayan PA'larda 19p13 bölgesinde KIR (killer receptor inhibitory genes) genini aktive edecek şekilde bir amplifikasyon ve 12p11 bölgesinde başka bir amplifikasyon gösterilmiştir. Bu farklı genetik yapıların farklı PA alt gruplarını temsil edip etmediği tartışmalıdır ⁸⁰.

B-RAF'ta izlenen gen füzyonlarının diğer düşük dereceli astrositomlarda da varlığı üzerindeki çalışmalar devam etmektedir ^{58, 74}. Jacob ve ark. 7q34 duplikasyonlarının sporadik PA'lara özgü olduğunu, NF1 ilişkili tümörler ve diğer düşük dereceli astrositomlarda görülmediğini öne sürmektedir ⁸⁰. NF1 ilişkili PA'larda B-RAF gen yeniden düzenlenmesi veya mutasyonu tespit edilmemiştir ⁷⁹. Ancak başka çalışmalarda diğer düşük dereceli astrositomlarda da bu değişiklikler gösterilmiştir ⁷⁴.

2.5 Lokalizasyon patogenezi ilişkisi

PA'ların histolojik özellikleri lokalizasyona göre değişkenlik göstermektedir ve lokalizasyonla ilgili spesifik belirteçlerin bulunduğu düşünülmektedir¹⁰. Morfolojik, radyolojik, klinik ve genetik farklılıklar nedeniyle PA varyantlarının lokalizasyona özgü öncüllerden kaynaklandığı öne sürülmektedir⁸⁰. Posterior fossada gelişen PA'lar ile supratentoryal PA'ların farklı genetik ekspresyonlara sahip oldukları bildirilmiştir. Bu genlerin bir kısmı normal beyin gelişiminde spesifik lokalizasyonlarda rol oynayan genlerdir³.

NF1 gen ekspresyonunun neokortekste diğer lokalizasyonlara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada NF1 gen inaktivasyonunun, optik sinir, beyin sapı ve serebellumda proliferasyona neden olduğu ancak neokortekste proliferasyon izlenmediği görülmüştür⁸¹. B-RAF gen yeniden düzenlenmeleri serebellar tümörlerde diğer lokalizasyondakilere göre ve serebellar bölgede klasik bifazik histoloji gösterenlerde daha sık görülmektedir. Ancak bu fark klinik gidişi etkilememektedir⁸². 7q34 duplikasyonu serebellar tümörlerde %80, beyin sapı ve hipotalamik/optik bölgede %62,5 ve serebral tümörlerde %14 oranında tespit edilmiştir. Ancak ERK fosforilasyonu bu durumdan bağımsız olarak tüm tümörlerde görülmektedir⁸⁰.

HIPK2'nin infratentorial tümörlerde immünohistokimyasal ekspresyonunun daha fazla olduğu gösterilmiştir⁷⁸. Hipotalamik/kiazmatik PA'larda posterior fossa PA'larına göre normal beyin gelişiminde önemli olan NOTCH2, migrasyon ve angiogenezde önemli olan PTEN ve hücre döngüsünü kontrol eden CDK5 ekspresyonunun daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu farklılıklar bu lokalizasyonların normal glial hücrelerinde de görülmüştür. Bu farklılıklar nedeniyle hipotalamik/kiazmatik bölgede gelişen tümörlerin radial glia orijinli olduğu ve posterior fossa tümörlerinden farklı oldukları öne sürülmüştür⁸³. Hem PA'larda hem de ependimomlarda PAX3 ve LHX2 genlerinde lokalizasyona spesifik ekspresyonların görülmesi nedeniyle, aynı histomorfolojide ancak değişik lokalizasyonlardaki tümörlerin değişik genetik değişikliklere sahip olabileceği

düşünülmektedir ^{3, 84}. Bir ekstraselüler matriks proteini olan Tenascin-C supratentorial lokalizasyondaki PA'larda infratentorial olanlara göre daha fazla eksprese edilmektedir. Benzer ekspresyon paterni normal beyaz maddede de izlenmektedir ⁸⁵. Orta beyin, beyin sapı ve medulla spinaliste izlenen PA'larda p16 kaybı serebral ve serebellar tümörlere göre daha sık görülmektedir ⁸². Sitogenetik anomalilerle lokalizasyon arasında ilişki bulunmamıştır ¹. Optik gliomlarda O4 ile immünreaktif oligodendroglial öncülleri; posterior fossa tümörlerinde ise A2B5 pozitif glial öncül hücreleri bulunmaktadır ^{1, 86}. Astrositomlarda metilasyonu inceleyen bir çalışmada serebral pilositik astrositomlarda MYOD1 bölgesinde hipometilasyon izlenmiştir ⁸⁷. Matrilin-2 ekspresyonu PA'larda supratentorial bölgede serebellar tümörlere göre artmıştır ⁸⁸. GFAP ve Aquaporin-4 ekspresyonları da lokalizasyona göre farklılık göstermektedir ⁸¹.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların seçilmesi

Çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı alan PA ve PMA'lar üzerinde yapıldı. 2000-2008 yılları arasında tanı alan PA ve PMA olguları bilgisayar kayıtlarının taranması ile tespit edildi. Nadir olan PMA olgularının genişletilmesi amacıyla hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonlu PA veya düşük dereceli gliom tanısı almış olgular incelendi. Ayrıca tekrarlayan biyopsisi olan olgularda önceki veya sonraki biyopsilere arşiv kayıtlarından ulaşıldı.

Taramalar sonucu 183 biyopsi kaydına ulaşıldı. Bu biyopsilerin arşivde yer alan hematoksil-eozin boyalı ve imünohistokimya boyalı preparatları incelendi. PA'nın, DNET ya da gangliogliom gibi başka bir tümörün komponenti olduğu vakalar; PA'nın ayırıcı tanıda yer aldığı düşük dereceli glial tümörler; arşivde bloklarına ulaşılamayan olgular, konsültasyon vakaları ve yeterli dokusu kalmayan küçük biyopsiler çalışmadan çıkarıldı. Çalışmaya 103 hastaya ait 136 tümör dahil edildi. Olgular, "FileMaker Pro V7.0" adlı programda bu çalışma için özel tasarlanmış bir veritabanına aktarıldı.

Çalışmaya dahil edilen olguların biyopsi numaraları EK 10'da verilmiştir.

3.2 Olguların değerlendirilmesi

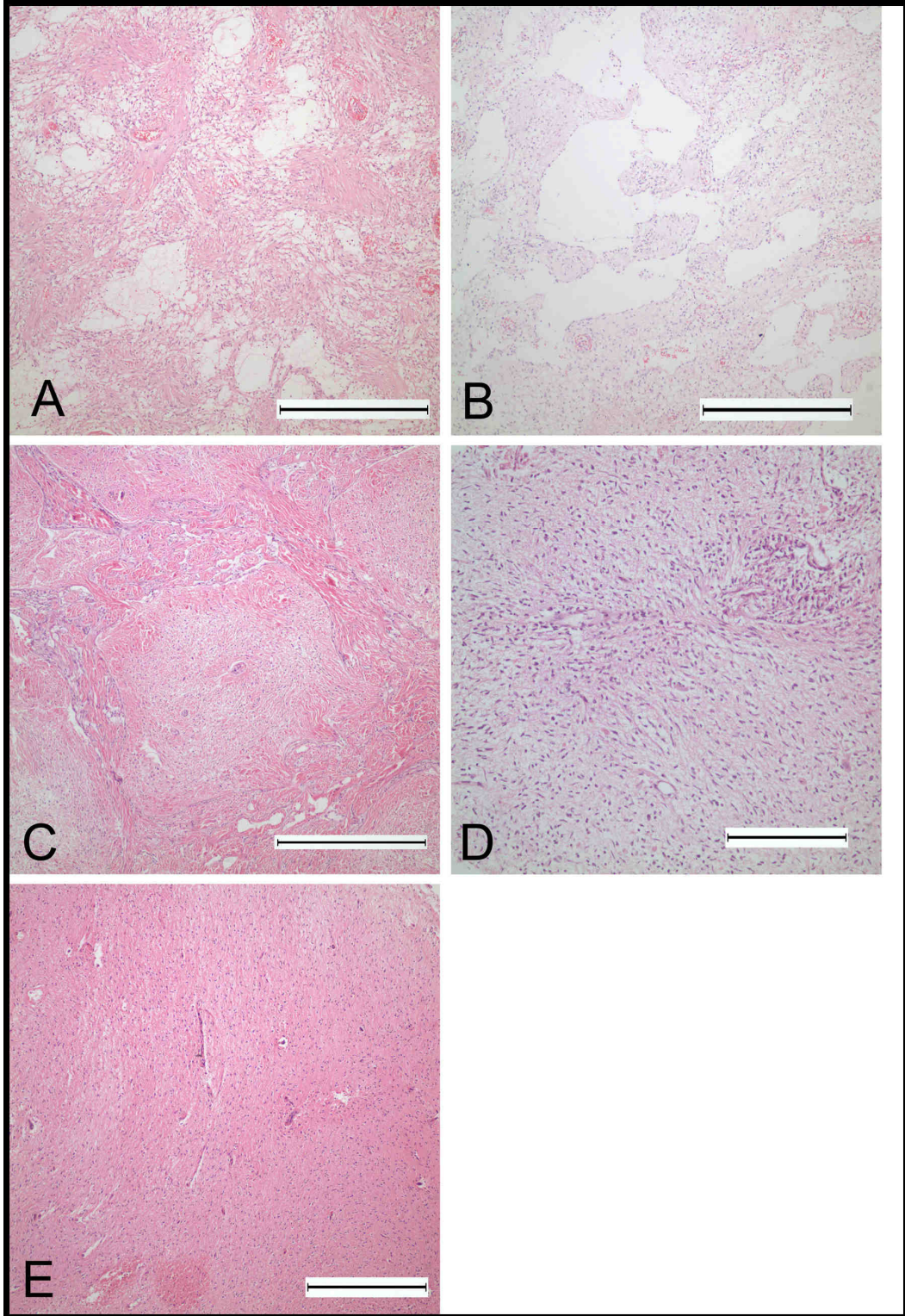
Dünya Sağlık Örgütü'nün 2007 sınıflamasına ¹ göre tekrar gözden geçirilen tümörler pilositik ve pilomiksoid astrositom olarak sınıflandırıldı.

Yaş, cinsiyet gibi epidemiyolojik özellikler ile lokalizasyon, rekürrens ve yayılım gösterme gibi klinik özellikler için patoloji raporlarındaki bilgiler yanısıra bilgisayar arşiv kayıtları kullanıldı.

Histomorfolojik incelemeler için olgulara ait tüm preparatlardan (intraoperatif inceleme için yapılan yaymalar, hematoksil-eozin preparatları, histokimyasal ve immünohistokimyasal incelemeler) faydalanıldı.

Histomorfolojik incelemeyle tümörlerin “baskın histolojik patern”leri Horbinski ve ark. tanımladığı gruplara “monofazik piloid” grubu da eklenerek tanımlandı ¹⁰ (Şekil 3.1):

- Klasik bifazik
- Mikrokistik
- Yoğun piloid
- Paternsiz
- Monofazik piloid

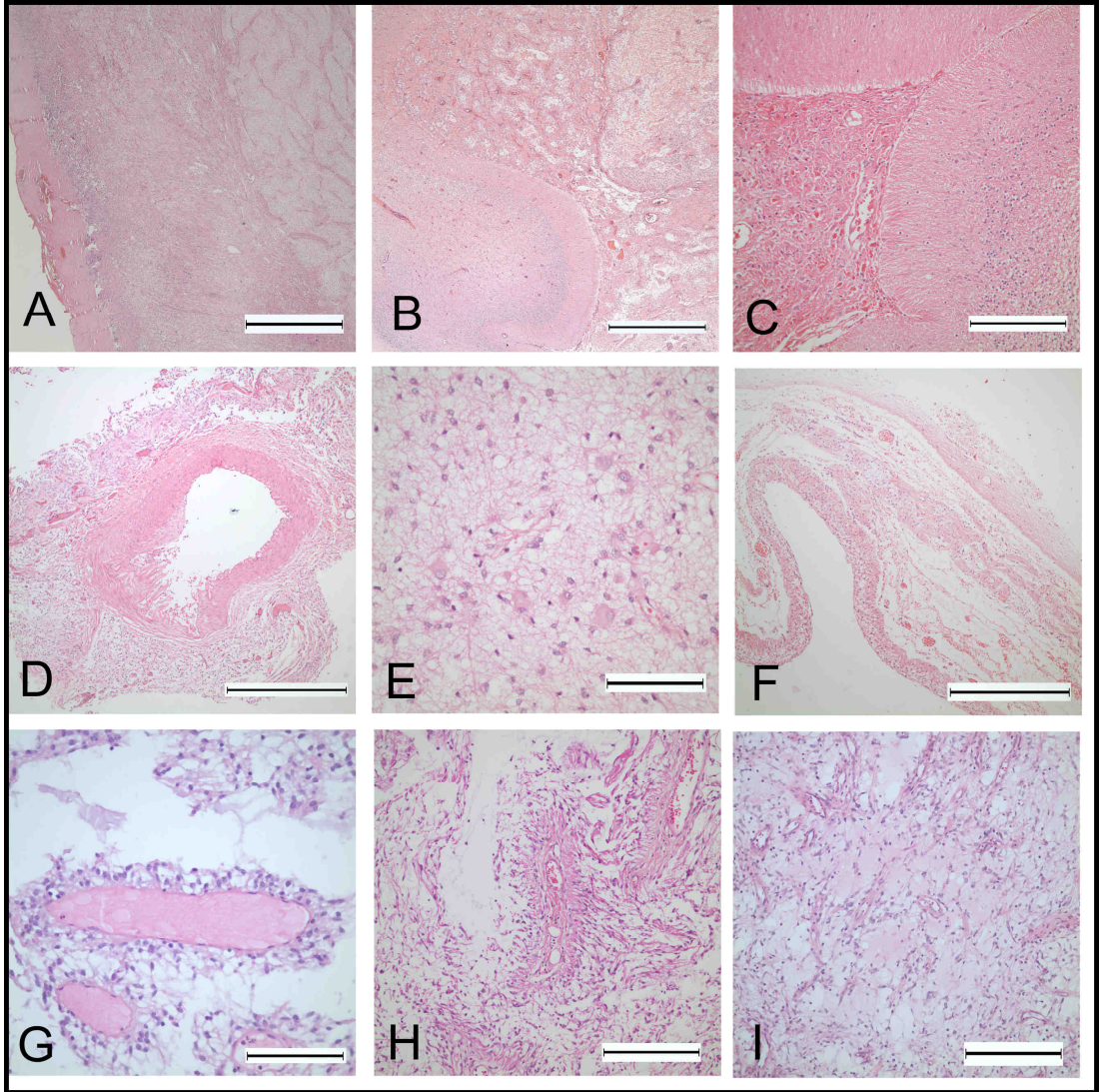


Şekil 3.1: Baskın histolojik paternler. A: Klasik bifazik (H+E, çizgi 500 µm); B: Mikrokistik (H+E, çizgi 500 µm); C: Yoğun piloid (H+E, çizgi 500 µm); D: Monofazik piloid (H+E, çizgi 200 µm); E: Paternsiz (H+E, çizgi 200 µm).

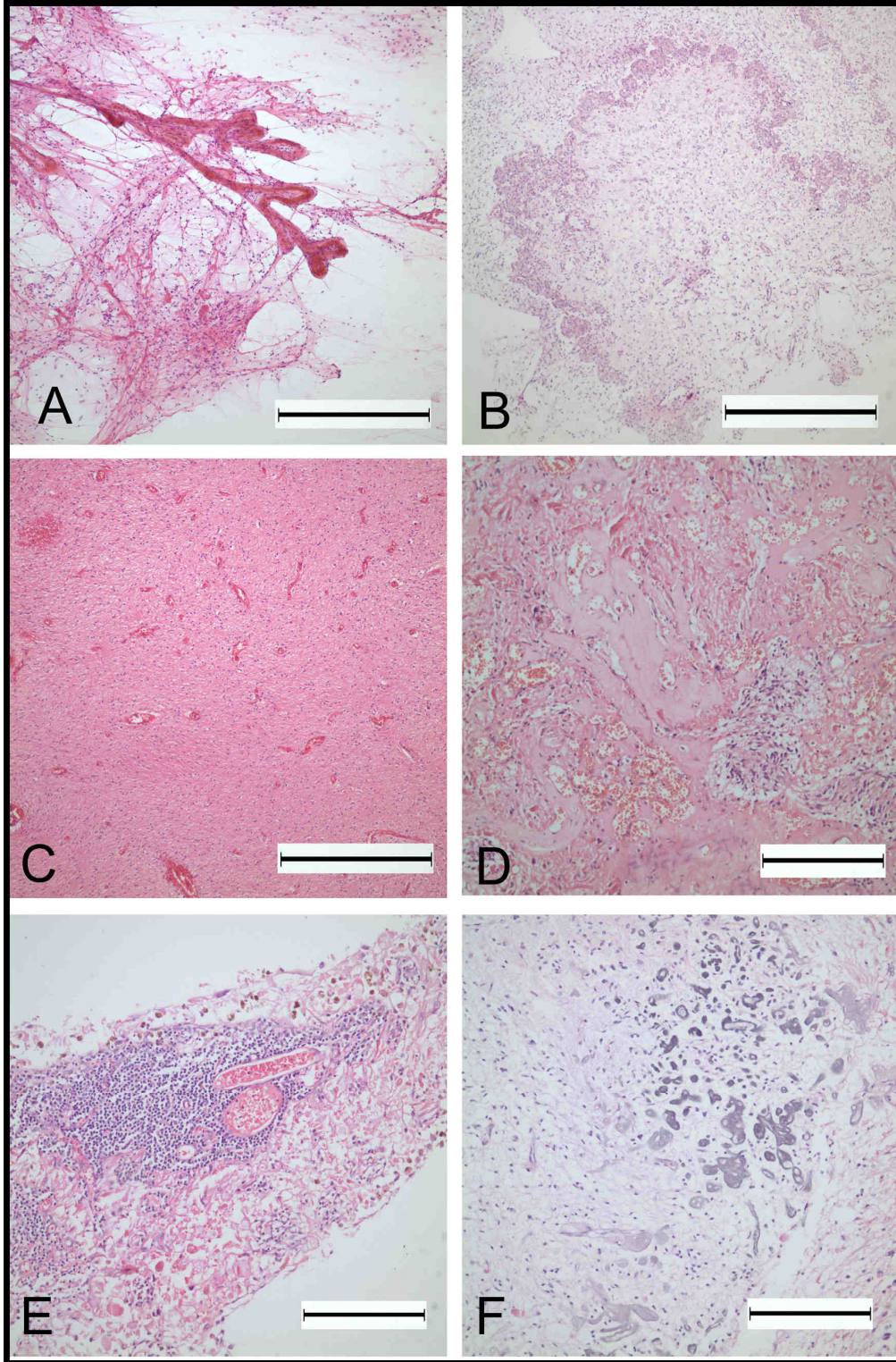
Daha sonra olguların doku, damar, hücre özellikleri ve regresif değişiklikler ayrıntılı olarak aşağıda gösterilen histomorfolojik özelliklerin varlığı açısından incelendi:

- Doku özellikleri (Şekil 3.2)
 - Solid+kistik bileşen
 - Mikrokistik bileşen
 - Kist duvarı
 - Leptomeningeal infiltrasyon
 - Çevre parankimde gliozis
 - Mukoid matriks
 - Anjiosentrik dizilenme
- Damar özellikleri (Şekil 3.3)
 - Kompleks vasküler yapı
 - İnce vasküler çatı
 - Hiyalinizasyon
 - Perivasküler lenfosit
- Regresif / dejeneratif değişiklikler (Şekil 3.4)
 - Kalsifikasyon
 - İnfarkt benzeri nekroz
 - Eski kanama alanları
 - Hiperkromazi veya pleomorfizm

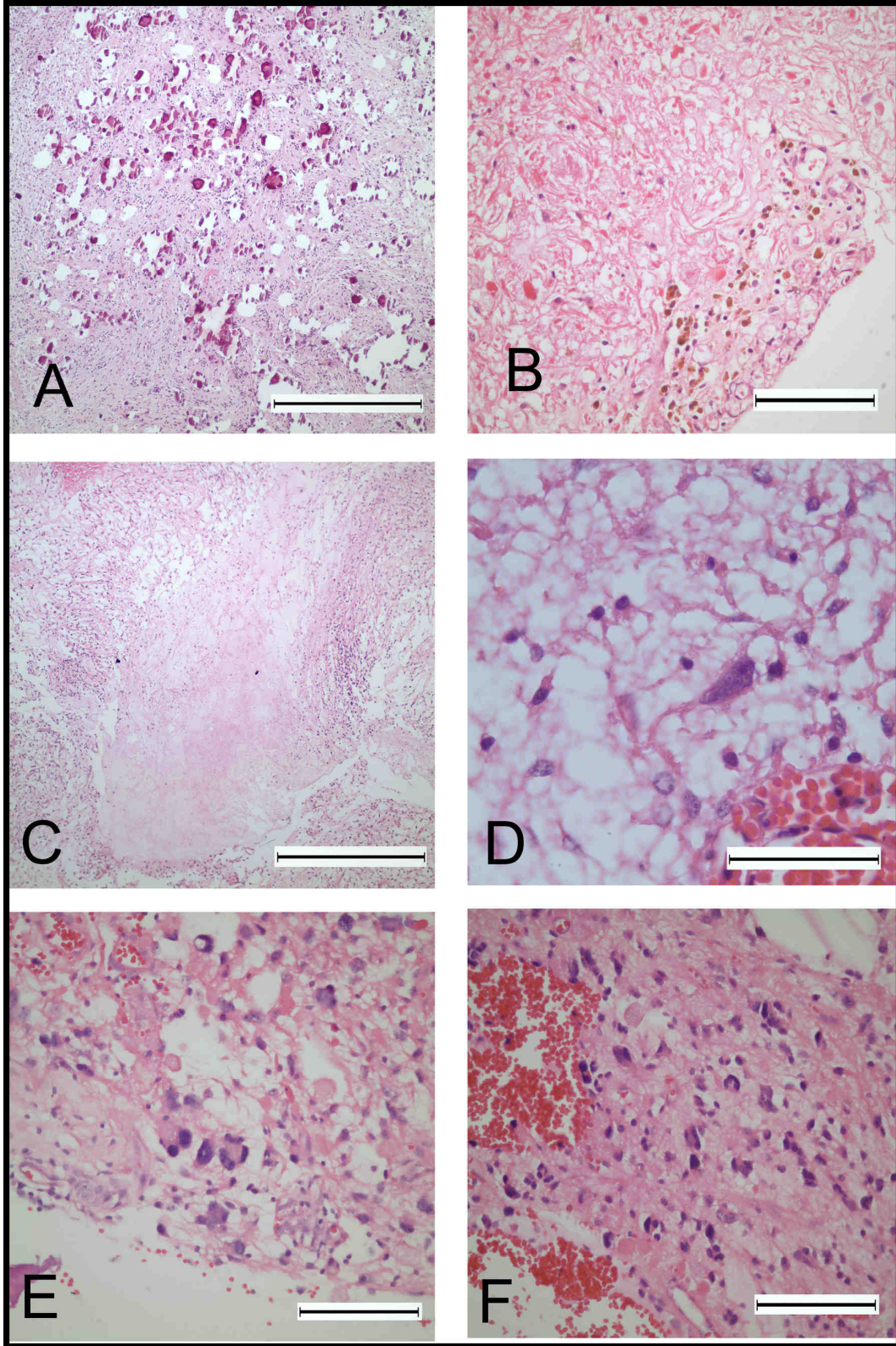
- H¼cre ¼zellikleri (Œekil 3.5)
 - Piloid h¼cre
 - Oligodendroglia benzeri h¼cre
 - Rosenthal lif
 - Eozinofilik gran¼ler cisim
 - *Pennies in plate*
 - Mitoz
 - Multin¼kleer h¼cre



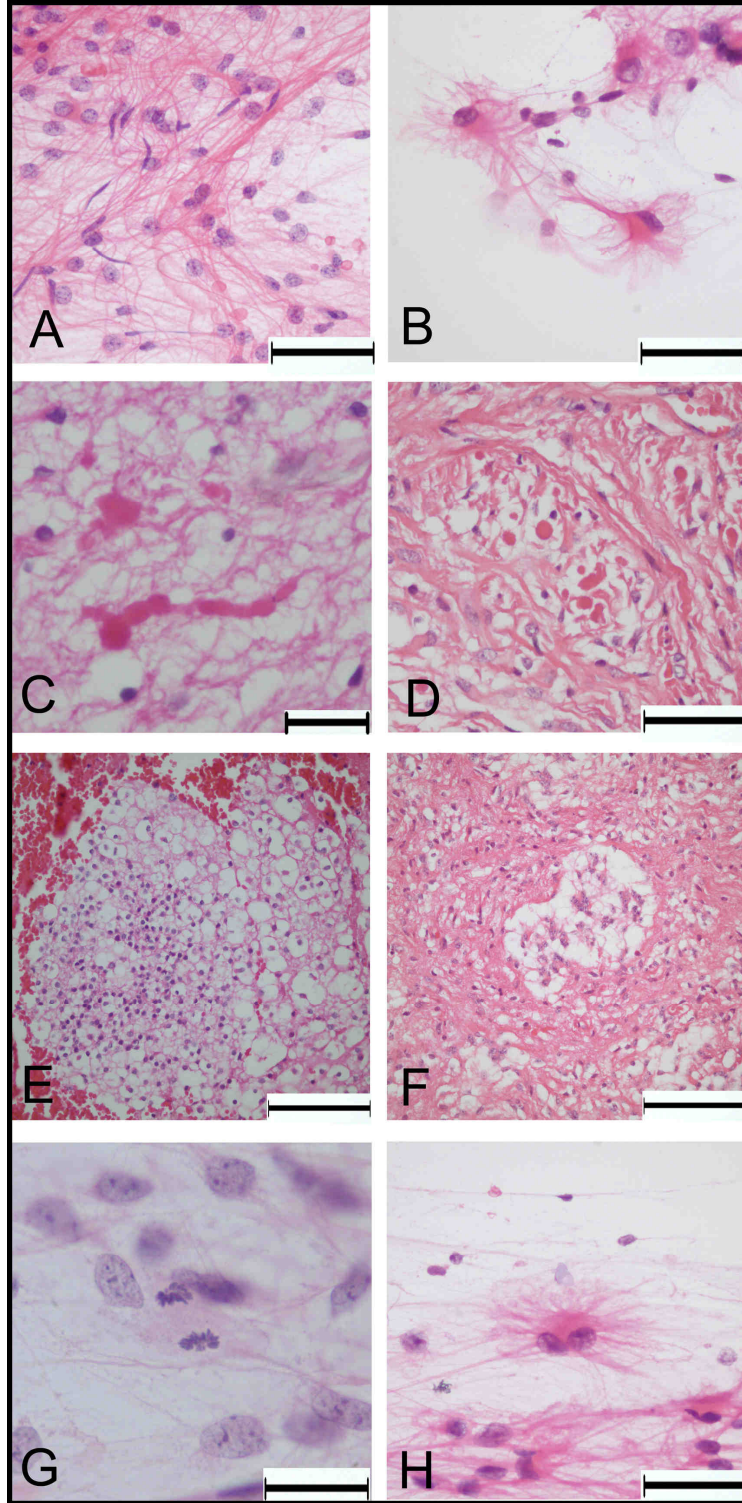
Şekil 3.2: Doku özellikleri: A: Optik sinir kılıfı içerisinde gelişim gösteren optik gliom (H+E, çizgi 1000 μ m); B: Posterior fossada leptomeningeal infiltrasyon (H+E, çizgi 1000 μ m); C: Leptomeningeal infiltrasyon (H+E, çizgi 200 μ m); D: Perivasküler yayılım gösteren bir PA (H+E, çizgi 500 μ m); E: Çevre parankimde reaktif gliozis (H+E, çizgi 100 μ m); F: Kist cidarı (H+E, çizgi 500 μ m); G,H: PMA'da anjisentrik dizilenme (H+E, çizgi 100 μ m ve 200 μ m); I: Mukoid matriks (H+E, 200 μ m)



Şekil 3.3: Damar özellikleri. A: Yayma preparatta kompleks vasküler proliferasyon (H+E, çizgi 500µm); B: Çelenk şeklinde kompleks vasküler proliferasyon (H+E, çizgi 500µm); C: İnce vasküler çatı (H+E, çizgi 500µm); D: Damar duvarında hiyalinizasyon (H+E, çizgi 200µm); E: Perivasküler lenfosit infiltrasyonu (H+E, çizgi 200µm); F: Damar duvarlarında ferrüjinizasyon (H+E, çizgi 200µm).



Şekil 3.4: Regresif / dejeneratif değişiklikler. A: Kalsifikasyon (H+E, çizgi 500µm); B: Eski kanama alanı (H+E, çizgi 100µm); C: İnfarkt benzeri nekroz (H+E, çizgi 500µm); D-F: Hiperkromazi ve pleomorfizm (H+E, çizgiler sırasıyla 50µm, 100µm, 100µm).



Şekil 3.5: Hücre özellikleri: A: Piloïd hücrelerin saçsı görünümü (H+E, çizgi 50µm); B: Protoplazmik astrosit benzeri hücreler (H+E, çizgi 50µm); C: Rosenthal lif (H+E, çizgi 20µm), D: Eozinofilik granüler cisimcik (H+E, çizgi 50µm), E: Oligodendroglia benzeri hücreler (H+E, çizgi 100µm), F: Pennies in plate (H+E, çizgi 100µm); G: Mitoz (H+E, çizgi 20µm); H: Multinükleer hücre (H+E, çizgi 50µm).

Olgular lokalizasyonlarına göre dört grup halinde incelendi:

- Optik, kiazmatik, hipotalamik, talamik, 3.ventrikül, pineal
- Serebrum
- Posterior fossa
- Spinal

Optik, kiazmatik, hipotalamik, talamik, 3.ventrikül, pineal lokalizasyonlu tümörler bulgular ve tartışma bölümünde yazım kolaylığı açısından hipotalamik/kiazmatik olarak isimlendirilmişlerdir.

3.3 İmmünohistokimya uygulaması ve değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal inceleme %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilmiş olan dokuların parafin bloklarından hazırlanan kesitlerde yapıldı ve her olgu için tek bir blok seçildi. Blok seçiminde değişik histomorfolojik özelliklerin var olmasına çalışıldı. İmmünohistokimyasal uygulamalar her bloktan tam yüzey kesit alınarak yapıldı. Birden fazla seansta yapılan immünohistokimyasal uygulamalarda her seans için ayrı pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Negatif kontrollerde primer antikor dışında diğer işlemler aynı anda uygulandı. İmmünohistokimyasal uygulama için firma önerileri baz alındı ve gerek görüldüğünde değişiklikler yapıldı.

İmmünohistokimyasal boyama avidin-biotin peroksidaz metodu kullanılarak yapıldı. Formaldehitte fikse olmuş, parafine gömülmüş dokulardan hazırlanan bloklardan elde edilen 3-4 mikrometre kalınlığındaki kesitler, 40 dakika boyunca 75°C'de etüvde deparafinize edildikten sonra ksilende ve takiben %96'luk etil alkolde 10'ar dakika rehidrate edildi. Daha sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için %3'lük hidrojen peroksit-metanol solüsyonu ile muamele yapıldı. Antijen açığa çıkarma için preparatlar EDTA ile basınçlı tencerede 3 dakika bekletildi. Kesitler PBS (0,5 M NaCl, 25mM Sodium Phosphate, 100 mM NaCl (pH: 5,0)) solüsyonuna alınarak 5 dakika bekletildikten sonra Scytek® HRP Anti-Polyvalen kit kullanılarak antijen blokajı uygulanıp PBS ile yıkandı. Daha sonra

primer antikorlar damlatılıp inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kesitler tekrar PBS ile yıkanıp önce biotin bağlı ikinci bir antikor ile ardından da tekrar PBS ile yıkandıktan sonra peroksidaz ile eşleştirilmiş streptavidin ile 10'ar dakika muamele edildi. Kromojen olarak DAB kullanıldı ve zemin boyaması hematoksilin ile yapıldı. Çalışmada kullanılan primer antikorlar, firma ve klonları, kontrol dokuları ve immünohistokimyasal metod sırasındaki farklılıkları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan antikorların özellikleri ve kontrol dokuları.

Antikor	Kaynak-Klon	Ön işlem	Blokaj süresi	Primer antikor bekleme süresi	Primer antikor dilüsyon	Kontrol dokuları
Anti-B RAF	Abcam, ABD Tavşan monoclonal ab33899	EDTA	10 dakika	1.5 saat	1/250	Prostatik adenokarsinom
Anti-pMEK 1	Abcam, ABD Tavşan poliklonal ab60002	EDTA	10 dakika	1.5 saat	1/250	Hepatoselüler karsinom
Anti-pERK1/2	Cell Signaling Technology ABD Tavşan monoclonal #4370	EDTA	10 dakika	1.5 saat	1/250	İnfiltratif duktal karsinom

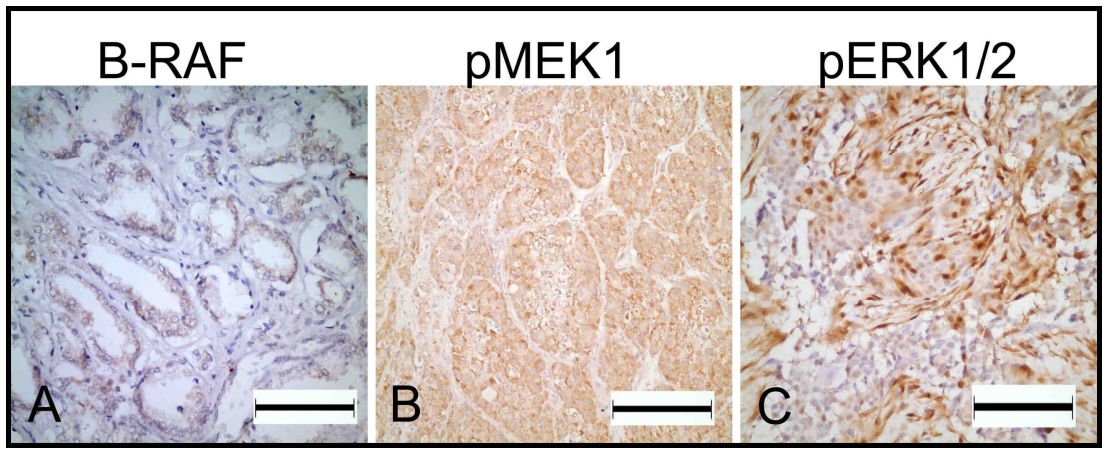
3.3.1 Antikorların özellikleri ve boyanma paternleri

Kullanılan Anti-B-RAF antikorunu insan B-RAF proteininin N terminalininin 70-86. aminoasitlerini gösteren sentetik bir polipeptide karşı geliştirilmiş bir antikordur. Bu antikor ile kontrol dokuda benign prostat bezleri ve prostatik adenokarsinomda sitoplazmik pozitiflik saptandı (Şekil 3.6-A).

Kullanılan anti-pMEK1 antikorunu insan MEK1 proteininin 221 ve 217. lokalizasyonlarında fosforile halindeki sentetik fosfopeptide karşı geliştirilmiş bir

antikordur. Bu antikor ile kontrol dokuda hepatoselüler karsinom, hepatositler, kas ve bağ dokusu hücrelerinde sitoplazmik pozitiflik saptandı (Şekil 3.6-B).

Kullanılan anti-pERK1/2 antikor 44 ve 42 kDa ağırlığındaki MAPK'ın (sırasıyla ERK1 ve ERK2) 202 veya 204. sıradaki aminoasitlerin fosforile haline karşı geliştirilmiş bir antikordur. Bu antikor ile kontrol dokuda infiltratif duktal karsinomda, hiperplazi gösteren duktuslarda ve dezmozplastik stromada fibroblastlarda sitoplazmik ve nükleer pozitiflik saptandı (Şekil 3.6-C).



Şekil 3.6: Kontrol dokularda immünohistokimyasal ekspresyon. A: anti-B-RAF; B: anti-pMEK1 ; C: anti-pERK1/2 antikorlarıyla pozitiflik (çizgi 100µm).

3.3.2 İmmünohistokimya sonuçlarının değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal uygulama sonuçları semikantitatif olarak, intensite ve yaygınlık açısından ayrı ayrı değerlendirildi. Intensite değerlendirmesi için her seansta ayrıca yapılan pozitif ve negatif kontroller referans alındı. Intensite sonuçları negatif, zayıf pozitif, orta şiddette pozitif, kuvvetli pozitif olarak kaydedildi. Yaygınlık değerlendirmesi yapılırken hematoksilen eozin kesitlerle karşılaştırma yapılarak, sonuçlar negatiften %100 pozitifliğe kadar tabloda gösterilen dilimler halinde kaydedildi. Intensite ve yaygınlık için verilen puanların çarpımından elde edilen skor analizlerde kullanıldı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: İmmünohistokimyasal skorumlama sistemi.

Boyanma Yaygınlığı (Boyanan hücre yüzdesi)	Puan
Negatif	0
<%10	1
%11–25	2
%26–50	3
%51–75	4
%76–100	5
Boyanma şiddeti (intensite)	Puan
Negatif	0
Zayıf	1
Orta şiddette	2
Kuvvetli	3

Tüm antikörlerle yaygınlık açısından heterojen boyanma paterni izlendi. İntensitede heterojenlik gösteren olgularda hakim olan intensite puanı kullanıldı.

3.4 İstatistik analizleri

Elde edilen veriler istatistik paket programına (SPSS 15.0) aktarıldı. Çapraz tabloların karşılaştırılması için Pearson Ki-kare, Fisher exact test, Ki-kare exact test; ortalamaların karşılaştırılması için tek yönlü ANOVA, bağımsız örnekler T-testi; skor ortancalarının karşılaştırılmasında Kruskal–Wallis ve Mann–Whitney U testleri kullanıldı. Bulgular kısmında ve tartışmada yaş ortalamalarının sonuçları “ortalama±standart sapma”, skor sonuçları ise “ortanca±çeyreklikler arası genişlik” olarak verilmiştir.

Tekrarlayan biyopsisi olan olgularda, yaş analizlerinde hastanın tanı aldığı ilk yaş; histomorfolojik analizde bu çalışmada histomorfolojik olarak incelenebilen ilk biyopsideki özellikler; immünohistokimyasal analizlerde ise immünohistokimyasal uygulama yapılabilen ilk biyopsiye ait veriler kullanıldı.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’ndan izin (onay tarihi 16 Nisan 2009, karar numarası:FON 09/19-6) ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu’ndan maddi destek (Proje numarası: 4844, proje başvuru tarihi: 11 Mart 2009) alınarak yapılmıştır.

4 BULGULAR

4.1 Genel bulgular

103 hastaya ait 136 tümör incelendi. Hastaların 70'inin (%68) tek biyopsisi, 33'ünün (%32) birden fazla biyopsisi vardır.

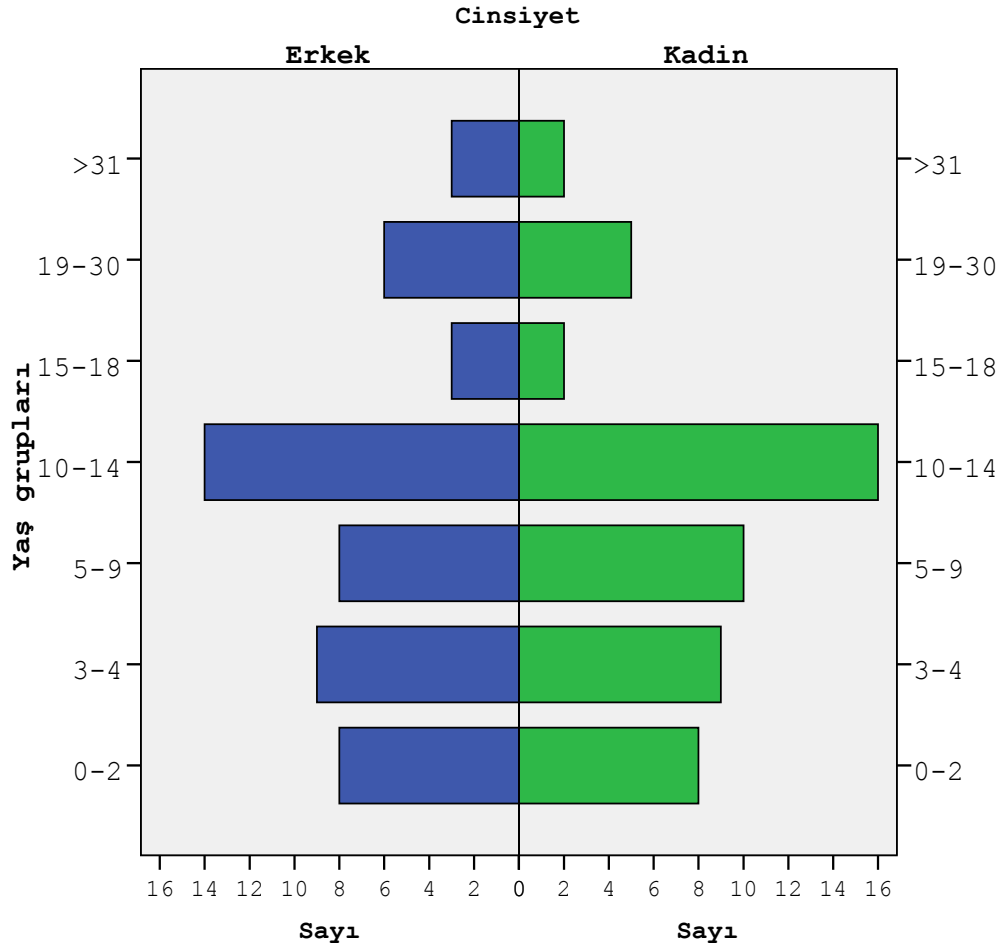
Dünya Sağlık Örgütü'nün 2007 sınıflamasına ¹ göre tekrar gözden geçirilen tümörler pilositik ve pilomiksoid astrositom olarak sınıflandırıldı. Buna göre olguların 86'sı (%83,5) pilositik astrositom, 17'si (%16,5) pilomiksoid astrositomdur.

4.1.1 Olguların yaş ve cinsiyet özellikleri

Olguların 52'si kadın (%50,5), 51'i erkektir (%49,5).

İlk tanı aldıklarında olguların ortalama yaşı $10,8 \pm 9,6$ 'dır. Olgular en az 7 aylık, en çok 50 yaşındadır. Bir olguda ilk tanı anındaki yaş bilinmemektedir. Analizlerde bu olgu için ortalama yaş kullanılmıştır. Olguların 87'si (%84,5) 18 yaş altındadır. Tüm yaş grupları ele alındığında kadınların ortalama yaşı ($10,05 \pm 8,5$) ile erkeklerin ortalama yaşı ($11,6 \pm 10,7$) farklı değildir ($p=0,420$). Sadece 18 yaş ve altındaki olgularda da kadınların ortalama yaşı ($7,2 \pm 4,5$) yaşı ile erkeklerin ortalama yaşı ($7,4 \pm 4,8$) farklı değildir ($p=0,848$).

Cinsiyetin yaş gruplarına göre dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1: Olguların cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

4.1.2 Olguların histomorfolojik özellikleri

Histomorfolojik özelliklerin analizi tek biyopsisi olan olgular ve tekrarlayan biyopsisi olan olguların histolojik inceleme yapılabilen ilk biyopsilerinde yapılmıştır.

Baskın histolojik paternler açısından incelendiğinde tümörlerin 50'si (%48,5) klasik bifazik, 10'u (%9,7) yoğun piloid, 17'si (%16,5) mikrokistik, 22'si (%21,4) monofazik piloid morfolojidedir. Tümörlerin 4'ü (%3,9) infiltratif astrositomu anımsatan "paternsiz" morfolojidedir.

Olgular doku özellikleri, damar özellikleri, regresif değişiklikler ve hücre özellikleri açısından da incelenmiştir. (Bkz. EK 1)

Leptomeningeal infiltrasyon izlenen olgular

Olguların 64'ünde (%62,1) leptomeningeal infiltrasyonu değerlendirecek alan saptanmamıştır. Leptomeningeal yüzey izlenen 39 olgunun 23'ünde (%59) leptomeningeal infiltrasyon mevcuttur. Leptomeningeal infiltrasyon gösteren olguların tümü PA'dır. Yirmi üç olgunun 22'sinde belirgin retikülogenez izlenmiştir. Beşi hipotalamik/kiazmatik, 18'i posterior fossa lokalizasyonludur. Bu olguların 12'si erkek, 11'i kadındır. Bu olguların 4'ünün rezidü/rekürens nedeniyle tekrarlayan cerrahisi vardır.

Diğer histomorfolojik özellikler

Nükleer hiperkromazi ya da pleomorfizm 24 (%23,3) olguda izlenmiştir. Bu olguların 6'sında (%25,0) bu değişiklikler belirgin iken 18'inde (%75,0) hafif şiddetlidir.

Vasküler yapıların çevresinde izlenen mononükleer hücreler olguların 6'sında (%5,8) belirgin olup, 37 olguda (%35,9) minimal bir inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcuttur. Altmış olguda (%58,3) perivasküler inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmemiştir.

Ellisekiz olguda (%56,3) tümör çevre parankim ilişkisi değerlendirilememiştir. Çevre parankim ilişkisi değerlendirilebilen 45 olgunun 16'sında (%35,6) çevre parankimde reaktif gliozis izlenmiştir.

Kist cidarı izlenen 13 olgunun 11'inde (%84,6) kompleks vasküler proliferasyon izlenmiştir.

Altı olguda ise damar duvarlarında ferrüginizasyon görülmüştür.

Regresif değişiklikler

Regresif değişiklikler ileri yaştaki olgularda tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Kalsifikasyonun izlendiği olgularda yaş ortalaması (17,3±13,1), kalsifikasyon izlenmeyen olgulardan (9,2±7,8) anlamlı olarak yüksektir (p=0,010). İnfarkt benzeri nekroz izlenen olgularda yaş ortalaması (12,2±10,9) nekroz izlenmeyen olguların (10,63±9,432) yaş ortalamasından yüksektir. Ancak bu fark anlamlı değildir (p=0,528). Eski kanama izlenen olgularda yaş ortalaması (17,7±10,1), eski kanama izlenmeyen olgulardan (9,6±9,1) anlamlı olarak yüksektir (p=0,001). Hiperkromazi veya pleomorfizm izlenen olgularda yaş ortalaması (18,8±11,5), izlenmeyen olgulardan (8,5±7,6) anlamlı olarak yüksektir (p<0,001). Damar duvarlarında hiyalinizasyon izlenen olgularda yaş ortalaması (13,9±11,0), hiyalinizasyon izlenmeyen olgulardan (8,3±7,6) anlamlı olarak yüksektir (p=0,004). Multinükleer hücre izlenen olgularda yaş ortalaması (13,7±11,7), multinükleer hücre izlenmeyen olgulardan (8,9±7,5) anlamlı olarak yüksektir (p=0,024). Kompleks vasküler proliferasyon izlenen olgularda yaş ortalaması (11,5±9,9) ile izlenmeyen olgulardaki yaş ortalaması (8,8±8,72) farklı değildir (p=0,267).

Tablo 4.1: Regresif değişikliklerin olguların yaşlarıyla ilişkisi

Regresif değişiklikler/ Yaş	İzlenen olgularda yaş ortalaması ±standart sapma	İzlenmeyen olgularda yaş ortalaması ±standart sapma	p
Kalsifikasyon	17,27±13,079	9,18±7,755	0,010
İnfarkt benzeri nekroz	12,22±10,914	10,63±9,432	0,528
Eski kanama	17,65±10,081	9,58±9,066	0,001
Hiperkromazi/ pleomorfizm	18,79±11,516	8,51±7,631	<0,001
Vasküler hiyalinizasyon	13,98±11,009	8,33±7,564	0,004

4.2 Tümör varyantlarına göre özellikler

4.2.1 Tümör varyantlarına göre yaş ve cinsiyet özellikleri

PMA yaş ortalaması (4,9±4,4) PA yaş ortalamasından (11,9±9,9) anlamlı olarak düşüktür (p<0,001). Sadece 18 yaş ve altındaki olgular analiz edildiğinde de PMA yaş ortalaması (4,9±4,4) PA yaş ortalamasından (7,9±4,6) anlamlı olarak düşüktür (p=0,016).

PA ve PMA'da cinsiyetin dağılımı farklı değildir (p=0,825) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Tümör varyantlarına göre cinsiyetin dağılımı

Tanı/Cinsiyet	Erkek	Kadın	Toplam
Pilositik astrositom	43 (%50,0)	43 (%50,0)	86 (%100,0)
Pilomiksoid astrositom	8 (%47,1)	9 (%52,9)	17 (%100,0)
Toplam	51 (%49,5)	52 (%50,5)	103 (%100,0)

4.2.2 Tümör varyantlarının histomorfolojik özellikleri

Pilomiksoid astrositomların tümünde baskın histolojik patern monofazik piloid olarak izlenirken, pilositik astrositomların 5'inde (%5,8) monofazik piloid patern izlenmektedir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Baskın histomorfolojik paternlerin PA ve PMA'ya göre dağılımı

	PA	PMA	Toplam
Klasik bifazik	50 (%58,1)	0 (%0)	50 (%48,5)
Yoğun piloid	10 (%11,6)	0 (%0)	10 (%9,7)
Mikrokistik	17 (%19,8)	0 (%0)	17 (%16,5)
Patensiz	4 (%4,7)	0 (%0)	4 (%3,9)
Monofazik piloid	5 (%5,8)	17 (%100)	22 (%21,4)
Toplam	86 (%100)	17 (%100)	103 (%100)

Histomorfolojik özelliklerin pilositik ve pilomiksoid astrositomlara göre dağılımı ve Ki-kare analizine ait p değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

PA'larda doku özelliklerinden solid+kistik bileşen, mikrokistik bileşen, leptomeningeal infiltrasyon varlığı; damar özelliklerinden ince vasküler çatı ve perivasküler lenfosit varlığı; hücresel özelliklerden oligodendroglia benzeri hücre, Rosenthal lif, eozinofilik granüler cisim ve *pennies in plate* varlığı PMA'ya göre anlamlı olarak daha fazladır (tümü için $p<0,05$).

Doku özelliklerinden kist cidarı varlığı; damar özelliklerinden kompleks vasküler proliferasyon varlığı, regresif değişikliklerden kalsifikasyon, eski kanama, hiperkromazi veya pleomorfizm varlığı ve hücre özelliklerinden multinükleer hücre varlığı PA'larda daha fazla görülmekle birlikte anlamlı bir fark oluşturmamaktadır.

Doku özelliklerinden mukoid matriks ve anjiosentrik dizilenme PMA'larda PA'lara göre daha fazladır (sırasıyla $p=0,020$ ve $p<0,001$). Çevre parankimde gliozis PMA'larda daha fazladır ancak bu fark anlamlı değildir.

Regresif değişikliklerden infarkt benzeri nekroz ve vasküler hiyalinizasyon , hücre özelliklerinden piloid hücre varlığı ise her iki tümörde yakın oranlarda görülmektedir.

Belirgin perivasküler lenfosit infiltrasyonu gösteren 6 olgunun tümü PA'dır.

Tablo 4.4: Histomorfolojik özelliklerin PA ve PMA’larda karşılaştırılması.

	Histomorfolojik özellikler	PA’da görülme sayısı (yüzdesi) n=86	PMA’da görülme sayısı (yüzdesi) n=17	p
Doku özellikleri	Solid+kistik bileşen	57 (%66,3)	1 (%5,9)	<0,001
	Mikrosistik bileşen	64 (%74,4)	3 (%17,6)	<0,001
	Kist cidarı	13 (%15,1)	0 (%0,0)	0,119
	Leptomeningeal infiltrasyon	23 (%69,7)	0 (%0,0)	0,002
	Çevre parenkimde gliozis (incelenenler içindeki)	12 (%30,8)	4 (%66,7)	0,166
	Mukoid matris	64 (%74,4)	17 (%100,0)	0,020
	Anjiosentrik dizilenme	16 (%18,6)	13 (%76,5)	<0,001
Vasküler yapılar	Kompleks vasküler proliferasyon	70 (%81,4)	12 (%70,6)	0,331
	İnce vasküler çatı	44 (%51,2)	4 (%23,5)	0,037
	Perivasküler lenfosit varlığı	35 (%40,7)	2 (%11,8)	0,022
	Vasküler hiyalinizasyon	39 (%45,3)	8 (%47,1)	0,897
Regresif değişiklikler	Kalsifikasyon	20 (%23,3)	2 (%11,8)	0,517
	İnfarkt benzeri nekroz	15 (%17,4)	3 (%17,6)	1,000
	Eski kanama alanları	16 (%18,6)	1 (%5,9)	0,293
	Hiperkromazi/pleomorfizm (Belirgin/Var)	6 (%7) / 17 (%19,8)	0 (%0) / 1 (%5,9)	0,085
Hücre özellikleri	Piloid hücre	84 (%97,7)	17 (%100,0)	1,000
	Oligodendroglia benzeri hücre	73 (%84,9)	4 (%23,5)	<0,001
	Rosenthal lif	74 (%86,0)	0 (%0,0)	<0,001
	Eozinofilik granüler cisimcik	80 (%93,0)	9 (%52,9)	<0,001
	“Pennies in plate”	24 (%27,9)	1 (%5,9)	0,065
	Multinükleer hücre	38 (%44,2)	4 (%23,5)	0,113

4.3 Lokalizasyona göre özellikler

Tümör lokalizasyonları patoloji raporları ve hasta dosyalarından elde edilen bilgilerle saptanmıştır. Üç hastada leptomeningeal yaygın tutulum vardır. Bu vakaların tümü pilositik astrositom morfolojisindedir. Bunlardan birinin spinal ve posterior fossadan birer adet biyopsisi vardır; ikinci hastanın bilateral optik gliomu vardır ve biyopsi posterior fossadaki tümördendir, üçüncüsünün ise biyopsisi hipotalamik bölgedendir. Bu olgularda ilk biyopsi lokalizasyonu tümör lokalizasyonu olarak kabul edilmiştir.

Olguların lokalizasyona göre dağılımı Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5: Olguların lokalizasyonlara göre dağılımları

Lokalizasyon	Sayı	Yüzde
Optik, kiazmatik, hipotalamik, talamik, 3.ventrikül, pineal	44	%42,7
Serebrum	10	%9,7
Posterior fossa	39	%37,9
Spinal	10	%9,7
Toplam	103	%100,0

Pilomiksoid varyantların tümü hipotalamik/kiazmatik lokalizasyondadır.

Hipotalamik/kiazmatik tümörlerin %31,8'inde, serebrumdaki tümörlerin %40'ında, posterior fossa tümörlerinin %28,2'sinde ve spinal tümörlerin %40'ında tekrar biyopsi uygulanmıştır. Lokalizasyonlar arasında tekrar cerrahi işlem uygulanması açısından fark yoktur ($p=0,838$).

Olguların yaş ortalamalarının lokalizasyona göre dağılımı Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Serebral tümörlerde yaş ortalaması diğer lokalizasyonlara göre yüksektir ($p<0,001$). Bu fark spinal bölge dışındaki lokalizasyonlarda anlamlıdır ($p<0,05$). Sadece 18 yaş ve altındaki olgulara bakıldığında ise yaş ortalamaları lokalizasyonlara göre farklı değildir ($p=0,203$).

Tablo 4.6: Lokalizasyona göre olguların yaş ortalamaları ve lokalizasyona göre en küçük ve en büyük yaşlar.

Lokalizasyon	Yaş ortalaması	Standart sapma	En düşük değer	En yüksek değer
Optik, kiazmatik, hipotalamik, talamik, 3.ventrikül, pineal	7,26	6,126	1	30
Serebrum	24,20	12,735	4	42
Posterior fossa	10,46	9,173	1	50
Spinal	14,40	8,834	3	29
Toplam	10,81	9,627	1	50

Cinsiyetin lokalizasyona göre dağılımı farklı değildir (p=0,846) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Lokalizasyona göre cinsiyetin dağılımı.

Lokalizasyon	Erkek	Kadın	Toplam
Optik, kiazmatik, hipotalamik, talamik, 3.Ventrikül, pineal	22 (%50,0)	22 (%50,0)	44 (%100,0)
Serebrum	4 (%40,0)	6 (%60,0)	10 (%100,0)
Posterior fossa	19 (%48,7)	20 (%51,3)	39 (%100,0)
Spinal	6 (%60,0)	4 (%40,0)	10 (%100,0)
Toplam	51 (%49,5)	52 (%50,5)	103 (%100,0)

4.3.1 Histomorfolojik özelliklerin lokalizasyona göre karşılaştırılması

Baskın histolojik patern ve lokalizasyon ilişkisi Tablo 4.8'de gösterilmiştir. Monofazik piloid ve paternsiz morfolojideki tümörlerin tümü hipotalamik/kiazmatik lokalizasyondadır. Mikrokistik morfoloji posterior fossada, yoğun piloid morfoloji spinal tümörlerde daha sık görülürken klasik bifazik morfoloji daha homojen bir dağılım sergilemektedir. Histolojik patern ve lokalizasyon ilişkisini istatistiksel olarak değerlendirmek mümkün olmamıştır.

Tablo 4.8: Baskın histolojik paternlerin lokalizasyonlara göre dağılımı

		Lokalizasyon			
		Supratentorial		İnfratentorial	
		Hipotalamik, kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal
Histolojik patern	Klasik bifazik	13 (%29,5)	5 (%50)	25 (%64,1)	7 (%70)
	Yoğun piloid	4 (%9,1)	1 (%10)	2 (%5,1)	3 (%30)
	Mikrokistik	1 (%2,3)	4 (%40)	12 (%30,8)	0 (%0)
	Paternsiz	4 (%9,1)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
	Monofazik piloid	22 (%50)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
	Toplam	44 (%100)	10 (%100)	39 (%100)	10 (%100)

Histomorfolojik özelliklerin lokalizasyona göre dağılımı ve Ki-kare analizine ait p değerleri EK 2’de verilmiştir.

Doku özelliklerinden solid+kistik bileşen spinal, posterior fossa ve serebrumda ($p=0,001$); mikrokistik bileşen serebrum ve posterior fossada ($p<0,001$); kist cidarı posterior fossada ($<0,001$); leptomeningeal infiltrasyon posterior fossada ($p=0,008$); mukoid matriks serebrum, posterior fossa ve hipotalamik/kiazmatik bölgede ($p<0,001$) anlamlı olarak daha fazla görülmektedir. Regresif değişikliklerden eski kanama alanları serebrumda anlamlı olarak daha fazladır ($p<0,001$). Yine regresif değişikliklerden belirgin hiperkromazi veya pleomorfizm serebrumda daha fazla görülmektedir ($p<0,001$). Hücre özelliklerinden oligodendroglia benzeri hücreler serebrum ve posterior fossada ($p<0,001$); Rosenthal lifler ise posterior fossa ve spinalde ($p<0,001$) daha fazla izlenmektedir. Eozinofilik granüler cisimcikler serebrum ve spinal lokalizasyonunda daha fazladır ($p=0,01$).

4.4 Rezidü/rekürren tümör nedeniyle birden fazla biyopsisi olan olguların özellikleri

Serimizde tek biyopsisi olan olgu sayısı 70 iken rezidü/rekürren tümör nedeniyle 33 olguda birden fazla cerrahi işlem uygulanmıştır. Bu 33 olgunun 2'si 4 kez, 6'sı 3 kez cerrahi işlem geçirmiştir.

4.4.1 Rezidü/rekürren olgularla tek biyopsisi olan olguların karşılaştırılması

Tek biyopsisi olan olguların yaş ortalaması ($11,9\pm 10,2$) ile birden fazla biyopsisi olan olguların ilk tanı anlarındaki yaş ortalamaları ($8,5\pm 7,9$) arasında anlamlı bir fark yoktur ($p=0,097$). Onsekiz yaş altındaki olgularda da tek biyopsisi olan olguların yaş ortalaması ($7,8\pm 4,7$) ile birden fazla biyopsisi olan olguların ilk tanı anlarındaki yaş ortalamaları ($6,4\pm 4,5$) arasında anlamlı bir fark yoktur ($p=0,194$).

On yedi pilomiksoid astrositomun 6'sında (%35,3) rezidü/rekürren tümör nedeniyle yeni bir cerrahi girişime ihtiyaç duyulurken, 86 pilositik astrositomun 27'sinde (%31,4) tekrar cerrahi uygulanmıştır. Bu iki tümör varyantı arasında tekrar cerrahi işlem uygulanması açısından fark yoktur ($p=0,753$).

Rezidü/rekürren tümör varlığı ya da yokluğunun lokalizasyona göre dağılımı farklı değildir ($p=0,838$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9: Tekrarlayan biyopsi varlığının lokalizasyona göre dağılımı.

Lokalizasyon	Rezidü/rekürren tümörü var	Rezidü/rekürren tümörü yok	Toplam
Optik, kiazmatik, hipotalamik, talamik, 3.Ventrikül, pineal	14 (%31,8)	30 (%68,2)	44 (%100,0)
Serebrum	4 (%40,0)	6 (%60,0)	10 (%100,0)
Posterior fossa	11 (%28,2)	28 (%71,8)	39 (%100,0)
Spinal	4 (%40,0)	6 (%60,0)	10 (%100,0)
Toplam	33 (%32,0)	70 (%68,0)	103 (%100,0)

4.4.2 Rezidü/rekürren tümörü olan olgular

Sadece rezidü/rekürren tümörü olan olguların özelliklerine bakıldığında Tablo 4.10'daki bulgular saptanmıştır. Bu 33 olgunun 11'i erkek, 22'si kadındır. 6'sı PMA, 27'si ise PA'dır.

Tablo 4.10: Rezidü/rekürren tümörü olan olguların ilk biyopsi özellikleri.*

	PMA (n=6)	PA (n=27)			
Yaş ortalaması	2,3±1,9	9,9±8,4			
Cinsiyet E:K	5:1	6:21			
Lokalizasyon (n)	Hipotalamik/kiazmatik 6	Hipotalamik/kiazmatik 8	Serebrum 4	Posterior fossa 11	Spinal 4
Patern (n)	Monofazik piloid 4	Klasik bifazik 10	Mikrokistik 6	Yoğun piloid 6	

*: İki PMA olgusunun ve 5 PA olgusunun ilk biyopsileri incelenememiştir. Lokalizasyon ve yaş bilgileri dosya kayıtlarından alınmıştır.

Tekrarlayan biyopsileri olan olguların ilk biyopsileri sırasında en küçük yaş 7 ay, en büyük yaş 33'tür. Olguların birinci ve ikinci biyopsileri arasında yaklaşık ortalama 2,3 yıl vardır (en az 1 aydan kısa, en çok 11 yıl).

Serimizdeki 103 olgunun sadece 3'ünde (%2,9) mitoz izlenmiştir. Bu olguların ikisinin tekrarlayan cerrahisi vardır. Bu olgulardan ilki 6 yaşında erkek hastadır. İlk biyopsisi dış merkezde yapılmıştır. İncelenen ikinci biyopsisi 8 yaşında

yapılmıştır ve tanısı PMA'dır. Bu olguda mitoz sayısı 2/10BBA'dır. İkinci olgu 5 yaşında erkektir. Tümör posterior fossa yerleşimli PA olup, 11 ve 21 yaşlarında tekrarlayan biyopsileri vardır. Üçüncü olgu ise 7 aylık kız bebektir. Tek biyopsisi vardır ve tanısı PMA'dır. Bu olguda mitoz intraoperatif konsültasyon sırasında yapılan yaymada gözlenmiştir.

Serimizdeki 17 PMA'nın 6'sında (%35,3) rezidü/rekürrens nedeniyle tekrar cerrahi işlem uygulanmıştır. Bu 6 olgunun 2'sinde (%33,3) ilk biyopsiler pilomiksoid morfolojide iken tekrarlayan biyopsilerde pilositik astrositom morfolojisi izlenmiştir. Bu olgulardan biri hipotalamik kiazmatik yerleşimli tümörü olan 2 yaşında erkek bir hastadır. Radyolojik olarak kavernoöz sinüs ve temporal lobu infiltre eden, kistik bileşenli dev bir tümör olarak tanımlanmıştır. İki yıl sonra nüks nedeniyle yapılan rezeksiyonunda klasik bifazik paternde Rosenthal lifleri belirgin bir PA morfolojisi izlenmiştir. Diğer olgu hipotalamik kiazmatik yerleşimli tümörü olan 1 yaşında erkek hastadır. Subtotal rezeksiyon sonrası rezidü tümöründe büyüme tespit edilmesi üzerine yaklaşık 7 ay sonra yeniden rezeksiyon yapılmış ve klasik bifazik paternde pilositik astrositom morfolojisi izlenmiştir. İkinci olgunun biyopsileri arasında kemoterapi aldığı öğrenilmiştir. Her iki olguda da tümör boyutları büyük olduğu için total rezeksiyon sağlanamamıştır.

PA'larda da tekrarlayan biyopsilerde baskın histomorfolojik paternin değiştiği görülmektedir. Bu değişim sayı yetersizliği nedeniyle istatistiksel olarak incelenememiştir ancak EK 9'daki tabloda görüldüğü gibi baskın histomorfolojik paternler tekrarlayan biyopsilerde aynı kalabilmekte ya da değişebilmektedir

4.5 İmmünohistokimya sonuçları

4.5.1 Genel sonuçlar

İmmünohistokimyasal uygulama sonucunda elde edilen skorlar Tablo 4.11'de verilmiştir. Tüm olgular içerisinde B-RAF skorunun ortancası $4,0 \pm 7,0$, pMEK1 skorunun ortancası $15,0 \pm 5,0$, pERK1/2 skorunun ortancası $9,0 \pm 6,0$ 'dir.

Tablo 4.11: Olguların immünohistokimya skorları

Skor	B-RAF olgu sayıları	pMEK1 olgu sayıları	pERK1/2 olgu sayıları
0	14	-	3
1	8	1	1
2	9	2	9
3	16	2	7
4	7	1	-
5	3	2	-
6	11	7	26
8	6	5	-
9	5	1	30
10	10	22	-
12	7	5	15
15	7	55	12
Toplam	103	103	103

Tablo 4.12: Tümör varyantlarına göre immünohistokimya skorları

	PA	PMA	p
B-RAF skor	5,0±7,0	2,0±8,0	0,077
pMEK1 skor	12,0±5,0	15,0±0	0,004
pERK1/2 skor	9,0±3,0	9,0±6,0	0,206

Tablo 4.13: Tümör lokalizasyonlarına göre immünohistokimya skorları

	Hipotalamik/ kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal	P
B-RAF skor	3,00±8,00	6,00±7,00	6,00±6,00	3,50±10,00	0,323
pMEK1 skor	15,00±5,00	12,00±10,00	12,00±5,00	13,50±10,00	0,365
pERK1/2 skor	9,00±6,00	9,00±7,00	9,00±6,00	7,50±10,00	0,978

Tablo 4.14: Baskın histomorfolojik paternlere göre immünohistokimya skorları

	Klasik bifazik	Yoğun piloid	Mikrokistik	Patensiz	Monofazik piloid	p
B-RAF skor	6,00±7,00	4,00±6,00	4,00±8,00	3,00±3,00	2,00±10,00	0,203
pMEK1 skor	12,00±5,00	10,00±8,00	15,00±6,00	7,00±4,00	15,00±0,00	0,001
pERK1/2 skor	9,00±3,00	4,50±11,00	9,00±6,00	7,50±8,00	9,00±6,00	0,233

4.5.2 B-RAF sonuçları

B-RAF immünohistokimyasal ekspresyonunun tüm olgulardaki intensite ve yaygınlıkları EK 3'te verilmiştir.

Tablo 4.11'de görüldüğü gibi 14 (%13,6) olguda B-RAF negatiftir. B-RAF negatif olan 14 olgunun 10 tanesi PA, 4 tanesi PMA'dır. Sekiz tanesi hipotalamik/kiazmatik, 1 tanesi serebrum, 4 tanesi posterior fossa, 1 tanesi spinal lokalizasyonludur. Bu olguların 5'i erkek, 9'u kadındır ve ortalama yaşları $8,1 \pm 7,6$ 'dır. Bu olguların 4'ünde rezidü/rekürren tümör nedeniyle tekrarlayan biyopsi vardır. Bu tümörlerin 3'üne ulaşılabildiği görülmüştür. Bunlarda da zayıf B-RAF ekspresyonu (skor 1, 1 ve 5) saptanmıştır. B-RAF negatif olguların tümünde pMEK1 ve pERK1/2 pozitifdir. (Tekrarlayan biyopsiler için Bkz. EK 9)

Tümör varyantlarına göre B-RAF ekspresyonu

B-RAF intensitesi pilositik ve pilomiksoid astrositomlarda benzer dağılmaktadır (Ki-kare exact test, $p=0,195$). B-RAF yaygınlığı pilositik ve pilomiksoid astrositomlarda benzer dağılmaktadır (Ki-kare exact test, $p=0,418$). İntensite ve yaygınlığın tümör varyantlarındaki dağılımı EK 4'te verilmiştir.

B-RAF skorlarının ortancalarının tümör varyantlarına göre dağılımı Tablo 4.12'de verilmiştir. PA ve PMA'da B-RAF skor ortancaları benzerdir (Mann-Whitney U test, $p=0,077$). Ancak B-RAF skoru, yaygınlık (negatif, %1-10, %11-50, %51-100) olarak hesaplandığında, PA'larda ($4,00 \pm 4,00$) PMA'lara ($2,00 \pm 5,00$) göre yüksektir (Mann-Whitney U test, $p=0,050$).

Lokalizasyona göre B-RAF ekspresyonu

B-RAF intensitelerinin lokalizasyona göre dağılımı benzerdir (Ki-kare exact test, sırasıyla $p=0,341$). B-RAF boyanma yüzdeleri lokalizasyona göre benzerdir (Ki kare exact test, sırasıyla $p=0,692$). İntensite ve yaygınlığın lokalizasyona göre dağılımı EK 5'te verilmiştir.

B-RAF skorlarının ortancalarının lokalizasyona göre dağılımı Tablo 4.13'te verilmiştir. B-RAF skorlarının ortancaları lokalizasyonlar arasında benzerdir (Mann-Whitney U test, $p=0,323$).

Baskın histomorfolojik paterne ve histomorfolojik özelliklere göre B-RAF ekspresyonu

B-RAF skorlarının ortancaları baskın histolojik paternler arasında farklı değildir (Kruskal Wallis test, $p=0,203$) (Tablo 4.14).

B-RAF skoru doku özelliklerinden solid+kistik bileşen izlenen olgularda ($p=0,038$), mikrokistik bileşen izlenen olgularda ($p=0,039$), kist cidarı izlenen olgularda ($p=0,012$), leptomeningeal infiltrasyon izlenen olgularda ($p=0,046$) bu histomorfolojilerin tespit edilmediği olgulara göre daha yüksektir. B-RAF skoru regresif değişikliklerden kalsifikasyon izlenen olgularda ($p=0,039$) ve eski kanama alanları izlenen olgularda ($p=0,019$), hücresel özelliklerden ise “pennies in plate” izlenen olgularda ($p=0,008$) bu histomorfolojilerin tespit edilmediği olgulara göre daha yüksektir. Regresif değişikliklerden hiperkromazi veya pleomorfizm varlığında da B-RAF skoru yüksektir ($p=0,042$). (Tümü için p değerleri Mann-Whitney U test ile hesaplandı) (Ayrıntılı liste EK 6'da verilmiştir.)

4.5.3 pMEK1 sonuçları

pMEK1 immünohistokimyasal ekspresyonunun tüm olgulardaki intensite ve yaygınlıkları EK 3'te verilmiştir.

Tablo 4.11'de de görüldüğü gibi pMEK1 ile reaksiyon vermeyen olgu yoktur.

Tümör varyantlarına göre pMEK1 ekspresyonu

pMEK1 PMA'ların %88,2'sinde kuvvetli pozitifken, PA'ların %57,0'ında pozitifdir. Zayıf ve orta şiddette boyanmalar PA'larda PMA'lara göre daha fazladır. (Ki-kare exact test, $p=0,044$). pMEK1 yaygınlığı PA ve PMA'larda benzerdir (Ki-

kare exact test, $p=0,347$). İntensite ve yaygınlığın tümör varyantlarındaki dağılımı EK 4'te verilmiştir.

pMEK1 skorlarının ortancalarının tümör varyantlarına göre dağılımı Tablo 4.12'de verilmiştir. pMEK1 skorunun ortancası PMA'larda ($15,0\pm 0,0$) PA'lara göre ($12,0\pm 5,0$) daha yüksektir (Mann-Whitney U test, $p=0,004$).

Lokalizasyona göre pMEK1 ekspresyonu

pMEK1 intensitelerinin lokalizasyona göre dağılımı benzerdir (Ki-kare exact test, $p=0,477$). pMEK1 boyanma yüzdesi hipotalamik/kiazmatik bölge ve posterior fossada daha yüksektir (Ki kare exact test, $p=0,029$). İntensite ve yaygınlığın lokalizasyona göre dağılımı EK 5'te verilmiştir.

pMEK1 skorlarının ortancalarının lokalizasyona göre dağılımı Tablo 4.13'te verilmiştir. pMEK1 skorlarının ortancaları lokalizasyonlar arasında benzerdir (Mann-Whitney U test, $p=0,365$). Sadece hipotalamik/kiazmatik lokalizasyona bakıldığında ise pMEK1 skor ortancasının PMA'larda ($15,00\pm 0,00$) PA'lara ($10,00\pm 7,00$) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Mann-Whitney U test, $p=0,011$).

Baskın histomorfolojik paterne ve histomorfolojik özelliklere göre pMEK1 ekspresyonu

Tablo 4.14'te görüldüğü gibi pMEK1 skorlarının ortancası baskın histolojik paternler arasında farklılık göstermektedir (Kruskal Wallis test, $p=0,001$). pMEK1 skor ortancası monofazik piloid ve mikrosistik paternde yüksek iken (sırasıyla $15,0\pm 0,0$ ve $15,0\pm 6,0$) paternsiz morfolojide düşüktür ($7,0\pm 4,0$).

pMEK1 skoru doku özelliklerinden mukoid matriks varlığında ($p=0,020$) ve anjiosentrik dizilenme varlığında ($p=0,003$) yüksektir. Regresif değişikliklerden kalsifikasyon varlığında ($p=0,026$), hücre özelliklerinden oligodendroglia benzeri hücre ($p=0,004$), Rosenthal lif ($p=0,014$) ve eozinofilik granüler cisimcik varlığında ($p=0,002$) ise düşüktür. (Tümü için p değerleri Mann-Whitney U test ile hesaplandı) (Ayrıntılı liste EK 7'de verilmiştir.)

4.5.4 pERK1/2 sonuçları

pERK1/2 immünohistokimyasal ekspresyonunun tüm olgulardaki intensite ve yaygınlıkları EK 3'te verilmiştir.

Tablo 4.11'de tüm olgular içindeki pERK1/2 skorları izlenmektedir. pERK1/2 ile negatif 3 olgu (%2,9) saptanmıştır. Bu olgulardan ilki 30 yaşında kadındır. Serebrumda izlenen PA'da yoğun piloid patern, anjiosentrik dizilenme, mukoid matriks ve infarkt benzeri nekroz yanısıra hiperkromazi/pleomorfizm saptanmıştır. Bu olgunun başka biyopsisi yoktur. B-RAF skoru 8,0 ve pMEK1 skoru 15,0'tir. İkinci olgu 14 yaşında kadındır. Hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonda izlenen PA'da klasik bifazik morfoloji izlenmiştir. İncelenen örnek hastanın 2. biyopsisidir. Olgunun ilk biyopsisine ulaşılamamıştır. Bu olguda B-RAF ve pMEK1 skoru 15,0'tir. Üçüncü olgu 30 yaşında kadındır. Hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonda izlenen PA'da patensiz histomorfolojik görünüm hakimdir. Bu olgunun başka biyopsisi yoktur. B-RAF skoru 3,0 ve pMEK1 skoru 10,0'dur.

Tümör varyantlarına göre pERK1/2 ekspresyonu

pERK1/2 intensitesinin PA ve PMA arasındaki dağılımı benzerdir (Ki-kare exact test, $p=0,661$). pERK1/2 yaygınlığı PA ve PMA'larda benzerdir (Ki-kare exact test, $p=0,326$). İntensite ve yaygınlığın tümör varyantlarındaki dağılımı EK 4'te verilmiştir.

pERK1/2 skorlarının ortancaları PA ve PMA'larda benzerdir (Tablo 4.12) (Mann-Whitney U test, $p=0,206$).

Lokalizasyona göre pERK1/2 ekspresyonu

pERK1/2 intensitelerinin lokalizasyona göre dağılımı benzerdir (Ki-kare exact test, $p=0,461$). pERK1/2 boyanma yüzdeleri lokalizasyona göre benzerdir (Ki-kare exact test, $p=0,864$). İntensite ve yaygınlığın lokalizasyona göre dağılımı EK 5'te verilmiştir.

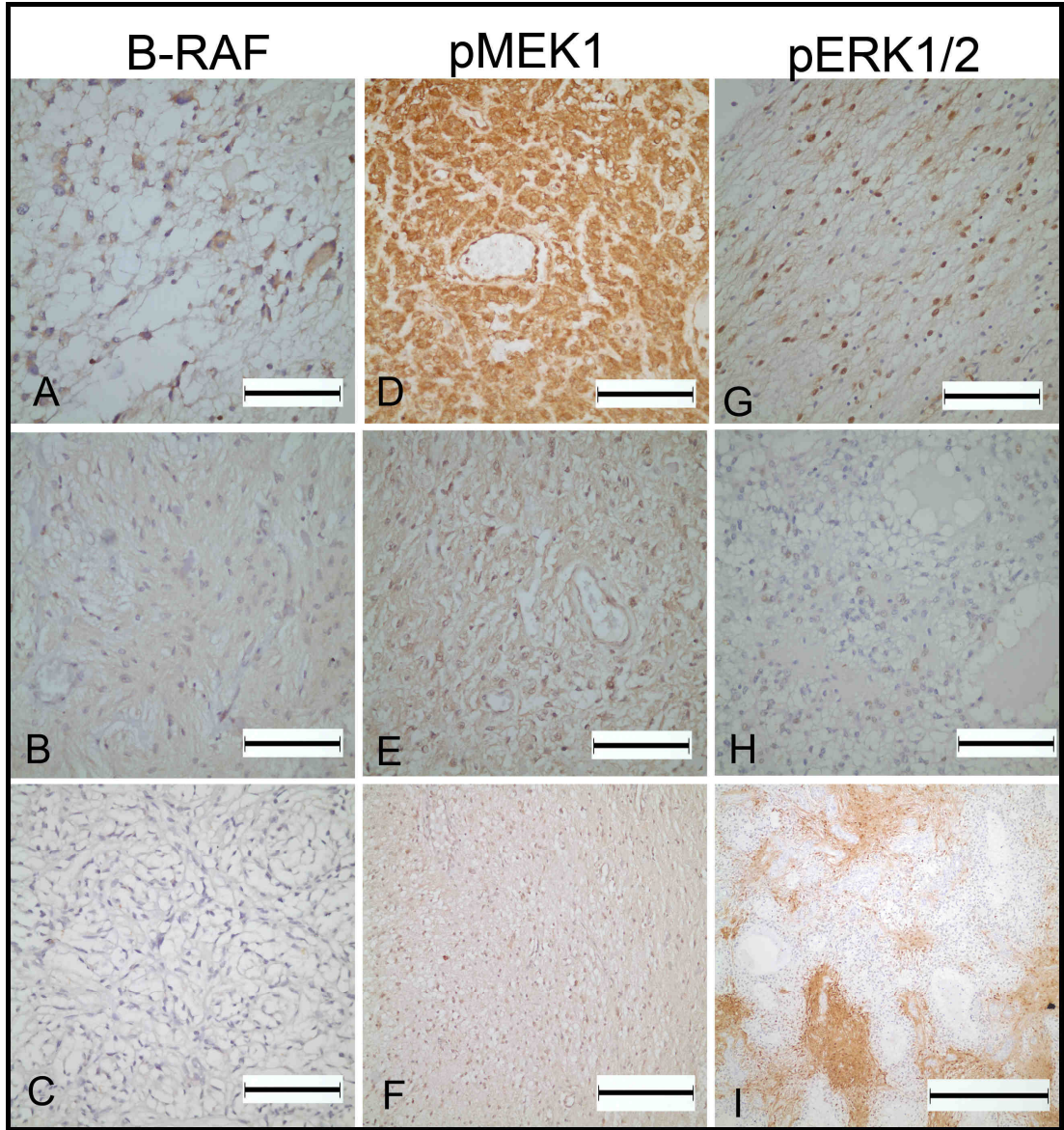
pERK1/2 skorlarının ortancaları lokalizasyonlar arasında benzerdir (Mann-Whitney U test, $p=0,978$). (Tablo 4.13)

Baskın histomorfolojik paterne ve histomorfolojik özelliklere göre pERK1/2 ekspresyonu

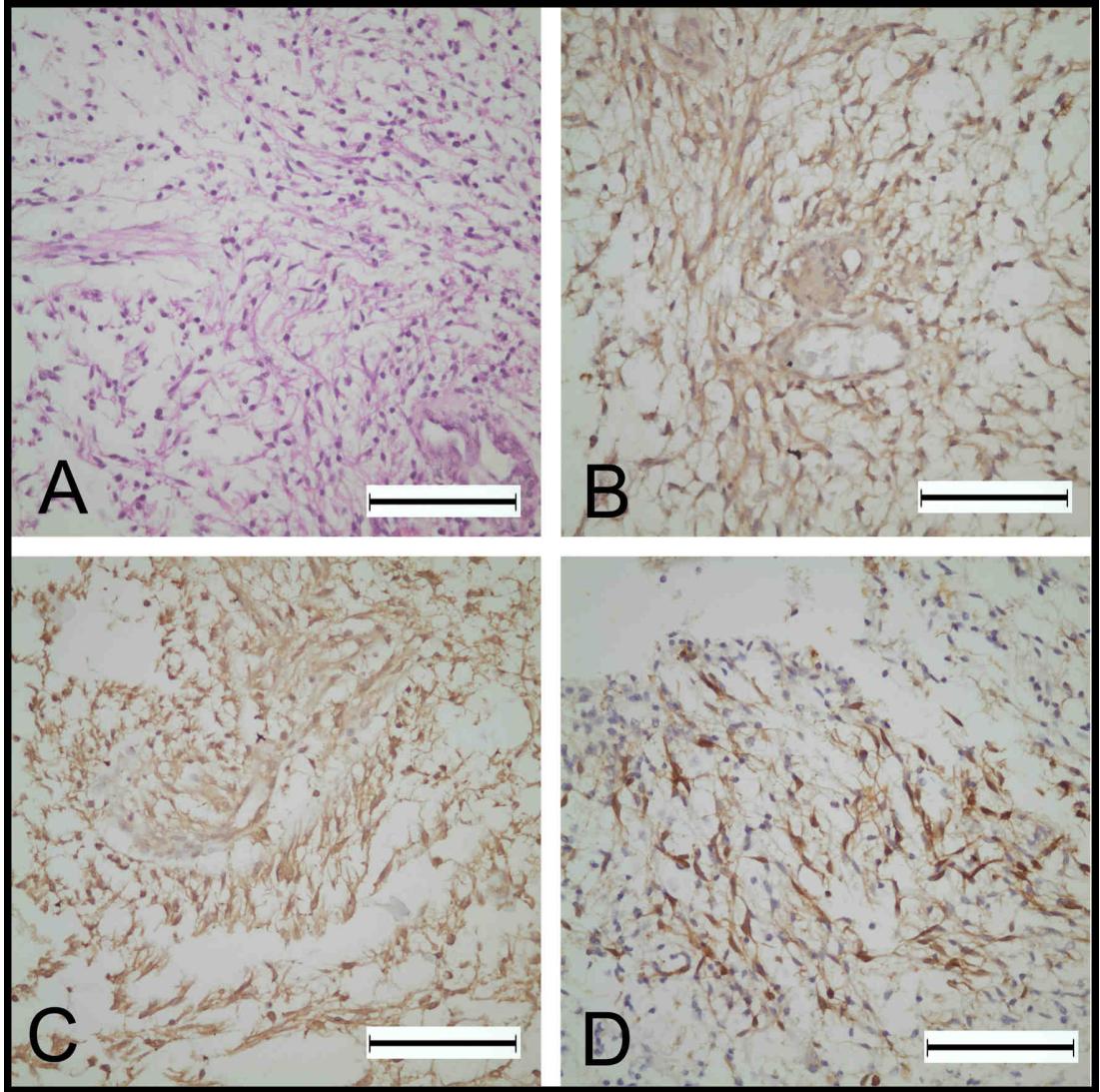
pERK1/2 skorlarının ortancaları baskın histolojik paterne göre farklı değildir (Kruskal Wallis test, $p=0,233$) (Tablo 4.14).

pERK1/2 skoru Rosenthal lif varlığında daha düşüktür ($p=0,015$). Bu skor diğer hiçbir histomorfolojik özelliğin varlığı ya da yokluğu ile farklılık göstermemektedir. (Tümü için $p >0,05$, Mann-Whitney U test) (Ayrıntılı liste EK 8'de verilmiştir)

Şekil 4.2'de PA, şekil 4.3'te PMA örneklerindeki immünohistokimyasal boyanma örnekleri gösterilmiştir.



Şekil 4.2: PA'larda immünohistokimyasal ekspresyon. Anti-B-RAF antikoruyla A: kuvvetli pozitif (çizgi 100µm), B: zayıf pozitif (çizgi 100µm) ve C: negatif (çizgi 100µm) olgu örnekleri. Anti-pMEK1 antikoruyla D: kuvvetli pozitif (çizgi 100µm), E: orta şiddette pozitif (çizgi 100µm), F: zayıf pozitif (çizgi 200µm) olgu örnekleri. Anti-pERK1/2 antikoruyla G: kuvvetli pozitif (çizgi 100µm), H: zayıf pozitif (çizgi 100µm) doku örnekleri. I: Anti-pERK1/2 ile heterojen boyanma (çizgi 500µm).



Şekil 4.3: PMA'da immünohistokimyasal ekspresyon. A: Miksoid matrikste monofazik piloid hücreler. B-RAF (A), pMEK1 (B) ve pERK1/2 (C) ekspresyonu (çizgiler 100µm).

5 TARTIŞMA

5.1 Demografik bilgiler

Çalışmada 103 hastaya ait 136 tümör incelenmiştir. İlk tanı aldıklarında olguların ortalama yaşı $10,8 \pm 9,7$ 'dir. Olgular en az 7 aylık, en çok 50 yaşındadır. Olguların %84,5'u 18 yaş altındadır. PMA'larda yaş ortalaması ($4,9 \pm 4,4$) PA'larda izlenen yaş ortalamasından ($11,9 \pm 9,9$) anlamlı olarak düşüktür ($p < 0,001$). Kadın erkek oranı PA ve PMA'larda yaklaşık eşit bulunmuştur.

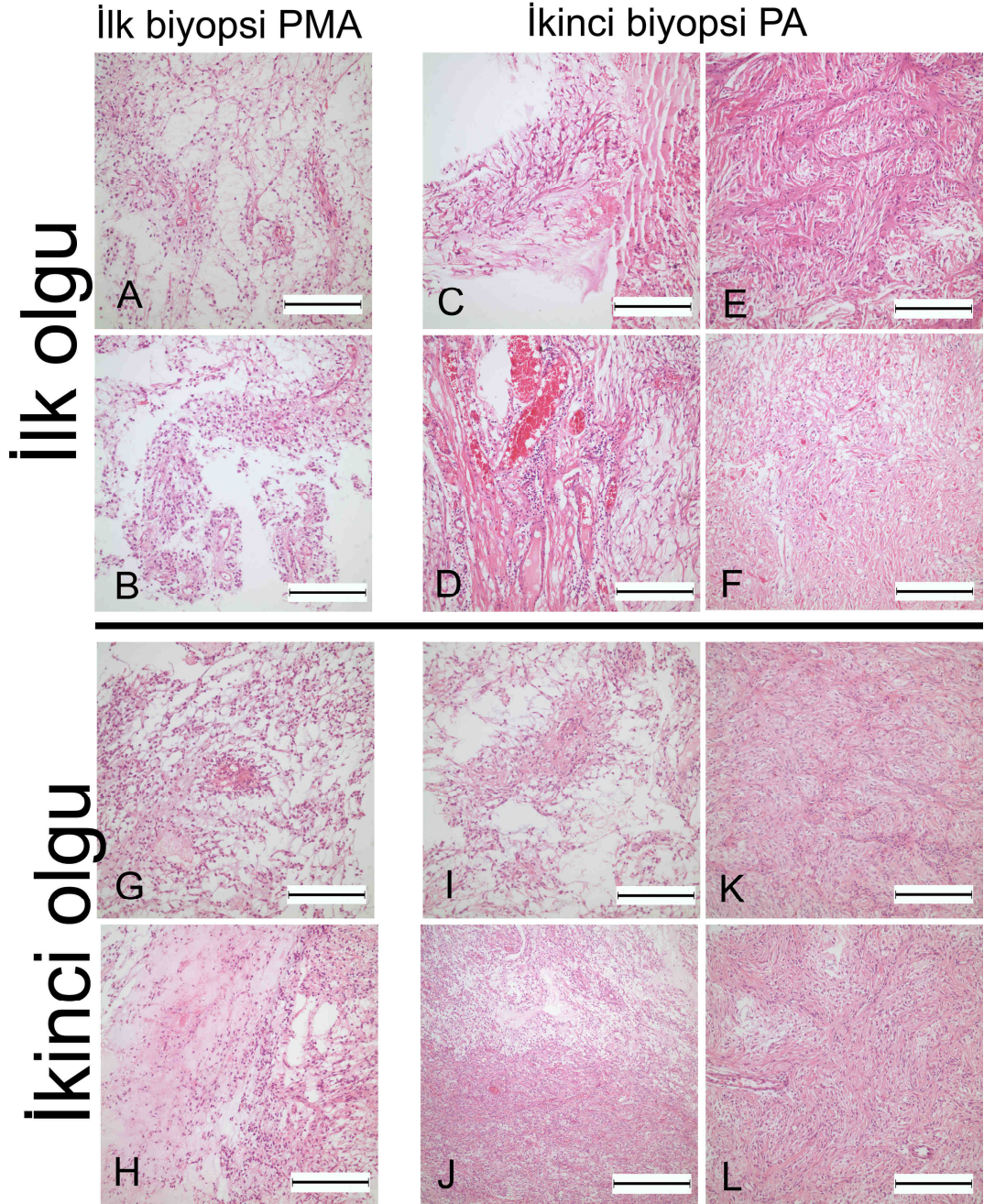
Olguların %83,5'u PA, %16,5'u PMA'dır. PMA insidansı bilinmemektedir¹. Ancak ender bir tümör olduğu düşünülürse bu yüzdeler seçilen olgu grubundan kaynaklanıyor olabilir. Olguların rastgele seçilmemiş olmaları nedeniyle bu veriler epidemiyolojik bir sonuç olarak yorumlanamasa da tümör varyantı, lokalizasyon, rezidü/rekürren tümör varlığı, yaş ve cinsiyet dağılımı konusunda fikir verebileceği düşünülmüştür.

5.2 Pilositik ve Pilomiksoid astrositomun özelliklerinin tartışılması

PA'lar çocukluk çağının en sık görülen glial tümörüdür. PA'lar üzerinde pek çok morfolojik ve genetik çalışmalar yapılmasına karşın genetik profili ve patogenezi net aydınlatılmış değildir. PMA daha önceleri infantil astrositom olarak tanımlanmış, sınıflamaya yeni dahil edilmiş ve histopatolojisi, patogenezi, histogenezi ve genetiği üzerinde tartışmaların devam ettiği bir tümördür. İlk tanımlandığında lokalizasyona özgün olduğu ve oldukça katı kriterlere sahip olduğu belirtilmişse de bu tanımlamaya uygun olmayan çok sayıda olgu bildirilmiştir^{1, 26-27, 29-32}.

Serimizde PMA'ların yaş ortalaması PA'lardan hem tüm olgular içinde hem de 18 yaş altında daha düşüktür (sırasıyla $p < 0,001$, $p = 0,016$). PMA ortalama yaşı 4,9 olarak bulunmuştur. Literatürde PMA'ların ortalama 10 haftalık çocuklarda görüldüğü tanımlamasına karşın daha büyük çocuklarda ve erişkinlerde de bildirilmiştir^{1, 26-28}.

Serimizdeki 17 PMA'nın 6'sında (%35,3) rezidü/rekürrens nedeniyle tekrar cerrahi işlem uygulanmıştır. Bu 6 olgunun 2'sinde (%33,3) ilk biyopsiler pilomiksoid morfolojide iken tekrarlayan biyopsilerde pilositik astrositom morfolojisi izlenmiştir (Şekil 5.1). Bu olgulardan birincisi hipotalamik kiazmatik yerleşimli tümörü olan 2 yaşında erkek bir hastadır. Radyolojik olarak kavernoöz sinüs ve temporal lobu infiltre eden, kistik bileşenli dev bir tümör olarak tanımlanmıştır. İki yıl sonra nüks nedeniyle yapılan rezeksiyonunda klasik bifazik paternde Rosenthal lifleri belirgin bir PA morfolojisi izlenmiştir (Şekil 5.1 A-F). İkinci olgu hipotalamik kiazmatik yerleşimli tümörü olan 1 yaşında erkek hastadır. İlk biyopsisinde infarkt benzeri nekroz alanları içeren PMA saptanmıştır. Subtotal rezeksiyon sonrası rezidü tümöründe büyüme tespit edilmesi üzerine 7 ay sonra yeniden rezeksiyon yapılmış ve klasik bifazik paternde PA morfolojisi izlenmiştir (Şekil 5.1 G-L). İkinci olgunun her iki biyopsi arasında kemoterapi aldığı öğrenilmiştir. Her iki olguda da tümör boyutları büyük olduğu için total rezeksiyon sağlanamamıştır. Farklı zamanda örnekleme yapılması ve radyolojik olarak heterojen görünümde tümörler olmaları nedeniyle, tekrarlayan cerrahilerde yapılan örneklemelemlerle farklı tümör alanları yansıtıyor olabilir. Ancak cerrahi işlemler arasında geçen sürede tümörün “yaşlanması”, progresyon göstermesi ve alınan kemoterapinin de bu değişikliklere neden olma ihtimali mevcuttur. Bu durum literatürde de tartışmalıdır. Pilomiksoid morfolojinin pilositik astrositom gelişiminde bir basamak olduğu, bu değişikliklerin bir tür matürasyonu yansıttığı, yaşla ya da tedavi ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Literatürde bildirilen serilerde olguların yaklaşık %40-50'sinde, yaklaşık 3-7 yıl sonra yapılan cerrahi işlemler sonrasında PA morfolojisi görülmüştür^{33, 89-90}. Bu bulgular fokal klasik PA özelliği taşıyan ve Rosenthal lif içeren PMA raporlarının da varlığı²⁶ ile birlikte düşünüldüğünde hem tanısal zorluğu hem de patogeneze yönelik çalışmalardaki sıkıntıları yansıtmaktadır.



Şekil 5.1: İlk biyopsileri PMA, tekrarlayan biyopsileri PA olan olgular. A,B: Birinci olgunun ilk biyopsisi, mukoid matris, anjiosentrik dizilenme ve monofazik piloid görünümdeki PMA. C,D: Birinci olgunun ikinci biyopsisinde sebat eden PMA benzeri alanlar. E,F: Birinci olgunun ikinci biyopsisinde Rosenthal liflerinden zengin yoğun piloid alanlar gösteren PA. G,H: İkinci olgunun birinci biyopsisi. Anjiosentrik dizilenme ve infarkt benzeri nekroz alanları. I,J: İkinci olgunun ikinci biyopsisinde PMA ve PA geçişi. K,L: İkinci olgunun ikinci biyopsisinde yoğun piloid alanlar gösteren PA. (H+E, çizgiler 200µm)

PA'larda da tekrarlayan biyopsilerde baskın histomorfolojik paternin değiştiği görülmektedir. Bu değişim sayı yetersizliği nedeniyle istatistiksel olarak incelenememiştir ancak EK 9'daki tabloda görüldüğü gibi baskın histomorfolojik paternler tekrarlayan biyopsilerde aynı kalabilmekte ya da değişebilmektedir. Bu durum PMA'lardaki patern değişimi için ne sürülen yaş, tedavi, matürasyon gibi etkenlerle bağlantılı olabileceği gibi tümörün farklı alanlarının örneklenmiş olmasından da kaynaklanıyor olabilir. Bu bulguların yeterli sayıda olguyla tekrar değerlendirilmesi ile bu değişikliklerin nedeni araştırılmalıdır.

Çalışmamızda incelenen PMA'ların tümü hipotalamik/kiazmatik lokalizasyondadır. Tarafımızdan PMA olarak sınıflandırılmayan ancak baskın histolojik patern açısından monofazik piloid grupta değerlendirilen PA'ların da tümünün hipotalamik/kiazmatik bölgede olduğu dikkati çekmektedir (Bkz. Tablo 4.8). Bunun bir nedeni alışmamızda PMA tanısında DSÖ nerileri ¹ doğrultusunda Rosenthal lif varlığında PMA tanısı vermemiş olmamızdır.

Tümör varyantlarına göre histomorfolojik özellikler incelendiğinde varyantlar arasında řu farklılıklar saptanmıştır: PA'larda doku özelliklerinden solid+kistik bileşen, mikrokistik bileşen, leptomeningeal infiltrasyon; damar özelliklerinden ince vasküler çatı, perivasküler lenfosit; hücre özelliklerinden oligodendroglia benzeri hücre, Rosenthal lif, eozinofilik granüler cisim ve *pennies in plate* varlığı PMA'lara göre anlamlı olarak daha fazla izlenmiştir (tümü için $p < 0,05$; Bkz. Tablo 4.4). Solid+kistik bileşen, mikrokistik bileşen, oligodendroglia benzeri hücre, Rosenthal lif, eozinofilik granüler cisim ve *pennies in plate* literatürde PA zellikleri olarak belirtilmektedir ⁵. Solid+kistik bileşen ve oligodendroglia benzeri hücreler özellikle serebellar örneklerde görülmektedir ^{1, 10}. Bu zelliklerin varlığında PMA tanısı verilmediğinden istatistiksel farklılık çıkması doğaldır. İnce vasküler çatı ve perivasküler lenfosit varlığı ise tüm olgular içinde serebrum ve posterior fossa lokalizasyonunda daha sık görülmektedir (sırasıyla $p=0,036$, $p=0,080$). Bu lokalizasyonlarda da PMA tespit edilmemiştir.

Damar özelliklerinden kompleks vasküler proliferasyon; regresif değişikliklerden kalsifikasyon, eski kanama, hiperkromazi veya pleomorfizm ve hücre özelliklerinden multinükleer hücre varlığı PA'larda daha fazla görülmekle birlikte varyantlar arasında anlamlı bir fark oluşturmamaktadır (Bkz. Tablo 4.4). Literatürde kist oluşumunun daha çok –PMA tespit edilmeyen- serebral ve serebellar lokalizasyonda olduğu bildirilmektedir⁵. PMA'larda kist ve kompleks vasküler yapı varlığı görülebilmektedir¹⁻². Serimizde PMA'larda kist izlenmemiş ancak kompleks vasküler proliferasyon tespit edilmiştir. Literatürde PMA'larda nükleer pleomorfizm tanımlanmıştır². Serimizde de bir PMA olgusunda hafif derecede pleomorfizm görülmüştür.

PMA'lar için tanımlanmış doku özelliklerinden mukoid matriks ve anjiosentrik dizilenme PA'larda da izlenebilmektedir. Ancak bu özellikler PMA'ların tümünde saptanmıştır ve PMA'larda anlamlı olarak fazladır (p değerleri sırasıyla 0,020 ve <0,001). Mukoid matriks PA'larda özellikle bifazik ve mikrokistik paternde izlenen gevşeme alanlarındaki hücreler arasında ve mikrokistler içinde proteinöz bir materyal şeklinde izlenmektedir. Anjiosentrik dizilenmeyi PA'larda gevşeme alanlarında ve piloid hücrelerin yoğunlukta olduğu alanlarda da izlemek mümkündür. Bazı olgularda ise GFAP ile bu dizilimin daha belirgin hale geldiği dikkati çekmiştir. Ancak anjiosentrik dizilenme tanımlamalarında GFAP'ın önemi konusunda net bir bilgiye literatürde ulaşılamamıştır.

Olguların 64'ünde (%62,1) leptomeningeal infiltrasyonu değerlendirecek alan saptanmamıştır. Leptomeningeal yüzey izlenen 39 olgunun 23'ünde (%59) leptomeningeal infiltrasyon mevcuttur. Leptomeningeal infiltrasyon gösteren 23 olgunun 22'sinde belirgin retikülogenez izlenmiştir. Bu olguların tümü PA'dır. Beşi hipotalamik/kiazmatik, 18'i posterior fossa lokalizasyonludur. Bu olguların 12'si erkek, 11'i kadındır. Bu olguların 4'ünün rezidü/rekürrens nedeniyle tekrarlayan cerrahisi vardır. Leptomeningeal infiltrasyon PA'larda PMA'lardan ve posterior fossa lokalizasyonunda diğer lokalizasyonlardan daha fazla görülmüştür (sırasıyla p=0,002, p=0,008). Çevre parankimde izlenen gliozisin PMA'larda daha fazla olduğu bulunmuştur ancak bu fark anlamlı değildir (p=0,327). Literatürde PMA'ların

daha infiltratif olduğu ve serebrospinal yayılım gösterdiği bildirilmektedir ¹. Çalışmamızda bu iki histomorfolojik özellik çevre parankimin rezekte edildiği örneklerde değerlendirilebilmiştir ve bu farklılıklar rezeksiyon şekilleri ile ilişkili olabilir. Posterior fossa ve serebrum tümörlerinde çevre parankim ilişkisi rahat değerlendirilebilmektedir. Hipotalamik/kiazmatik tümörlerde biyopsi örnekleri daha küçük boyutta olup, genelde sadece tümörden oluşmaktadır ve çoğu olguda çevre doku ya da leptomeningeal infiltrasyonu değerlendirmek mümkün olmamaktadır.

Serimizde infarkt benzeri nekroz ve vasküler hiyalinizasyon gibi regresif özellikler her iki tümör varyantında yakın oranlarda görülmektedir ($p>0,05$). Literatürde ise nekrozun PMA'lar da görülebildiği ¹⁻² ancak prognostik anlam taşımadığı bildirilmiştir ².

5.3 Lokalizasyon ile yaş, tümör varyantı, baskın histomorfolojik patern ve histomorfolojik özelliklerin ilişkisinin tartışılması

Çalışmamızda serebral tümörlerde yaş ortalaması diğer lokalizasyonlara göre yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Bu fark spinal bölge dışındaki lokalizasyonlarda anlamlıdır ($p<0,05$). Sadece 18 yaş ve altındaki olgulara bakıldığında ise yaş ortalamaları lokalizasyonlara göre farklı değildir ($p=0,203$). Bu sonuçlara göre çocukluk çağında tümörlerin lokalizasyona göre dağılımı yaş ile ilişkisizken erişkinlerde serebral tümörler daha fazla görülmektedir. Cinsiyetin lokalizasyona göre dağılımı ise farklı bulunmamıştır ($p=0,846$).

Çalışmamızda tespit edilen PMA'ların tümü hipotalamik/kiazmatik lokalizasyondadır. Literatürde PMA'ların ilk başta sadece hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonda olduğu rapor edilmesine karşın, son yayınlarda diğer lokalizasyonlarda da bildirilmiştir ^{1, 26-27, 29-32}. Ancak çalışmamızda diğer lokalizasyonlarda PMA tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda rezidü/rekürren tümör nedeniyle tekrar rezeksiyon uygulanan 33 olguda lokalizasyona göre dağılım farklı değildir ($p=0,838$). Hipotalamik/kiazmatik tümörlerin %31,8'inde, serebrumdaki tümörlerin %40'ında,

posterior fossa tümörlerinin %28,2'sinde ve spinal tümörlerin %40'ında tekrar biyopsi uygulandığı görülmüştür. Literatürde ise optik sinir, beyin sapı ve talamik lokalizasyonlu PA'ların gross total olarak rezeke edilemeyebilecekleri¹⁹, serebellar tümörlerin ise genelde tümüyle rezeke edilebildikleri⁵ bilgisi mevcuttur. Lokalizasyon yanısıra tek biyopsisi olan olguların yaş ortalaması ile birden fazla biyopsisi olan olguların ilk tanı anlarındaki yaş ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,097). Ayrıca PA ve PMA'lar tekrarlayan cerrahi işleme ihtiyaç duymaları açısından incelendiklerinde de aralarında bir fark bulunmamıştır (p=0,753). PMA'ların daha küçük yaşta görülmeleri, daha agresif seyir ve daha sık kraniyospinal yayılım göstermeleri bilgisiyle^{1, 5} birlikte değerlendirildiğinde bu sonuçlar literatürle uyumsuz görünmektedir. Ancak uzun süreli takip sonucunda PMA'ların seyri değişebileceğinden bu karşılaştırmanın uzun süreli takipler sonrasında yapılmasının daha sağlıklı sonuç verebileceği düşünülmüştür.

PA'lar değişik lokalizasyonlarda değişik histomorfolojik özellikler göstermekte ve bu özellikleri nedeniyle ayırıcı tanıda geniş bir spektrum oluşturmaktadır. Serimizde yer alan PA ve PMA'ların baskın histomorfolojik özellikleri lokalizasyona göre incelendiğinde (Bkz. Tablo 4.8) monofazik piloid ve paternsiz morfolojideki tümörlerin tümünün hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonda olduğu tespit edilmiştir. Mikrokistik morfoloji posterior fossada ve yoğun piloid morfoloji ise spinal tümörlerde daha sık tespit edilmiştir. Klasik bifazik morfoloji ise tüm lokalizasyonlarda daha homojen bir dağılım sergilemektedir. Literatürde, klasik bifazik paternin daha çok serebellar tümörlerde görüldüğü^{1, 10}, supratentorial beyin sapı ve spinal örneklerde ise daha çok mikrosistik morfolojinin görüldüğü bildirilmektedir¹⁰. Lokalizasyondaki farklılıklara rağmen histolojik paternlerin kötü klinik gidişle ilişkisi olmadığı da bildirilmektedir¹⁰. Bu karşılaştırmalarla ilgili verilerimizi değerlendirmek istatistiksel olarak mümkün olmamıştır ancak genel olarak verilerimiz literatürle uyumludur. Ayrıca bu histomorfolojik paternler birbirlerinden keskin sınırlarla ayrılmamakta ve histomorfolojik özellikler cerrahi örnekleme ve kesit seviyesine göre de farklılık sergileyebilmektedir. Ancak hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonda monofazik piloid morfoloji ve paternsiz

morfolojinin izlenmesi bu lokalizasyonda PMA ve infiltratif gliomların varlığı nedeniyle ayırıcı tanı açısından önemlidir.

Histomorfolojik özellikler ayrıntılı olarak incelendiğinde ise, doku özelliklerinden solid+kistik bileşen spinal, posterior fossa ve serebrumda, mikrokistik bileşen serebrum ve posterior fossada; kist duvarı posterior fossada; mukoid matriks serebrum, posterior fossa ve hipotalamik/kiazmatik bölgede anlamlı olarak daha fazla görülmektedir. Hücre özelliklerinden oligodendroglia benzeri hücreler serebrum ve posterior fossada; Rosenthal lifler ise posterior fossa ve spinalde daha fazla izlenmektedir. Eozinofilik granüler cisimcikler serebrum ve spinal lokalizasyonunda daha fazladır. (Tümü için $p<0,02$, EK 2). Bu bulgular literatürde tarif edilen, lokalizasyona göre izlenen morfolojik değişkenlikle uyumludur^{1, 5, 8, 10}. Bu morfolojik bulguların klinik gidişle ya da patogenezle ilişkisi bilinmemekle birlikte morfolojik bulguların çeşitliliği ayırıcı tanıda sorun yaşatması açısından önemlidir.

Regresif değişikliklerden eski kanama alanları ile belirgin hiperkromazi veya pleomorfizm varlığı serebrumda daha fazla görülmektedir (her ikisi için de $p<0,001$). Regresif değişikliklere sadece lokalizasyon etken olmayabilir. Regresif değişikliklerin izlendiği olgularda yaş ortalamasının daha yüksek olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.1). Bu değişikliklerden kalsifikasyon, eski kanama, hiperkromazi veya pleomorfizm, damar duvarlarında hiyalinizasyonun varlığında olguların yaşı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (tümü için $p<0,02$). İnfarkt benzeri nekroz varlığında da yaş ortalaması daha yüksektir ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,528$). Serebral tümörler de ileri yaş hastalarda da görüldüğünden lokalizasyon, yaş ve regresif değişiklikler birbirleriyle ilintili görünmektedir. Regresif değişikliklere lezyonun gelişme süresi ve hızı da buna etki ediyor olabilir. Bunu değerlendirmek için olguların tekrarlayan biyopsilerindeki ilişki incelenmeye çalışılmış ancak istatistiksel analiz yapılamamıştır. Literatürde de dejeneratif/regresif değişikliklerin yaşla ilişkisi araştırılmış ve damar proliferasyonu ile hemosiderin birikiminin yaşla korrele olduğu bildirilmiştir¹⁸. Bizim serimizde eski kanama varlığında anlamlı fark saptanırken kompleks vasküler proliferasyon

varlığında yaş ortalamasının daha büyük olduğu görülmüş ancak fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,001, p=0,143$).

Serimizdeki 103 olgunun sadece 3'ünde (%2,9) mitoz izlenmiştir. Bu olguların ikisinin tekrarlayan cerrahisi vardır. Bu olgulardan ilki 6 yaşında erkek hastadır. İlk biyopsisi dış merkezde yapılmıştır. İncelenen ikinci biyopsisi 8 yaşında yapılmıştır ve tanısı PMA'dır. Bu olguda mitoz sayısı 2/10BBA'dır. İkinci olgu 5 yaşında erkektir. Tümör posterior fossa yerleşimli PA olup, 11 ve 21 yaşlarında tekrarlayan biyopsileri vardır. Üçüncü olgu ise 7 aylık kız bebektir. Tek biyopsisi vardır ve tanısı PMA'dır. Bu olguda mitoz intraoperatif konsültasyon sırasında yapılan yaymada gözlenmiştir. Literatürde PA ve PMA'larda mitoz izlenebildiği, bunun ayırıcı tanıda sorun oluşturduğu bildirilmektedir. Gerek mitoz gerekse proliferasyon belirteçleri prognostik sonuç vermemektedirler¹.

5.4 Histogenez ve immünohistokimyasal bulguların tartışılması

PA'lar çocukluk çağının en sık görülen glial tümörüdür. PA'lar üzerinde pek çok morfolojik ve genetik çalışmalar yapılmasına karşın genetik profili ve patogenezi net aydınlatılmış değildir.

PA'ların yavaş büyümeleri, malign transformasyon ile ilgili tartışmalar, proliferasyon indekslerinin düşük, apoptozun yüksek olması, regresyonun varlığı ve morfolojik olarak izlenen "yaşlanma" nedeniyle bir hamartom olarak nitelendirilmesini bile önerenler vardır⁹¹.

NF1 ilişkili PA'larda nörofibromin bir tümör süpresör gen olarak görev yapmakta ve nörofibromin yokluğu RAS-MAPK yolağının aktive olmasına neden olmaktadır⁹². NF1 ilişkili pilositik astrositomlarda heterozigosite kaybı sonucu nörofibromin ekspresyonunda azalma izlenmektedir. Sporadik PA'larda ise NF1 lokusunda, mRNA seviyesinde, protein oluşumunda anomali mevcut değildir ve nörofibromin ekspresyonu artmıştır⁹³⁻⁹⁴. Bu nedenle sporadik PA'larda tümör gelişimi NF1 ilişkili PA'lardan farklıdır. Sporadik PA'larda MAPK aktivasyonu B-RAF'da izlenen gen yeniden düzenlenmeleri ile olmaktadır. Yakın zamanda

yapılan genetik çalışmalarda düşük dereceli gliomlar ve PA'larda 7q34 bölgesini ilgilendiren duplikasyonlar tespit edilmiştir. Bu lokus B-RAF genini içermektedir ⁷³, ⁷⁵⁻⁷⁶. PMA'ların histopatogenezi tartışmalıdır ⁹⁵. PA'larla ortak kökeni olabileceği ya da PA'ların bir gelişim evresi olabileceği düşünülmektedir ⁸⁹. Tanisitik bir köken ⁵, ³³⁻³⁴ ya da nöronal diferansiyasyon varlığı da ³⁶ öne sürülmüştür.

Bu çalışmada MAPK yolağındaki B-RAF, pMEK1 ve pERK1/2'nin immünohistokimyasal ekspresyonlarının, tümör varyantları, lokalizasyon ve histomorfolojik özelliklerle ilişkisi incelenmiştir. Çalışmamızda fosforile formdaki MEK ve ERK'in immünohistokimyasal ekspresyonu PA ve PMA'larda saptanmış olup MAPK yolağının bu tümörlerde aktif olduğu görülmektedir. Tekrarlayan biyopsileri olan olgularda B-RAF, pMEK1 ve pERK1/2'nin immünohistokimyasal ekspresyonunun değişimi –bazı olgularda diğer biyopsilere ulaşılamadığı için- istatistiksel olarak incelenememiştir. EK 9'da görüldüğü gibi immünohistokimyasal skorlar tekrarlayan biyopsilerde artmakta, azalmaya ya da sabit kalmaktadır. Ancak tüm olgularda pMEK1 ve pERK1/2'nin tekrarlayan biyopsilerde de pozitif olması MAPK yolağının tekrarlayan biyopsilerde de aktif olduğunu gösterir. Bu sonuç tekrarlayan, agresif seyirli tümörlerde MAPK yolağının inhibitörlerinin kullanılabileceği konusunda ipucu sağlamaktadır.

Çalışmamızda B-RAF intensitesi, yaygınlığı ve skorunun PA ve PMA'da benzer nitelikte olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0,195$, $p=0,418$, $p=0,077$). B-RAF intensitesi, yaygınlığı ve skoru lokalizasyonlar arasında da benzerdir (sırasıyla $p=0,341$, $p=0,692$, $p=0,323$). B-RAF skoru baskın histomorfolojik paternler arasında farklılık göstermemektedir ($p=0,203$). Histomorfolojik bulgular olguların B-RAF ekspresyonları açısından ayrıntılı olarak incelendiğinde ise doku özelliklerinden solid+kistik bileşen, mikrokistik bileşen, kist cidarı, leptomeningeal infiltrasyon izlenen olgularda, regresif değişikliklerden kalsifikasyon, eski kanama, hiperkromazi veya pleomorfizm alanları izlenen olgularda ve hücre özelliklerinden *pennies in plate* izlenen olgularda B-RAF skor ortancasının bu histomorfolojilerin tespit edilmediği olgulara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. (Tümü için $p<0,05$, EK 6).

Literatürde B-RAF gen yeniden düzenlenmeleri serebellar PA'larda diğer lokalizasyondakilere göre ve serebellar bölgede klasik bifazik histoloji gösterenlerde daha sık görülmektedir⁸². 7q34 duplikasyonu serebellar tümörlerde %80, beyin sapı ve hipotalamik/optik bölgede %62,5 ve serebral tümörlerde %14 oranında tespit edilmiştir⁸⁰. Bu gen yeniden düzenlemeleri sonucunda üretilen B-RAF proteininin sürekli aktif olduğu düşünülmektedir⁵⁸. Melanomlar ve nevüsler üzerinde yapılan bir çalışmada B-RAF'ın immünohistokimyasal ekspresyonunun melanomlarda kuvvetli ve diffüz, atipik nevüs ve nevüslerde daha zayıf ve bileşke ile dermal tabakalar arasında farklı nitelikte ekspresyon gösterdikleri saptanmıştır. Yine bu çalışmada B-RAF ekspresyonu mutasyondan bağımsız olarak tüm örneklerde izlenmiştir⁷⁰. Bizim çalışmamızda ise olguların %86,4'ünde B-RAF immünohistokimyasal ekspresyonu tespit edilmiştir. Ekspresyonun lokalizasyon ve tümör varyantları arasında dağılımı da benzer bulunmuştur. Bazı histomorfolojik özelliklerde ise bu ekspresyonun daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. B-RAF negatif olan 14 olgunun 10 tanesi PA, 4 tanesi PMA'dır. Sekiz tanesi hipotalamik/kiazmatik, 1 tanesi serebrum, 4 tanesi posterior fossa, 1 tanesi spinal lokalizasyonludur. Bu olguların 5'i erkek, 9'u kadındır ve ortalama yaşları $8,1 \pm 7,6$ 'dır. Bu olguların 4'ünde rezidü/rekürren tümör nedeniyle tekrarlayan biyopsi vardır (Tekrarlayan biyopsiler için Bkz. EK 9). Bu tümörlerin 3'üne ulaşılabilmıştır. Bunlarda da zayıf B-RAF ekspresyonu (skor 1, 1 ve 5) saptanmıştır. B-RAF negatif olguların tümünde pMEK1 ve pERK1/2 pozitifdir. Dolayısıyla bu tümörlerde de MAPK yolağı aktiftir. PA'larda B-RAF'ın immünohistokimyasal ekspresyonun gen yeniden düzenlenmesi ya da mutasyonlar ile ilişkisi bilinmemektedir. Bu nedenle serimizdeki negatif B-RAF ekspresyonu olan olgularda MAPK aktivasyonunun gen yeniden düzenlenmesi, mutasyon ya da başka yollarla olup olmadığı hakkında yorum yapılamamaktadır.

Çalışmamızda pMEK1 skorunun ortancası PMA'larda PA'lara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,004$). pMEK1 intensitesi ve skoru lokalizasyona göre farklılık göstermezken (sırasıyla $p=0,477$, $p=0,365$); yaygınlığı PMA'ların izlendiği hipotalamik/kiazmatik bölgede ve posterior fossada daha yüksektir ($p=0,029$). Sadece hipotalamik/kiazmatik lokalizasyona bakıldığında ise

pMEK1 skor ortancası PMA'larda PA'lara göre yine daha yüksek bulunmuştur ($p=0,011$). pMEK1 skoru PMA'nın baskın histomorfolojik paterni olan monofazik piloid paternde ($p=0,001$) yüksektir. Yine pMEK1 skoru PMA'da tanımlanan doku özelliklerinden mukoid matriks ve anjiosentrik dizilenme varlığında yüksek (sırasıyla $p=0,020$, $p=0,003$), PA'nın hücre özelliklerinden olan Rosenthal lif, eozinofilik granüler cisimcik ve oligodendroglia benzeri hücre varlığında düşüktür (sırasıyla $p=0,014$, $p=0,002$, $p=0,004$). Bu nedenle pMEK1 skorundaki farklılığın lokalizasyondan daha çok pilomiksoid varyantla ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Bunların dışında pMEK1 skor ortancası mikrosistik paternde de yüksek iken paternsiz morfolojide düşüktür ($p=0,001$). pMEK1 skorunda baskın histomorfolojik paternde farklılık saptanırken B-RAF ve pERK1/2 skorunda belirgin farklılık saptanmamıştır (Bkz. 4.14).

MEK mutant B-RAF üzerinden direkt ya da C-RAF üzerinden dolaylı olarak aktive edilebilir^{59, 62}. pMEK1'de saptadığımız farklılıkların değişik yolların etkileşimi ile ortaya çıktığı düşünülebilir. Literatürde MAPK yolağında MEK1'in üstünde yer alan B-RAF'ın ve MEK'in altında yer alan ERK'in çok sayıda substratı olduğu, buna karşın MEK1'in önde gelen ve baskın substratının ERK olduğu bilgisinden yola çıkılarak olası tedavi seçeneklerinde MEK1'in spesifik bir hedef olduğu düşünülmektedir⁶⁴. MEK1'in bu özelliği göz önüne alındığında serimizde saptadığımız pMEK1'deki farklılığın olası tedavi seçenekleri için ipucu olabileceği düşünülebilir. Ancak kullandığımız semikantitatif değerlendirme nedeniyle bu sonuç test edilmeye ve tartışmaya açıktır.

Serimizde pERK1/2 intensitesinin, yaygınlığının ve skorunun PA ve PMA'da benzer olduğu bulunmuştur (sırasıyla $p=0,661$, $p=0,326$, $p=0,206$). pERK1/2 intensitesi, yaygınlığı ve skoru lokalizasyonlar arasında da benzerdir (sırasıyla $p=0,461$, $p=0,864$, $p=0,978$). pERK1/2 skorlarının ortancaları baskın histolojik paterne göre farklı değildir ($p=0,233$) ve pERK1/2 skoru Rosenthal lif varlığı dışında hiçbir histomorfolojik özelliğin varlığı ya da yokluğu ile farklılık göstermemektedir (Tümü için $p>0,05$ EK 8). pERK1/2 ile negatif olan 3 olgu saptanmıştır. Bu

olgulardan ilki 30 yaşında kadındır. Serebrumda izlenen PA'da yoğun piloid patern, anjiosentrik dizilenme, mukoid matriks ve infarkt benzeri nekroz yanısıra hiperkromazi/ pleomorfizm saptanmıştır. Bu olgunun başka biyopsisi yoktur. B-RAF skoru 8,0 pMEK1 skoru 15,0'tir. İkinci olgu 14 yaşında kadındır. Hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonda izlenen PA'da klasik bifazik morfoloji izlenmiştir. İncelenen örnek hastanın 2. biyopsisidir. Olgunun ilk biyopsisine ulaşılammıştır. Bu olguda B-RAF ve pMEK1 skoru 15,0'tir. Üçüncü olgu 30 yaşında kadındır. Hipotalamik/kiazmatik lokalizasyonda izlenen PA'da paternsiz histomorfolojik görünüm hakimdir. Bu olgunun başka biyopsisi yoktur. B-RAF skoru 3,0 pMEK1 skoru 10,0'dur.

Mesane tümörlerinde yapılan bir çalışmada ERK'in nükleer ve sitoplazmik ekspresyonunun birbiriyle korrele olduğu bulunmuş, ancak klinik bulgularla karşılaştırıldığında sadece nükleer pozitifliğin prognostik önemi olduğu öne sürülmüştür ⁹⁶. Bizim çalışmamızda ERK'in sadece nükleer pozitifliği değerlendirilmiştir. ERK pozitif olguların çoğunda sitoplazmada da pozitiflik mevcuttur ancak bu pozitiflik dikkate alınmamıştır. ERK'in sitoplazmik ve nükleer farklı hedefleri vardır ⁶⁵. Bu hedeflerin morfolojik farklılıklar ya da klinik bulgularla ilişkilendirilmek üzere inceleneceği ileriki çalışmalarda serimizdeki ERK pozitif vakalar tekrar gözden geçirilebilir.

MAPK yolağı büyümeyi uyarması yanısıra hücrelerin bağlanma ihtiyacını ortadan kaldırdığı ve kontakt inhibisyon kaybına neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle hücre şeklinde de değişiklikler ortaya çıkmaktadır ⁶⁵. pERK1/2 ekspresyonunun pilositik astrositomların değişik hücre özellikleri ve doku paternleri ile ilişkisi olabileceği hipotezimiz doğrulanmamıştır. pERK1/2 ekspresyonunun solid piloid ve mikrokistik alanlarda farklı ekspresyon gösterdikleri izlenmesine karşın aynı tümör içinde de bu pozitifliğin tutarsız olması nedeniyle bu yönde bir inceleme yapılamamıştır (Bkz Şekil 4.2-I). ERK'in hücre değişikliğine neden olan substratlarının incelenmesi pilositik astrositomlardaki bu değişik histomorfolojik özelliklerin açıklanmasına katkıda bulunabilir.

RAF-MEK1/2-ERK1/2 yolağı hücre içi sinyal iletim yollarından olan MAPK yollarından birisidir⁶⁸. Diğer MAPK yolları da bu yolla kesişmekte ve sonuç olarak ERK alternatif yollarla da aktive olabilmektedir⁹⁷. Literatürde pERK1/2 varlığı MAPK yolağının aktive olduğunu göstermek için PA'lar dışında da kullanılmıştır. Melanom ve nevüslerde yapılan bir çalışmada MAPK aktivasyonunun B-RAF aktivasyonu ile korele olmakla birlikte mutasyonundan bağımsız da olabildiği ortaya konmuştur. Bu olgularda MAPK aktivasyonunun, B-RAF ekspresyonunda artış, MAPK fosfatazlarının inhibisyonu ya da RAF kinaz inhibitörlerinin supresyonu gibi başka yollarla da meydana gelebileceği öne sürülmüştür⁷⁰. Kolon tümörlerinde yapılan bir çalışmada da B-RAF mutasyonu ile ERK aktivasyonu korele bulunmuştur⁹⁸. Öte yandan mesane tümörlerinde yapılan çalışmada B-RAF mutasyonu saptanmazken MAPK yolağının aktif olduğu tespit edilmiştir⁹⁶.

NF1 geninin MAPK yolağındaki rolü nedeniyle spontan PA'larda da MAPK yolağı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır⁵⁸. Düşük dereceli astrositomlarda MAPK yolağının regülasyonu bozulmuştur. PA'lar ve diğer düşük dereceli astrositomlarda MAPK yolağında gen füzyonları ve aktive edici mutasyonlar tespit edilmiştir^{58, 72-74}. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda 7q34 bölgesinde tekrarlayan duplikasyonlar tespit edilmiştir. Bu bölgedeki B-RAF onkogeninin bu nedenle aktive olduğu düşünülmektedir^{6, 72-73, 75-76}. B-RAF geninde insersiyon sonucu aktivasyon olduğu gösterilmiştir⁷⁷. Değişik ekzonların füzyonu sonucu sonucunda RAF'ın otoinhibitör N terminali kaybolup, C ucundaki kinaz domaini korunduğu için, bu füzyon sonunda MAPK yolağı sürekli aktif hale gelmektedir.⁵⁸ Bu duplikasyon sırasında B-RAF ile birleşen KIAA1549 ve SRGAP3 segmentlerinin tümör oluşumuna bir katkıda bulunup bulunmadığı ise bilinmemektedir^{58, 74}. ERK fosforilasyonunun ise MAPK yolağındaki basamaklardan bağımsız olarak tüm PA'larda görüldüğü bildirilmiştir⁸⁰. PA'larda MAPK yolağında farklı mekanizmaların (mutasyon, duplikasyon, değişik gen füzyonları) prognostik bir anlam taşıyıp taşımadığı bilinmemektedir⁵⁸.

MAPK yolağı normal hücre fonksiyonlarında da kullanılan bir sinyal iletim yolağıdır. Tümörlerdeki aktivasyonları mutant ve aktif protein veya artmış

ekspresyonla artmış protein ürünü ile olmaktadır. Bu yolak nevüs ve kolon adenomları gibi benign tümörlerde gösterilmiştir⁵⁹. Bu benign tümörlerden birisi de pilositik astrositomdur. RAS-MAPK sinyali CyclinD1 üzerinden hücre siklusunda ilerlemeye neden olurken, sinyalde yüksek oranda aktivasyon olduğunda p21 artışı ile birlikte hücre büyümesinde durma izlendiği ve tümör oluşumu için p21 engelini ortadan kaldıracak mekanizmalar gerektiği düşünülmektedir⁶⁹. Bu ya da benzer fren mekanizmalarının varlığı nedeniyle pilositik astrositomlar yavaş büyüyen ve gerileyen tümörler olabilirler.

Diffüz astrositomlarla pilositik astrositomların karşılaştırıldığı bir çalışmada pilositik astrositomlarda %70 oranında B-RAF füzyonu görüldüğü, IDH1 (izositrat dehidrogenaz) mutasyonu görülmediği; diffüz astrositomların %76'sında ise IDH1 mutasyonu görüldüğü ve B-RAF füzyonu görülmediği bulunmuştur. Bu verilerden yola çıkarak sorunlu vakalarda ayırıcı tanıda B-RAF ve IDH1'in kullanılabileceği öne sürülmektedir⁹⁹. Yine aldehat dehidrogenaz ekspresyonunun klinik agresif PA'larda, PMA'larda, anaplastik özellikler gösteren PA'larda ve infiltratif astrositomlarda azaldığı gösterilmiştir⁴⁸. Bu sonuçlar tümörler arasındaki farklılıkların sadece genetik ekspresyon veya protein aktivitesi değil aynı zamanda metabolik yolaklarla da ilişkili olabileceğini göstermektedir.

PA'lar üzerinde yakın zamanda yapılan çalışmalarda yer yer farklı sonuçlar alınsa da hepsinde MAPK yolağının PA'larda aktif olduğu ortaya konmuştur. Bundan sonraki çalışmaların bu yolağı etkileyen diğer yolaklar, ERK'in PA'larda nükleus içindeki ve sitoplazmadaki fonksiyonları ve MAPK yolağıyla ilgili deneysel tedavi olanakları üstüne yoğunlaşacağı beklenmektedir.

6 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuçlar:

- 1) Bu çalışma ile bölümümüzde tanı alan PA ve PMA'lar lokalizasyonlarına göre gruplandırılarak incelenmiştir.
- 2) PA ve PMA'ların histomorfolojik özellikleri ve farklılıkları konusunda literatürdeki bilgiler sorgulanmıştır.
- 3) İlk biyopsisi PMA olan iki olgunun tekrarlayan biyopsilerinde PA'ya dönüştükleri görülmüştür. Patern değişiklikleri PA'ların tekrarlayan biyopsilerinde de saptanmıştır.
- 4) Bu çalışma ile literatürde ilk kez geniş bir PA ve PMA serisinde B-RAF, pMEK1 ve pERK1/2'in immünohistokimyasal ekspresyon paterni semikantitatif bir yöntemle belirlenmiştir.
- 5) Literatürde ilk kez fosforile MEK1 ekspresyonunun PMA'larda PA'lardan daha yüksek olduğu görülmüştür.
- 6) PA ve PMA'ların tekrarlayan biyopsilerinde de MAPK yolağının aktif olduğu tespit edilmiştir.
- 7) Regresif değişikliklerin hastaların yaşları ile ilişkili olduğu ve regresif değişiklik izlenen tümörlerde hasta yaşının yüksek olduğu bulunmuştur.
- 8) İncelenen histomorfolojik bulguların tümör lokalizasyonu ile ilişkili olduğu görülmüştür.

Öneriler:

- 1) pMEK1 ekspresyonunda elde edilen sonuçlar semikantitatif bir değerlendirme ile bulunduğundan protein düzeylerinin analiz edileceği kantitatif bir yöntemle teyit edilmeli, MEK1 aktivitesindeki bu değişikliğin diğer hücre içi sinyal mekanizmaları ile ilişkisi sorgulanmalıdır.
- 2) Verilerin analizi cerrahi bulgular ve klinik seyirle tam korele edilemediğinden çoğu sonuç hakkında yorum yapılamamıştır. Klinik takiplerle birlikte özellikle pilomiksoid varyanta ait özelliklerin aydınlatılması uygun olacaktır.
- 3) Mikroglia ve diğer mikroçevre ögelerinin pilositik astrositom gelişimi, yayılımı, lokalizasyonu, histomorfoloji ve klinik özellikleri ile olan ilişkileri incelenmeye açık konulardır.
- 4) Agresif, rekürren, cerrahi olarak çıkarılamayan tümörler için MAPK yolağını hedefleyen tedaviler önem taşımaktadır ^{4, 58, 69}. Ancak yolağın karmaşıklığı ve normal hücre fonksiyonları ile iç içeliği nedeniyle bu çalışmalardan kolay sonuç alınamamaktadır. Hücre içi sinyal mekanizmalarının normal doku ve tümörlerde araştırılması bu çalışmalar için de yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Scheithauer BW, Hawkins C, Tihan T, Vandenberg SR, Burger PC. Pilocytic astrocytoma. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (eds). World Health Organization Classification of Tumours WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, IARC: Lyon, France, 2007, pp 14-21.
2. Tihan T, Fisher PG, Kepner JL *ve ark.* Pediatric astrocytomas with monomorphous pilomyxoid features and a less favorable outcome. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58(10):1061-8.
3. Sharma MK, Mansur DB, Reifenberger G *ve ark.* Distinct genetic signatures among pilocytic astrocytomas relate to their brain region origin. *Cancer Res* 2007; 67(3):890-900.
4. Montagut C, Settleman J. Targeting the RAF-MEK-ERK pathway in cancer therapy. *Cancer Lett* 2009, 283(2):125-34.
5. Burger PC, Scheithauer BW. Pilocytic Astrocytoma. AFIP Atlas of Tumor Pathology - Fourth Series Tumors of the Central Nervous System, American Registry of Pathology in collaboration with Armed Forces Institute of Pathology: Washington, 2007, pp 89-105.
6. Pfister S, Hartmann C, Korshunov A. Histology and molecular pathology of pediatric brain tumors. *J Child Neurol* 2009; 24(11):1375-86.
7. Scheinemann K, Bartels U, Huang A *ve ark.* Survival and functional outcome of childhood spinal cord low-grade gliomas. Clinical article. *J Neurosurg Pediatr* 2009; 4(3):254-61.
8. Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS. Pilocytic Astrocytoma. Surgical Pathology of the Nervous System and Its Coverings, Fourth edn, Churchill Livingstone: Philadelphia, 2002, pp 203-15.
9. Rosenblum MKB, Juan M.; Ang, Lee-Cyn. Pilocytic Astrocytomas. In: Juan R (ed). Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 9th edn, Vol. 2, Mosby, 2004, pp 2514-7.
10. Horbinski C, Hamilton RL, Lovell C, Burnham J, Pollack IF. Impact of Morphology, MIB-1, p53 and MGMT on Outcome in Pilocytic Astrocytomas. *Brain Pathol* 2010; 20 (3):581-8.
11. Rodriguez FJ, Scheithauer BW, Burger PC, Jenkins S, Giannini C. Anaplasia in Pilocytic Astrocytoma Predicts Aggressive Behavior. *Am J Surg Pathol* 2010; 34(2):147-60.

12. Wippold FJ, 2nd, Perry A, Lennerz J. Neuropathology for the neuroradiologist: Rosenthal fibers. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006; 27(5):958-61.
13. Scheithauer BW, Bruner JM. The ultrastructural spectrum of astrocytic neoplasms. *Ultrastruct Pathol* 1987; 11(5-6):535-81.
14. Palma L, Russo A, Celli P. Prognosis of the so-called "diffuse" cerebellar astrocytoma. *Neurosurgery* 1984; 15(3):315-7.
15. Shibahara I, Kanamori M, Kumabe T *ve ark*. Hemorrhagic onset of pilocytic astrocytoma and pilomyxoid astrocytoma. *Brain Tumor Pathol* 2009; 26(1):1-5.
16. Pietsch T, Valter MM, Wolf HK *ve ark*. Expression and distribution of vascular endothelial growth factor protein in human brain tumors. *Acta Neuropathol* 1997; 93(2):109-17.
17. Bartels U, Hawkins C, Jing M *ve ark*. Vascularity and angiogenesis as predictors of growth in optic pathway/hypothalamic gliomas. *J Neurosurg* 2006; 104(5 Suppl):314-20.
18. Malik A, Deb P, Sharma MC, Sarkar C. Neuropathological spectrum of pilocytic astrocytoma: an Indian series of 120 cases. *Pathol Oncol Res* 2006; 12(3):164-71.
19. Tibbetts KM, Emmett RJ, Gao F *ve ark*. Histopathologic predictors of pilocytic astrocytoma event-free survival. *Acta Neuropathol* 2009; 117(6):657-65.
20. Bannykh SI, Stolt CC, Kim J, Perry A, Wegner M. Oligodendroglial-specific transcriptional factor SOX10 is ubiquitously expressed in human gliomas. *J Neurooncol* 2006; 76(2):115-27.
21. Takei H, Yogeswaren ST, Wong KK *ve ark*. Expression of oligodendroglial differentiation markers in pilocytic astrocytomas identifies two clinical subsets and shows a significant correlation with proliferation index and progression free survival. *J Neurooncol* 2008; 86(2):183-90.
22. Tanaka Y, Sasaki A, Ishiuchi S, Nakazato Y. Diversity of glial cell components in pilocytic astrocytoma. *Neuropathology* 2008; 28(4):399-407.
23. Janisch W, Schreiber D, Martin H, Gerlach H. [Diencephalic pilocytic astrocytoma with clinical onset in infancy. Biological behavior and pathomorphological findings in 11 children]. *Zentralbl Allg Pathol* 1985; 130(1):31-43.

24. Cottingham SL, Boesel CP, Yates AJ. Pilocytic Astrocytoma in Infants: A Distinctive Histologic Pattern. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 1996; 55(5):654.
25. Vishwa J. Amatya, Ryota Akazawa, Yoji Sumimoto, Yukio Takeshima, Kouki Inai. Clinicopathological and immunohistochemical features of three pilomyxoid astrocytomas: Comparative study with 11 pilocytic astrocytomas. *Pathology International* 2009; 59(2):80-5.
26. Gottfried ON, Fults DW, Townsend JJ, Couldwell WT. Spontaneous hemorrhage associated with a pilomyxoid astrocytoma. Case report. *J Neurosurg* 2003; 99(2):416-20.
27. Alimohamadi M, Bidabadi MS, Ayan Z, Ketabchi E, Amirjamshidi A. Pilomyxoid astrocytoma with involvement of the sella turcica in an adolescent. *J Clin Neurosci* 2009; 16(12):1648-9.
28. Toyoda K, Tsutsumi K, Ono T *ve ark.* [Pilomyxoid astrocytoma presenting in an elderly patient: a case report]. *No Shinkei Geka* 2009; 37(11):1123-8.
29. Komotar RJ, Carson BS, Rao C *ve ark.* Pilomyxoid astrocytoma of the spinal cord: report of three cases. *Neurosurgery* 2005; 56(1):191.
30. Sajadi A, Janzer RC, Lu TL, Duff JM. Pilomyxoid astrocytoma of the spinal cord in an adult. *Acta Neurochir (Wien)* 2008; 150(7):729-31.
31. Omura T, Nawashiro H, Osada H *ve ark.* Pilomyxoid astrocytoma of the fourth ventricle in an adult. *Acta Neurochir (Wien)* 2008; 150(11):1203-6; discussion 6.
32. Komotar RJ, Mocco J, Zacharia BE *ve ark.* Astrocytoma with pilomyxoid features presenting in an adult. *Neuropathology* 2006; 26(1):89-93.
33. Chikai K, Ohnishi A, Kato T *ve ark.* Clinico-pathological features of pilomyxoid astrocytoma of the optic pathway. *Acta Neuropathol* 2004; 108(2):109-14.
34. Fuller CE, Frankel B, Smith M *ve ark.* Suprasellar monomorphous pilomyxoid neoplasm: an ultrastructural analysis. *Clin Neuropathol* 2001; 20(6):256-62.
35. Fernandez C, Figarella-Branger D, Girard N *ve ark.* Pilocytic astrocytomas in children: prognostic factors--a retrospective study of 80 cases. *Neurosurgery* 2003; 53(3):544-53; discussion 54-5.
36. de Chadarevian JP, Halligan GE, Reddy G *ve ark.* Glioneuronal phenotype in a diencephalic pilomyxoid astrocytoma. *Pediatr Dev Pathol* 2006; 9(6):480-7.

37. Forsyth PA, Shaw EG, Scheithauer BW *ve ark*. Supratentorial pilocytic astrocytomas. A clinicopathologic, prognostic, and flow cytometric study of 51 patients. *Cancer* 1993; 72(4):1335-42.
38. Gunny RS, Hayward RD, Phipps KP, Harding BN, Saunders DE. Spontaneous regression of residual low-grade cerebellar pilocytic astrocytomas in children. *Pediatr Radiol* 2005; 35(11):1086-91.
39. Piccirilli M, Lenzi J, Delfinis C *ve ark*. Spontaneous regression of optic pathways gliomas in three patients with neurofibromatosis type I and critical review of the literature. *Childs Nerv Syst* 2006; 22(10):1332-7.
40. Rozen WM, Joseph S, Lo PA. Spontaneous regression of low-grade gliomas in pediatric patients without neurofibromatosis. *Pediatr Neurosurg* 2008; 44(4):324-8.
41. Hayostek CJ, Shaw EG, Scheithauer B *ve ark*. Astrocytomas of the cerebellum. A comparative clinicopathologic study of pilocytic and diffuse astrocytomas. *Cancer* 1993; 72(3):856-69.
42. Aryan HE, Meltzer HS, Lu DC *ve ark*. Management of pilocytic astrocytoma with diffuse leptomeningeal spread: two cases and review of the literature. *Childs Nerv Syst* 2005; 21(6):477-81.
43. Varan A, Akyuz C, Akalan N *ve ark*. Astrocytic tumors in children: treatment results from a single institution. *Childs Nerv Syst* 2007; 23(3):315-9.
44. Sanoudou D, Tingby O, Ferguson-Smith MA, Collins VP, Coleman N. Analysis of pilocytic astrocytoma by comparative genomic hybridization. *Br J Cancer* 2000; 82(6):1218-22.
45. Wiltshire RN, Herndon JE, 2nd, Lloyd A *ve ark*. Comparative genomic hybridization analysis of astrocytomas: prognostic and diagnostic implications. *J Mol Diagn* 2004; 6(3):166-79.
46. von Deimling A, Louis DN, Menon AG *ve ark*. Deletions on the long arm of chromosome 17 in pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol* 1993; 86(1):81-5.
47. Komotar RJ, Burger PC, Carson BS *ve ark*. Pilocytic and pilomyxoid hypothalamic/chiasmatic astrocytomas. *Neurosurgery* 2004; 54(1):72-9; discussion 9-80.
48. Rodriguez FJ, Giannini C, Asmann YW *ve ark*. Gene expression profiling of NF-1-associated and sporadic pilocytic astrocytoma identifies aldehyde dehydrogenase 1 family member L1 (ALDH1L1) as an underexpressed candidate biomarker in aggressive subtypes. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67(12):1194-204.

49. Kluwe L, Hagel C, Tatagiba M *ve ark*. Loss of NF1 alleles distinguish sporadic from NF1-associated pilocytic astrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60(9):917-20.
50. Ebinger M, Senf L, Wachowski O, Scheurlen W. No aberrant methylation of neurofibromatosis 1 gene (NF1) promoter in pilocytic astrocytoma in childhood. *Pediatr Hematol Oncol* 2005; 22(1):83-7.
51. Burger PC, Scheithauer BW. Neurofibromatosis 1 (Von Recklinghausen's Disease). AFIP Atlas of Tumor Pathology - Fourth Series Tumors of the Central Nervous System, American Registry of Pathology in collaboration with Armed Forces Institute of Pathology: Washington, 2007, p 503.
52. von Deimling A, Perry A. Neurofibromatosis type 1. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (eds). World Health Organization Classification of Tumours WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, IARC: Lyon, France, 2007, pp 206-9.
53. Rosenfeld A, Listernick R, Charrow J, Goldman S. Neurofibromatosis type 1 and high-grade tumors of the central nervous system. *Childs Nerv Syst* 2009.
54. Khanani MF, Hawkins C, Shroff M *ve ark*. Pilocytic astrocytoma in a patient with neurofibromatosis. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46(3):377-80.
55. Weinberg RA. The NF1 protein acts as a negative regulator of Ras signaling. *The Biology of Cancer*, Garland Science, 2007, pp 233-5.
56. von Deimling A, Krone W, Menon AG. Neurofibromatosis type 1: pathology, clinical features and molecular genetics. *Brain Pathol* 1995; 5(2):153-62.
57. McLaughlin ME, Jacks T. Neurofibromatosis type 1. *Methods Mol Biol* 2003; 222:223-37.
58. Tatevossian RG, Lawson AR, Forsheo T *ve ark*. MAPK pathway activation and the origins of pediatric low-grade astrocytomas. *J Cell Physiol* 2010; 222(3):509-14.
59. Garnett MJ, Marais R. Guilty as charged: B-RAF is a human oncogene. *Cancer Cell* 2004; 6(4):313-9.
60. Hargrave D. Paediatric high and low grade glioma: the impact of tumour biology on current and future therapy. *Br J Neurosurg* 2009; 23(4):351-63.
61. Huse JT, Holland EC. Genetically engineered mouse models of brain cancer and the promise of preclinical testing. *Brain Pathol* 2009; 19(1):132-43.

62. McCubrey JA, Steelman LS, Abrams SL *ve ark*. Roles of the RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT pathways in malignant transformation and drug resistance. *Adv Enzyme Regul* 2006; 46:249-79.
63. Tidyman WE, Rauen KA. The RASopathies: developmental syndromes of Ras/MAPK pathway dysregulation. *Curr Opin Genet Dev* 2009; 19(3):230-6.
64. Torii S, Yamamoto T, Tsuchiya Y, Nishida E. ERK MAP kinase in G cell cycle progression and cancer. *Cancer Sci* 2006; 97(8):697-702.
65. Weinberg RA. A cascade of kinases forms one of three important signaling pathways downstream of Ras. *The Biology of Cancer*, Garland Science, 2007, pp 173-6.
66. Rapp UR, Goldsborough MD, Mark GE *ve ark*. Structure and biological activity of v-raf, a unique oncogene transduced by a retrovirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80(14):4218-22.
67. Zou M, Baitei EY, Alzahrani AS *ve ark*. Oncogenic activation of MAP kinase by BRAF pseudogene in thyroid tumors. *Neoplasia* 2009; 11(1):57-65.
68. Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T *ve ark*. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001; 22(2):153-83.
69. Zebisch A, Czernilofsky AP, Keri G *ve ark*. Signaling through RAS-RAF-MEK-ERK: from basics to bedside. *Curr Med Chem* 2007; 14(5):601-23.
70. Uribe P, Andrade L, Gonzalez S. Lack of association between BRAF mutation and MAPK ERK activation in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol* 2006; 126(1):161-6.
71. Sharma MK, Zehnbauer BA, Watson MA, Gutmann DH. RAS pathway activation and an oncogenic RAS mutation in sporadic pilocytic astrocytoma. *Neurology* 2005; 65(8):1335-6.
72. Jones DT, Kocialkowski S, Liu L *ve ark*. Tandem duplication producing a novel oncogenic BRAF fusion gene defines the majority of pilocytic astrocytomas. *Cancer Res* 2008; 68(21):8673-7.
73. Sievert AJ, Jackson EM, Gai X *ve ark*. Duplication of 7q34 in Pediatric Low-Grade Astrocytomas Detected by High-Density Single-Nucleotide Polymorphism-Based Genotype Arrays Results in a Novel BRAF Fusion Gene. *Brain Pathol* 2009; 19(3):449-58.
74. Forshew T, Tatevossian RG, Lawson AR *ve ark*. Activation of the ERK/MAPK pathway: a signature genetic defect in posterior fossa pilocytic astrocytomas. *J Pathol* 2009; 218(2):172-81.

75. Pfister S, Janzarik WG, Remke M *ve ark*. BRAF gene duplication constitutes a mechanism of MAPK pathway activation in low-grade astrocytomas. *J Clin Invest* 2008; 118(5):1739-49.
76. Bar EE, Lin A, Tihan T, Burger PC, Eberhart CG. Frequent gains at chromosome 7q34 involving BRAF in pilocytic astrocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67(9):878-87.
77. Jones DT, Kocialkowski S, Liu L *ve ark*. Oncogenic RAF1 rearrangement and a novel BRAF mutation as alternatives to KIAA1549:BRAF fusion in activating the MAPK pathway in pilocytic astrocytoma. *Oncogene* 2009; 28(20):2119-23
78. Deshmukh H, Yeh TH, Yu J *ve ark*. High-resolution, dual-platform aCGH analysis reveals frequent HIPK2 amplification and increased expression in pilocytic astrocytomas. *Oncogene* 2008; 27(34):4745-51.
79. Yu J, Deshmukh H, Gutmann RJ *ve ark*. Alterations of BRAF and HIPK2 loci predominate in sporadic pilocytic astrocytoma. *Neurology* 2009; 73(19):1526-31.
80. Jacob K, Albrecht S, Sollier C *ve ark*. Duplication of 7q34 is specific to juvenile pilocytic astrocytomas and a hallmark of cerebellar and optic pathway tumours. *Br J Cancer* 2009; 101(4):722-33.
81. Yeh TH, Lee da Y, Gianino SM, Gutmann DH. Microarray analyses reveal regional astrocyte heterogeneity with implications for neurofibromatosis type 1 (NF1)-regulated glial proliferation. *Glia* 2009; 57(11):1239-49.
82. Horbinski C, Hamilton RL, Nikiforov Y, Pollack IF. Association of molecular alterations, including BRAF, with biology and outcome in pilocytic astrocytomas. *Acta Neuropathol* 2010; 119(5):641-9.
83. Tchoghandjian A, Fernandez C, Colin C *ve ark*. Pilocytic astrocytoma of the optic pathway: a tumour deriving from radial glia cells with a specific gene signature. *Brain* 2009; 132(Pt 6):1523-35.
84. Gilbertson RJ, Gutmann DH. Tumorigenesis in the brain: location, location, location. *Cancer Res* 2007; 67(12):5579-82.
85. Maris C, Rorive S, Sandras F *ve ark*. Tenascin-C expression relates to clinicopathological features in pilocytic and diffuse astrocytomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008; 34(3):316-29.
86. Colin C, Baeza N, Tong S *ve ark*. In vitro identification and functional characterization of glial precursor cells in human gliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2006; 32(2):189-202.

87. Uhlmann K, Rohde K, Zeller C *ve ark.* Distinct methylation profiles of glioma subtypes. *Int J Cancer* 2003; 106(1):52-9.
88. Sharma MK, Watson MA, Lyman M *ve ark.* Matrilin-2 expression distinguishes clinically relevant subsets of pilocytic astrocytoma. *Neurology* 2006; 66(1):127-30.
89. Ceppa EP, Bouffet E, Griebel R, Robinson C, Tihan T. The pilomyxoid astrocytoma and its relationship to pilocytic astrocytoma: report of a case and a critical review of the entity. *J Neurooncol* 2007; 81(2):191-6.
90. Brat DJ, Scheithauer BW, Fuller GN, Tihan T. Newly codified glial neoplasms of the 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System: angiocentric glioma, pilomyxoid astrocytoma and pituicytoma. *Brain Pathol* 2007; 17(3):319-24.
91. Parsa CF, Givrad S. Juvenile pilocytic astrocytomas do not undergo spontaneous malignant transformation: grounds for designation as hamartomas. *Br J Ophthalmol* 2008; 92(1):40-6.
92. Lau N, Feldkamp MM, Roncari L *ve ark.* Loss of neurofibromin is associated with activation of RAS/MAPK and PI3-K/AKT signaling in a neurofibromatosis 1 astrocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59(9):759-67.
93. Wimmer K, Eckart M, Meyer-Puttlitz B, Fonatsch C, Pietsch T. Mutational and expression analysis of the NF1 gene argues against a role as tumor suppressor in sporadic pilocytic astrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61(10):896-902.
94. Platten M, Giordano MJ, Dirven CM, Gutmann DH, Louis DN. Up-regulation of specific NF 1 gene transcripts in sporadic pilocytic astrocytomas. *Am J Pathol* 1996; 149(2):621-7.
95. Amatya VJ, Akazawa R, Sumimoto Y, Takeshima Y, Inai K. Clinicopathological and immunohistochemical features of three pilomyxoid astrocytomas: comparative study with 11 pilocytic astrocytomas. *Pathol Int* 2009; 59(2):80-5.
96. Karlou M, Saetta AA, Korkolopoulou P *ve ark.* Activation of extracellular regulated kinases (ERK1/2) predicts poor prognosis in urothelial bladder carcinoma and is not associated with B-Raf gene mutations. *Pathology* 2009; 41(4):327-34.
97. Chang L, Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature* 2001; 410(6824):37-40.

98. Yeh JJ, Routh ED, Rubinas T *ve ark.* KRAS/BRAF mutation status and ERK1/2 activation as biomarkers for MEK1/2 inhibitor therapy in colorectal cancer. *Mol Cancer Ther* 2009; 8(4):834-43.
99. Korshunov A, Meyer J, Capper D *ve ark.* Combined molecular analysis of BRAF and IDH1 distinguishes pilocytic astrocytoma from diffuse astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2009; 118(3):401-5.

EK 1: Tek biyopsisi olan olgularda ve tekrarlayan biyopsisi olan olgulardan histolojik inceleme yapılabilen ilk biyopsilerde doku paterni, damar özellikleri, regresif değişiklikler ve hücre özellikleri

		n=103	İzlenen olgu sayısı (yüzdesi)	İzlenmeyen olgu sayısı (yüzdesi)
Doku özellikleri	Histomorfolojik özellikler			
	Solid+kistik bileşen		58 (%56,3)	45 (%43,7)
	Mikrosistik bileşen		67 (%65,0)	36 (%35,0)
	Kist cidarı		13 (%12,6)	90 (%87,4)
	Leptomeningeal infiltrasyon		23 (%22,3)	16 (%15,5)
	Çevre parenkimde gliozis (tüm olgular içinde)		16 (%15,5)	29 (%28,2)
	Mukoid matriks		81 (%78,6)	22 (%21,4)
Anjiosentrik dizilenme		29 (%28,2)	74 (%71,8)	
Vasküler yapılar	Glomeruloid vasküler proliferasyon		82 (%79,6)	21 (%20,4)
	İnce vasküler çatı		48 (%46,6)	55 (%53,4)
	Perivasküler lenfosit		43 (%41,7)	60 (%58,3)
	Vasküler hiyalinizasyon		47 (%45,6)	56 (%54,4)
Regresif değişiklikler	Kalsifikasyon		22 (%21,4)	81 (%78,6)
	İnfarkt benzeri nekroz		18 (%17,5)	85 (%82,5)
	Eski kanama alanları		17 (%16,5)	86 (%83,5)
	Hiperkromazi/pleomorfizm varlığı		24 (%23,3)	79 (%76,7)
Hücre özellikleri	Piloid hücre		101 (%98,1)	2 (%1,9)
	Oligodendroglia benzeri hücre		77 (%74,8)	26 (%25,2)
	Rosenthal lif		74 (%71,8)	29 (28,2)
	Eozinofilik granüler cisimcik		89 (%86,4)	14 (%13,6)
	“Pennies in plate”		25 (%24,3)	78 (%75,7)
	Multinükleer hücre		42 (%40,8)	61 (%59,2)

EK 2: Histomorfolojik özelliklerin lokalizasyona göre karşılaştırılması

	Supratentorial		İnfratentorial		p	
	Hipotalamik, kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal		
Doku özellikleri	Solid+kistik bileşen	15 (%34,1)	6 (%60,0)	29 (%74,4)	8 (%80,0)	0,001
	Mikroskistik bileşen	19 (%43,2)	9 (%90,0)	37 (%94,9)	2 (%20,0)	<0,001
	Kist cidarı	0 (%0,0)	1 (%10,0)	12 (%30,8)	0 (%0,0)	<0,001
	Leptomeningeal alan infiltrasyonu (değerlendirilebilenler içinde)	5 (%33,3)	0 (%0,0)	18 (%78,3)	yok	0,008
	Çevre parenkimde gliozis (değerlendirilebilenler içinde)	8 (%50)	2 (%28,6)	6 (%27,3)	yok	0,327
	Mukoid matriks	35 (%79,5)	10 (%100,0)	34 (%87,2)	2 (%20,0)	<0,001
	Anjiyosentrik dizilenme	16 (%36,4)	2 (%20,0)	9 (%23,1)	2 (%20,0)	0,455
Vasküler yapılar	Glomeruloid vasküler proliferasyon	31 (%70,5)	10 (%100,0)	33 (%84,6)	8 (%80,0)	0,064
	İnce vasküler çatı	16 (%36,4)	8 (%80,0)	21 (%53,8)	3 (%30,0)	0,036
	Perivasküler lenfosit (belirgin/var)	1 (%2,3)/15 (%34,1)	2 (%20,0) / 6 (%60,0)	3 (%7,7) / 14 (%35,9)	0 (%0,0) / 2 (%20,0)	0,080*
	Vasküler hiyalinizasyon	15 (%34,1)	7 (%70,0)	19 (%48,7)	6 (%60,0)	0,121
Regresif	Kalsifikasyon	7 (%15,9)	4 (%40,0)	8 (%20,5)	3 (%30,0)	0,387
	İnfarkt benzeri nekroz	8 (%18,2)	4 (%40,0)	4 (%10,3)	2 (%20,0)	0,215
	Eski kanama	3 (%6,8)	7 (%70,0)	7 (%17,9)	0 (%0,0)	<0,001
	Hiperkromazi/pleomorfizm (belirgin/var)	0 (%0) / 5 (%11,4)	4 (%40,0) / 2 (%20,0)	2 (%5,1) / 11 (%28,2)	0 (%0) / 0 (%0)	<0,001*
Hücre özellikleri	Piloid hücre	44 (%100,0)	10 (%100,0)	37 (%94,9)	10 (%100,0)	hesaplanamadı
	Oligodendroglia benzeri hücre	24 (%54,5)	9 (%90,0)	36 (%92,3)	8 (%80,0)	<0,001
	Rosenthal lif	23 (%52,3)	6 (%60,0)	36 (%92,3)	9 (%90,0)	<0,001
	Eozinofilik granüler cisimcik	33 (%75,0)	10 (%100,0)	36 (%92,3)	10 (%100,0)	0,010
	“Pennies in plate”	5 (%11,4)	4 (%40,0)	13 (%33,3)	3 (%30,0)	0,053
	Multinükleer hücre	12 (%27,3)	6 (%60,0)	20 (%51,3)	4 (%40,0)	0,081

* Bu p değerleri için Ki-kare exact test uygulandı.

EK 3: İmmünohistokimyasal uygulamaların intensite ve yaygınlıklarının tüm vakalar içinde dağılımı

İmmünohistokimyasal uygulamaların intensitelerinin tüm vakalar içinde dağılımı

	B-RAF	pMEK1	pERK1/2
Negatif	14 (%13,6)	-	3 (%2,9)
Zayıf	36 (%35,0)	4 (%3,9)	1 (%1,0)
Orta	33 (%32,0)	35 (%34,0)	10 (%9,7)
Kuvvetli	20 (%19,4)	64 (%62,1)	89 (%86,4)
Toplam	103 (%100,0)	103 (%100,0)	103 (%100,0)

İmmünohistokimyasal uygulamaların yaygınlıklarının tüm vakalar içinde dağılımı

	B-RAF	pMEK1	pERK1/2
Negatif	14 (%13,6)	-	3 (%2,9)
0-10	10 (%9,7)	4 (%3,9)	17 (%16,5)
11-25	13 (%12,6)	3 (%2,9)	25 (%24,3)
26-50	31 (%30,1)	7 (%6,8)	31 (%30,1)
51-75	15 (%14,6)	10 (%9,7)	15 (%14,6)
76-100	20 (%19,4)	79 (%76,7)	12 (%11,7)
Toplam	103 (%100,0)	103 (%100,0)	103 (%100,0)

EK 4: Tümör varyantlarına göre immünohistokimyasal uygulama sonuçları

İntensitelerinin tümör varyantlarına göre dağılımı

	B-RAF		pMEK1		pERK1/2	
	PA	PMA	PA	PMA	PA	PMA
Negatif	10 (%11,6)	4 (%23,5)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	3 (%3,5)	0 (%0,0)
Zayıf	28 (%32,6)	8 (%47,1)	4 (%4,7)	0 (%0,0)	1 (%1,2)	0 (%0,0)
Orta	29 (%33,7)	4 (%23,5)	33 (%38,4)	2 (%11,8)	9 (%10,5)	1 (%5,9)
Kuvvetli	19 (%22,1)	1 (%5,9)	49 (%57,0)	15 (%88,2)	73 (%84,9)	16 (%94,1)
Toplam	86 (%100,0)	17 (%100,0)	86 (%100,0)	17 (%100,0)	86 (%100,0)	17 (%100,0)

Yaygınlıklarının tümör varyantlarına göre dağılımı

	B-RAF		pMEK1		pERK1/2	
	PA	PMA	PA	PMA	PA	PMA
Negatif	10 (%11,6)	4 (%23,5)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	3 (%3,5)	0 (%0,0)
1-10	7 (%8,1)	3 (%17,6)	4 (%4,7)	0 (%0,0)	16 (%18,6)	1 (%5,9)
11-25	11 (%12,8)	2 (%11,8)	3 (%3,5)	0 (%0,0)	19 (%22,1)	6 (%35,3)
26-50	28 (%32,6)	3 (%17,6)	6 (%7,0)	1 (%5,9)	28 (%32,6)	3 (%17,6)
51-75	14 (%16,3)	1 (%5,9)	10 (%11,6)	0 (%0,0)	11 (%12,8)	4 (%23,5)
76-100	16 (%18,6)	4 (%23,5)	63 (%73,3)	16 (%94,1)	9 (%10,5)	3 (%17,6)
Toplam	86 (%100,0)	17 (%100,0)	86 (%100,0)	17 (%100,0)	86 (%100,0)	17 (%100,0)

EK 5: İmmünohistokimyasal uygulamaların intensite, yaygınlık ve skor sonuçlarının tümör lokalizasyonlarına göre dağılımı

B-RAF intensitesinin lokalizasyona göre dağılımı

Lokalizasyon / İntensite	Hipotalamik kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal	Toplam
Negatif	8 (%18,2)	1 (%10,0)	4 (%10,3)	1 (%10,0)	14 (%13,6)
Zayıf	20 (%45,5)	2 (%20,0)	11 (%28,2)	3 (%30,0)	36 (%35,0)
Orta	10 (%22,7)	6 (%60,0)	14 (%35,9)	3 (%30,0)	33 (%32,0)
Kuvvetli	6 (%13,6)	1 (%10,0)	10 (%25,6)	3 (%30,0)	20 (%19,4)
Toplam	44 (%100,0)	10 (%100,0)	39 (%100,0)	10 (%100,0)	103 (%100,0)

pMEK1 intensitesinin lokalizasyona göre dağılımı

Lokalizasyon / İntensite	Hipotalamik kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal	Toplam
Zayıf	1 (%2,3)	1 (%10,0)	1 (%2,6)	1 (%10,0)	4 (%3,9)
Orta	14 (%31,8)	2 (%20,0)	17 (%43,6)	2 (%20,0)	35 (%34,0)
Kuvvetli	29 (%65,9)	7 (%70,0)	21 (%53,8)	7 (%70,0)	64 (%62,1)
Toplam	44 (%100,0)	10 (%100,0)	39 (%100,0)	10 (%100,0)	103 (%100,0)

pERK1/2 intensitesinin lokalizasyona göre dağılımı

Lokalizasyon / İntensite	Hipotalamik kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal	Toplam
Negatif	2 (%4,5)	1 (%10,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	3 (%2,9)
Zayıf	0 (%0,0)	0 (%0,0)	1 (%2,6)	0 (%0,0)	1 (%1,0)
Orta	2 (%4,5)	1 (%10,0)	5 (%12,8)	2 (%20,0)	10 (%9,7)
Kuvvetli	40 (%90,9)	8 (%80,0)	33 (%84,6)	8 (%80,0)	89 (%86,4)
Toplam	44 (%100,0)	10 (%100,0)	39 (%100,0)	10 (%100,0)	103 (%100,0)

B-RAF yaygınlığının lokalizasyona göre dağılımı

Lokalizasyon / Yaygınlık	Hipotalamik kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal	Toplam
Negatif	8 (%18,2)	1 (%10,0)	4 (%10,3)	1 (%10,0)	14 (%13,6)
%1-%10	5 (%11,4)	1 (%10,0)	3 (%7,7)	1 (%10,0)	10 (%9,7)
%11-%25	5 (%11,4)	2 (%20,0)	4 (%10,3)	2 (%20,0)	13 (%12,6)
%26-%50	13 (%29,5)	3 (%30,0)	12 (%30,8)	3 (%30,0)	31 (%30,1)
%51-%75	2 (%4,5)	2 (%20,0)	8 (%20,5)	3 (%30,0)	15 (%14,6)
%76-%100	11 (%25,0)	1 (%10,0)	8 (%20,5)	0 (%0,0)	20 (%19,4)
Toplam	44 (%100,0)	10 (%100,0)	39 (%100,0)	10 (%100,0)	103 (%100,0)

pMEK1 yaygınlığının lokalizasyona göre dağılımı

Lokalizasyon / Yaygınlık	Hipotalamik kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal	Toplam
%1-%10	1 (%2,3)	2 (%20,0)	0 (%0,0)	1 (%10,0)	4 (%3,9)
%11-%25	0 (%0,0)	1 (%10,0)	1 (%2,6)	1 (%10,0)	3 (%2,9)
%26-%50	2 (%4,5)	0 (%0,0)	4 (%10,3)	1 (%10,0)	7 (%6,8)
%51-%75	4 (%9,1)	3 (%30,0)	2 (%5,1)	1 (%10,0)	10 (%9,7)
%76-%100	37 (%84,1)	4 (%40,0)	32 (%82,1)	6 (%60,0)	79 (%76,7)
Toplam	44 (%100,0)	10 (%100,0)	39 (%100,0)	10 (%100,0)	103 (%100,0)

pERK1/2 yaygınlığının lokalizasyona göre dağılımı

Lokalizasyon / Yaygınlık	Hipotalamik kiazmatik	Serebrum	Posterior fossa	Spinal	Toplam
Negatif	2 (%4,5)	1 (%10,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	3 (%2,9)
%1-%10	5 (%11,4)	2 (%20,0)	7 (%17,9)	3 (%30,0)	17 (%16,5)
%11-%25	14 (%31,8)	1 (%10,0)	8 (%20,5)	2 (%20,0)	25 (%24,3)
%26-%50	11 (%25,0)	4 (%40,0)	14 (%35,9)	2 (%20,0)	31 (%30,1)
%51-%75	7 (%15,9)	1 (%10,0)	6 (%15,4)	1 (%10,0)	15 (%14,6)
%76-%100	5 (%11,4)	1 (%10,0)	4 (%10,3)	2 (%20,0)	12 (%11,6)
Toplam	44 (%100,0)	10 (%100,0)	39 (%100,0)	10 (%100,0)	103 (%100,0)

EK 6: B-RAF ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

B-RAF ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

		İzlenen olgularda B-RAF skoru	İzlenmeyen olgularda B-RAF skoru	p
	Histomorfolojik özellikler			
Doku özellikleri	Solid+kistik bileşen	6,00±6,00	3,00±8,00	0,038
	Mikrokistik bileşen	6,00±15,00	3,00±5,00	0,039
	Kist cidarı	8,00±7,00	3,50±7,00	0,012
	Leptomeningeal infiltrasyon	6,00±9,00	4,00±5,00	0,046
	Çevre parenkimde gliozis	5,50±8,00	5,50±5,00	0,912
	Mukoid matriks	4,00±8,00	3,50±4,00	0,987
	Anjiosentrik dizilenme	6,00±9,00	4,00±6,00	0,529
Vasküler yapılar	Kompleks vasküler proliferasyon	4,00±7,00	3,00±9,00	0,889
	İnce vasküler çatı	4,00±7,00	4,00±9,00	0,857
	Perivasküler lenfosit belirginliği	4,50±4,00	4,00±8,00	0,983
	Vasküler hiyalinizasyon	6,00±7,00	3,00±7,00	0,345
Regresif değişiklikler	Kalsifikasyon	7,00±7,00	3,00±7,00	0,039
	İnfarkt benzeri nekroz	4,00±7,00	4,00±8,00	0,424
	Eski kanama alanları	9,00±5,00	3,00±6,00	0,019
	Hiperkromazi/pleomorfizm varlığı	6,00±6,00	3,00±7,00	0,042
	Hiperkromazi/pleomorfizm belirginliği	7,00±4,00	4,00±7,00	0,165
Hücre özellikleri	Piloid hücre	4,00±7,00	4,50	0,754
	Oligodendroglia benzeri hücre	5,00±8,00	3,00±6,00	0,066
	Rosenthal lif	5,00±6,00	2,00±8,00	0,058
	Eozinofilik granüler cisimcik	4,00±7,00	3,00±6,00	0,430
	“Pennies in plate”	6,00±6,00	3,00±8,00	0,008
	Multinükleer hücre	4,50±7,00	3,00±8,00	0,548

EK 7: pMEK1 ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

pMEK1 ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

		İzlenen olgularda pMEK1 skoru	İzlenmeyen olgularda pMEK1 skoru	p
	Histomorfolojik özellikler			
Doku özellikleri	Solid+kistik bileşen	13,50±5,00	15,00±5,00	0,568
	Mikroskistik bileşen	12,00±5,00	15,00±5,00	0,297
	Kist cidarı	10,00±5,00	15,00±5,00	0,491
	Leptomeningeal infiltrasyon	10,00±5,00	11,00±5,00	0,899
	Çevre parenkimde gliozis	10,00±7,00	10,00±7,00	0,970
	Mukoid matriks	15,00±5,00	10,00±9,00	0,020
	Anjiosentrik dizilenme	15,00±2,00	12,00±7,00	0,003
Vasküler yapılar	Kompleks vasküler proliferasyon	15,00±5,00	15,00±5,00	0,601
	İnce vasküler çatı	12,00±5,00	15,00±5,00	0,372
	Perivasküler lenfosit belirginliği	10,00±5,00	15,00±5,00	0,157
	Vasküler hiyalinizasyon	10,00±7,00	15,00±5,00	0,024
Regresif değişiklikler	Kalsifikasyon	10,00±9,00	15,00±5,00	0,026
	İnfarkt benzeri nekroz	12,50±9,00	15,00±5,00	0,317
	Eski kanama alanları	15,00±6,00	15,00±5,00	0,900
	Hiperkromazi/pleomorfizm varlığı	12,00±7,00	15,00±5,00	0,128
	Hiperkromazi/pleomorfizm belirginliği	11,00±6,00	15,00±5,00	0,569
Hücre özellikleri	Piloid hücre	15,00±5,00	12,50	0,914
	Oligodendroglia benzeri hücre	12,00±7,00	15,00±1,00	0,004
	Rosenthal lif	11,0±5,00	15,00±2,00	0,014
	Eozinofilik granüler cisimcik	12,00±5,00	15,00±0,00	0,002
	“Pennies in plate”	12,00±5,00	15,00±5,00	0,437
	Multinükleer hücre	13,50±5,00	15,00±5,00	0,610

EK 8: pERK1/2 ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

pERK1/2 ekspresyonunun histomorfolojik özelliklere göre karşılaştırılması

		İzlenen olgularda pERK1/2 skoru	İzlenmeyen olgularda pERK1/2 skoru	p
	Histomorfolojik özellikler			
Doku özellikleri	Solid+kistik bileşen	9,00±3,00	9,00±6,00	0,140
	Mikroskistik bileşen	9,00±3,00	6,00±6,00	0,492
	Kist cidarı	9,00±5,00	9,00±6,00	0,188
	Leptomeningeal infiltrasyon	9,00±3,00	9,00±6,00	0,301
	Çevre parenkimde gliozis	9,00±3,00	7,50±3,00	0,665
	Mukoid matriks	9,00±6,00	7,50±6,00	0,179
	Anjiosentrik dizilenme	9,00±6,00	9,00±3,00	0,347
Vasküler yapılar	Kompleks vasküler proliferasyon	9,00±6,00	9,00±3,00	0,660
	İnce vasküler çatı	9,00±3,00	6,00±8,00	0,316
	Perivasküler lenfosit belirginliği	9,00±9,00	9,00±6,00	0,293
	Vasküler hiyalinizasyon	9,00±8,00	9,00±3,00	0,710
Regresif değişiklikler	Kalsifikasyon	9,00±6,00	9,00±6,00	0,783
	İnfarkt benzeri nekroz	7,50±7,00	9,00±6,00	0,141
	Eski kanama alanları	9,00±5,00	9,00±6,00	0,964
	Hiperkromazi/pleomorfizm varlığı	9,00±6,00	9,00±6,00	0,454
	Hiperkromazi/pleomorfizm belirginliği	9,00±8,00	9,00±6,00	0,686
Hücre özellikleri	Piloid hücre	Hesaplanamadı		
	Oligodendroglia benzeri hücre	9,00±5,00	6,00±9,00	0,371
	Rosenthal lif	7,50±3,00	9,00±6,00	0,015
	Eozinofilik granüler cisimcik	9,00±3,00	9,00±6,00	0,261
	<i>Pennies in plate</i>	9,00±3,00	9,00±6,00	0,462
	Multinükleer hücre	9,00±6,00	6,00±5,00	0,072

EK 9: Tekrarlayan cerrahisi olan olgularda yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tanı, immünohistokimya skor sonuçları

Tekrarlayan cerrahisi olan olgularda yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tanı, immünohistokimya skorları

Olgu no	Biyopsi sayısı	Cinsiyet	İlk biyopsi						İkinci biyopsi						Üçüncü biyopsi						Dördüncü biyopsi									
			Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor	Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor	Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor	Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor
1	3	K	26	SER	PA	MK	4	12	6	37	SER	PA	KB	1	15	6	37	SER	PA	KB	2	8	3							
2	2	K	6	HK	PA	konsültasyon				14	HK	PA	KB	15	15	0														
3	2	E	16	PF	PA	YP	5	10	15	22	PF	PA	MP	0	15	15														
4	2	K	2	HK	PA	YP	3	15	6	4	HK	PA	KB	3	15	3														
5	2	K	3	PF	PA	MK	0	15	15	8	PF	PA	KB	5	8	15														
6	3	E	5	PF	PA	MK	1	10	12	11	PF	PA	KB	0	15	9	21	PF	PA	MK	1	15	6							
7	2	K	6	HK	PA	KB	5	10	12	10	HK	PA	KB	3	15	9														
8	2	K	5	HK	PA	KB	0	10	6	6	HK	PA	KB	1	8	9														
9	4	K	1	PF	PA	MK	8	15	12	ulaşılamadı							4	PF	PA	YP	0	12	3	4	PF	PA	MK	15	15	0
10	2	K	3	PF	PA	KB	1	10	9	4	PF	PA	KB	0	3	3														
11	2	K	13	SPI	PA	KB	2	15	15	13	PF	PA	KB	6	15	12														
12	2	K	12	PF	PA	KB	6	6	6	13	PF	PA	PSIZ	0	4	12														
13	2	E	3	SPI	PA	KB	2	15	6	6	SPI	PA	KB	8	12	15														
14	2	K	11	SER	PA	MK	1	12	9	13	SER	PA	MK	10	15	15														
15	3	K	6	HK	PA	YP	3	8	6	6	HK	PA	YP	3	10	9	9	HK	PA	YP	3	10	3							
16	2	K	7	HK	PA	KB	0	15	9	10	HK	PA	YP	1	15	6														
17	2	E	8	PF	PA	KB				11	PF	PA	KB	0	15	6														
18	3	E	6	SER	PA	dış merkez				11	SER	PA	KB	10	1	3	13	SER	PA	KB	2	15	9							

Tekrarlayan cerrahisi olan olgularda yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tanı, immünohistokimya skor sonuçları (devamı)

Olgu no	Biyopsi sayısı	Cinsiyet	İlk biyopsi							İkinci biyopsi						Üçüncü biyopsi						Dördüncü biyopsi																						
			Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor	Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor	Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor	Yaş	Lokalizasyon	Tanı	Patern	B-RAF skor	pMEK1 skor	pERK1/2 skor														
19	2	K	2	PF	PA	MK	1	15	15	3	PF	PA	KB	12	15	3																												
20	2	K	12	HK	PA	YP	1	3	12	12	HK	PA	KB	2	10	0																												
21	4	K	dış merkez							dış merkez						14	PF	PA	KB	8	15	6	16	PF	PA	KB	9	12	9															
22	2	K	10	SPI	PA	YP	12	2	15	11	SPI	PA	KB		15																													
23	2	K		PF	PA					2	PF	PA	KB	12	15	9																												
24	3	K	4	HK	PA	KB	6	10	6	4	HK	PA	KB	0	10	2	5	HK	PA	KB	12	8	9																					
25	2	K	33	SER	yetersiz örnek						35	SER	PA	MK	9	2	9																											
26	2	E	29	SPI	PA	YP	3	10	3	29	SPI	PA	YP	1	15	6																												
27	2	K	13	PF	PA	hazır preparat				13	PF	PA	KB	9	8	12																												
28	3	E	2	HK	PMA	MP	4	15	12	3	HK	PMA	MP	4	15	9	3	HK	PMA	MP	8	15	12																					
29	2	E	2	HK	PMA	MP	3	15	9	4	HK	PA	KB	8	8	12																												
30	2	E	1	HK	PMA	MP	1	15	6	2	HK	PA	KB	6	12	12																												
31	2	K	1	HK	PMA	dış merkez				3	HK	PMA	MP	1	15	2																												
32	2	E	6	HK	PMA	dış merkez				8	HK	PMA	MP	1	6	9																												
33	2	E	2	HK	PMA	MP	2	15	6	3	HK	PMA	KB	6	12	3																												

Lokalizasyon: HK: Hipotalamik/kiazmatik, SER: serebrum, PF: posterior fossa, SPI: spinal; Patern: KB: klasik bifazik, MK: mikrokistik, YP: yoğun piloid, PSIZ: paternsiz, MP: monofazik piloid; Tanı: PA: Pilositik astrositom, PMA: Pilomiksoid astrositom

EK 10: Çalışmada yer alan olguların biyopsi numaraları ve yılları

EK 9’da yer alan -tekrarlayan biyopsisi olan- olgular (biyopsi numaraları ve yılları)

Olgu no	İlk biyopsi		İkinci biyopsi		Üçüncü biyopsi		Dördüncü biyopsi	
	Biyopsi no	Yıl	Biyopsi no	Yıl	Biyopsi no	Yıl	Biyopsi no	Yıl
1	9099	93	2319	04	9088	04		
2	117	99	8820	07				
3	5970	01	20966	07				
4	16283	98	15822	00				
5	3914	99	3587	04				
6	5922	90	11642	96	10538	06		
7	13095	01	7298	05				
8	10017	00	11071	01				
9	14620	00			14022	03	14759	03
10	4643	01	13102	02				
11	3869	05	6010	05				
12	15171	02	17773	03				
13	8722	03	15148	06				
14	9699	03	7433	05				
15	2215	04	3130	04	4071	07		
16	13903	04	3981	07				
17	18211	05	239	08				
18			13330	05	1702	07		
19	15981	06	14361	07				
20	11295	07	11779	07				
21					17711	07	16551	09
22	2261	08	14014	09				
23			5699	08				
24	2734	08	18417	08	8803	09		
25	12176	03	7626	05				
26	8904	06	16899	06				
27	18420	05	20186	05				
28*	973	99	153	00	2496	00		
29**	3594	03	18755	05				
30**	12318	04	3879	05				
31*			18557	04				
32*			7905	06				
33*	19213	06	19090	07				

*: PMA olguları, **: İlk biyopsisi PMA, ikinci biyopsisi PA olan olgular

Tek biyopsisi olan olgular (biyopsi numaraları ve yılları, **kahm puntolar** PMA olgularıdır)

23-01	14444-04	4262-07
5879-01	15510-04	12223-07
10320-01	16021-04	12649-07
14339-01	2146-05	17162-07
2041-02	2929-05	20649-07
2517-02	3150-05	5946-08
8202-02	4689-05	7060-08
10634-02	5041-05	11098-08
10722-02	6005-05	11283-08
11755-02	9630-05	12731-08
12920-02	14772-05	14181-08
13932-02	17188-05	16573-08
14727-02	20366-05	17449-08
487-03	585-06	17814-08
5018-03	2454-06	262-09
5799-03	3548-06	1568-10
6616-03	5633-06	2653-77
8312-03	8454-06	2035-88
9939-03	9809-06	4812-91
11229-03	10536-06	6663-95
11699-03	13575-06	10269-95
13150-03	17914-06	16786-96
4982-04	17947-06	
13448-04	20093-06	