

**T. C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ASTROSİTİK TÜMÖRLERDE CD44, MEMBRAN TİP 1-
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ (MT1-MMP), Ki-67
EKSPRESYONU**

**Dr.Fügen KIVANÇ
UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS
2006**

**T. C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ASTROSİTİK TÜMÖRLERDE CD44, MEMBRAN TİP 1-
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ (MT1-MMP), Ki-67
EKSPRESYONU**

**Dr.Fügen KIVANÇ
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Prof. Dr. Reyhan EĞİLMEZ**

**SİVAS
2006**

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun 12.03.2002 tarih ve 2002 / 1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü'nün 28.03.2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen "Tez Yazım Kılavuzu'na" göre hazırlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
TABLolar.....	viii
ŞEKİLLER VE RESİMLER.....	ix
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. EMBRİYOLOJİ.....	3
2.2. ANATOMİ.....	6
2.2.1. Beyin.....	6
2.2.2. Beyin Damarları.....	7
2.2.3. Omurilik.....	8
2.2.4. Beyin – omurilik zarları (Meninksler).....	8
2.2.5. Beyin – omurilik sıvısı (BOS).....	8
2.3. HİSTOLOJİ (TEMEL HİSTOLOJİ).....	9
2.3.1. Astrositler.....	9
2.3.2. Oligodendrositler.....	10
2.3.3. Ependim Hücreleri.....	11
2.3.4. Mikroglia.....	11
2.4. BEYİN TÜMÖRLERİNİN İNSİDANSI.....	11
2.5. BEYİN TÜMÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI.....	12
2.6. EPİDEMİYOLOJİ.....	16
2.7. KLİNİK.....	17
2.8. PATOLOJİ.....	17
2.8.1. Piloitik Astrositom (DSÖ GRADE I).....	19
2.8.2. Diffüz Astrositom (DSÖ GRADE II).....	21
2.8.3. Anaplastik Astrositom (DSÖ GRADE III).....	23
2.8.4. Glioblastoma Multiforme (DSÖ GRADE IV).....	24

2.9. GLİAL TÜMÖRLERİN MOLEKÜLER PATOGENEZİ.....	27
2.10.BEYİN TÜMÖRLERİNİN İNVAZYON VE METASTAZ PATOGENEZİ.....	31
GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
BULGULAR.....	41
TARTIŞMA.....	79
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	97
KAYNAKLAR.....	101

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince her türlü yardımları, uyarı ve yapıcı eleştirileri ile araştırmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde büyük emeği geçen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Reyhan EĞİLMEZ'e, asistanlık eğitim boyunca bizlere emek veren ve yetişmemizi sağlayan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fahrettin GÖZE, Prof. Dr. Sema ARICI, Prof. Dr. Şahande ELAGÖZ, Doç. Dr. Esin YILDIZ'a, istatistiksel değerlendirmeleri yapan Sayın Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Hatice ÖZER ve eşi Dr. Cem ÖZER, Yrd. Doç. Dr. Ersin TUNCER'e, asistan arkadaşlarıma, teknisyen arkadaşlarıma, beni bu günlere getiren sevgili anne ve babama, en zor anlarımda bile her zaman desteğini gördüğüm sevgili kardeşlerim Dr. Özlem ve Dr. Özgen KIVANÇ'a ve desteklerinden dolayı Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyon Başkanlığı'na sonsuz teşekkür ederim.

Bu Proje Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı Tarafından P-254 Numaralı Tıpta Uzmanlık Projesi Olarak Desteklenmiştir.

ÖZET

Astrositik Tümörlerde CD44, Membran Tip 1-Matriks Metalloproteinaz (MT1-MMP) ve Ki-67 Ekspresyonu

Primer beyin tümörleri içerisinde en sık görülen astrositik tümörlerdir. Astrositik tümörler; astrositom (A, Grade II), anaplastik astrositom (AA, Grade III), glioblastoma multiforme'yi (GM, Grade IV) kapsar. Astrositomlar ve glioblastomlar invazivliği yüksek ekstrakraniyal metastazları oldukça nadir olan tümörlerdir. CD44, meme ve kolon kanserlerinde kötü prognozu gösterir ve glioblastom için invazyon markeri olarak önerilmiştir. Matriks Metalloproteinaz, gliomların beyin dokusu çevresine invazyonun kolaylaşmasında ve neovaskülarizasyonda önemli bir faktördür. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden 1993–2005 yılları arası astrositik tümör tanısı almış 70 olguya ait H&E preparatlar, 1993 DSÖ sınıflamasının 2000 yılındaki kriterleri göz önüne alınarak yeniden değerlendirildi. Olgulara ait parafin kesitlere immünohistokimyasal olarak CD44, MT1-MMP ve Ki-67 uygulandı. Olguların 9'u Piloitik astrositom (Grade I), 14'ü Diffüz astrositom (Grade II), 3'ü Anaplastik astrositom (Grade III), 44'ü Glioblastoma multiforme (Grade IV) idi. Çalışmanın istatistiksel analizi Düşük Dereceli Astrositik Tümörler (DDAT) (Grade I+Grade II) ve Yüksek Dereceli Astrositik Tümörler (YDAT) (Grade III+Grade IV) arasında yapıldı. CD44 ekspresyonu yönünden DDAT'ler ve YDAT'ler değerlendirildiğinde, sitoplazmik boyanma oranları ve membranöz boyanma yoğunluğu yönünden farklılık anlamlı bulundu ($p<0.05$). MT1-MMP ekspresyonu yönünden DDAT'ler ve YDAT'ler değerlendirildiğinde, sitoplazmik boyanma oranları ve membranöz boyanma yoğunluğu yönünden farklılık anlamlı bulundu ($p<0.05$). DDAT'lerde Ki-67 proliferasyon indeksi 4.54 ± 7.81 , YDAT'lerde 18.31 ± 9.51 olarak bulundu ($p<0.05$). CD44 ve MT1-MMP ekspresyonu yönünden DDAT'lerde zayıf sitoplazmik ve membranöz boyanma, YDAT'lerde kuvvetli sitoplazmik ve membranöz boyanma saptandı. Ki-67 proliferasyon indeksi tümör derece artışı ile uyumlu bulundu. Sonuç olarak, astrositik tümörlerde CD44 ve MT1-MMP'nin invazyon belirleyicisi olarak kullanılabileceği ve gliomların malign progresyonuyla ilişkili olduğu kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Astrositik tümörler, CD44, MT1-MMP, Ki-67 ekspresyonu.

SUMMARY

CD44, Membrane Type 1- Matrix Metalloproteinase (MT1-MMP) and Ki-67 Expression in Astrocytic Tumors

Astrocytic tumors are the most common primary tumors of the brain. Astrocytic tumors include astrocytoma (A, Grade II), anaplastic astrocytoma (AA, Grade III), and glioblastoma multiforme (GM, Grade IV). Astrocytomas and glioblastomas are known to have high capacity of local invasiveness with uncommon extracranial metastatic ability. CD44's expression shows poor prognosis in breast and colon carcinomas and proposed to be an invasion marker in glioblastomas. Matrix Metalloproteinase is an important factor promoting the cerebral invasion and neovascularisation of the gliomas. H&E slides obtained from Cumhuriyet University Faculty of Medicine Pathology Department archive belonging to 70 patients who were diagnosed as having astrocytic tumor between years 1993 to 2005 were re-evaluated according to the criterias of WHO classification accepted in 1993. Slides obtained from paraffin blocks of the cases were stained with CD44, MT1-MMP and Ki-67 immunohistochemically. Nine of the cases were pilocytic astrocytoma (Grade I), 14 were diffuse astrocytoma (Grade II), three were anaplastic astrocytoma (Grade III) and 44 were glioblastoma multiforme (Grade IV). Statistical analysis of the study were performed between Low Grade Astrocytic Tumors (LGAT) (Grade I + Grade II) and High Grade Astrocytic Tumors (HGAT) (Grade III + Grade IV). There was a significant difference in cytoplasmic staining ratios and membranous staining intensities in CD44 expressions between LGATs and HGATs ($p < 0.05$). Also when LGATs and HGATs were evaluated in respect to MT1-MMP expressions, there was again a significant difference in cytoplasmic staining ratios and membranous staining intensities ($p < 0.05$). Ki-67 proliferation index was found to be 4.54 ± 7.81 in LGATs and 18.31 ± 9.51 in HGATs ($p < 0.05$). CD44 and MT1-MMP expressions showed weak cytoplasmic and membranous staining in LGATs whereas they showed strong cytoplasmic and membranous staining in HGATs. Ki-67 proliferation index was found to be directly correlated with increased tumor grade. As a result it is concluded that, CD44 and MT1-MMP may be useful as an invasion marker in astrocytic tumors and they are related with malign progression of gliomas.

Key words: Astrocytic tumors, CD44, MT1-MMP, Ki-67 expression.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACI:	Arteria karotis interna
AgNOR:	Gümüş nükleolar organize edici reseptör
BT:	Bilgisayarlı tomografi
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
CD44s:	CD44 standart
CD44v:	CD44 varyant
CDK4:	Cyclin dependent kinase-4
CDKN2A:	Cyclin-dependent kinase inhibitör 2A
CDKN2B:	Cyclin-dependent kinase inhibitör 2B
DCC:	Deleted in colorectal cancer
DDAT:	Düşük dereceli astrositik tümör
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
ECM:	Ekstraselüler matriks
EGF:	Epitelial growth faktör
EGFR:	Epitelial growth faktör reseptörü
GFAP:	Glial fibriler asidik protein
GM:	Glioblastoma multiforme
HA:	Hiyalüronik asit
H&E:	Hematoksilen-Eozin
HGPIN:	Yüksek gradeli prostatik intraepitelial neoplazi
HGSİL:	Yüksek dereceli skuamöz intraepitelial lezyon
İHK:	İmmünohistokimya
LGSİL:	Düşük dereceli skuamöz intraepitelial lezyon
LOH:	Loss of heterozygosity
MMP:	Matriks metolloproteinaz
MSS:	Merkezi sinir sistemi
MT-MMP:	Membran bağımlı tip matriks metalloproteinaz
MR:	Manyetik rezonans
PBS:	Phosphate buffer saline
PDGF:	Platelet derived growth factor
PDGFR:	Platelet derived growth factor reseptörü
PI:	Proliferasyon indeksi

Rb:	Retinoblastom
TIMP:	Metalloproteinaz doku inhibitörü
VEGF:	Vasküler endotelyal growth factor
VEP:	Vasküler endotelyal proliferasyon
YDAT:	Yüksek dereceli astrositik tümör

TABLOLAR

Sayfa

Tablo 2.1.1: MSS'nin gelişmesinde primer veziküllerin alt bölümlere ayrılması, bunlardan oluşan kısımlar ve boşluklar.....	6
Tablo 2.5.1: DSÖ merkezi sinir sistemi tümörleri histolojik sınıflaması.....	12
Tablo 2.8.1: Astrositik tümörlerde St. Anne/Mayo sınıflaması.....	18
Tablo 2.8.2: DSÖ Astrositik tümör sınıflaması.....	19
Tablo 2.10.1: Beyinin başlıca ekstraselüler matriks komponentleri.....	33
Tablo 4.1: Olgulara ait protokol, yaş, cinsiyet, yerleşim yeri, grade ile ilgili veriler.....	41
Tablo 4.2: Olgulara ait histopatolojik değerler ve grade ile ilgili veriler.....	44
Tablo 4.3: CD 44 ve MT1-MMP ile membranöz boyanmanın grade'lere göre dağılımı.....	52
Tablo 4.4: CD44 ve MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmanın grade'lere göre dağılımı.....	62
Tablo 4.5: CD44 ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	67
Tablo 4.6: CD44 ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	69
Tablo 4.7: MT1-MMP ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	70
Tablo 4.8: MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	72
Tablo 4.9: GFAP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	75

ŞEKİLLER VE RESİMLER

Sayfa

Şekil 2.1.1: A. Geç presomit embriyonun (yaklaşık 18. gün) arkadan görünüşü. Amnion zarı çıkarılmış, nöral plak net bir şekilde görülebilmektedir. B. Yaklaşık 20. günde dorsal görünüm.....	3
Şekil 2.1.2: A - D. Giderek büyüyen embriyonun transvers kesitlerinde, nöral oluk, nöral tüp ve nöral krestin oluşumu. Başlangıçta, nöral tüple yüzey ektodermi arasında intermediate bir bölge meydana getiren nöral krest hücreleri (C), spinal ve kranial duyu gangliyonlarının gelişimi.....	4
Şekil 2.1.3: A. Yaklaşık 22. günde embriyonun arkadan görünümü. Nöral tüpün her iki yanında 7 adet belirgin somit görülebilmektedir. B. Yaklaşık 23. günde embriyonun arkadan görünümü. Sinir sistemi kranial ve kaudal nöroporlar yoluyla amnion boşluğu ile ilişki içindedir.....	4
Şekil 2.9.1: Astrositik tümörlerin moleküler patogenezi.....	31
Şekil 4.1: CD44 ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	68
Şekil 4.2: CD44 ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	69
Şekil 4.3: MT1 – MMP ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	71
Şekil 4.4: MT1 – MMP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	72
Şekil 4.5: GFAP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.....	75
Resim 4.1: Fibriler matriks içinde Rosenthal fibriller, eozinofilik granüler cisimcikler içeren pilositik astrositom (H&E; x25).....	47
Resim 4.2: Hafif nükleer pleomorfizm ve mikrokistik değişiklikler içeren difüz astrositom (H&E; x25).....	47
Resim 4.3: Hafif nükleer pleomorfizm, nükleer hiperkromazi ve orta selülarite içeren difüz astrositom (H&E; x25).....	48

Resim 4.4: Artmış selülarite, selüler atipi ve pleomorfizm içeren anaplastik astrositom (H&E; x25).....	48
Resim 4.5: Artmış selülarite ve koagülasyon nekrozu, nekroz çevresi psödopalizatik tümör hücreleri içeren glioblastoma multiforme (H&E; x10).....	49
Resim 4.6: Vasküler endotelyal proliferasyon içeren glioblastoma multiforme (H&E;x25).....	49
Resim 4.7: Vasküler endotelyal proliferasyonunun oluşturduğu glomerüloid yumaklar içeren glioblastoma multiforme (H&E; x25).....	50
Resim 4.8: Şiddetli selülarite, nükleer pleomorfizm ve mitoz içeren glioblastoma multiforme (H&E; x50).....	50
Resim-4.9: CD44 ile zayıf membranöz boyanma ve + sitoplazmik boyanma gösteren pilositik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	52
Resim-4 10: CD44 ile orta membranöz boyanma gösteren pilositik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	53
Resim 4.11: CD44 ile orta membranöz boyanma ve ++ sitoplazmik boyanma gösteren pilositik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	53
Resim 4.12: CD44 ile zayıf membranöz boyanma ve + sitoplazmik boyanma gösteren difüz astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	54
Resim 4.13: CD44 ile orta membranöz boyanma gösteren difüz astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	54
Resim 4.14: CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma ve + sitoplazmik boyanma gösteren anaplastik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	55
Resim 4.15: CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma gösteren anaplastik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	55
Resim 4.16: CD44 ile orta membranöz boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	56
Resim 4.17: CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma ve ++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	56
Resim 4.18: CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	57

Resim 4.19: MT1-MMP ile zayıf membranöz boyanma gösteren pilositik astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	58
Resim 4.20: MT1-MMP ile orta membranöz boyanma gösteren difüz astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	59
Resim 4.21: MT1-MMP ile kuvvetli membranöz boyanma gösteren anaplastik astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz x50).....	59
Resim 4.22: MT1-MMP ile kuvvetli membranöz boyanma ve +++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	60
Resim 4.23: MT1-MMP ile kuvvetli membranöz boyanma ve ++++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	60
Resim 4.24: CD44 ile +++ sitoplazmik boyanma ve orta membranöz boyanma gösteren anaplastik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	63
Resim 4.25: CD44 ile +++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	63
Resim 4.26: MT1-MMP ile ++ sitoplazmik boyanma gösteren difüz astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	65
Resim 4.27: MT1-MMP ile ++++ sitoplazmik boyanma gösteren difüz astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	66
Resim 4.28: MT1-MMP ile +++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50).....	66
Resim 4.29: Ki-67 indeksi % 6 olan düşük dereceli astrositik tümör (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	73
Resim 4.30: Ki-67 indeksi % 17 olan yüksek dereceli astrositik tümör (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	74
Resim 4.31: GFAP ile + sitoplazmik boyanma gösteren düşük dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	76
Resim 4.32: GFAP ile ++ sitoplazmik boyanma gösteren düşük dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	76
Resim 4.33: GFAP ile ++ sitoplazmik boyanma gösteren yüksek dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	77

Resim 4.34: GFAP ile +++ sitoplazmik boyanma gösteren yüksek dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	77
Resim 4.35: GFAP ile ++++ sitoplazmik boyanma gösteren yüksek dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25).....	78

GİRİŞ

Merkezi sinir sisteminin (MSS) primer tümörleri 100.000'de 6–10 oranında görülür ve yeni tanı konulan tüm malignitelerin %2'sini oluşturur. Primer beyin tümörlerinin %60'ı glial tümörlerdir ve bunların çoğunluğunu da astrositik tümörler meydana getirir. İlk 15 yaşındaki primer tümörlerin %40-45'i, erişkin yaş grubunda ise %50-60'ı astrosit kökenli tümörlerdir (1-3).

Astrositik tümörlerin ekstrakraniyal metastaz yapma olasılığı çok azdır. Buna rağmen prognozları kötüdür. Bu tümörler kontrolsüz hücre proliferasyonu ve hızlı büyüme göstererek çevre dokulara invazyon ya da subaraknoid boşluk aracılığı ile MSS'nin diğer bölümlerine yayılım gösterir (2). Tümörler, radikal cerrahi sonrası bile beyin dokusu çevresine invazyon yaparak rekürrense neden olur. Astrositik tümörlerin invazyonunda ilk olarak ekstraselüler matriks (ESM)'in proteolizisi gerçekleşir. Daha sonra matriks içine tümör hücrelerinin migrasyonu olur (4).

Hiyalüronik asit (HA) ESM'nin ana komponentidir ve astrositik tümörlerin invazyonunda önemli rol oynar. HA'nın spesifik hücre adezyon molekülü ile etkileşmesi tümör hücrelerinin migrasyonunu stimüle edebilir. Hücre adezyonu, tümör invazyonunun çok basamaklı gelişiminde (multistep) kritik bir öneme sahiptir (5,6). CD44, merkezi sinir sisteminin ESM'nin bir komponenti olan HA ile etkileşimden sorumlu hücre yüzey adezyon molekülüdür. CD44 ekspresyonu nontümöral ve tümöral hücrelerde görülür. Özellikle meme ve kolon kanserlerinde metastaz ya da kötü prognoz için CD44'ün varlığı gösterilmiştir. Astrositik tümörlerde bu konu ile ilgili çalışmalar az sayıdadır (1,4,7).

Matriks metalloproteinazların (MMP) tümü çok geniş yayılım gösterir. ESM proteinlerinin yıkımından sorumlu olan bir grup çinko bağımlı endopeptidlerden oluşan MMP'lerin tümü normal ve tümöral hücrelerin çoğunda saptanır. MMP'lerin birçok alt tipi vardır. MMP'lerin alt tiplerinden biri olan MT1-MMP ekspresyonunun gliomların malign progresyonuyla ilişkili olduğu görülmüştür (1,8). MMP'ler, tümörögenезisin tüm aşamalarında önemli rol oynar. MMP'lerin, gliomların beyin dokusu çevresine invazyonun kolaylaşmasında ve neovaskülarizasyonda önemli bir faktör olduğu ileri sürülmektedir (9,10).

Ki-67 indeksi bir proliferasyon belirleyicisidir. Non-histon nükleer bir protein olup hücre siklusunun G1, G2, S ve M fazında ekspresyonu artmaktadır. Yüksek Ki-67 boyanması ile mitoz sayısı arasında iyi bir korelasyon vardır (11).

Gliyal fibriler asidik protein (GFAP) hücelere destek ve dayanıklılık sağlayan intermediyer fibriler protein ailesinin bir üyesidir. Normal, reaktif ve neoplastik astrositlerde bulunur, güvenilir bir astrosit belirleyicisi olarak kullanılır (12,13).

Astrositik tümörlerde CD44, MT1-MMP ve Ki-67'nin birlikte yapıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Çalışma, astrositik tümörlerin derecesi ile beyin dokusu çevresine invazyonu arasındaki ilişkiyi saptamak amacıyla yapıldı. Bunun için immunohistokimyasal olarak CD44, MT1-MMP, Ki-67 uygulanarak derece ile aralarındaki ilişki araştırıldı.

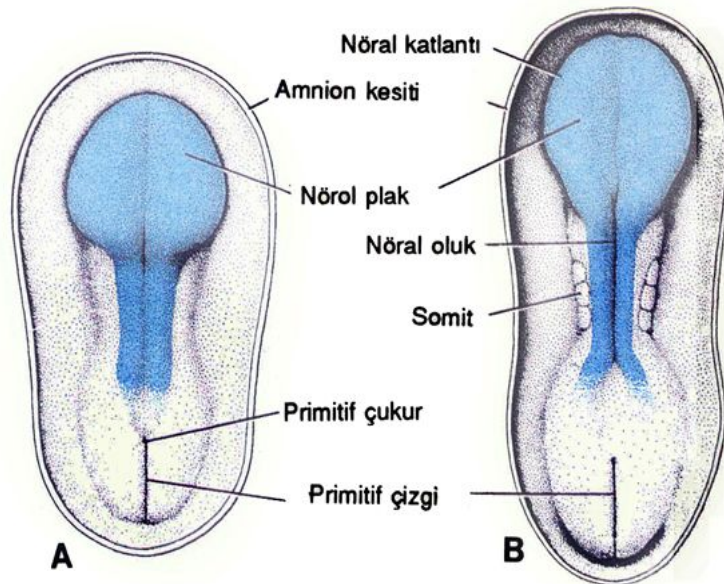
Sonuç olarak, CD44 ve MT1-MMP'nin yüksek dereceli astrositik tümörlere göre düşük dereceli astrositik tümörlerde daha az oranda boyanma gösterdiği saptandığından invazyon belirleyicisi olarak kullanılabileceği ve gliomların malign progresyonuyla ilişkili olabileceği kanısına varıldı.

GENEL BİLGİLER

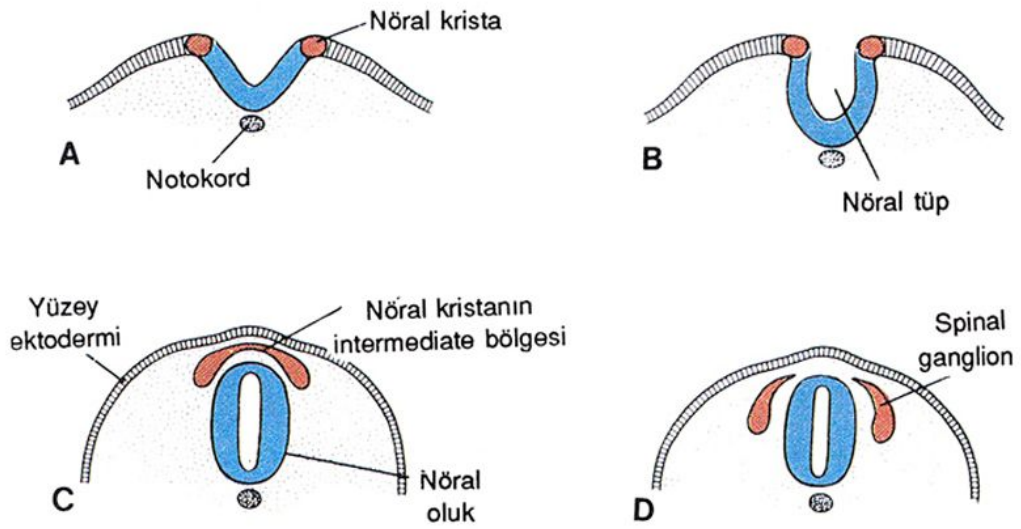
2.1 EMBRİYOLOJİ

Merkezi sinir sistemi, gelişimin 3. haftasının başlarında kalınlaşmış embriyonik ektodermden gelişir. Primitif çukurun önünde, orta-dorsal bölgede yerleşmiş olan bu ektoderm, nöral plak olarak isimlendirilir. Nöral plağın lateral kenarları, kısa bir süre sonra nöral katlantıları meydana getirmek üzere yükselir (14,15).

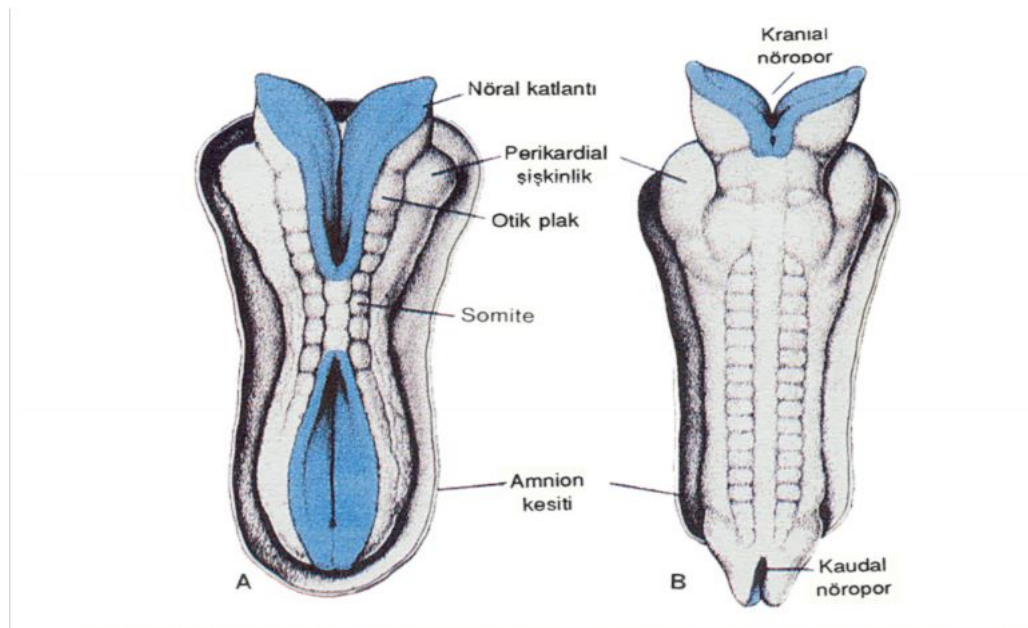
Nöral katlantılar zamanla yükselerek orta hatta birbirine yaklaşır ve nöral tüpü oluşturmak üzere kaynaşır. Kaynaşma servikal bölgede başlar, kaudal ve sefalik yönlere doğru ilerler. Ancak, embriyonun kranial ve kaudal uçlarında kaynaşma daha geç meydana geldiğinden, nöroporlar yoluyla, amnion boşluğu ile nöral tüp arasında geçici bir ilişki kurulur. Kranial nöroporun kapanması, biri servikal bölgeden başlayan, diğeri ise önbeyinden kranial ve kaudal yönlere olmak üzere iki yönlü olarak gerçekleşir. Kranial nöropor tam olarak 18–20 somit evresinde (25. gün), kaudal nöropor ise, yaklaşık olarak iki gün sonra kapanır. Nöroporların kapanması ile nöral tüpün kan dolaşımının oluşması eş zamanlıdır (14-16) (**Şekil 2.1.1,2,3**).



Şekil-2.1.1.A. Geç presomit embriyonun (yaklaşık 18. gün) arkadan görünüşü. Amnion zarı çıkarılmış, nöral plak net bir şekilde görülebilmektedir. **B.** Yaklaşık 20. günde dorsal görünüm (Sadler TW. Langman's Medical Embryology: MSS 7th ed. William&Wilkins. 1995).



Şekil-2.1.2.A-D. Giderek büyüyen embriyonun transvers kesitlerinde, nöral oluk, nöral tüp ve nöral krestin oluşumu. Başlangıçta, nöral tüple yüzey ektodermi arasında intermediate bir bölge meydana getiren nöral krest hücreleri (C), spinal ve kranial duyu ganglionlarının gelişimi (Sadler TW. Langman's Medical Embryology: MSS 7th ed. William&Wilkins. 1995).



Şekil-2.1.3.A. Yaklaşık 22. günde embriyonun arkadan görünümü. Nöral tüpün her iki yanında 7 adet belirgin somit görülebilmektedir. **B.** Yaklaşık 23. günde embriyonun arkadan görünümü. Sinir sistemi kranial ve kaudal nöroporlar yoluyla amnion boşluğu ile ilişki içindedir (Sadler TW. Langman's Medical Embryology: MSS 7th ed. William&Wilkins 1995).

Gelişimin yaklaşık 4. haftasında nöral tüpün sefalik ucunda, primer beyin vezikülleri adı verilen üç dilatasyon ortaya çıkar. Bunlar, prosensefalon (önbeyin), mezensefalon (ortabeyin) ve rombensefalon (arkabeyin) dur. Sefalik uçta eş zamanlı olarak, biri arkabeyinle spinal kordun birleşim yerinde olan servikal fleksur, diğeri ise orta beyin bölgesindeki sefalik fleksur olmak üzere iki de fleksur meydana gelir (14).

Embriyo 5 haftalık olduğunda, prosensefalon iki parçadan oluşur. Bunlar, orta bölüm ve iki lateral çıkıntının (primitif serebral hemisiferler) oluşturduğu telensefalon ile optik veziküllerin dışa doğru büyümesiyle karakterize diensefalondur. Mezensefalon rombensefalondan, rombensefalik istmus adındaki derin bir yarıkla ayrılır. Prosensefalon gibi, rombensefalon da iki parçadan oluşur. Bunlar, daha sonra pons ve serebellumu oluşturacak olan metensefalon ve miyelensefalondur. Bu iki parça arasındaki sınırı ise pontin fleksur oluşturur (14,17).

Spinal kordun lümeni olan merkezi kanal, beyin veziküllerinin lümenleri ile devamlılık gösterir. Rombensefalon boşluğu, dördüncü ventrikül, diensefalon boşluğu, üçüncü ventrikül ve beyin hemisiferleri içindeki boşluklar da lateral ventriküller olarak bilinir. Üçüncü ve dördüncü ventriküller, birbirlerine mezensefalonun lümeni ile bağlıdır. Bu lümen daha sonra giderek daralır ve akuaduktus serebri (aqueduct of Sylvius) adını alır. Lateral ventriküller de üçüncü ventrikülle olan ilişkilerine foramen Monro (interventriküler foramen) yoluyla sağlar (14). MSS'nin gelişimi **Tablo 2.1.1**'de sunulmaktadır. Ventriküllerin içini pleksus koroideus döşer ve beyin omurilik sıvısını (BOS) salgılar. Pleksus koroideusu ependim hücreleri oluşturur (18).

Yeni kapanmış nöral tüpün duvarları, nöroepitelial hücrelerden meydana gelir. Nöroepitelial hücreler bölünerek, primitif sinir hücrelerini yani nöroblastları oluşturur (14). Nöroblastlar çoğalır, artar ve gri cevheri (Substantia grisea) yapar. Nöroblastların uzantıları sinir liflerinin oluşturduğu zona marjinalis'i oluşturur. Myelinle sarılan sinir uzantıları da beyaz cevheri (Substantia alba) oluşturur (18). Nöroblastların üretiminin durmasının ardından, nöroepitelial hücreler ilkel destek dokusu hücreleri olan glioblastların büyük bir kısmını oluşturur. Glioblastlar, nöroepitelial tabakadan manto ve marjinal tabakalara göç eder. Manto tabakasında farklılaşan glioblastlar, protoplazmik ve fibriler astrositlere dönüşür. Marjinal

tabakada bulunan glioblastlardan, oligodendrositler farklılaşır. Bunlar, inen ve çıkan aksonların çevresindeki myelin kılıfları oluşturur. Gelişimin ikinci yarısında, merkezi sinir sisteminde üçüncü bir destek hücresi tipi olan mikroglia ortaya çıkar. Mezenkimal kökenli olan bu hücre, fagositik özellik taşır. Nöroepitelyal hücreler, nöroblast ve glioblast üretimini bitirdikten sonra, spinal kordun merkezi kanalını döşeyen ependimal hücrelere farklılaşır (14-18).

Tablo–2.1.1: MSS'nin gelişmesinde primer veziküllerin alt bölümlere ayrılması, bunlardan oluşan kısımlar ve boşluklar (Dere F. Nöroanatomi Fonksiyonel Nöroloji Atlası ve Ders Kitabı. 3. baskı 2000).

Primer Bölümler	Primer Bölümler	Oluşan Kısımlar	Boşluklar
Prosensefalon	Telensefalon	Rinensefalon	Lateral ventrikül
		Korpus striatum	3. ventrikülün rostral kısmı
		Serebral korteks	
Mezensefalon	Diensefalon	Epitalamus	3. ventrikülün büyük kısmı
		Talamus	
		Hipotalamus	
Rombensefalon	Metensefalon	Kolikuli tegmentum Krus serebri	Akuaduktus serebri
	Myelensefalon	Serebellum pons	4. ventrikül
M. spinalis	M. spinalis	M. oblongata	Kanalis santralis

2.2. ANATOMİ

2.2.1. Beyin:

Beyin, kafatası kemikleri içinde bulunur. Erişkin beyni, vücut ağırlığının %2'sini oluşturur ve erişkin bir erkekte ortalama 1400 gr ağırlıktadır. Beyin

yarım küreleri (hemisferler), beyin sapı ve beyincik olmak üzere başlıca üç bölüme ayrılır.

Beyin yarım kürelerinin dışında gri cevher, korteks, bunun altında beyaz cevher bulunur. Yarım küreler frontal, parietal, oksipital, temporal olmak üzere dört lobtan oluşur. Beyin yarım kürelerinin beyaz cevheri içinde gömülmüş sert, büyük gri cevher kitlesi, bazal ganglionları (Nucleus caudatus, Nucleus lentiformis, Nucleus claustrum, Nucleus amygdale) oluşturur (17,18).

Beyin sapını, diensefalon, mesensefalon, metensefalon (pons) ve miyelensefalon (medulla, bulbus) oluşturur. Kafatasının arka çukurunun büyük bir bölümünü dolduran beyincik, pons ve medulla oblongata (bulbus) ile yakın komşuluk gösterir (17,18).

Merkezi sinir sisteminde ventrikül adı verilen boşluklar bulunur. Yan ventriküller iki tanedir ve beyin yarım küreleri içinde yer alır. Üçüncü ventrikül tektir, büyük bir bölümü diensefalonda yer alır. Dördüncü ventrikül de tektir, pons, bulbus ve beyinciğin arasında yer alır. Yan ventriküller arasında Sylvius kanalı, dördüncü ventrikülde Magendi ve Luschkae delikleri bulunur. Ventriküllerin duvarında, belirgin bölgelerde genişlemiş kapiller damar yumağı, koroid pleksus adını alır (17,18).

2.2.2. Beyin Damarları:

Arteriyel kanı, a. vertebralis ve a. karotis interna (ACİ)'dan alır. A. vertebralisler, foramen magnumdan kafatası içine girer ve ponsun alt kenarında birleşerek, a. basilarisi yapar. Ponsun üst bölümünde, a. serebri posterior ve a. superior serebelli olmak üzere iki dala ayrılır.

A. karotis interna, kanalis karotikustan kafatasına geçer. A. kommunikans posterior, a. koroidea anterior, a. serebri anterior ve serebri mediya dallarını verir.

A. basilaris ve a. karotis internanın dallarının birleşmesi ile yedi köşeli “Willis poligonu” (circulus anteriorus cerebri) oluşur. Willis poligonu, beynin iki yarım küresi arasında (ACİ sinistra ve dekstra) ayrıca ön ve arka bölümler arasındaki (ACİ–A. vertebralis) kan iletiminde ilişki sağlar (17,18).

2.2.3.Omurilik:

Kanalis vertebralis içinde yer alır. Atlas kemiğinin üst kenarından başlar, belirli bir sınır göstermeden medulla oblongata ile birleşir. Alt ucu, erkeklerde birinci ve ikinci lumbal vertebralar arasına, kadınlarda ikinci lumbal vertebranın ortasına kadar uzanır.

Ortalama 45 cm. uzunluktadır. Ortasında merkezi kanal (canalis centralis) yer alır. Omurilik arteriyel kanı, a. vertebralisler ve aortun segmental dallarından alır (18).

2.2.4. Beyin – omurilik zarları (Meninksler)

Beyin ve omuriliği örten zarlar, dıştan içe doğru üç tabakadan oluşur (17,18). Bunlar:

- a) Duramater: Fibröz zar biçiminde olan, beyin, kafatasından çıkarıldığında izlenen yapıdır. Duramater ile kemik periostu arasındaki boşluğa “epidural aralık” denir. Burada gevşek bağ dokusu, kan damarları ve ven pleksusları bulunur. Duramater ile araknoid zar arasındaki boşluğa da “subdural aralık” denir.
- b) Araknoid: Duramaterin iç yüzünü örter. Piamater ile araknoid arasındaki boşluğa “subaraknoid aralık” denir. Bu alanda beyin omurilik sıvısı (BOS) yer alır.
- c) Pia mater: Beyin ve omuriliğin dış yüzünü doğrudan ve sıkıca örten zardır.

2.2.5. Beyin – omurilik sıvısı (BOS)

Beyin-omurilik sıvısının çoğu, ventriküllerin duvarlarındaki koroid pleksus tarafından yapılır. Büyük bir bölümü yan ventriküllerde oluşur, buradan interventriküler delikten (Monro deliği) üçüncü ventriküle, oradan Sylvius kanalı ile dördüncü ventriküle, Magendi ve Luschkae delikleri ile subaraknoidal boşluğa geçer.

Subaraknoid boşluktaki araknoid villuslar tarafından geri emilir ve venöz kan akımına verilir. Günde ortalama 600–700 ml BOS yapılır. Ventriküller, spinal kanal ve subaraknoid boşlukta ortalama 135 cc (80–200 cc) hacminde, yapısında az miktarda protein, şeker, klorür ve çok az lenfosit bulunan bir sıvıdır. Yoğunluğu 1004 – 1007 dir (17,18).

2.3 HİSTOLOJİ

Sinir sistemi, beyin ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemi ile sinir lifleri ve gangliyonlardan oluşan periferik sinir sisteminden oluşur. Merkezi sinir sistemini oluşturan sinir dokusu, iki hücre tipi içerir. Bunlar, uzun sinir lifleri içeren nöronlar ile nöronları koruyan ve destekleyen, merkezi sinir sisteminin savunmasını sağlayan glial hücrelerdir. Glial hücrelerin sayısı nöronlardan 10 kat fazladır, nöronların hem gövdesini, hem de akson ve dendrit uzantılarını sarar (19-21).

Sinir dokusunun gerçek anlamda hücreler arası matriksi yoktur, bu nedenle göreceli olarak yumuşak ve jel kıvamındadır. Glia hücreleri, nöron etkinliği için gereken uygun mikroçevreyi sağlar. Farklı kökene, morfolojiye, fizyolojiye ve patolojiye sahip değişik glia hücreleri bulunmaktadır. Bu hücreler, astrosit, oligodendrosit, ependim hücresi ve mikroglıadan oluşmaktadır (19-22).

2.3.1. Astrositler:

Astrositler, nöroektodermal kökenli hücrelerdir. Yuvarlak ya da oval nükleuslu, nükleol içermeyen, 8–10 mikron boyutlarında, çok sayıda uzantıları nedeniyle yıldız şeklinde izlenen hücrelerdir (18). Bu yıldız şeklindeki uzantılar, metalik impregnasyon veya immünohistokimya ile görülür (20). Bu hücrelerin, yapılarını güçlendiren glial fibriler asit proteininden yapılmış ara filamanları bulunur. Astrositler, nöronları kapillerlere ve pia matere bağlar. Uzantıları az olan astrositlere “fibröz astrositler” denir ve bunlar beyaz cevher içinde yer alır, çok sayıda kısa uzantılara sahip olan protoplazmik astrositler ise gri cevher içinde yer almaktadır (18,20-22).

Astrositler, yapısal işlevlerine ek olarak nöronların iyonik ve kimyasal ortamını kontrol eder (19). Astrositlerin uzantıları, bir yandan kan damarlarının duvarına yapışırken, diğer yandan nöronlarla bağlantıları nedeniyle kan damarı ile nöron arasında madde alışverişi sağlanır. Protoplazmik ve fibriler astrositlerin uzantıları, damarların çevresinde sonlanarak “astrovasküler ağ” (perivasküler membran) adı verilen destek bir yapı oluşturur. Ayrıca damarlar çevresinde pia materin uzantısı bulunur. Pia materin uzantısı ve astrovasküler ağın damarlar çevresinde oluşturduğu destek yapı “pia-glial zar” olarak tanımlanır. Damar

adventisyası ile pia-glial zar arasında yer alan bu bölüm “Virchow-Robin aralığı” adını alır. Burası subaraknoid boşluğun devamıdır (18).

İncinmelerde ve beyin dokusu yıkıma uğradığında, astrositler hiperplazi ve hipertrofi göstererek uzantıları çoğalır. Sitoplazma eozinofilik bir görünüm alır, nükleus ekzantirik yerleşir ve gemistosite benzer. Fibriler uzantılar, giderek incinen alanı doldurur ve “glial skar” dokusu oluşur. Bu görünüm “gliozis” olarak tanımlanır (18,20-22). Yaşlılarda bazen, fibriler astrositlerin uzantılarında damar çevresinde, subpial ve subependimal alanda küresel, amorf, bazofilik yapılar bulunabilir. Bunlara “corpora amylacea” (beyin kumu) denir (18,20).

Rosenthal fibriler, ince, oval ve uzamış, yoğun eozinofilik cisimler görünümünü almış astrosit uzantılarıdır. Genellikle incinmelerde, glioziste, kraniofaringiom komşuluğundaki reaktif beyin dokusunda izlenir. Alexander hastalığında, lökodistrofilerde periventriküler, perivasküler ve subpial lokalizasyonda bol miktarda bulunur. Ayrıca pilositik astrositlerde de saptanır (18,20,21).

Alzheimer Tip-II astrositler, gri cevherde büyük nükleus, soluk boyanmış santral kromatin, intranükleer glikojen damlacıkları, belirgin nükleol ve nükleer membran içeren astrositlerdir. Alzheimer hastalığı ile ilişkisi yoktur. Kronik karaciğer hastalığında, Wilson hastalığında ve herediter metabolik bozukluklarda görülür (20,22).

2.3.2. Oligodendrositler:

Oligodendrositler, nöroektoderm kökenli hücrelerdir. Nükleusları astrositlerden daha küçük, daha koyu ve yuvarlaktır. Sitoplazmaları dar, uzantıları kısa ve azdır. Damarlar ile ilişkisi yoktur. Beyaz cevherde daha çok olmak üzere gri cevherde de bulunur. Miyelin kılıfı çevresi ve nöronların çevresi olmak üzere iki yerleşim yerleri vardır. Nöronların çevresinde yerleşenler, nöronal incinmelerle uyarılırlar. Bu durumda nöronların çevresindeki oligodendrositlerin sayısı artar. Bu olaya “satellitosis” denir. Miyelin kılıfı çevresinde yerleşenler, merkezi sinir sistemindeki nöronların elektriksel uyarı dağıtımını bağlayan miyelin kılıfını yaparlar. Bu hücrelerin, aksonların etrafına sarılan birkaç küçük uzantısı bulunmaktadır ve bu uzantılar miyelin kılıfı oluştururlar. Beyaz cevherde, miyelin kılıfına yakın yerleşirler (18-21).

Toksik ve metabolik değişikliklerde, oligodendrosit perikaryonu genişler, vakuolizasyon gösterir. Sitoplazmik membran sınırları belirginleşir ve perinükleer halo oluşur. Bu bulgu, sinir dokusundaki incinmenin ilk belirtisidir (18,21).

2.3.3. Ependim Hücreleri:

Nöro-ektodermal kökenlidir. Bu hücreler, merkezi sinir sistemindeki boşlukları döşeyen prizmatik silyalı epitel hücreleridir (19-22). İntrasitoplazmik silya uzantıları “blepharoplast” adını alır. Pleksus koroideus, ependim hücrelerinden oluşur. Görevi, beyin omurilik sıvısı (BOS) salgılamaktır. Bunlar özelleşmiş glialardır (18).

2.3.4. Mikroglia:

Mezodermal kökenlidir. Mikroglialar, kısa uzantılara sahip, uzamış, küçük hücrelerdir. Hematoksilen eozinle boyalı preparatlarda, diğer glia hücrelerinin küre şeklindeki nükleusların aksine yoğun ve uzun şekilli nükleuslarıyla ayrılırlar. Mikroglia, sinir dokusunda mononükleer fagositik sistem kapsamına giren fagositik hücrelerdir ve kemik iliğindeki öncül hücrelerden köken alır. MSS’de yangı ve onarımda görev alır ve nötral proteazlar ve oksidatif radikaller üreterek bunları salgılar (18-22). Yıkıma uğrayan doku çevresinde oluşturduğu topluluk “mikroglial nodül” adını alır. Nekroz ve nekrotik ölü nöronlar çevresinde yer alan mikroglia “nöronofaj” olarak adlandırılır (18,21). Aktif hale geçtiklerinde, mikroglia antijen sunan hücreler olarak davranırlar, bir dizi bağışıklığı düzenleyici sitokin salgılar ve MSS lezyonlarının yol açtığı hücrel artıkları uzaklaştırır (19-22).

2.4. BEYİN TÜMÖRLERİNİN İNSİDANSI:

Beyin tümörleri, tüm malign tümörlerin %2’den azını içerir. Çocukluk çağının en sık rastlanan ikinci malignitesini oluşturur. Erişkinlerde en sık altıncı malignite olarak karşımıza çıkmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde tüm kanser ölümlerinin %2’si primer beyin tümörlerinden kaynaklanmaktadır (3,23,24).

Son dönemlerde beyin tümörlerinin özellikle tanısında radyoloji alanında sağlanan gelişmeler, beyin tümörlerinin sıklığının artmasında önemli rol oynamıştır.

Aynı zamanda, cerrahi ve teknik gelişmeler de son dönemlerde primer beyin tümörlerinin giderek tedavi edilebilir ve önlenebilir olmasını sağlamaktadır (3,23).

2.5. BEYİN TÜMÖRLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

Merkezi sinir sistemi tümörlerinin belirgin çeşitlilik göstermesi nedeni ile herkes tarafından kabul görmüş bir sınıflama gerçekleştirmek zordur. Bugün için en sık kullanılan sistem 2000 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan 1993'deki Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasıdır (23,25). Bu sınıflama **Tablo 2.5.1**'de sunulmaktadır.

Tablo–2.5.1: DSÖ merkezi sinir sistemi tümörleri histolojik sınıflaması

MSS'NİN NÖROEPİTELYAL TÜMÖRLERİ

Astrositik tümörler

- Difüz Astrositom
 - Fibriler astrositom
 - Protoplazmik astrositom
 - Gemistositik astrositom
- Anaplastik astrositom
- Glioblastom multiforme
 - Dev hücreli glioblastom
 - Gliosarkom
- Pilositik astrositom
- Pleomorfik ksantoastrositom
- Subependimal dev hücreli astrositom

Oligodendroglial tümörler

- Oligodendrogliom
- Anaplastik oligodendrogliom

Mikst gliomlar

- Oligoastrositom
- Anaplastik oligoastrositom

Ependimal tümörler

- Ependimom
 - Selüler
 - Papiller
 - Berrak hücreli

Tannisitik

Anaplastik ependimom

Miksopapiller ependimom

Subependimom

Koroid pleksus tümörleri

Koroid pleksus papillomu

Koroid pleksus karsinomu

Orijini belirsiz glial tümörler

Astroblastom

Gliomatozis serebri

3. ventrikül koroid gliomu

Nöronal ve mikst nöroglial tümörler

Gangliositom

Serebellumun displastik gangliositomu

Desmoplastik infantil astrositom/gangliogliom

Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör

Gangliogliom

Anaplastik gangliogliom

Santral nörositom

Serebellar liponörositom

Filum terminalenin paragangliomu

Nöroblastik tümörler

Olfaktor nöroblastom (estesionöroblastom)

Olfaktor nöroepitelyoma

Adrenal gland ve sempatik sinir sistemi nöroblastomu

Pineal parankimal tümörler

Pineositom

Pineoblastom

Orta derecede diferansiyasyon gösteren pineal parankimal tümör

Embriyonal tümörler

Medulloepitelyom

Ependimoblastom

Medulloblastom

Desmoplastik medulloblastom

Büyük hücreli medulloblastom

Medullomyoblastom

Melanositik medulloblastom

Supratentoryel primitif nöroektodermal tümörler (PNET)

Nöroblastom
 Ganglionöroblastom
 Atipik teratoid / rabdoid tümör

PERİFERİK SINİR TÜMÖRLERİ

Schwannom

Nörilemmom, nörinom

Selüler
 Pleksiform
 Melanotik

Nörofibrom

Pleksiform

Perinörom

İntranöral perinörom
 Yumuşak doku perinöromu

Malign periferik sinir kılıfı tümörleri (MPNST)

Epiteliyoid
 Mezenkimal farklılaşma ve/veya epiteliyal diferansiyasyonlu MPNST
 Melanotik
 Melanotik psammomatöz

MENİNKSLERİN TÜMÖRLERİ

Meningotelyal hücre tümörleri

Meningiom	
Meningotelyal	Metaplastik
Fibroz (Fibroblastik)	Berrak hücreli
Transizyonel (Mikst)	Kordoid
Psammomatöz	Atipik
Anjiomatöz	Papiller
Sekretuar	Rabdoid
Lenfoplazmositten zengin	Anaplastik meningiom

Mezenkimal, meningotelyal hücre kökenli olmayan tümörler

Lipom	Kondrom
Anjiyolipom	Kondrosarkom
Hipernom	Osteom
Liposarkom (intrakranial)	Osteosarkom
Soliter fibröz tümör	Osteokondrom
Malign fibröz histiyositom	Hemangiom

Leiomyom	Epiteloid hemangioendotelyoma
Leiomyosarkom	Hemanjioperistom
Rabdomyom	Anjiosarkom
Rabdomyosarkom	Kaposi sarkomu

Primer melanositik lezyonlar

- Diffüz melanositozis
- Melanositom
- Malign melanom
- Meningial melanomatozis

Histogenezi belirsiz tümörler

- Hemanjioblastom

LENFOMA ve HEMATOPOİETİK NEOPLAZMLAR

- Malign lenfoma
- Plazmasitom
- Granülositik sarkom

GERM HÜCRELİ TÜMÖRLER

- Germinom
- Embriyonel karsinom
- Yolk salk tümörü
- Koryokarsinom
- Teratom
 - Matür
 - İmmatür
 - Malign transformasyonlu teratom
- Mikst germ hücreli tümör

SELLAR BÖLGE TÜMÖRLERİ

- Kraniofarinjiom
 - Adamantinomatöz
 - Papiller
- Granüler hücreli tümör

METASTATİK TÜMÖRLER

2.6. EPİDEMİYOLOJİ

Merkezi sinir sistemi tümörleri, yeni tanı konulan tüm malignitelerin %2'sini oluştururken çocukluk çağı malignitelerinin %20'sini oluşturur (1,26). Merkezi sinir sistemi tümörleri içinde, ilk 15 yaşındaki primer tümörlerin %40-45'i, erişkin yaş grubunda ise %50-60'ı astrosit kökenli tümörlerdir (3). Hemen tüm yaş gruplarında, erkeklerde kadınlara göre hafif bir fazlalık saptanmaktadır. İnsidans çalışmaları, yıllar içinde merkezi sinir sistemi tümörlerinin sıklığında hafif bir artış olduğunu göstermektedir (3,24,26).

Merkezi sinir sistemi tümörleri yaş, cins ve zaman içinde insidans oranlarında değişiklik göstermekle birlikte, ülkeler arasında da farklılık göstermektedir. Genetik ve çevresel etkenlerin önemli rol oynadığını gösteren kanıtlardan biri, teknolojik olarak gelişmiş bir ülke olan Japonya'da, Amerika Birleşik Devletlerinden yaklaşık 3 kez daha az primer beyin tümörü saptanmasıdır. Aynı zamanda tüm Asya'da da MSS tümörü sıklığı azdır. Yine aynı ülkede yaşayan beyaz ırkta MSS tümörü sıklığı, siyah ırka göre belirgin olarak daha fazladır (3).

Genetik ve ailevi yatkınlık, MSS tümörlerinde en sık fakomatozlarla birliktelik gösterir. Nörofibromatozis tip 1'li hastalarda optik gliom ve meningiom, tüberoz sklerozlu hastalarda ependimom ve astrositom, von-Hippel-Lindau hastalığı olanlarda hemanjioblastom, feokromositoma ve retinal tümör gelişmesinin daha sık olduğu bilinmektedir. Kanserli aile sendromu olarak bilinen Li-Fraumeni sendromunda da beyin tümörleri sık görülmektedir. Ayrıca organ tranplantasyonu olup immüneyi baskılayıcı tedavi alan kişilerde MSS tümörleri için artmış risk vardır. Benzer şekilde endojen immünsüpresyonun olduğu Wiskott-Aldrich sendromu ve Ataksi-telenjektazi, lenfomalar ve sporadik olarak MSS tümörleri ile ilişkilidir (26,27).

Çevresel faktörler ile MSS tümörleri sıklığı arasında ilişki olduğunu belirten yayınlar vardır. Çevresel faktörler içinde en iyi ortaya koyulan faktör radyasyondur. In utero dönemde, çocukluk çağında ya da erişkin çağda radyasyon tedavisi veya tanılal amaç ile maruz kalma, artmış MSS tümörleri sıklığı ile birliktedir. Daha önceki tümörü nedeniyle kraniyal radyoterapi almış çocuklarda, 2-24 yıl sonra ikincil MSS tümörü geliştiği bildirilmiştir. Bazı organik bileşimler (çoğunlukla nitrozaminler, nitrozürelere, hidrazinler, polisiklik hidrokarbonlar) deney

hayvanlarında MSS kanserojenleridir ve in utero veya doğumdan sonra bu tür maddelerle maruz kalanlarda MSS tümörleri sık görülmektedir (3,26-28).

2.7. KLİNİK

Astrositik tümörlerde de diğer intraserebral yer kaplayıcı lezyonlarda olduğu gibi klinik tablo ve başvuru yakınmaları, histolojik tipten daha çok tümörün yerleşimi ile ilişkilidir. En sık rastlanılan semptomlar, klasik intrakraniyal basınç artışı (baş ağrısı, kusma, bilinç bozuklukları, 3. ve 6. sinir tutulumları) semptomlarıdır. Yerleşim yerine göre nörolojik kayıplar meydana gelmektedir. İrritatif etkiye bağlı olarak epileptik bulgular, frontal ve temporal yerleşimli tümörlerde siktir. Klasik olarak, başağrısı, epileptik nöbet ve hemiparazi triadı olguların yarısından fazlasında saptanır. Olguların büyük çoğunluğunda ilk klinik yakınma ile hekime başvuru arası süre 1 ay ile 1 yıl arasında değişmektedir (3,26-29).

2.8. PATOLOJİ

Astrositik tümörlerde, patolojik bulgular ile prognoz arasında ilişki kurma çalışmaları eskidir. 1949'da Kernohan, astrositomların derecelendirilmesi ile ilgili çalışmasını yayınlamıştır (30). Bu derecelendirmede tümör, artan anaplazi ve azalan farklılaşmayı içerecek şekilde düşük dereceli (I-II) ve yüksek dereceli (III-IV) astrositomlar olmak üzere, iki gruba ayrılmıştır. Ancak II. ve III. dereceler arasındaki ayırimda belirsizlikler vardır. Bu nedenler ile Ringertz 1950'de 3 dereceli bir sistem ortaya koymuştur (31).

Değişik merkezlerde saptanan ortak kriterlere göre derecelendirme yapılması ve hastanın tedavisinin buna göre planlanarak prognozunun belirlenmesi önemlidir. Derecelendirmenin sağlıklı olabilmesi için kesin patolojik kriterler ortaya konmalı ve buna göre karşılaştırmalı değerlendirmeler yapılmalıdır. Bu amaçla 1980'lerde Doumas ve Duport şimdi St. Anne/Mayo diye anılan, hücre morfolojik özelliklerine (pleomorfizm, mitoz, vasküler endotelyal proliferasyon (VEP) ve nekroz) dayanan 4 basamaklı derecelendirme sistemini ileri sürmüştür (32). Bu sisteme göre, özelliklerden hiçbiri görülmediğinde grade I, bir özellik varsa grade II, iki özellik

varsa grade III, üç veya dört özellik bulunuyorsa grade IV olarak değerlendirilmektedir. Bu sınıflama **Tablo 2.8.1**'de sunulmaktadır.

Tablo-2.8.1: Astrositik tümörlerde St. Anne/Mayo sınıflaması

Astrositom, grade I	özellik yok
Astrositom grade II	bir özellik var (sıklıkla pleomorfizm)
Astrositom grade III	iki özellik var (sıklıkla pleomorfizm ve mitoz)
Astrositom grade IV	üç ya da dört özellik var (pleomorfizm + mitoz + VEP ve/veya nekroz)

DSÖ 1993 yılında astrositik tümörleri histolojik veriler (pleomorfizm, mitoz, VEP, nekroz) kadar yaşam süresi verilerine de dayanarak benignden maligne doğru grade I-IV olarak sınıflamıştır. Bu sistem pilositik astrositomu içeren grade I tümörler dışında büyük bir ölçüde St. Anne/Mayo sistemine benzer.

DSÖ'ye göre astrositik tümörler;

a) Grade I astrositik tümör: Pilositik astrositom ve subependimal dev hücreli astrositom

b) Grade II astrositik tümör: (Düşük dereceli) Astrositom (pleomorfizm ve yok/veya nadiren mitoz)

c) Grade III astrositik tümör: Anaplastik astrositom (pleomorfizm ve belirgin mitoz)

d) Grade IV astrositik tümör: Glioblastom multiforme (pleomorfizm + mitoz + VEP ve /veya nekroz)

Bugün için en sık kullanılan sistem ise 2000 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan 1993'deki DSÖ sınıflandırmasıdır. Bu sınıflama, astrositik tümörleri büyüme paternlerine göre iki ana gruba ayırır. Birinci grup, histolojik grade bakılmaksızın komşu beyin dokusuna makroskopik görünenin ötesinde difüz infiltrasyon kapasitesi gösteren, difüz infiltran astrositik tümörlerdir. Belirgin oranda da anaplastik progresyon gösterirler. İkinci grup, daha iyi sınırlı, malign potansiyeli azalmış, komşu beyin dokusuna genellikle sınırlı infiltrasyon

gösteren, spesifik subtipleri içeren astrositik tümörleridir (33,34,35). Bu sınıflama **Tablo 2.8.2'**de sunulmaktadır.

Tablo-2.8.2: DSÖ Astrositik tümör sınıflaması

Difüz infiltran astrositik tümörler	Grade
<i>Astrositom</i>	II
<i>Anaplastik astrositom</i>	III
<i>Glioblastoma multiforme</i>	IV
Daha iyi sınırlı, astrositomların özel varyantları	
<i>Pilositik astrositom</i>	I
<i>Pleomorfik ksantoastrositom</i>	II
<i>Subependimal dev hücreli astrositom</i>	I

2.8.1. Pilositik Astrositom (DSÖ Grade I)

Yavaş büyüyen, iyi sınırlı, düşük dereceli glial tümördür. Tüm intrakraniyal glial tümörler içinde %4–5 oranında saptanır. Çocukluk çağı beyin tümörleri içinde ise %15'lik bir kısmını oluşturur. Sıklıkla 20 yaş altında görülür, nadiren 50 yaş üstünde de bildirilmiştir. Tüm nöroaksis boyunca gelişebilir (24,28,36,37).

Klinik semptomlar, diğer glial tümörlerden farklılık göstermez. Nörofibromatozis tip 1 (NF1), özellikle bilateral optik sinir yerleşimli pilositik astrositom gelişme riskini artırır. İntraorbital optik sinirde gelişenlerde görme kaybı, proptozis gelişir. BOS akışının engellenmesi sonucu hidrosefali olabilir. Serebral hemisferlerde kitle etkisi ve ataklar oluşturabilir. Tanı öncesi klinik semptomların ortalama süresi 1 yıl civarındadır (24,27,28,37).

Görüntüleme yöntemlerinde iyi sınırlı, oval veya yuvarlak şekilli tümörlerdir. Bilgisayarlı tomografide (BT) hipodens veya izodens, yoğun kontrast tutumu gösterir. Sıklıkla serebellar, spinal kord ve serebral hemisferde yerleşen olgular kistiktir. Kistler tek veya masif olabilir. Tümör kist duvarında mural nodül şeklinde bulunabilir. Nadiren kalsifikasyon görülebilir. Manyetik rezonans (MR) incelemede tipik olarak iyi sınırlı, çevre dokuya invazyon göstermeyen, T1'de hipointens, T2'de ise hiperintens lezyonlar olarak görünür (3,24,27,28,37).

Pilositik astrositom makroskopik olarak, yumuşak, gri renkte ve kistiktir. Uzun süreli olgularda kalsiyum ve hemosiderin birikimi görülebilir. Mikroskopik olarak bu tümörler, bifazik büyüme paterni gösterirler. Yoğun, bipolar hücrelerin ve Rosenthal fibrillerin bulunduğu kompakt alanlar ve mikrokistik olup eozinofilik granüler cisimciklerin olduğu daha gevşek alanlar bir arada bulunur. Rosenthal fibriller ve mikrokistikler karakteristiktir. Mitoz, hiperkromatik nükleus, mikrovasküler proliferasyon ve meninkslerin infiltrasyonu görülebilir. Ancak bunlar tek başına malignite kriteri değildir (20,24,33-38).

Pilositik astrositomlarda tanımlanan histopatolojik tipleri şunlardır:

- 1) Difüz pilositik astrositom
- 2) Anaplastik pilositik astrositom
- 3) Pilomiksoid astrositom

Difüz pilositik astrositomun histolojik olarak farkı, Rosenthal fibrillerin difüz olarak dağılımıdır. Yapılan çalışmalarda serebellumda yerleşmiş difüz pilositik astrositomun prognozunun çok iyi olması nedeniyle pilositik astrositomun spekturumunda yer aldığı düşünülmektedir (37).

Pilositik astrositomlarda anaplastik değişiklikler nadirdir. Anaplastik değişiklikler ve davranış arasında ilişki bulunmamıştır. Anaplastik pilositik astrositom, daha önce var olan pilositik astrositomda, mitotik olarak aktif küçük hücre komponenti, nekroz ve vasküler proliferasyon bulunması ile tanımlanır. Bu tümörler glioblastomaya ilerleyebilir. Bazı pilositik astrositomlarda radyoterapi sonrasında anaplastik değişiklikler saptanır (37).

Pilomiksoid astrositom, son yıllarda tanımlanmıştır. Supratentoriyal yerleşimlidir. Ortalama görüldüğü yaş 10 aydır. Histolojik olarak, gevşek fibriler miksoid bir zeminde küçük, iğsi bipolar hücreler olarak görülür. Klasik bifazik patern görülmez. Rosenthal fibriller yoktur ve eozinofilik cisimcikler nadiren bulunur. Belirgin anjiosentrik patern ve vasküler proliferasyon vardır. Mitoz ve nekroz görülebilir. Klasik pilositik astrositoma kıyasla daha çok nüks görülür (37,38). Pilositik astrosititomlarda kitle total çıkarılırsa, 5 yıllık yaşam %100'e kadar ulaşır (37).

2.8.2. Difüz Astrositom (DSÖ Grade II)

Difüz astrositom terimi, erişkinlerin düşük dereceli (DSÖ grade II) difüz astrositomlarını belirtir. DSÖ sınıflandırılmalarında daha önceleri “astrositom” terimi kullanılırdı. Difüz astrositomlar, hücrel diferansiyasyon, yavaş büyüme ve çevre beyin parenkiminin diffüz infiltrasyonu ile karakterizedir. Anaplastik astrositoma ve glioblastoma multiformeye kadar ilerlemeye yatkınlıkları vardır (24,36,39).

Difüz astrositomlar, tüm astrositik beyin tümörlerinin %10–15’ini oluşturur. Genellikle daha genç yaşları etkiler ve hastaların yaşları ortalama 35’dir. Erkek/kadın oranı: 1.18/1 dir (24,39).

Difüz astrositomlar, MSS’nin herhangi bir bölgesinde yerleşim gösterebilir. Ancak, hem çocuklarda hem de erişkinlerde en sık serebrumda supratentorial olarak yerleşir. Frontal ve temporal loblar sık tutulur. Beyin sapı ve spinal kord diğer en sık etkilenen alanlardır. Serebellum yerleşimi nadirdir (20,24,27,28,36,38,39).

Erken dönemde konuşma, duygulanım bozukluğu, görme bozukluğu, ya da bazı motor değişiklikler görülebilmeye rağmen nöbetler tümörün en yaygın belirtisidir. Bulgular, tanıdan önceki aylarda görülebileceği gibi, başlangıç oldukça ani de olabilir. Bilgisayarlı tomografide karakteristik olarak iyi sınırlı, kontrast tutmayan, etrafında az miktarda ödem alanı bulunan, düşük dansiteli homojen kitleler olarak görülür. Kistik değişiklikler olabilir. Manyetik rezonans incelemede ise, T2 ağırlıklı görüntülerde hiperintensite, T1’ de ise hipointens alanlar olarak görünür (24,27,38,39).

İnfiltratif yapı nedeniyle, genellikle makroskopik sınırlar belirsiz, sarı-beyaz, homojen kitle şeklindedir. Tutulan anatomik yapılarda genişleme ve şekil bozukluğu vardır, fakat destrüksiyon yoktur. Makroskopik morfolojileri, tümör tipine göre değişiklik göstermektedir. Protoplazmik tipte, tümör süperfisyel gri cevherde kortikal genişleme alanı olarak gözlenirken, tümör sınırları net olarak izlenemez. Kist formasyonu ise sıktır. Yumuşak ve homojen bir tümördür. Fibriler tümörler ise daha sert lastik kıvamındadır. Kalsifikasyon fokal ya da diffüz kum taşı şeklinde izlenebilir (20,27,35,36,38,39).

Difüz astrositomlarda tanımlanan histopatolojik tipler şunlardır:

- 1) Fibriler astrositom
- 2) Gemistositik astrositom
- 3) Protoplazmik astrositom

Grade II tümör içinde, her üç hücre tipi de belli oranlar içinde bulunurken, önde gelen hücre tipine göre o tümör sınıflandırılır. Bunların içinde en sık görülen, fibriler astrositomlardır. Gemistositik astrositom grade II astrositik tümörlerin %20'sini oluşturur, sıklık açısından ikinci sıradadır, prognozu diğerlerine göre daha kötüdür. Protoplazmik astrositom ise oldukça nadir olup grade II astrositik tümörlerin %1 ini oluşturur (22,36,38,39).

Difüz astrositomlar, gevşek olarak yapılanmış, sıklıkla mikrokistik tümör matrisinde, iyi diferansiye fibriler ya da gemistositik neoplastik astrositlerden oluşur. Selülerite orta derecede artmıştır. Seyrek nükleer atipi, tipik özelliktir. Mitotik aktivite genel olarak yoktur. Tek bir mitoz anaplastik astrositom tanısına izin vermez. Nekroz ya da mikrovasküler proliferasyon olması difüz astrositom tanısı ile uyumsuz. Neoplastik astrositlerin fenotipi, boyut, alan, hücre uzantılarındaki değişiklikler ve sitoplazmik glial filamentlerin miktarına bağlı olarak değişik olabilir. Patern, tümörün farklı bölgelerinde belirgin olarak değişik olabilir (20,22,33-36,38,39).

Neoplastik astrositlerin, hemotoksilen-eozin (H&E) ile boyalı kesitlerde histolojik olarak tanımlanması, esas olarak nükleer özelliklere dayanır. Nükleus tipik olarak veziküledir. Oval, uzamış, incelmış olarak izlenir. Enine kesitlerde yuvarlak görülür. Orta yoğunlukta kromatin kitlesi ve sıklıkla belirgin nükleolusları vardır. Sitoplazma zor seçilir. Müsinöz materyal içeren mikrokistler karakteristik yapılardır. Selüler lezyonlarda neoplastik hücre uzantıları gevşek fibriler matris oluşturur. Fibriler astrositomlar, değişen miktarda gliofibriler matris içerir. Gemistositik astrositomlar, parlak eozinofilik sitoplazma ve kaba, rastgele dağılmış fibriler uzantılara sahiptir. Nükleus genellikle eksantiriktir, küçük nükleolusu vardır. Protoplazmik astrositomlarda zayıf fibriler matris mevcut olup hücreler yıldızsı şekillidir, mikrokistler örümcek ağı görünümü verir. Tümörler arasında ve aynı lezyon içinde histolojik değişiklikler olabilir. Ancak belirgin bir ayırım her zaman mümkün değildir (2,20,22,35,36,38,39).

Difüz astrositomlarda, neoplastik astrositleri, normal ya da reaktif hücrelerden ayırmak güçtür. Sayıca ve genellikle boyutlarında büyüme, monoton morfoloji, hafif derecede anaplazi tanıda yardımcıdır. Mikrokistik değişiklik bulunabilir (36,39).

Tüm difüz astrositomların anaplastik astrositomaya progresyon riski mevcuttur. Özellikle fibriler astrositik tümörlerde bu oran %80'e kadar çıkmaktadır. Ancak bu diferansiyasyon farklılığının ne kadar bir latent periyoddan sonra geliştiği konusu tartışmalıdır (2,20,22,35,36,38,39).

Düşük derece glial tümörlerde iyi prognozu belirleyen özellikler, genç yaş, total rezeksiyon, Karnofsky performans skalasının yüksek olması, BT ve MR'da kontrast tutulması, operasyon öncesi semptomların uzun olmasıdır. Düşük derece glial tümörlerde ortalama yaşam süresi 7.5 yıl kadar olup, beklenen 5 yıllık yaşam süresi %60, 10 yıllık yaşam süresi ise %40 dolayındadır (3,22,27,38,39).

2.8.3. Anaplastik Astrositom (DSÖ Grade III)

Anaplastik astrositom için kullanılan diğer terimler, malign astrositom ve astrositom DSÖ grade III' dür (36).

Anaplastik astrositom, fokal ya da dağınık anaplazi ile birlikte difüz infiltran astrositom ve belirgin proliferatif aktivite içeren heterojen bir tümör grubudur. Anaplastik astrositom, de novo gelişebildiği gibi sıklıkla düşük dereceli astrositomlardan da gelişir. Difüz astrositomların tüm tiplerinde, anaplastik değişim eğilimi bulunur (20,22,33,34,35,36,38,39).

Görülme yaşı, ortalama 41 olup, düşük dereceli astrositomlardan daha yüksek ancak glioblastom multiforme olan hastalardan anlamlı olarak daha düşüktür. Anaplastik astrositomun erkek/kadın oranı 1.8/1'dir. Sıklıkla serebral hemisifer yerleşimlidir (27,39).

Semptomlar DSÖ grade II astrositoma benzer. Klinik olarak en sık rastlanan bulgu klasik intrakraniyal basınç artışı semptomlarıdır (başağrısı, kusma, bilinç bozuklukları, 3. ve 6. sinir tutulumları). Yerleşim bölgesine bağlı olarak nörolojik kayıplar meydana gelmektedir. Epileptik bulguların ortaya çıkması, frontal ve temporal yerleşimli tümörlerde siktir. Nadiren inmeye benzer şekilde ani başlangıçlı

olarak ortaya çıkabilmektedir. Olguların büyük çoğunluğunda ilk klinik yakınma ile hekime başvuru arası süre 1 ay ile 1 yıl arasında değişmektedir (22,27,39).

Anaplastik astrositom, radyolojik olarak düşük dansiteli iyi sınırlı kitleye neden olur. Difüz astrositomdan farklı olarak, sınırlı kontrastlanma sıklıkla gözlenir bununla birlikte glioblastom multiformenin tipik kontrastlanması yoktur. Daha hızlı tümör büyümesi ile birlikte perifokal ödem gelişimi, kitlesel yer değişimine yol açabilir, intrakranial basınç artımına neden olabilir (27,28,38,39).

Anaplastik ve diffüz astrositomu makroskopik olarak ayırmak sıklıkla mümkün değildir. Anaplastik astrositom difüz astrositoma göre daha selüler olduğu için kesit yüzeyinde daha kolay fark edilen tümör kitlesi oluşturur. Belirgin doku yıkımı olmaksızın infiltrasyon yapma eğilimi vardır. Makroskopik kistler nadirdir, fakat sık olarak granüler, opak ve daha yumuşak kıvamlı alanları vardır (2,20,24,35,36,38,39).

Anaplastik astrositom histopatolojik olarak, artmış selülerite, belirgin atipi ve göze çarpan mitotik aktivite içerir. Önemli tanısal kriteri, bölgesel ya da difüz hiperselüleritedir. Nükleer şekil ve boyut farkında artış, kaba dağılık kromatin, nükleol belirginliği, anormal mitozlar tanıda önemlidir. Kapillerler tek sıralı endotel hücreleriyle döşelidir. Mikrovasküler proliferasyon (VEP) ve nekroz yoktur. Seyrek olarak vasküler endotelyal growth faktör (VEGF) salınımı ve yeni başlamış mikrovasküler proliferasyon bölgesel olarak gözlenebilir. Mikrovasküler proliferasyon ve nekrotik odakların bulunması glioblastoma multiformeye ilerlemeyi yansıtır, anaplastik astrositom tanısıyla bağdaşmaz (20,24,35,36,38,39).

2.8.4. Glioblastoma Multiforme (DSÖ Grade IV)

Az diferansiye astrositlerden oluşan en malign ve en sık görülen beyin tümörüdür. Yaklaşık olarak tüm intrakraniyal tümörlerin %12-15'ini ve astrositik tümörlerin %50-60'ını oluşturur. Herhangi bir yaşta görülebilir de sıklıkla 45 ve 70 yaşları arasında saptanır. Erkeklerde daha sık görülür (24,36,39).

Düşük dereceli astrositom ya da anaplastik astrositomlardan gelişen tümörlere "sekonder glioblastom", öncü bir lezyon olmaksızın kısa bir klinik öyküyü takiben gelişen tümörlere ise "primer glioblastom" denir (2,20,24,33,35,36,38,39).

Sıklıkla serebral hemisferlerin derin beyaz cevherine yerleşir. Kombine fronto-temporal lokalizasyon tipiktir. Tümör sıklıkla komşu korteks, bazal ganglionlar ve korpus kallosum boyunca karşı taraf hemisfere infiltrasyon gösterir. Genellikle dağınık ve derin yerleşimleri nedeniyle birden fazla fonksiyonel beyin bölgesini tutar. Bu nedenle tümörü cerrahi olarak çıkarmak zorlaşır. Glioblastomların yaklaşık %10'u derin yerleşimli değildir, beyaz-gri cevher sınırına yerleşerek metastazlara benzeyen lezyon oluşturur (2,20,24,33,35,36,38-40).

Primer glioblastom olgularında klinik bulgular 3 aydan kısadır. Hastalarda sıklıkla nonspesifik nörolojik semptomlarla birlikte epileptik nöbet sonrası baş ağrısı ve kişilik değişikliği bulunur. Ancak hızlı intrakranial basınç artışı bulguları da saptanabilir (24,29,39).

BT'de glioblastoma tipik olarak, merkezinde nekroz alanını gösteren hipodens bir alan ve etrafında kalın kontrast tutulumu ile karakterli düzensiz periferik lezyonlar olarak görülür. MR incelemesinde ise T1 ağırlıklı kesitlerde karakteristik olarak düşük sinyal intensitesi, T2 ağırlıklı kesitlerde ise yüksek sinyal intensitesi gözlenir (28,29,35,38-40).

Glioblastomlar makroskopik olarak kötü sınırlıdır. Kesit yüzeyi çeşitli renktedir. Eski ve yeni kanama alanları, merkezindeki nekroz total tümör kitlesinin %80 kadarını oluşturabilir. Makroskopik kistler bulunduğu zaman, likefaksiyon gösteren nekrotik tümör dokusunu yansıtan sıvı içerir. Lezyon genellikle unilateraldir. Ancak beyin sapı ve korpus kallosum tutulumunda bilateral-simetrik olarak kelebek görünümü saptanır (2,20,24,33,35,36,38,39).

Glioblastoma multiforme (GM) terimi bu tümörün çeşitliliğini ifade eder. Tümörde, hücre morfolojisinde ileri derecede değişkenlik izlenir. Bazı lezyonlarda çok sayıda multinükleuslu dev hücreler ile nükleer pleomorfizm ve hiperselülarite izlenirken, bazıları hiperselüler fakat oldukça monotondur. Hücreler belirgin nükleer atipi içerir. Az diferansiye alanlarda iğsi veya yuvarlak pleomorfik hücreler hakim olabilir, daha diferansiye neoplastik astrositler fokal olarak fark edilebilir. Tümörde diferansiyasyon alanları arasındaki geçiş tanınabilir (20,24,35,36,38,39).

Multinükleer dev hücrelerin bulunması glioblastom için tipiktir. Malign görülmelerine rağmen bu hücreler regresif değişiklik tipi olarak kabul edilir. Değişik yoğunlukta gemistositler ve fibriler astrositler vardır. Perivasküler lenfositler sıklıkla

gemistositik bölgelerde bulunur. Tümör hücrelerinde sitoplazmik lipidizasyon saptanabilir. Seyrek olarak adenomatöz ve skuamöz epiteliyal metaplazi odakları görülebilir (24,35,36,38,39).

Glioblastomda tanı, tipik olarak ana hücre tipinin belirlenmesinden çok doku paternine bağlıdır. Oldukça anaplastik glial hücrelerin, mitotik aktivitenin, mikrovasküler proliferasyonun, mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekrozun varlığı gereklidir (20,24,28,29,33-36,38-40).

Vasküler endotelyal proliferasyon olarak tanımlanan mikrovasküler proliferasyonlar, tipik olarak çok tabakalı, mitotik olarak aktif, endoteliyal hücreler, düz kas hücreleri ve perisitler ile birlikte bulunur. Mikroskopik olarak glomeruloid yumaklar şeklinde görülmesi tipiktir. Sıklıkla nekrozun çevresinde izlenir. Total tümör kitlesinin %80'inden fazlasını nekroz oluşturur. Geniş iskemik nekroz alanlarına eşlik eden tromboze damarlar, nekroz çevresinde komşu tümör hücrelerinin çit biçiminde (palizatik) dizilim sonucu oluşturdukları coğrafik nekroz alanları görülebilir (24,35,36,38,39).

Glioblastomun tanımlanan histolojik tipleri:

- 1) Dev hücreli glioblastom
- 2) Gliosarkomdur.

Dev hücreli glioblastom, gliomların %5 kadarını oluşturur. Yaş dağılımı daha geniş bir yelpazeyi kapsar, çocukları da içine alır. Kısa bir klinik hikayeyi takiben de novo gelişir. Çok sayıda dev hücreler, küçük işsi sinsityal hücreler ve artmış retikülün çatı ile birlikte olan bir glioblastomdur. Hem psödopalizatik hem de geniş iskemik nekroz alanları, atipik mitozlar içerir. Çoğu dev hücreli glioblastom kötü prognoza sahiptir. Ancak bazı yayınlarda klinik gidişin klasik glioblastomdan daha iyi olduğu bildirilmiştir (24,36,39).

Gliosarkom, glioblastomların yaklaşık %2'sini oluşturur. Erkeklerde daha siktir ve ortalama görülme yaşı 53'tür. Genellikle serebral yerleşimlidir. Azalan sıklıkla frontal, parietal, oksipital loblar tutulur. Glial ve mezenkimal diferansiyasyon sergileyen bifazik doku paterni ile karakterize bir glioblastom tipidir. Glial bölüm çeşitli derecede anaplazi ve GFAP ekspresyonu ile tipik glioblastom görünümü gösterir. Sarkomatöz alanlar, sıklıkla işsi hücrelerin gruplanmış uzun demetleri ile fibrosarkomun tipik balıksırtı paternini gösterir. Kıkırdak, kemik, osteoid-kondral

doku, düz ve çizgili kas gibi mezenkimal diferansiyasyon alanları görülebilir (24,35,36,38,39).

2.9. GLİAL TÜMÖRLERİN MOLEKÜLER PATOGENEZİ

Moleküler çalışmalar, gliomların patogenezinde ve yeni fenotipik hücrelerin oluşumundaki sorumlu mekanizmaların açıklanmasında yardımcı olmaktadır. Gliom patogenezinde rol alan mekanizmalardan biri, onkogenlerin aşırı ekspresyonu, diğeri tümör baskılayıcı genlerin kaybı, mutasyonu veya metilasyonudur (36,38,41,42). Karyototipik çalışmalar, glial tümörlerde kromozomal anormalliklerin çok sık olduğunu göstermiştir. GM'de en sık kromozom 10 (%60), 19 ve 22 üzerinde heterozigotluğun kaybı, kromozom 7 artışı saptanmıştır. Translokasyon ve delesyon gibi yapısal anormallikler kromozom 1p, 1q, 6q, 7p, 7q, 9p, 10p, 10q, 17q, 19q, 22q'da tanımlanmıştır (20,24,34,36,38,41,42).

Normal büyümeyi sağlayan genlere proto-onkogen denilmektedir. Proto-onkogenlerin aşırı ekspresyonu veya mutasyonu sonucu onkogenler oluşur. Onkogenlerin kodladığı proteinler anormal aktiviteye sahiptir. Gliom patogenezinde sorumlu olan "platelet-derived growth factor" (PDGF) ve reseptörleri (PDGFR), "epidermal growth factor" (EGF) ve reseptörleri (EGFR), "cyclin dependent kinase-4" (CDK4), MDM-2 ve Ras en sık karşılaşılan onkogenlerdir. Malign dönüşümden sorumlu tutulan tümör baskılayıcı genler ise p53, retinoblastom (Rb), p16, p15 ve PTEN'dir. Bir tümör baskılayıcı genin bir allelinin mutasyonu varken diğeri normal olan allelinin de mutasyona uğraması veya kaybına, heterozigotluğun kaybı (LOH: loss of heterozygosity) denir (20,24,27-29,36,38,41,42).

PDGF, bağ dokusu ve glia için major mitojendir. A ve B zincirlerinden oluşur. PDGF-A kromozom 7, PDGF-B ise kromozom 22'de lokalize "cis" geni tarafından kodlanmaktadır. Düşük dereceli astrositomlarda "in situ hibridizasyon" çalışmaları ile kromozom 7'deki trizomi/polizominin, %66 düzeyinde olduğu rapor edilmiştir. Tirozin kinaz reseptör ailesine bağlı olan PDGFR α ve β olmak üzere iki yapıda bulunmaktadır. PDGF'lerin bu reseptörlere bağlanması, otokrin stimülasyon halkasını başlatarak, astrositlerden düşük dereceli astrositom gelişmesine neden olmaktadır. PDGFR- α 'nın amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu, sekonder glioblastom oluşumu için tipiktir (39,41,42).

Normal hücre proliferasyonu, 4. kromozomda lokalize EGF ve 7q12 kromozomda lokalize EGFR genlerinin kontrolü altındadır. Tirozin kinaz aktivitesi gösteren EGFR'nin aktivasyonu, mitoz ve hücre migrasyonunu içeren hücrel aktivitenin artışıyla sonuçlanır. EGFR geninin aşırı ekspresyonu ve 10. kromozomda olan kayıplar, de novo olarak glial hücrelerden malign transformasyonla malign glioma gelişimine neden olabilmektedir. EGFR geninin aşırı ekspresyonu, düşük dereceli astrositomların %1'inde, anaplastik astrositomların yaklaşık %10'unda, primer glioblastomların %60'ından fazlasında ve sekonder glioblastomların %10'unda immünohistokimyasal olarak saptanmıştır (39,41-43).

Hücre siklusunu düzenleyen önemli mekanizmalardan biri siklinler, CDK'lar ve onların inhibitörleridir. CDK'ların aktivasyonu DNA replikasyonuna ve mitoze neden olur. CDK'lar siklin ile aktive olur ve p15, p16, p21, p27 proteinleriyle inhibe olur. (43). CDK4'ün Rb proteininde fosforilasyon yapma durumuna göre, hücrenin G1 fazından S fazına geçişi düzenlemektedir. Astrositomun, anaplastik astrositom ve/veya sekonder glioblastom multiformeye transformasyonunda; CDK4-Rb yolunda hücre siklusunu kontrol eden genlerin LOH veya mutasyonu anaplastik astrositom ve glioblastoma multiformede, düşük dereceli gliomlara göre daha fazla bulunmuştur. Kromozom 9p, p16 ve p15 proteinlerini kodlayan "cyclin-dependent kinase inhibitör 2A" (CDKN2A) ve "cyclin-dependent kinase inhibitör 2B" (CDKN2B) genlerini içermektedir. P16 hücre siklusunu CDK4 ve CDK6'yı inhibe ederek kontrol eder. P16 proteinlerinin yokluğu veya mutant olması, CDK'ların aşırı ekspresyon ve amplifikasyonuna veya Rb ve p53'ün fonksiyon kaybına neden olur ve hücre siklusunun kontrolü bozulur. Sonuçta hücrenin aşırı proliferasyonu meydana gelir. Ayrıca 9. kromozomun p kolu, CDKN2A ile CDKN2B arasındaki bölgede P14^{ARF} geni içermektedir. Bu genin homozigot delesyonu P14^{ARF}'ün yokluğu ile sonuçlanır. P14^{ARF} nin kodladığı protein (p14^{ARF}), MDM2 proteinlerini kontrol ederek p53'ün fonksiyon görmesini sağlar. Bu genin delesyonunda, MDM2 proteinlerinin düzeyi artar. Bu da p53'ü bağlayarak p53'ün normal fonksiyonunu bozar. Kromozom 9p'de LOH ve p16 mutasyonunun beraberce gerçekleşmesi, astrositom değişiminde anaplazi derecesine göre artarak, glioblastomda %57 düzeyine ulaşmaktadır (27-29,41-44).

MDM2 geni 12q13–14 kromozom bölgesinde lokalizedir. Buradan kodlanan MDM2 proteini (pMDM2), p53'e bağlanarak pMDM2-p53 oluşumuna neden olmaktadır. pMDM2-p53 kompleksi, p53'ün transkripsiyonel indüksiyonuna engel olarak G1 kontrol noktasında hücrenin S fazına geçmesine neden olur. Öte yandan, yabancı p53 düzeyi pMDM2 tarafından kontrol edilmektedir. Hücre içinde pMDM2, çekirdekteki p53'ün sitoplazmaya geçişine neden olur. Sitoplazmadaki "E3 ubiquitin ligaz", p53'ün parçalanmasını sağlamaktadır. Bu da p53'ün fonksiyon görmemesi ile sonuçlanır. İmmünohistokimyasal çalışmalarda, pMDM2'nin aşırı ekspresyonu primer GM'de %52, sekonder GM'de ise %11 bulunmuştur. Ancak MDM2'de gen amplifikasyonu ve p53 mutasyonu olmaksızın, MDM2'nin aşırı ekspresyonu sadece primer glioblastomda saptanmıştır (27-29,41,42).

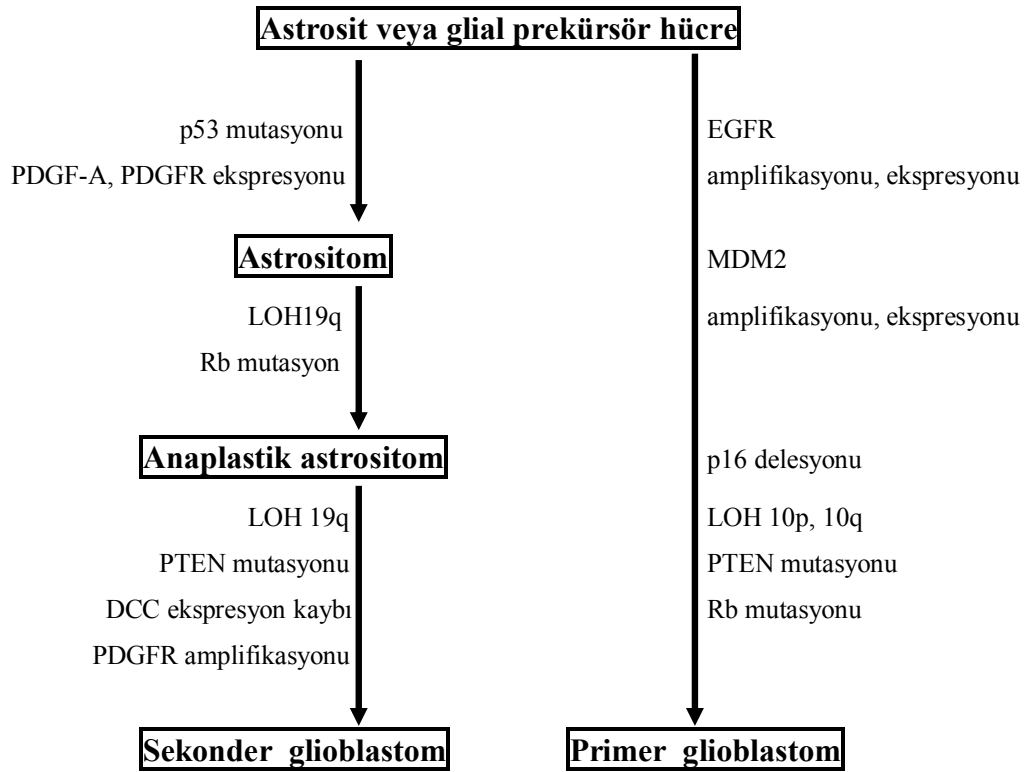
Astrofitom patogeneğinde en iyi bilinen tümör baskılayıcı gen, normalde kromozom 17'nin kısa koluna yerleşmiş olan p53'tür. p53, hücre siklusunu G1 fazında durdurup DNA tamirine olanak sağlar. DNA'nın tamir edilemeyecek kadar hasarlı olduğunda ise hücre ölümüne yol açar (45). p53 yolunun inaktivasyonu, hücrenin G1 fazındaki kontrolün değişmesi, hücrenin kontrolsüz çoğalması ile sonuçlanmaktadır. TP53 gen (p53 proteinini kodlayan gen) mutasyonunun astrofitik tümörler içinde en sık difüz astrofitomlarda saptanmış olması, p53 yolunun astrofitom tümörogeneğinde ilk adımlardan biri olduğunu göstermektedir (41). Glioblastoma ilerleyen düşük dereceli astrofitomlarda %60'ın üzerinde mutasyon sıklığı bildirilmiştir (39). Düşük dereceli astrofitom ve anaplastik astrofitomda 17p/TP53'deki LOH veya mutasyon, glioblastomdan daha fazla bulunmuştur. Bu p53'ün, p16 ve p21 gibi tümör inhibitör proteinlerle harmonize çalışmasını engelleyerek daha malign formlara dönüşümünü açıklamaktadır. Çünkü p53 genindeki mutasyon sekonder GM'de %61,9 iken, primer GM'de sadece %20 olarak bulunmuştur (41).

Astrofitom onkogeneğini başlatan ve daha malign formlara dönüşümden sorumlu bir diğer tümör baskılayıcı gen Rb genidir. Rb geni 13q14 bölgesinde bulunmaktadır. Normalde, yabancı Rb geninin kodladığı Rb proteinleri (pRb), fosforlanarak hücre içi E2F proteini (pE2F) gibi transkripsiyonel faktörlerin artmasına neden olmaktadır. pE2F, Rb proteinine bağlanarak hücrenin G1 kontrol noktasında siklusu durdurur. Rb geninin yokluğu veya mutant olması durumunda, ya

pRb fonksiyon görmemekte veya pRb'nin uygunsuz fosforilasyonu olmaktadır. Bu durumda pRb ile pE2F birbirine bağlanmayacağından, hücrenin G1 fazından S fazına geçişi gerçekleşmektedir. Kromozom 13q bölgesindeki LOH, düşük dereceli astrositomda yaklaşık %20, anaplastik asrositomda yaklaşık %25, glioblastomda yaklaşık %35 bulunmuştur. Kromozom 13q bölgesindeki LOH'lar primer glioblastomda düşük düzeylerde gözlenirken (%12), sekonder glioblastomda daha yüksek düzeyde gözlenmesi (%38), Rb geninin de gliomların malign formlara dönüşümünde olaya katıldığını göstermektedir (20,41-43).

Astrositom patogenezinde rol alan bir diğer tümör baskılayıcı gen, kromozom 10q23 bölgesinde lokalize olan PTEN genidir. Tümör gelişiminde, 10q delesyonu ve PTEN mutasyonunun, p53 yolundaki değişiklikleri takiben devreye girdiği kabul edilmektedir. Kromozom 10q kolu, çok sayıda tümör baskılayıcı gen bulunduran bir bölgedir. Glioblastomda kromozom 10q kaybı yaklaşık %80 düzeyinde, PTEN geninin mutasyonu ise %20–30 arasında rapor edilmiştir. Ancak PTEN geni mutasyonu, primer glioblastomda (yaklaşık %25), sekonder glioblastoma göre (yaklaşık %10) daha fazla sıklıkta bulunmuştur. Diğer taraftan pimer glioblastomda 10. kromozomun q ve p kolunu içeren tam kaybına karşın, sekonder glioblastomda 10q koluna sınırlı ve lokalize parsiyel kayıplar vardır. Bu veriler astrositomun daha malign formlara dönüşümünde PTEN geninin yanı sıra 10q da lokalize diğer tümör baskılayıcı gen delesyonlarının rol aldığını göstermektedir. Ayrıca kromozom 19q kolunda BAX tümör baskılayıcı gen lokalizedir. Bu gene ilişkin herhangi bir mutasyon rapor edilmemesine rağmen 19q da olan LOH'un düşük dereceli astrositomların malign formlara dönüşümünde rol aldığı bildirilmektedir (20,27-29,41-44).

“Deleted in colorectal cancer” (DCC) geni, 18. kromozomda lokalize, nöral adezyon molekül ailesine bağlı bir tümör baskılayıcı gendir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda, bu gene ait protein yokluğu, düşük dereceli astrositomlarda %7, sekonder glioblastomda %47 düzeyinde saptanırken, primer glioblastomda %25 düzeyinde saptanmıştır. Bu da DCC gen inaktivasyonunun astrositom progresyonunda rol aldığını göstermektedir (29,41). Astrositik tümörlerin moleküler patogenezi şematik olarak **Şekil-2.9.1**'de sunulmaktadır.



Şekil–2.9.1: Astrositik tümörlerin moleküler patogenezi

2.10. BEYİN TÜMÖRLERİNİN İNVAZYON VE METASTAZ PATOGENEZİ

Merkezi sinir sisteminin primer tümörleri 100.000’de 6–10 oranında görülür. 15 yaşın altında tüm malignitelerin 1/4’nü oluşturur. Son zamanlardaki yayınlar 40 yaş üstü beyin tümörlerine bağlı ölümlerin %35 ile %40’lara yükseldiğini göstermektedir. MSS tümörlerinin etkili tedavisinin en önemli engeli glial hücrelerin beyin parankimine lokal invazyonudur (1-4,6).

MSS tümörlerindeki invazyon, tümörün derecesi ile ilişkili değildir. Düşük dereceli astrositolar yaşam merkezleri ya da ana kan damarlarını tutarak lokalizasyona göre malign davranabilir yani GM gibi invazyon gösterebilir (1). MSS tümörlerinde hızlı büyüme, çevre parankimine invazyon, ventrikül sistemi ya da subaraknoid boşluk aracılığı ile MSS’nin diğer bölümlerine yayılım maligniteyi gösterir. Beyin dokusunun lenfatikleri olmadığı için lenfatik metastazı yoktur. Kan yolu ile metastazı da yok denecek kadar azdır. İntrakraniyal basıncın komşu serebral venleri tıkanması ya da büyük venöz sinüslerin beyinden iyi ayrılmış olması bu duruma etken olarak ileri sürülmektedir. Beyin dışı metastazlarında genellikle

dekompresyon ameliyatları ya da hidrosefaliyi önlemek için uygulanan sağ atriama şant ameliyatları sorumlu tutulmaktadır (2,45).

Çoğu solid tümörün aksine MSS tümörlerinin uzak organ metastazı nadirdir fakat çevre dokuya belirgin difüz veya lokal invazyon gösterir. Bu durum tüm geçerli tedavi formlarını etkisiz kılan, glioblastomların en önemli biyolojik özelliğidir. MSS tümörlerinin lokal invazyon mekanizması diğer solid tümörlerin metastazındaki invazyon fazına benzer. Bu mekanizma, ana tümör kitlesinden neoplastik hücrelerin ayrılmasını, hücre yüzey reseptörlerine ara buluculuk eden ekstraselüler matriksin, tümör hücre adezyon molekülleri ve tümör proteinazları ile yeniden oluşumunu, büyüme faktörleri, hücre yüzey reseptörleri ve yapısal komponentlerin etkileşimini içeren aktif migrasyon ve motiliteyi içerir (46,47).

ESM, normal ve patolojik durumlardaki selüler fonksiyonların düzenlenmesinde çok önemli rol oynayan dinamik bir ortamdır (48). Her yerde bulunan bu matriks, doku kompartmanları arasında bir bariyer görevi görür. ESM bütünlüğünün bozulması tümörlerin invazyonuna ve metastazına yol açar (49). Diğer organ sistemlerinden farklı olarak MSS’inde ESM’in yapısı ve fonksiyonu henüz tam olarak tanımlanamamıştır. Beyinde, mezodermden gelişen, endotel hücreleri içeren vasküler alanlar dışında iyi tanımlanan ESM çoğunlukla yoktur. Bununla birlikte, MSS parankimi başlıca hiyaluronik asit, az miktarda kollajen ve diğer fibröz proteinleri içeren nisbeten amorf matriks ile doludur. İyi tanımlanan bir ESM, bazal membran, serebral damarlar ve glial limitans eksterna ile sınırlıdır. Glial membrana limitans eksterna beynin tüm kortikal yüzeyini örten bir bazal membrandır. ESM komponentleri **Tablo 2.10.1**’de gösterilmiştir. İn vitro çalışmalar immatür astrositler ve normal leptomeningeal hücrelerin bazal membran moleküllerini sentezleyebildiğini göstermiştir (48). Bu durum gelişme sırasında nöron ve glial hücrelerin göç ve tutunmasında etkili olmaktadır, ancak matür beyinde bulunma oranları düşüktür. Bu oran beyin tümörlerinde yeniden artar (50).

Tablo-2.10.1: Beyinin başlıca ekstraselüler matriks komponentleri

Glial membrana limitans	
eksterna	Kollajen (I, III, IV) Fibronektin Laminin Heparan sülfat
Vasküler basal membran	Kollajen (IV, V) Laminin Heparan sülfat Vitronektin Fibronektin
Beyin parankimi	Hyaluronik asit Dermatan sülfat Kondroitin sülfat Hyaluronektin Tenaskin

Çevre normal beyin dokusu içine difüz infiltratif büyüme, tümör hücrelerinin çeşitli ESM komponentlerine ve hücre yüzey moleküllerine yapışması sonucu oluşur (51). HA, tümör kitlesi ve konak doku arasındaki yüzeyde sıklıkla bulunan, ESM'in glikozaminoglikan komponentidir. Tümör hücrelerinin invazyonunda önemli rol oynar (48). HA'nın invazyonu kolaylaştırmasına bir ya da birkaç mekanizma aracılık eder. Birincisi, HA'nın hidrasyonu sonucu kitlesi artar ve kompakt yapıdaki ESM'yi gevşetir ve hücrel migrasyonu kolaylaştırır. İkincisi, HA'nın spesifik hücre adezyon molekülü ile etkileşmesi sonucu, tümör hücrelerinin migrasyonu stimüle edilir (4). HA'nın diğer ESM proteinleri ile etkileşimi, hyaluran bağlayan protein ve reseptörleri yoluyla. CD44, HA'nın reseptörlerinden biridir. CD44'ün artmış ekspresyonu tümör hücrelerinin HA'ya daha iyi tutunmasını sağlayarak tümör hücrelerinin implantasyonuna yardım etmektedir (52).

CD44, ilk olarak lenfositler üzerinde tanımlanan çok fonksiyonlu hücre adezyon molekülüdür. Hücre hareketi ve göçü, lenfosit fonksiyonları, hematopoiez, yangı, yara iyileşmesi, embriyonel gelişme ve apoptozis gibi pek çok biyolojik süreçte rol oynar. CD44 fonksiyonları temel olarak hücre adezyona bağlıdır. Bu adezyon, iki farklı hücre veya bir hücre ve onun periselüler matriksi arasında etkileşime yol açar. En küçük CD44 molekülü 85–95 kD ağırlığında olup, 11. kromozomun kısa kolunda yer alır. Temel olarak standart (CD44s) ve varyant (CD44v) iki izoformu vardır. Ancak günümüze dek 10 alternatif eksondan kaynaklanan en az 20 değişik formda CD44 reseptörü tanımlanmıştır. En az 19 eksonu olduğu varsayılmaktadır. Diğer eksonların değişik kombinasyonları birçok değişik formunu oluşturur. CD44 tek zincirli bir molekülden oluşur. Bu molekül, distal ekstraselüler bölüm (ligand bağlayan alanı içerir), membran-proksimal bölüm, transmembran bölüm ve sitoplazmik uzantıdan oluşur. Moleküler düzen, membran-proksimal parça dışında kendi arasında birbirine benzerlik gösterir (53-56).

CD44 ve varyantlarının hem normal hem neoplastik dokulardan eksprese edildiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda normal beyin dokusunda (korteks ve medulla) ve medulla spinaliste CD44 ekspresyonu gösterilmiştir. CD44 adezyon molekülü MSS'de özellikle beyaz cevherde glial hücrelerde gözlenir. Otopside elde edilen normal ve Alzheimer hastalığı olanların beyinlerinde immünohistokimyasal olarak CD44 lokalizasyonunun araştırıldığı bir çalışmada gri cevherde damarlarla ilişkili protoplazmik ve fibröz astrositlerde saptanmıştır (55,57,58). Bazı çalışmalar, tümör dokularının normal dokulara göre önemli miktarda CD44 transkriptleri içerdiğini göstermiştir. Deneysel olarak artırılmış CD44 konsantrasyonları ile tümör hücrelerinin, daha agresif tümör oluşturmaya yatkın oldukları gösterilmiştir (54). Metastaz veya invazyonun adezyon molekülleri ile ilişkisi son zamanlarda CD44 ve varyantlarının tespit edilmesiyle sağlanmıştır. Klinik çalışmalar çoğu karsinomun sıklıkla CD44 isoformlarını eksprese ettiğini doğrulamıştır. Bununla birlikte karsinomun metastatik potansiyeli CD44 varyantları arasında özellikle CD44 v3 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (54). Önceki çalışmalar sekonder beyin tümörlerinde CD44'ün çeşitli varyantlarının ekspresyonunu, primer beyin tümörlerinde ise yalnız CD44s'in ekspresyonunu göstermiştir (56,58,59).

Yukarıda da tanımlandığı gibi ESM'nin parçalanması ve yeniden oluşumu, dokunun yeniden biçimlenmesinde, yara iyileşmesinde, tümör nekrozunda ve yangısal reaksiyonda önemlidir. ESM'nin yeniden oluşumu ve düzenlenmesindeki anahtar komponent matriks metalloproteinazlar ve onların inhibitörleridir. MMP'lar bir grup çinko bağımlı enzimlerdir (48). Bugüne kadar 23 değişik MMP tanımlanmıştır. Tüm MMP'ler çok değişik ESM komponentleri üzerine etki ederler. MMP'ler çözünebilir (salgılanmış) ve membran bağımlı tip (MT-MMP) olmak üzere ikiye ayrılır. Çoğunlukla proenzim olarak salgılanır. Çözünür tip MMP çoğu kez inaktif proMMP olarak salgılanırken, MT-MMP'ler intrasellüler olarak aktiftir ve çoğu zaman hücre yüzeyinden aktif enzim olarak salgılanır (60-62). Çözünebilir MMP'ler, ESM'ye daha fazla geçiş gösterebilir ve dokunun yeniden biçimlenmesinde rol oynar. MT-MMP'ler daha çok migrasyon ve invazyon gibi selüler fonksiyonlar ile yakından ilgili periselüler ortamların düzenlenmesinde yer alır. Hem çözünür hem de MT-MMP'ler endojen metalloprotein doku inhibitörleri tarafından (TIMP) inhibe edilir (10). Çözünür MMP'ler spesifik substratlarına göre; kollajenazlar, stromelisinler, jelatinazlar, matrilisinler ve diğerleri olarak sınıflandırılmıştır. Membran bağımlı tip MMP'ler spesifik substratlarına göre; MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT4-MMP, MT5-MMP ve MT6-MMP'den oluşmaktadır (10,60-62). Jelatinazlar grubundan olan jelatinaz A (MMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9) önemlidir. MMP-2, normal nöronal ve glial dokuda, malign glial hücrelerde ve damarlarda MT1-MMP ile beraber bulunmaktadır. Buna karşın MMP-9 damarların proliferasyon kenarında daha fazla eksprese edilir. MMP-9'un primer görevi anjiogenezis ile birlikte ESM'nin yeniden düzenlenmesi iken, MMP-2 ve MT1-MMP glial tümörlerde invazyon ve anjiogenezde rol alır. Glial invazyon için MMP-2 aktivasyonu gereklidir. ProMMP-2 aktivasyonu, MT1-MMP ve MT2-MMP seviyesi ile doğru orantılıdır. MT1-MMP ve MT2-MMP glial tümörlerde grade artıca belirgin bir ekspresyon artışı gösterir. MMP'ler genellikle depolanmaz, gerektiğinde yapılırlar (1,10,60-62).

Astrositik tümörlerin mikroskopik incelenmesi, tümörün histolojik tipi ve malignitenin derecesi hakkında fikir verir. Bunlar tümörün biyolojik davranışı için önemli ipuçlarıdır. Bu tümörler hiperselülarite, nükleer anaplazi, nekrozun varlığı, mitotik aktivite ve VEP'in derecesi temel alınarak günümüze kadar farklı şekillerde

gradeleme sistemleri yapılmış olmalarına rağmen gradelemede henüz kesin patolojik kriterler yoktur. Grade'lemede kullanılan kriterlerin subjektifliğine, tümörün kendi içindeki heterojenitesi ve örnekleme yetersizlikleri de eklenince, bu tümörlerin gradelenmesinde gerek kurumlar arasında gerekse gözlemcilerin kendi içinde çelişkiler ortaya çıkmaktadır. Grade'lemede kullanılan parametrelerden bazı anaplastik özelliklerin benign tümörlerde de tanımlanması tümörün klinik davranışı ile histopatolojik özelliklerini korelasyonunda yanıltıcı olmaktadır. Bu yüzden MSS tümörlerinin biyolojik davranışını belirlemek için ek yöntemlere gerek duyulmuştur (37,39).

Hücre siklusunun proliferatif fazını belirlemede kullanılan proliferasyon indeksi (PI), neoplazmin biyolojik davranışını belirlemede önemlidir. MSS tümörlerinde PI'yı belirlemek için; gümüş nükleolar organize edici (AgNOR) bölgelerin boyanması, bromodeoksiüridin etiketleme, H-timidin birleşmesi ve akım sitometrisi ile ilgili çalışmalar hız kazanmış, ancak bunlar günlük kullanım alanı bulamamıştır. Son zamanlarda ise kolayca uygulanabilen ve proliferasyon hakkında bilgi veren Ki-67 antikoru kullanılmaktadır (63,64).

Ki-67, 395 kD ağırlığında non-histon bir proteindir. Ki-67 antikoru, siklusunun G1, S, G2 ve M fazlarındaki hücrelerin nükleuslarında lokalize bir antijen olan Ki-67 epitopuna karşı gelişir. Ki-67 PI, birçok primer beyin tümöründe grade ile doğru korelasyon göstermiştir (11,64).

Glia fibriler asitik protein, 10 nm'lik intermediyer filamanların polimerize formlarından oluşan, 51 kD ağırlığında bir hücre iskelet proteindir. Klonlanmış GFAP cDNA'sı ile GFAP geninin 17p21 kromozomunda lokalize olduğu ve ekspresyonunun MSS gelişiminde etkili olduğu bulunmuştur. Normal beyinde bulunan fibröz astrositlerin sitoplazmalarında bol bulunur. MSS'nin reaktif süreçlerinde de astrosit sitoplazmaları içinde artmış miktarlarda bulunduğu gösterilmiştir. Normal ve tümöral astrositlerinin güvenilir işaretleyicilerinden birisi olan GFAP, glia hücreleri dışındaki hücrelerde fazla bulunmaz. Bu nedenle primer glial tümörlerin tanımlanmasında işe yarar (12,13,65).

GEREÇ ve YÖNTEM

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan, Ocak 1993 ve Haziran 2005 tarihleri arasında astrositik tümör tanısı almış ve parafin blokları bulunabilen 70 olgu çalışma kapsamına alındı.

Çalışma grubundaki olgulara ait %10'luk formaldehid solüsyonu ile tesbit edilmiş ve rutin doku takibi ile hazırlanmış parafin bloklardan elde edilen Hematoksilen-Eozin (H&E) boyalı preparatlar, önceki tanılarına bakılmaksızın retrospektif olarak selülarite, pleomorfizm, mitoz, nekroz, vasküler endotelial proliferasyon, histolojik grade yönünden yeniden değerlendirildi.

Histolojik derecelendirme için 2000 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan 1993'deki DSÖ sınıflandırması kullanıldı. Bu sınıflandırmaya göre; selülarite, pleomorfizm, mitozun varlığı, nekroz, vasküler endotelial proliferasyon, değerlendirildi. Tümördeki selülarite ve pleomorfizm değerlendirilmesi hafif, orta, şiddetli olarak üç gruba ayrılarak yapıldı. Tümördeki selülarite için, astrositlerdeki hafif artış +, orta derece artış ++, şiddetli artış +++ olarak tanımlandı. Nükleer pleomorfizm için; tümöral hücreler uniform şekil ve boyutlara sahip ve küçük nükleus içeriyorsa +, orta derece boyut ve şekil farkı ve bazı hücrelerde nükleol varsa ++, belirgin şekil ve boyut farklılıkları varsa ve bir veya birden fazla nükleol içeriyorsa +++ olarak değerlendirildi. Mitoz varlığı için; Nikon mikroskopta x40 objektifte (yüzey çapı 0.44 mm, yüzey alanı 0.152 mm²) toplam 10 alan sayılarak normal veya atipik mitoz varlığı yönünden değerlendirildi. Vasküler endotelial proliferasyon için; tomurcuklanma veya glomeruloid yumaklar ile peritelyal hücre artışı dikkate alındı.

İmmünohistokimyasal inceleme için çalışma grubuna ait her olgunun histolojik derecesini en iyi yansıtabilecek şekilde yoğun nekroz içermeyen, hücreden zengin alanlar içeren preparatlar seçildi. Bu preparatların parafin bloklarından 3 µm kalınlıkta kesitler yapılarak polilizin-L ile kaplı lamlara alındı. Daha sonra bunlara hücre adezyon molekülü olan CD44 Std./HCAM Ab-4 (Mouse Monoclonal Antibody, Clone 156-3C11, Cat. #MS-668-R7, labvision, USA 2005), matriks

metalloproteinaz olan MMP-14/MT1-MMP Ab-1 (Rabbit Polyclonal Antibody, Cat. #RB-1544-R7, labvision, USA 2005), proliferasyon belirleyicisi olan Ki-67 (Rabbit Monoclonal Antibody, Clone SP6, Cat. #RM-9106-R7, labvision, USA 2005), glial hücre belirleyicisi olan GFAP/Ab-7 (Mouse Monoclonal Antibody, Cat. #MS-1407-R7, labvision, USA 2005) antikorları kullanıldı. Avidin-biotin-peroksidaz yöntemi kullanılarak immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Pozitif kontrol olarak, CD44 için tonsil dokusu, MT1-MMP için plasenta dokusu, Ki-67 proliferasyon indeksi için tonsil dokusu ve GFAP için daha önceden pozitif olduğu bilinen anaplastik astrositom kesitleri kullanıldı. Negatif kontrol olarak primer antikor yerine Phosphate Buffer Saline (PBS) kullanılarak diğer basamaklar aynen kullanıldı.

Boyama yöntemi:

Boyama işlemi, nemlendirilmiş, ısısı 24 °C'ye kadar çıkarılmış, zemini ıslak bir ortamda uygulandı.

1. Formalinle fikse edilen ve parafine gömülü bloklardan 3 µm kalınlığında hazırlanan doku kesitleri önce 65 °C'de bir gece etüvde bekletildikten sonra 50°C'de 30 dakika süreyle ksilende deparafinize edildi.

2. Bu işlemden sonra dokular sırayla 5'er dakika 80°, 90°, 96°'lik alkollerden geçirilerek dehidrate edildi.

3. Dehidratasyondan sonra 5 dakika distile suda ve 10 dakika PBS solüsyonunda tutulan preparatlar endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için 5 dakika hidrojen peroksit ile inkübe edildi.

4. PBS solüsyonunda 10 dakika tutulduktan sonra dokudaki antijenleri daha iyi ortaya çıkarabilmek için kesitler mikrodalga fırında 5 dakika yüksek ısıda, bunu takiben iki kez 10'ar dakika süreyle orta derece ısıda kaynatıldı. Kaynatma solüsyonu olarak CD44 için pH 6,5 olan sitrat tamponu, MT1-MMP, Ki-67 ve GFAP için ise pH 8,1 olan EDTA tamponu kullanıldı. Takiben 20 dakika aynı solüsyonlar içerisinde oda ısısında tutuldu.

5. PBS solüsyonunda 10 dakika bekletilen kesitlere U-V blok ile 20 dakika inkübasyon uygulandı.

6. PBS solüsyonundan geçirilen preparatlar kullanıma hazır solüsyonları olan

CD44, MT1-MMP, GFAP, Ki-67 ile 2 saat oda ısısında ve nemli ortamda inkübe edildi, takiben 10 dakika PBS'te tutuldu.

7. Bağlayıcı solüsyon (Link) ile 20 dakika oda ısısında inkübasyon yapıldı. Takiben 10 dakika PBS'te tutuldu.

8. Streptavidin-Peroksidaz (Label) ile 20 dakika oda ısısında inkübe edildi ve 10 dakika PBS'te tutuldu.

9. Son olarak substrat kromojen karışımı ile renklendirme işlemi yapıldı. Bunun için 1 damla AEC kromojen ile 2 ml H₂O₂ ile substrat tamponu karışımından oluşan dilüsyon ile hazırlanan solüsyon ile 20 dakika oda ısısında inkübe edildi.

10. Zıt boyama için 1 dakika süreyle Mayer'in Hematoksilen'in kullanıma hazır formu uygulandı. Takiben distile sudan geçirildi. Doku kurutuldu ve gliserin jel kullanılarak lamel ile kapatıldı.

Değerlendirme:

CD44 ekspresyonu değerlendirilirken membranöz ve sitoplazmik boyanma esas alındı. Boyanma yoğunluğu ve boyanan hücrelerin oranı değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu, tümör hücrelerinin küçük büyütmedeki (x10) membranöz boyanma yoğunluğuna göre: boyanma küçük büyütmede görülüyorsa zayıf=1 pozitif (+); küçük büyütmede görülebilen fakat sitoplazma membranını tamamen içermeyen şekilde ise orta=2 pozitif (++); sitoplazma membranını tamamen içeriyor ise kuvvetli=3 pozitif (+++) kabul edildi. Boyanan hücrelerin oranı ise sitoplazmik boyanmanın kuvvetli pozitif olduğu alandan başlayarak x10 büyütme ile en az 3–5 komşu alandaki 1000 tümör hücresi sayılarak yapıldı. Pozitif boyanan tümör hücrelerinin toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı: boyanma %5'ten az ise 0 (-), %5 - %25 arası boyanma 1 pozitif (+), %25 - %50 arası boyanma 2 pozitif (++) , %50 - %75 arası boyanma 3 pozitif (+++), %75'den fazla boyanma 4 pozitif (++++) kabul edildi (66).

MT1-MMP ekspresyonu değerlendirilirken membranöz boyanma ve sitoplazmik boyanma esas alındı. Membranöz boyanma yoğunluğu, tümör hücrelerinin küçük büyütmedeki (x10) membranöz boyanma yoğunluğuna göre: boyanma küçük büyütmede görülüyorsa zayıf=1 pozitif (+); küçük büyütmede görülebilen fakat sitoplazma membranını tamamen içermiyen şekilde ise orta=2

pozitif (++)); sitoplazma membranını tamamen içeriyor ise kuvvetli=3 pozitif (+++) kabul edildi (66). Sitoplazmik boyanma için, boyanmanın kuvvetli pozitif olduğu alandan başlayarak x10 büyütme ile en az 3–5 komşu alandaki 1000 tümör hücresi sayıldı, pozitif boyanan tümör hücrelerinin toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı: boyanma yok 0 (-), %1 - %10 arası boyanma 1 pozitif (+), %11 - %25 arası boyanma 2 pozitif (++) , %26 - %50 arası boyanma 3 pozitif (+++), %50'den fazla boyanma 4 (++++) kabul edildi (67).

Ki-67 proliferasyon indeksi değerlendirilirken nükleer boyanma esas alındı. Vasküler hücre proliferasyonu ve nekroz içeren alanlar değerlendirme dışı bırakıldı. Nükleer boyanmanın kuvvetli pozitif olduğu alandan başlayarak x10 büyütme ile en az 3–5 komşu alandaki 1000 tümör hücresi sayıldı. Proliferasyon indeksi, pozitif boyanan tümör hücrelerinin toplam hücre sayısına göre yüzdesi alınarak hesaplandı (68).

GFAP ekspresyonunu değerlendirirken sitoplazmik boyanma esas alındı. Sitoplazmik boyanma için, boyanmanın kuvvetli pozitif olduğu alandan başlayarak X10 büyütme ile en az 3–5 komşu alandaki 1000 tümör hücresi sayıldı, pozitif boyanan tümör hücrelerinin toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı: %25 boyanma 1 pozitif (+), %50 boyanma 2 pozitif (++) , %75 boyanma 3 pozitif (+++), %75'den fazla boyanma 4 pozitif (++++) kabul edildi.

Çalışmanın verileri SPSS (versiyon 10.0) programına yüklenerek verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Khi-kare testi ve iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi kullanıldı. Veriler tablolarda birey sayısı, %'si, aritmetik ortalama \pm standart sapma şeklinde belirtilmiş olup yanılma düzeyi 0.05 olarak hesaplandı (69).

BULGULAR

Çalışma grubundaki olgulara ait yaş, cinsiyet, yerleşim yerine ait bilgiler patoloji raporlarından elde edilmiştir. Çalışma grubunu oluşturan 70 hastanın 40'ı (%57.1) erkek, 30'u (%42.9) kadın idi. En genç hasta 3, en yaşlı hasta 75 yaşında olup yaş ortalaması 42.95 + 18.72 idi. Çalışma grubundaki 70 olgunun 11'i (%15.7) 20 yaşın altında idi. 20 yaşın üstündeki 59 olgu, tüm olguların yaklaşık %84,2'sini oluşturmaktaydı.

Çalışma grubundaki olgular yerleşim yerlerine göre değerlendirildiğinde sırasıyla; parietal lob 16 (%22.8) olgu, temporal lob 10 (%14.2) olgu, temporoparietal bölge 10 (%14.2) olgu, frontal lob 8 (%11,4) olgu, frontoparietal bölge 4 (%5.6) olgu, serebellum 3 (% 4,2) olgu, parietooksibital bölge 3 (%4.2) olgu, oksipital lob, III. ventrikül, frontotemporal bölge ve posterior fossa 2'ser (%2,8) olgu, talamus, kaudal nükleus, infratentorial supraserebellar bölge, pontoserebellar köşe, interhemisferik perikallosum, ve optik sinir 1'er (%1,4) olgu şeklinde dağılım göstermekte olup, 2 olgunun yerleşim yeri bilinmemektedir. Yerleşim yeri bilinen olguların hepsi supratentorial yerleşimde idi.

Olgulara ait H&E boyalı preparatlar yeniden incelenerek histolojik gradeleri protokol numaraları ile birlikte **Tablo 4.1**'de verilmiştir.

Tablo-4.1: Olgulara ait protokol, yaş, cinsiyet, yerleşim yeri, grade ile ilgili veriler

Olgu No	Protokol No	Yaş	Cinsiyet	Yerleşim Yeri	Grade
1	2023/05	16	K	III. ventrikül tabanı	I
2	2825/05	58	K	Sol parietal lob	II
3	1344/04	12	K	Talamus	I
4	1871/04	25	E	Frontal lob	II
5	1918/04	28	E	Parietal lob	II
6	2907/04	50	E	Sol frontal lob	IV
7	3330/04	60	E	Parietooksibital bölge	IV
8	758/03	62	K	Sol temporoparietal bölge	IV
9	1794/03	48	K	Sol temporal fossa	IV
10	1984/03	65	E	Sol parietal lob	IV
11	2323/03	23	E	Sol temporal lob	IV
12	2368/03	60	E	Sağ temporoparietal bölge	IV

Tablo-4.1 Devamı					
Olgu No	Protokol No	Yaş	Cinsiyet	Yerleşim Yeri	Grade
13	2411/03	50	E	Sağ temporoparietal bölge	IV
14	3237/03	51	K	Sol frontotemporal bölge	IV
15	15/02	45	E	Sol temporoparietal bölge	IV
16	757/02	62	K	Posterior parietal lob	IV
17	1458/02	45	E	Sol temporoparietal bölge	II
18	2133/02	53	K	Sağ parietal lob	IV
19	2258/02	3	K	Sol parietal lob	I
20	2406/02	44	K	Frontal lob	III
21	2760/02	65	E	Sağ parietal lob	IV
22	2913/02	22	E	Sol kaudal nükleus	II
23	2974/02	51	K	Sol frontoparietal lob	IV
24	3165/02	30	K	Sol serebellum	I
25	3243/02	42	K	Sol temporal lob	IV
26	532/01	50	K	Sol temporoparietal	IV
27	1758/01	6	E	Posterior fossa	II
28	1859/01	61	K	Sağ frontoparietal	IV
29	2436/01	65	E	Oksibital lob	IV
30	2487/01	50	E	Frontal lob	III
31	2622/01	60	E	Temporal lob	IV
32	3366/01	55	K	Sol parietal lob	IV
33	3882/01	13	K	Sol serebellum	IV
34	1961/00	65	E	Sağ temporal lob	IV
35	3205/00	45	K	İnfratentorial supra serebellar bölge	II
36	3214/00	62	E	Sol temporal lob	IV
37	3617/00	68	E	Sağ parietal lob	II
38	3968/00	73	E	Frontal lob	IV
39	4014/00	43	K	Sol parietal	IV
40	4352/00	48	E	Sol temporoparietal bölge	II
41	1342/99	54	E	Sol temporal lob	II
42	1763/00	68	E	Sol frontal lob	IV
43	1774/99	38	E	Sol frontal lob	II
44	1922/99	8	E	Sağ temporal lob	I
45	2837/99	55	E	Sol temporoparietal bölge	IV
46	2877/99	36	K	Sol oksibital lob	IV
47	3719/99	75	K	Temporoparietal bölge	IV

Tablo-4.1 Devamı					
Olgu No	Protokol No	Yaş	Cinsiyet	Yerleşim Yeri	Grade
48	3817/99	25	E	Parietooksibital bölge	IV
49	2410/98	37	E	Sağ parietal lob	IV
50	5359/98	50	E	Sağ parietooksipital	IV
51	5028/98	50	K	Sağ frontoparietal	IV
52	940/97	12	E	Posterior fossa	I
53	4715/97	43	K	İnterhemisiferik pericallosum	IV
54	3945/96	62	K	Sol frontal	IV
55	427/95	17	E	III. ventrikül laterali	II
56	131/95	54	E	Sağ posterior parietal lob	IV
57	952/95	9	E	Optik sinir	I
58	1226/95	65	E	Sol temporal lob	IV
59	1521/95	47	K	Sağ frontotemporal bölge	IV
60	3775/95	36	E	Sağ temporal bölge	II
61	177/94	8	K	Serebellum posterior fossa	I
62	4430/94	34	E	Sol parietal	IV
63	4677/94	28	K	Sol parietal	IV
64	5262/94	11	K	-	I
65	187/93	43	K	Sol parietal	IV
66	899/93	44	E	Sol frontoparietal bölge	IV
67	1127/93	52	E	Sol parietal lob	IV
68	2823/93	39	E	Sol temporoparietal bölge	III
69	3883/93	47	K	Sol pontoserebellar köşe	IV
70	4219/93	26	E	-	II

Tablo 4.1'de verilen, astrositik tümör tanısı almış ve parafin bloklarına ulaşılabilen 70 olgunun H&E boyalı preparatları, 2000 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan 1993'deki DSÖ sınıflaması dikkate alınarak yeniden incelendi. Astrositik tümörler pleomorfizm, mitoz, nekroz, VEP yönünden yeniden değerlendirildi. Çalışma grubundaki olgular tümör selülaritesine göre sınıflandırıldığında; selülaritesi + olan 6 (%8.6) olgu, ++ olan 20 (%28.5) olgu, +++ olan 44 (%62.9) olgu tespit edildi. Olgular tümör pleomorfizmi yönünden değerlendirildiğinde; pleomorfizmi + olan 12 (%17.1) olgu, ++ olan 34 (%48.6) olgu, +++ olan 15 (%21.4) olgu tespit edildi. Olguların 9'unda (%12.9) pleomorfizm izlenmedi. Olgular normal veya atipik mitoz varlığına göre değerlendirildiğinde;

mitoz bulunan 47 (%67.2) olgu, mitoz bulunmayan 23 (%32.8) olgu tespit edildi. Olgular nekroz yönünden değerlendirildiğinde; nekroz bulunan olgu 28 (%40), nekroz bulunmayan 42 (%60) olgu saptandı. Olgular VEP yönünden değerlendirildiğinde; VEP bulunan 43 (%61.4) olgu, VEP bulunmayan 27 (%38.6) olgu saptandı. Selülaritesi + veya ++ ve pleomorfizmi bulunmayan veya hafif olan 23 (%32.8) olguda mitoz, nekroz, VEP özelliklerinden hiçbiri izlenmedi. Selülaritesi ++ veya +++ ve pleomorfizmi orta veya şiddetli olan sadece 3 (%4.2) olguda mitoz izlendi, nekroz ve VEP izlenmedi. Selülaritesi ++ veya +++ ve pleomorfizmi orta veya şiddetli olan 41 (%58.5) olguda mitoz, nekroz, VEP izlenirken 2 (%2.8) olguda mitoz ve VEP olmasına karşın nekroz izlenmedi, 1 (%1.4) olguda da mitoz ve nekroz bulunmasına rağmen VEP görülmedi.

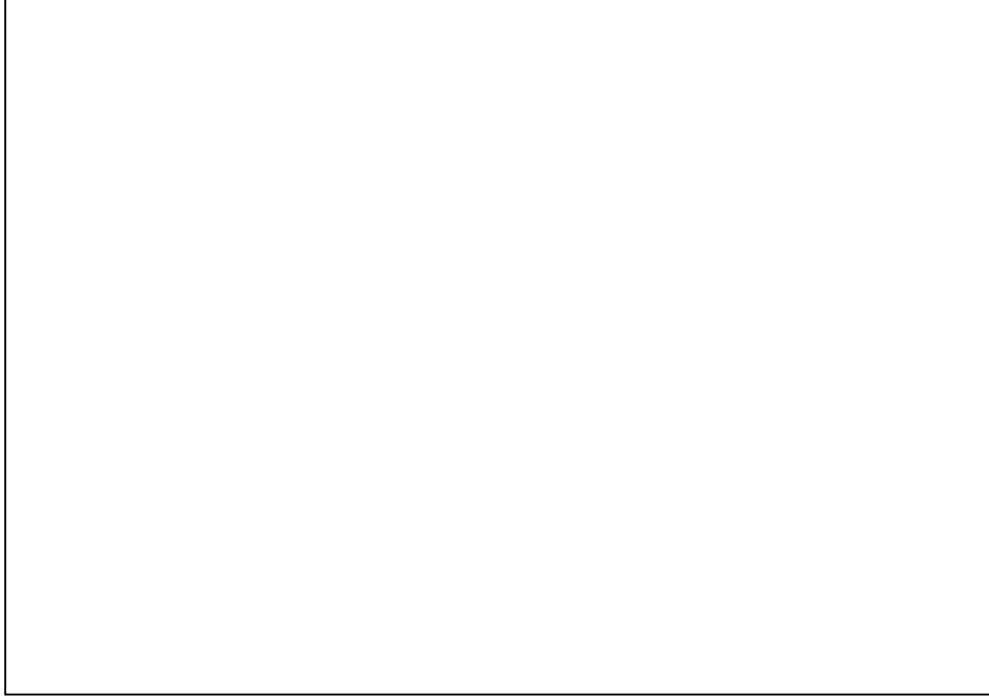
Bu değerlendirme sonucunda; Astrositik tümörlerin 9'u (%13) Piloitik astrositom (Grade I) (**Resim 4.1**), 14'ü (%20) Difüz astrositom (Grade II) (**Resim 4.2,3**), 3'ü (%4) Anaplastik astrositom (Grade III) (**Resim 4.4**), 44'ü (%63) Glioblastom multiforme (Grade IV) (**Resim 4.5,6,7,8**) idi. Olgulara göre selülarite, pleomorfizm, nekroz, VEP, histolojik grade yönünden saptanan değerler **Tablo 4.2**'de verilmiştir.

Tablo–4.2: Olgulara ait histopatolojik değerler ve grade ile ilgili veriler

Olgu no	Selülarite	Pleomorfizm	Mitoz	Nekroz	VEP	Grade
1	++	-	-	-	-	I
2	++	+	-	-	-	II
3	++	-	-	-	-	I
4	++	+	-	-	-	II
5	++	+	-	-	-	II
6	+++	+++	+	+	+	IV
7	+++	+++	+	+	+	IV
8	++	++	+	+	+	IV
9	+++	++	+	+	+	IV
10	+++	+++	+	+	+	IV
11	+++	+++	+	+	+	IV
12	+++	+++	+	+	+	IV
13	+++	++	+	+	+	IV
14	+++	++	+	+	+	IV

Tablo:4.2 Devamı						
Olgu no	Selülarite	Pleomorfizm	Mitoz	Nekroz	VEP	Grade
15	+++	++	+	+	+	IV
16	+++	++	+	+	+	IV
17	++	++	-	-	-	II
18	+++	+++	+	+	+	IV
19	+	-	-	-	-	I
20	++	++	+	-	-	III
21	+++	++	+	+	+	IV
22	++	-	-	-	-	II
23	+++	++	+	+	+	IV
24	+	-	-	-	-	I
25	+++	+++	+	+	+	IV
26	+++	++	+	+	+	IV
27	++	-	-	-	-	II
28	++	++	+	+	+	IV
29	+++	+++	+	+	+	IV
30	+++	++	+	-	-	III
31	+++	++	+	+	+	IV
32	+++	++	+	+	+	IV
33	+++	+++	+	+	+	IV
34	+++	++	+	+	+	IV
35	+	+	-	-	-	II
36	+++	++	+	+	+	IV
37	++	+	-	-	-	II
38	+++	++	+	+	+	IV
39	+++	++	+	+	+	IV
40	++	+	-	-	-	II
41	++	-	-	-	-	II
42	+++	++	+	+	+	IV
43	+	-	-	-	-	II
44	+	-	-	-	-	I
45	+++	++	+	+	+	IV
46	+++	+++	+	+	+	IV
47	+++	++	+	+	+	IV
48	+++	++	+	+	+	IV
49	+++	++	+	+	+	IV

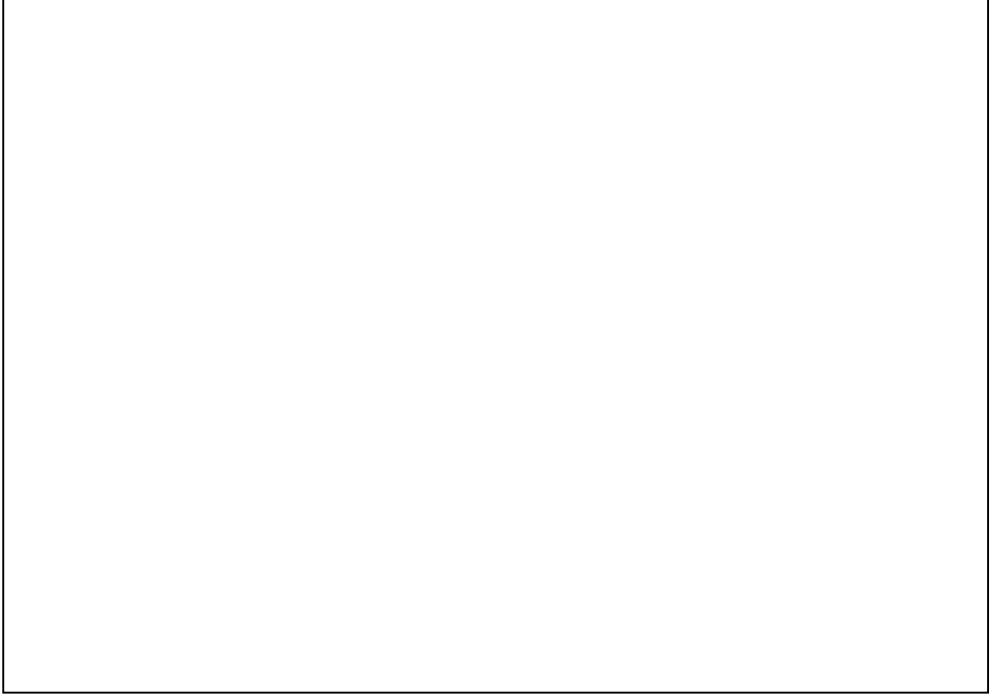
Tablo:4.2 Devamı						
Olgu no	Selülarite	Pleomorfizm	Mitoz	Nekroz	VEP	Grade
50	+++	++	+	+	+	IV
51	+++	++	+	+	+	IV
52	++	+	-	-	-	I
53	+++	+++	+	+	+	IV
54	+++	+++	+	+	+	IV
55	++	+	-	-	-	II
56	+++	++	+	+	+	IV
57	+	+	-	-	-	I
58	+++	++	+	+	+	IV
59	+++	++	+	+	+	IV
60	++	+	-	-	-	II
61	++	+	-	-	-	I
62	+++	+++	+	-	+	IV
63	+++	++	+	+	+	IV
64	++	+	-	-	-	I
65	+++	++	+	+	+	IV
66	+++	+++	+	+	+	IV
67	+++	+++	+	+	-	IV
68	+++	++	+	-	-	III
69	+++	++	+	-	+	IV
70	++	++	-	-	-	II



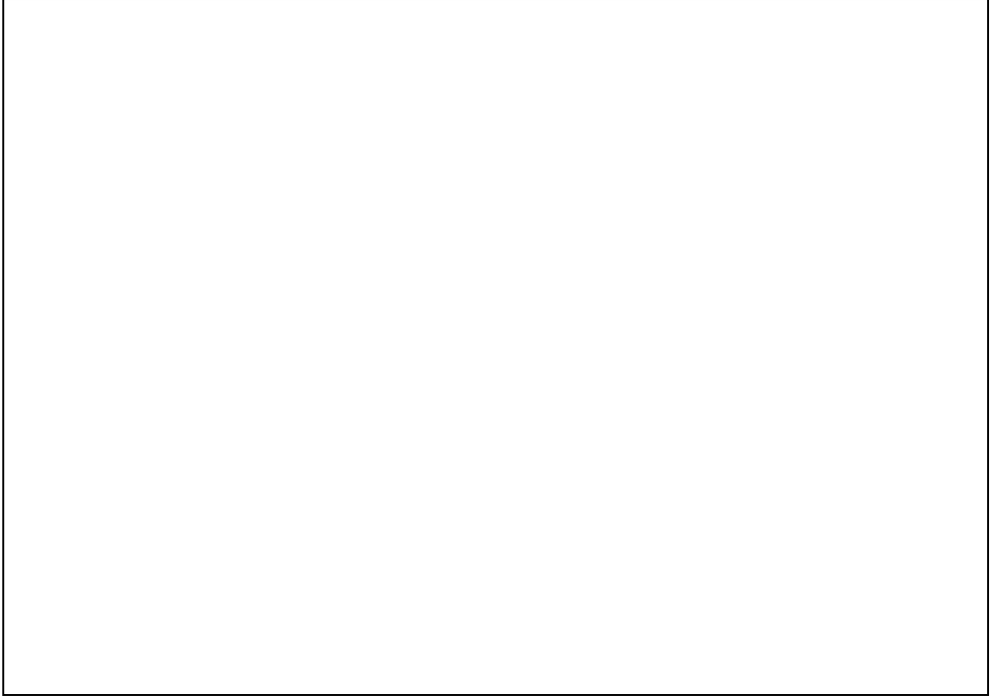
Resim-4.1. Fibriler matris içinde Rosenthal fibriller, eozinofilik granüler cisimcikler içeren pilositik astrositom (H&E; x25)



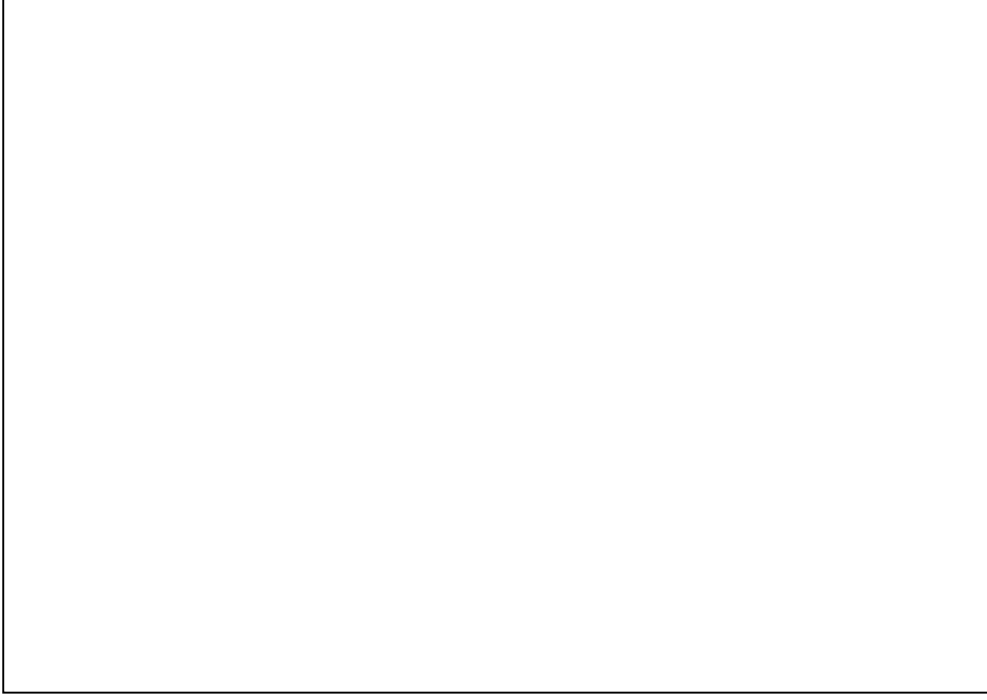
Resim-4.2. Hafif nükleer pleomorfizm ve mikrokistik değişiklikler içeren difüz astrositom (H&E; x25)



Resim-4.3. Hafif nükleer pleomorfizm, nükleer hiperkromazi ve orta selülarite içeren difüz astrositom (H&E; x25)



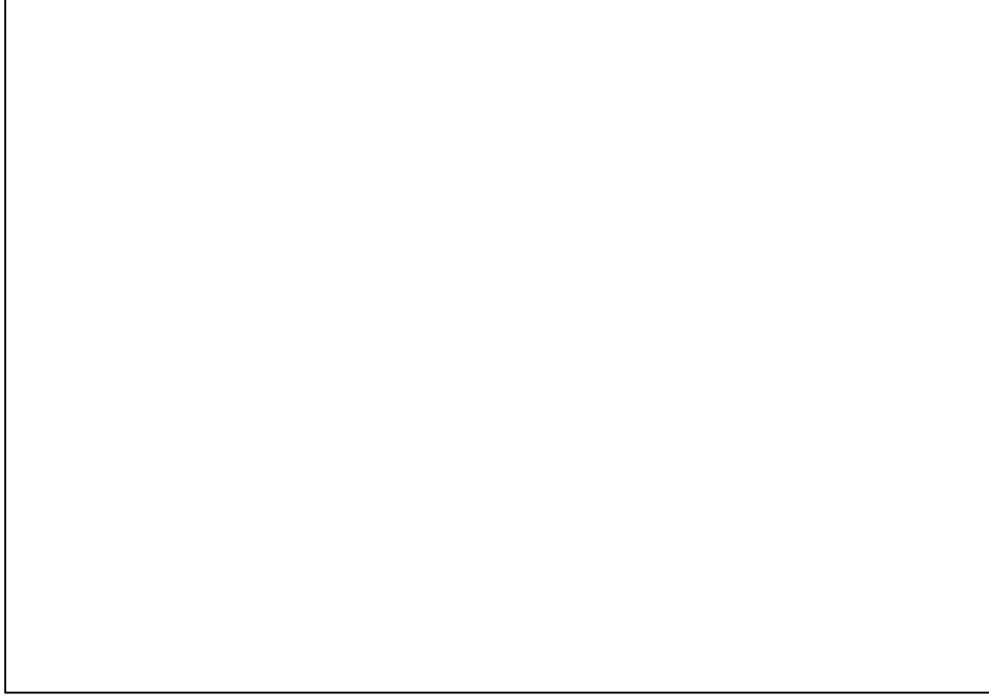
Resim-4.4. Artmış selülarite, selüler atipi ve pleomorfizm içeren anaplastik astrositom (H&E; x25)



Resim-4.5. Artmış selülarite ve koagölasyon nekrozu, nekroz çevresi psödopalizatik tümör hücreleri içeren glioblastoma multiforme (H&E; x10)



Resim-4.6. Vasküler endotelyal proliferasyon içeren glioblastoma multiforme (H&E; x25)



Resim-4.7. Vasküler endotelyal proliferasyonunun oluşturduğu glomerüloid yumaklar içeren glioblastoma multiforme (H&E; x25)



Resim-4.8. Şiddetli selülarite, nükleer pleomorfizm ve mitoz içeren glioblastoma multiforme (H&E; x50)

İmmünohistokimya uygulamasından sonra CD44 ile membranöz boyanma yoğunluğu değerlendirildi. CD44 ile membranöz boyanma yoğunluğunun grade'lere göre dağılımı **Tablo 4.3**'de verilmiştir. Buna göre, Grade I olan 9 olgunun 7'sinde (%77.8) zayıf membranöz boyanma (**Resim 4.9**), 2'sinde (%22.2) orta membranöz boyanma gözlemlendi (**Resim 4.10,11**). Grade II olan 14 olgunun 3'ünde (%21.4) zayıf membranöz boyanma (**Resim 4.12**), 11'inde (%78.6) orta membranöz boyanma saptandı (**Resim 4.13**). Grade III olan 3 olgunun 2'sinde (%66.7) orta membranöz boyanma, 1'inde (%33.3) kuvvetli membranöz boyanma gözlemlendi (**Resim 4.14,15**). Grade IV olan 44 olgunun 6'sında (%13.6) orta membranöz boyanma (**Resim 4.16**), 38'inde (%86.4) kuvvetli membranöz boyanma izlendi (**Resim 4.17,18**). Grade I ve Grade II'de kuvvetli membranöz boyanma görülmez iken, Grade III ve Grade IV'de ise zayıf membranöz boyanma görülmedi. Orta membranöz boyanma Grade II olgularının 11'inde (%78.6) izlenir iken, kuvvetli membranöz boyanma Grade IV olgularının 38'inde (%86.4) izlendi.

Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı. CD44 ile zayıf membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

CD44 ile orta membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade II arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

Tablo-4.3: CD 44 ve MT1-MMP ile membranöz boyanmanın grade'lere göre dağılımı

	CD 44 membranöz boyanma			MT1 MMP membranöz boyanma		
	+*	++**	+++***	+*	++**	+++***
Grade I N=9	7 %77.8	2 %22.2	-	9 %100	-	-
Grade II n=14	3 %21.4	11 %78.6	-	7 %50	6 %42.9	1 %7.1
Grade III N=3	-	2 %66.7	1 %33.3	-	2 %66.7	1 %33.3
Grade IV n=44	-	6 %13.6	38 %86.4	-	30 %68.2	14 %31.8
Toplam n=70	10	21	39	16	38	16

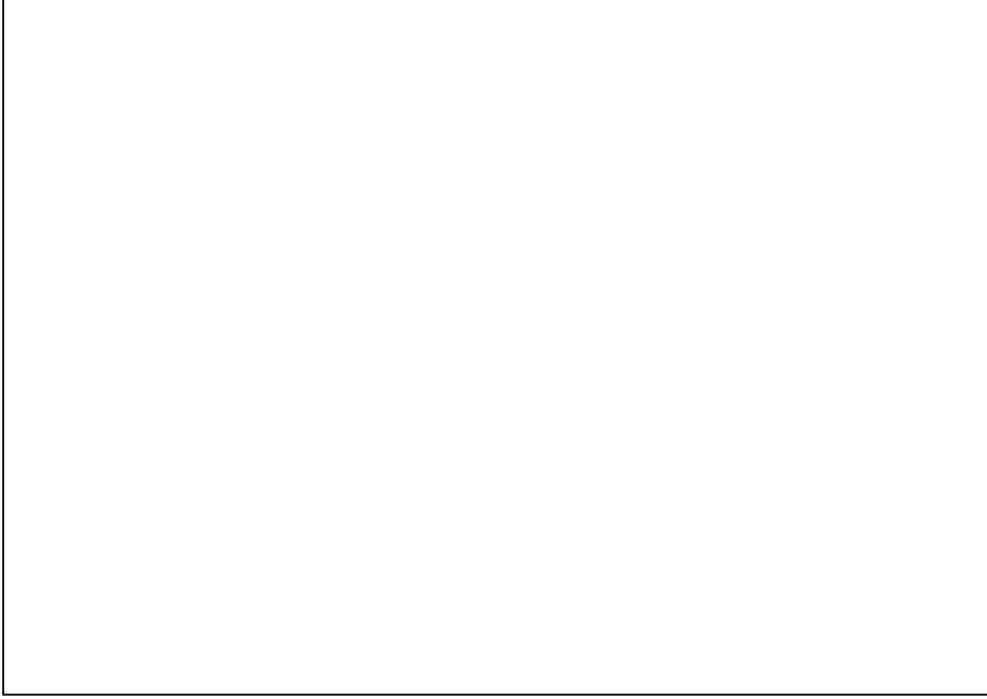
* :Zayıf boyanma

** : Orta boyanma

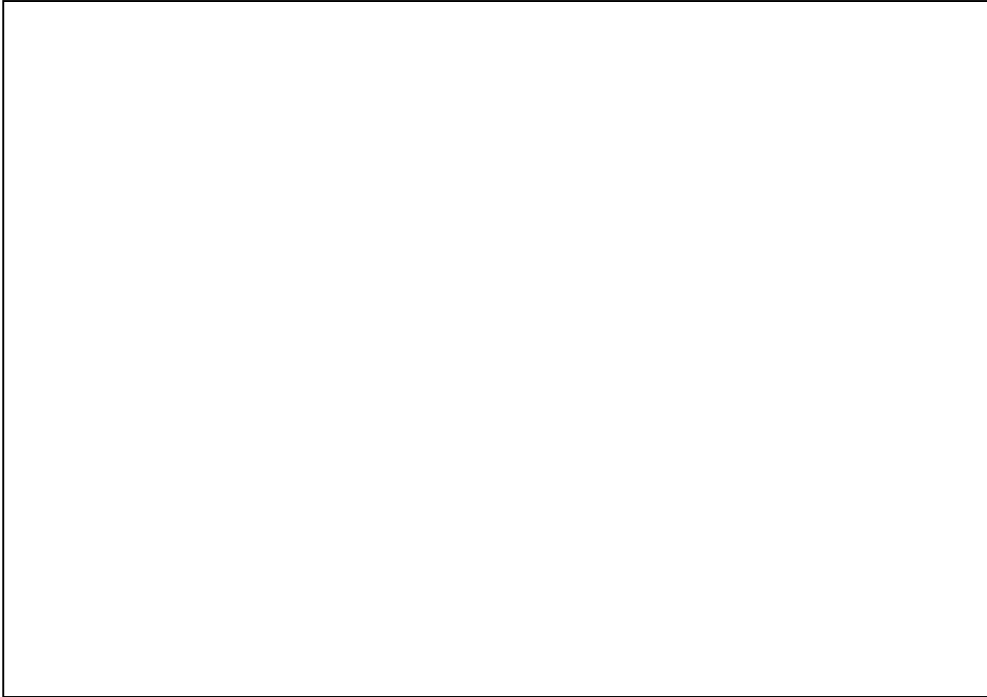
*** : Kuvvetli boyanma



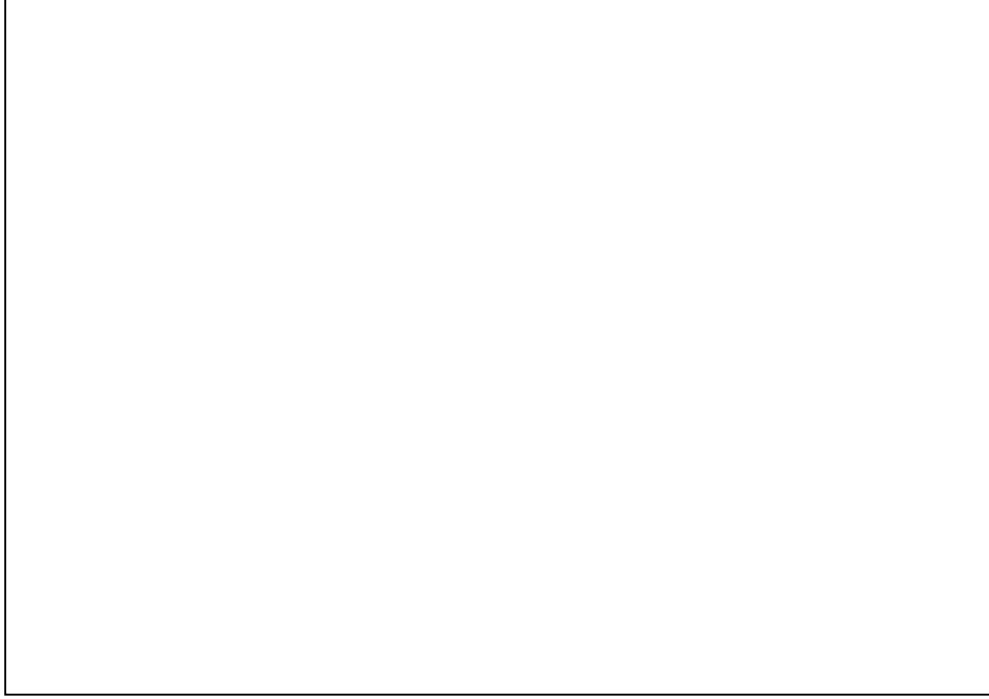
Resim-4.9. CD44 ile zayıf membranöz boyanma ve + sitoplazmik boyanma gösteren pilositik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



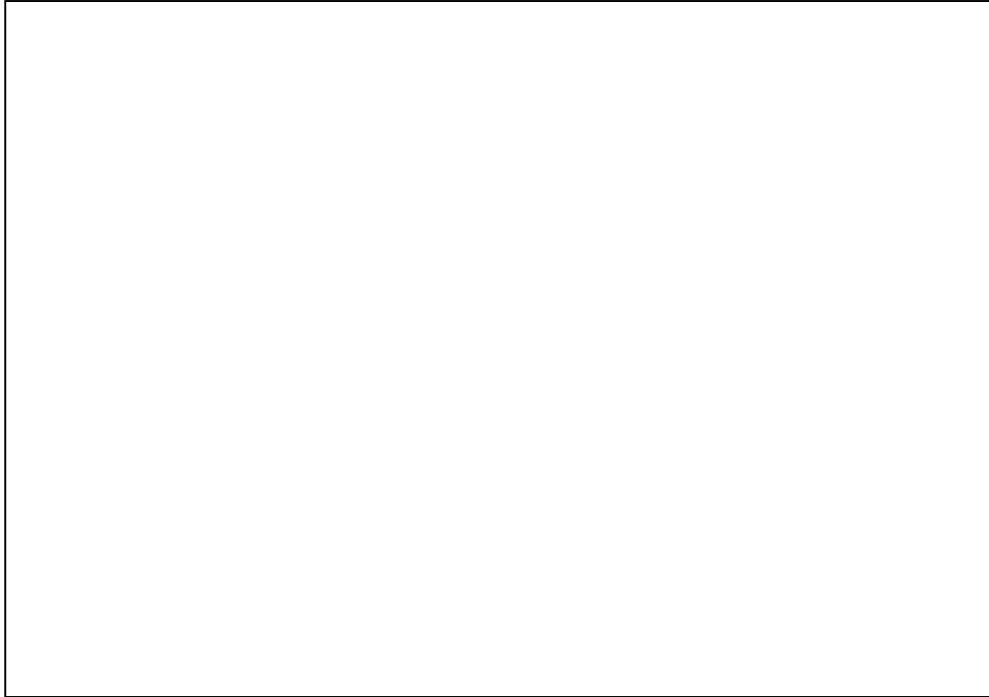
Resim-4.10. CD44 ile orta membranöz boyanma gösteren pilositik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



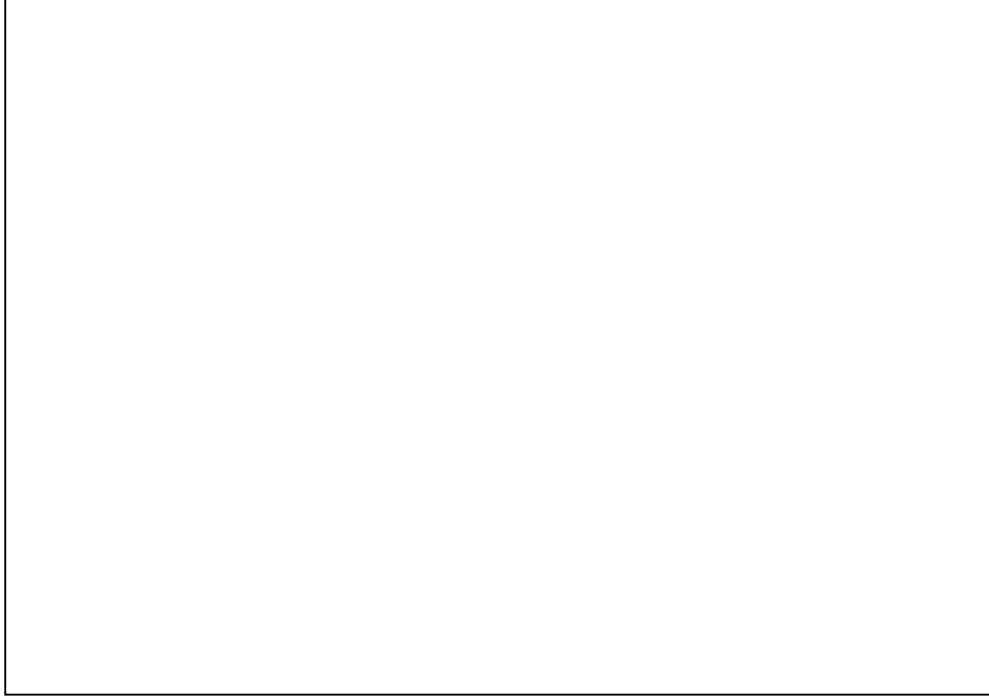
Resim-4.11. CD44 ile orta membranöz boyanma ve ++ sitoplazmik boyanma gösteren pilositik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



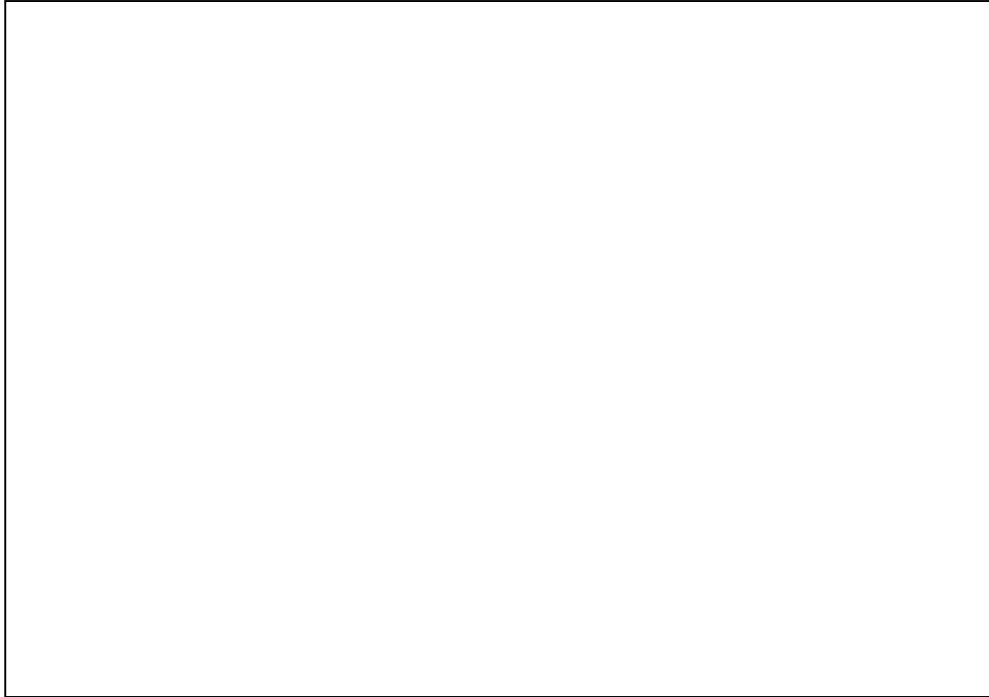
Resim-4.12. CD44 ile zayıf membranöz boyanma ve + sitoplazmik boyanma gösteren difüz astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



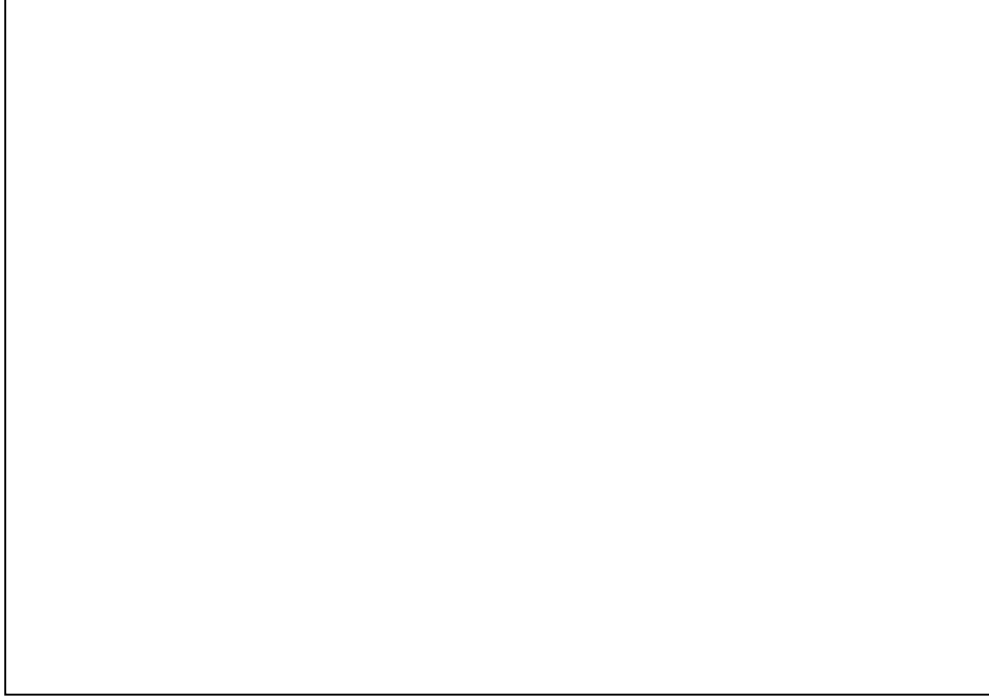
Resim-4.13. CD44 ile orta membranöz boyanma gösteren difüz astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



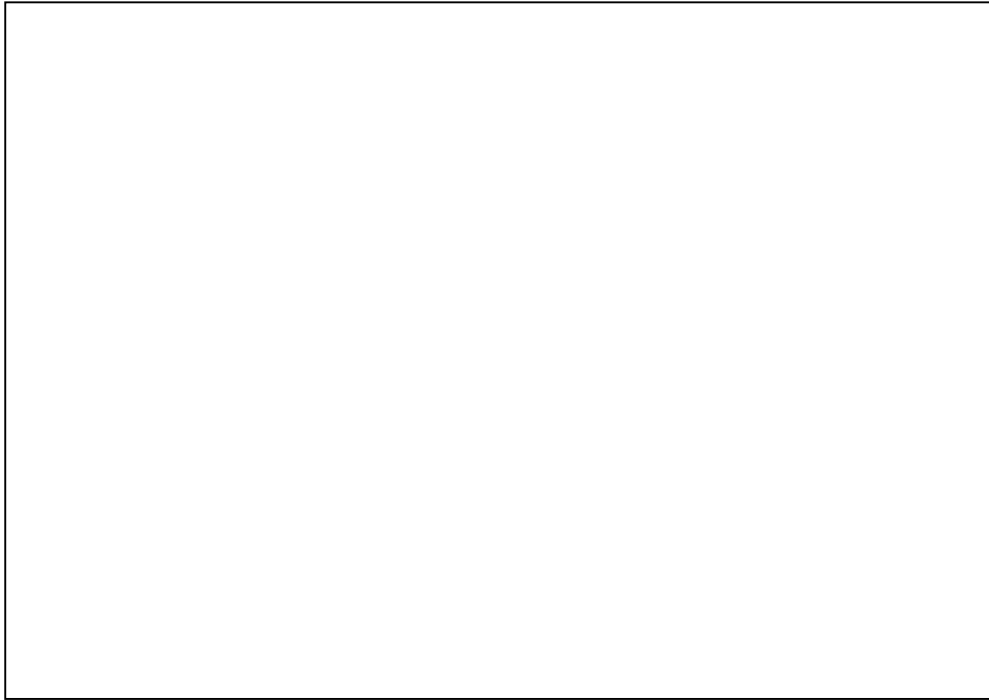
Resim-4.14. CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma ve + sitoplazmik boyanma gösteren anaplastik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



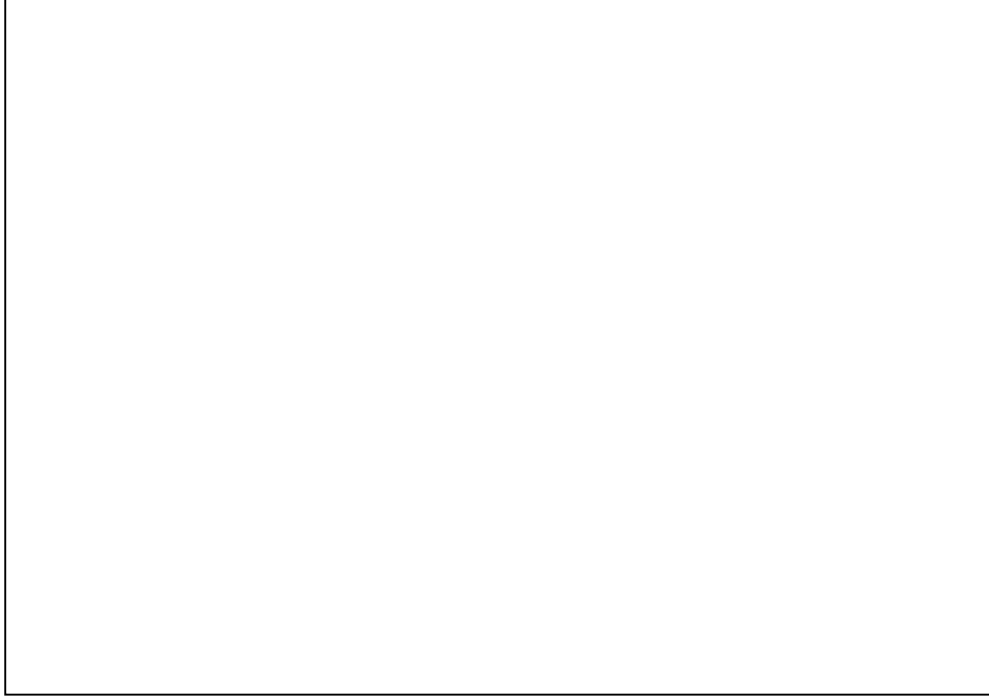
Resim-4.15. CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma gösteren anaplastik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.16. CD44 ile orta membranöz boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.17. CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma ve ++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.18. CD44 ile kuvvetli membranöz boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50)

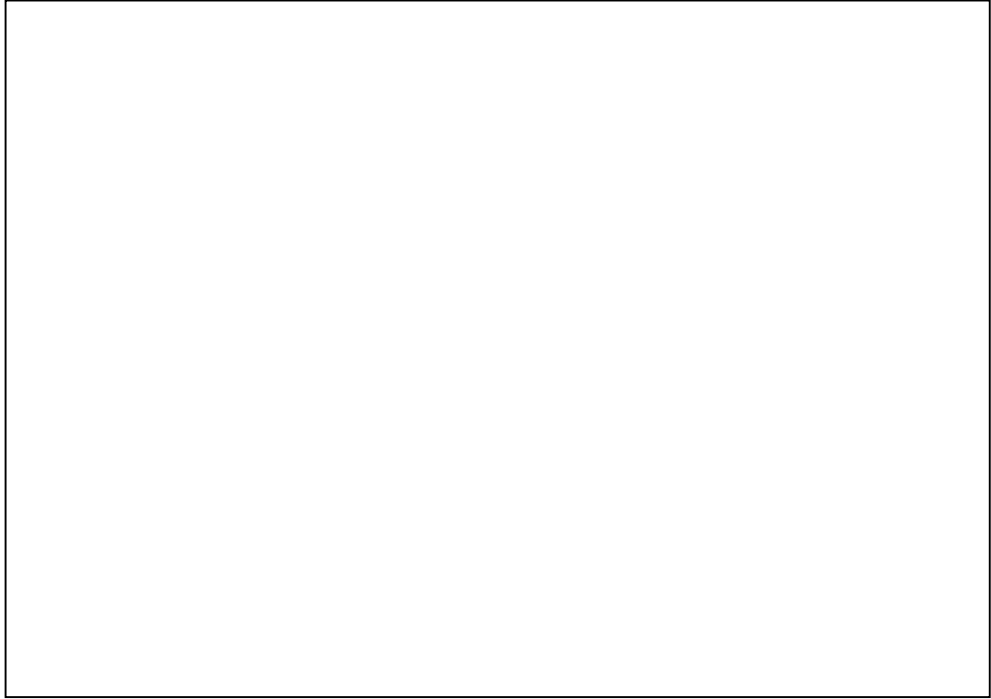
MT1-MMP ile membranöz boyanma yoğunluğunun grade'lere göre dağılımı **Tablo 4.3'**de verilmiştir. MT1-MMP ile membranöz boyanma yoğunluğu Grade I olan 9 olgunun 9'unda (%100) zayıf membranöz boyanma şeklinde izlendi (**Resim 4.19**). Grade II olan 14 olgunun 7'sinde (%50) zayıf membranöz boyanma, 6'sında (%42.9) orta membranöz boyanma (**Resim 4.20**), 1'inde (%7.1) kuvvetli membranöz boyanma gözlemlendi. Grade III olan 3 olgunun 2'sinde (%66.7) orta membranöz boyanma, 1'inde (%33.3) kuvvetli membranöz boyanma gözlemlendi (**Resim 4.21**). Grade IV olan 44 olgunun 30'unda (%68.2) orta membranöz boyanma, 14'ünde (%31.8) kuvvetli membranöz boyanma izlendi (**Resim 4.22,23**). Grade I'in 9'unda (%100), Grade II'nin 7'sinde (%50) zayıf membranöz boyanma izlenir iken, Grade III ve Grade IV'de zayıf membranöz boyanma izlenmedi. Orta membranöz boyanma Grade IV olgularının 30'unda (%68.2) gözlemlendi. Kuvvetli membranöz boyanma Grade IV olgularının 14'ünde (%31.8) izlendi. Grade III olgularının ise 1'inde (%33.3) kuvvetli membranöz boyanma izlendi.

İstatistiksel analiz sonucunda MT1-MMP ile zayıf membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I

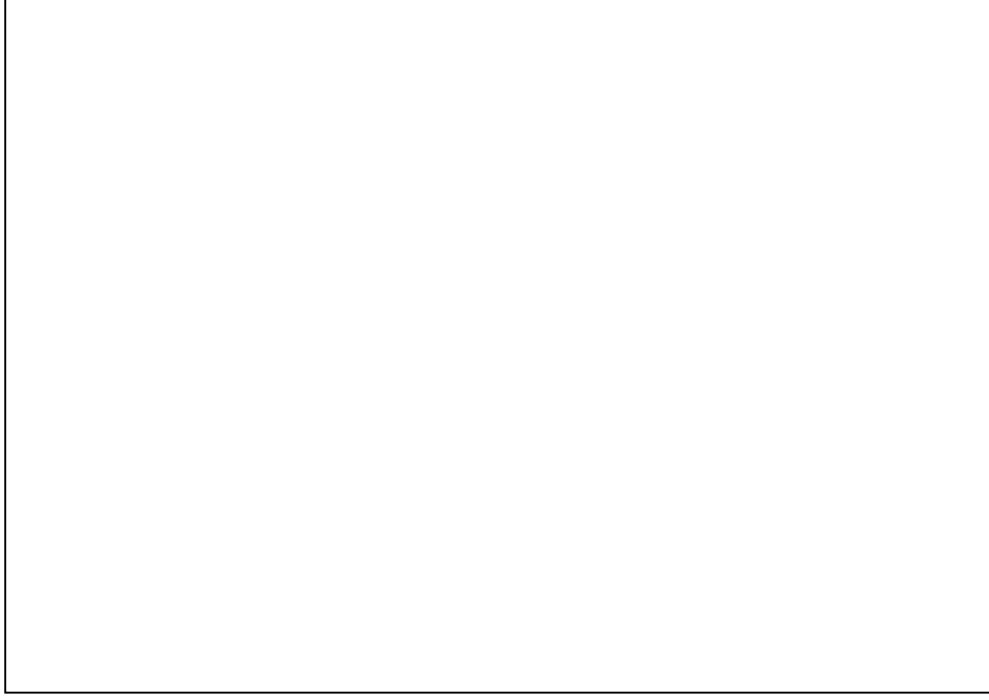
ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

MT1-MMP ile orta membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

MT1-MMP ile kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).



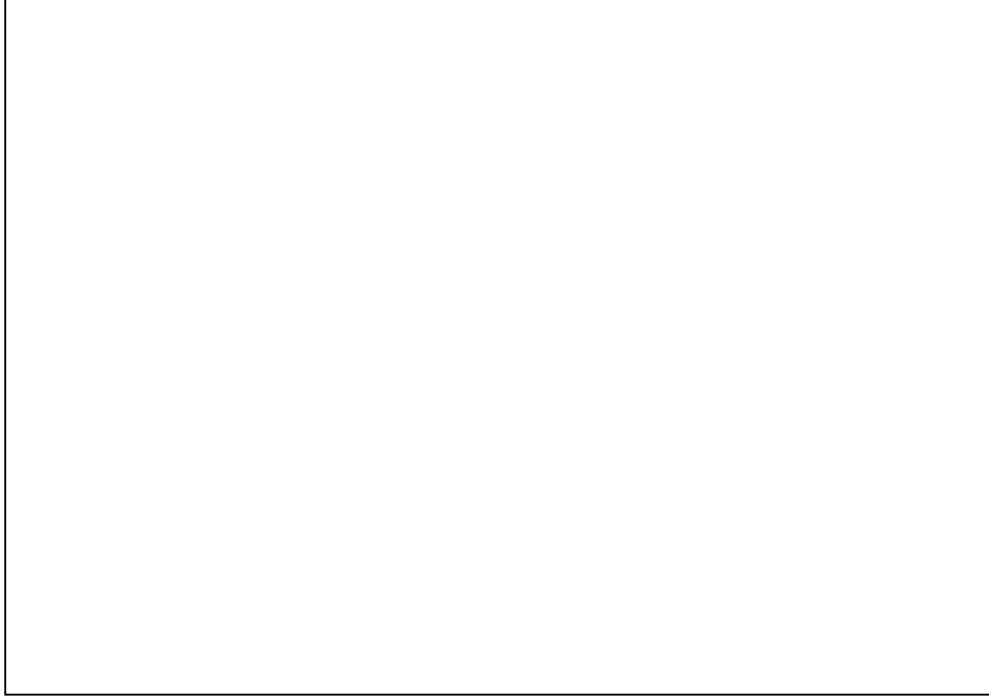
Resim-4.19. MT1-MMP ile zayıf membranöz boyanma gösteren pilositik astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



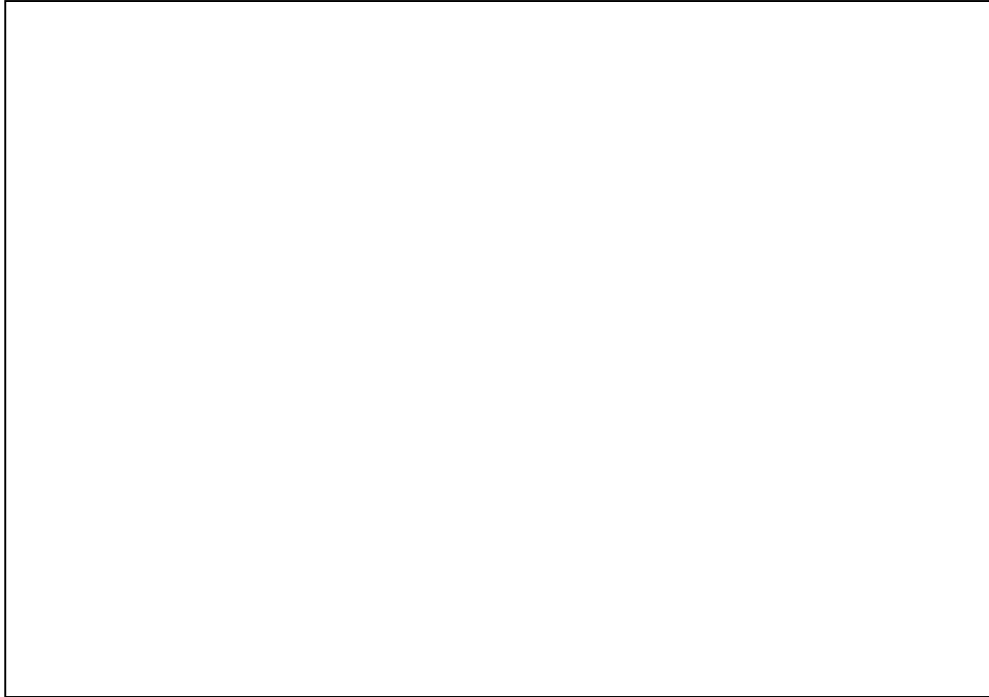
Resim-4.20. MT1-MMP ile orta membranöz boyanma gösteren difüz astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



Resim-4.21. MT1-MMP ile kuvvetli membranöz boyanma gösteren anaplastik astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz x50)



Resim-4.22. MT1-MMP ile kuvvetli membranöz boyanma ve +++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.23. MT1-MMP ile kuvvetli membranöz boyanma ve ++++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)

CD44 ile sitoplazmik boyanma oranının grade'lere göre dağılımı **Tablo 4.4**'de verilmiştir. CD44 ile sitoplazmik boyanan hücrelerin oranı değerlendirildiğinde, Grade I'de 9 olgunun 7'sinde (%77.8) boyanma izlenmedi, 1 (%11.1) olguda sitoplazmik boyanma + (**Resim 4.9**), 1 (%11.1) olguda sitoplazmik boyanma ++ idi (**Resim 4.11**). Grade II'de 14 olgunun 3'ünde (%21.4) boyanma izlenmedi, 6 (%42.9) olguda sitoplazmik boyanma + (**Resim 4.12**), 4 (%28.6) olguda sitoplazmik boyanma ++, 1 (%11.1) olguda sitoplazmik boyanma +++ idi. Grade III'de 3 olgunun 1'inde (%33.3) sitoplazmik boyanma + (**Resim 4.14**), 1 (%33.3) olguda sitoplazmik boyanma +++ (**Resim 4.24**), 1 (%33.3) olguda sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi. Grade IV'de 44 olgunun 1'inde (%2.3) sitoplazmik boyanma ++ (**Resim 4.17**), 13 (%29.5) olguda sitoplazmik boyanma +++ (**Resim 4.25**), 30 (%68.2) olguda sitoplazmik boyanma ++++ idi. Grade I'de +++ ve ++++ sitoplazmik boyanma, Grade II'de ++++ sitoplazmik boyanma, Grade III'de ++ sitoplazmik boyanma, Grade IV'de + sitoplazmik boyanma izlenmedi. Grade I olgularının 7'sinde (%77.8) sitoplazmik boyanma izlenmezken, Grade II olgularının 6'sında (%42.9) sitoplazmik boyanma + idi. Grade III olgularının 1'er (%33.3) olgu ile +, ++, ++++ sitoplazmik boyanma oranları eşitti. Grade IV olgularının ise 30'unda (%68.2) sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi.

Yapılan istatistiksel analizde, CD44 ile sitoplazmik boyanmama yönünden, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

CD44 ile sitoplazmik boyanma + için, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

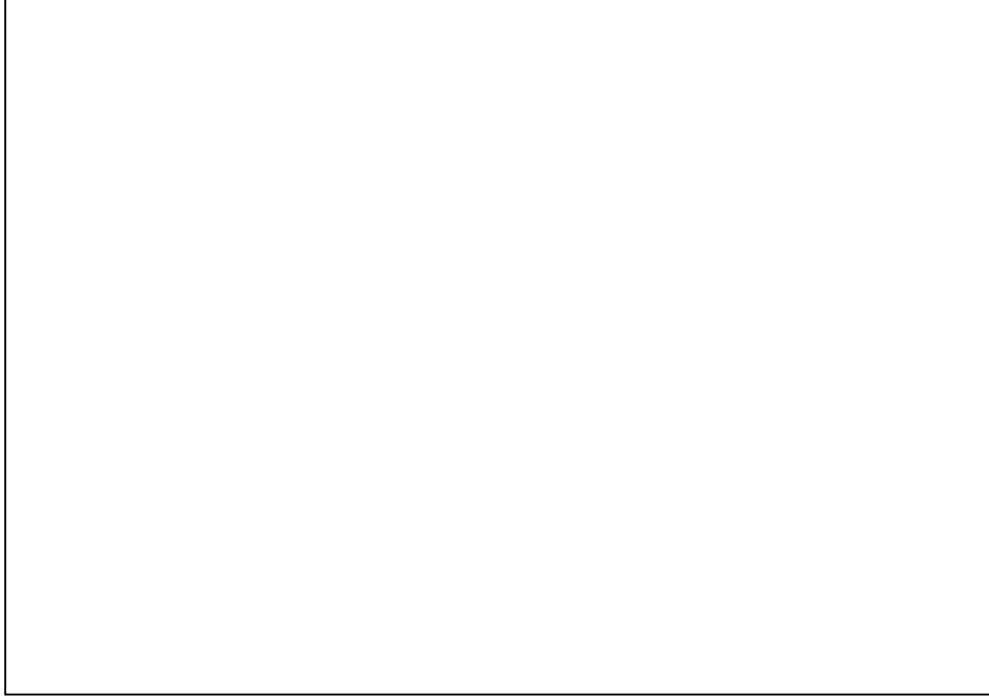
CD44 ile sitoplazmik boyanma ++ için, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

CD44 ile sitoplazmik boyanma +++ için, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p>0.05$).

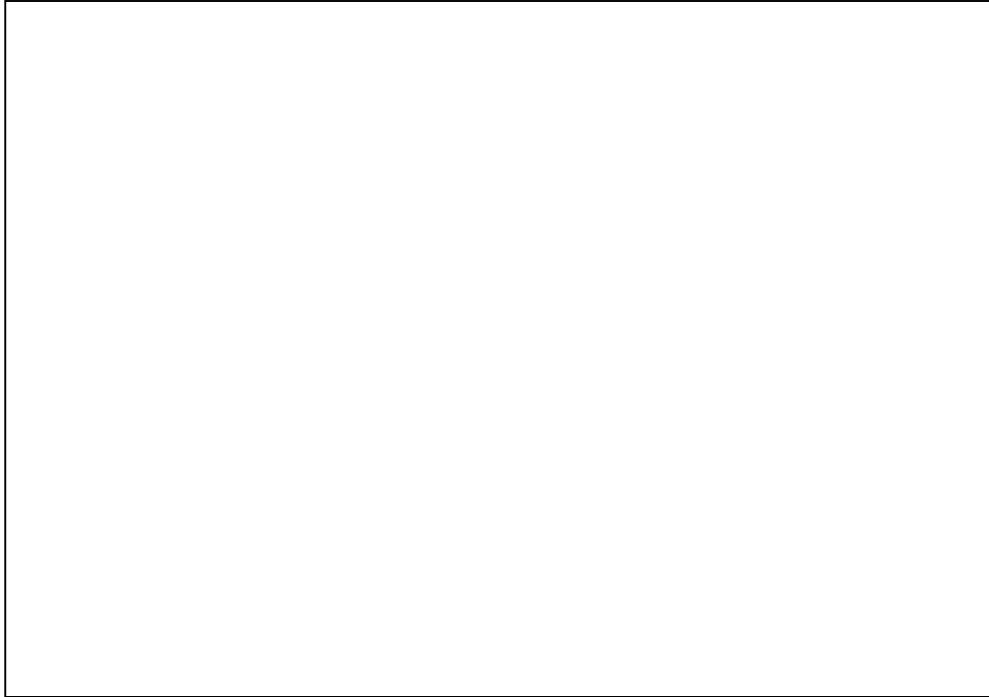
CD44 ile sitoplazmik boyanma ++++ için, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grade I ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p>0.05$).

Tablo-4.4: CD44 ve MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmanın grade'lere göre dağılımı

	CD 44 sitoplazmik boyanma					MT1 – MMP sitoplazmik boyanma				
	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++
Grade I n=9	7 %77.8	1 %11.1	1 %11.1	-	-	1 %11.1	6 %66.7	2 %22.2	-	-
Grade II n=14	3 %21.4	6 %42.9	4 %28.6	1 %7.1	-	-	-	5 %35.7	6 %42.9	3 %21.4
Grade III n=3	-	1 %33.3	-	1 %33.3	1 %33.3	-	-	-	1 %33.3	2 %66.7
Grade IV n=44	-	-	1 %2.3	13 %29.5	30 %68.2	-	-	-	7 %15.9	37 %84.1
Toplam n=70	10	8	6	15	31	1	6	7	14	42



Resim-4.24. CD44 ile +++ sitoplazmik boyanma ve orta membranöz boyanma gösteren anaplastik astrositom (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



Resim-4.25. CD44 ile +++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (CD44, avidin-biotin-peroksidaz; x25)

MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma oranının grade'lere dağılımı **Tablo 4.4**'de verilmiştir. MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma oranları değerlendirildiğinde Grade I'deki 9 olgunun 1'inde (%11.1) sitoplazmik boyanma izlenmedi, 6 (%66.7) olguda sitoplazmik boyanma +, 2 (%22.2) olguda sitoplazmik boyanma ++ idi. Grade II'deki 14 olgunun 5'inde (%35.7) sitoplazmik boyanma ++ (**Resim 4.26**), 6 (%42.9) olguda sitoplazmik boyanma +++, 3 (%21.4) olguda sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi (**Resim 4.27**). Grade III'deki 3 olgunun 1'inde (%33.3) sitoplazmik boyanma +++, 2 (%66.7) olguda sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi. Grade IV'deki 44 olgunun 7'sinde (%15.9) sitoplazmik boyanma + (Resim 4.28), 36 (%84.1) olguda sitoplazmik boyanma ++++ (**Resim 4.23**) gözlemlendi. Grade I'de +++ ve ++++ Grade II, Grade III, Grade IV'de + sitoplazmik boyanma, Grade III, Grade IV'de + ve ++ sitoplazmik boyanma izlenmedi. Grade I'de 6 (%66.7) olguda + sitoplazmik boyanma izlenirken Grade II'de 6 (%42.9) olguda +++ sitoplazmik boyanma, Grade III'de ise 2 (%66.7) olguda ++++ sitoplazmik boyanma izlendi. Grade IV'de ise 36 (%84.1) olguda ++++ sitoplazmik boyanma gözlemlendi.

Yapılan istatistiksel analizde, MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmama yönünden, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p>0.05$).

MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma + için, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grade I ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p>0.05$).

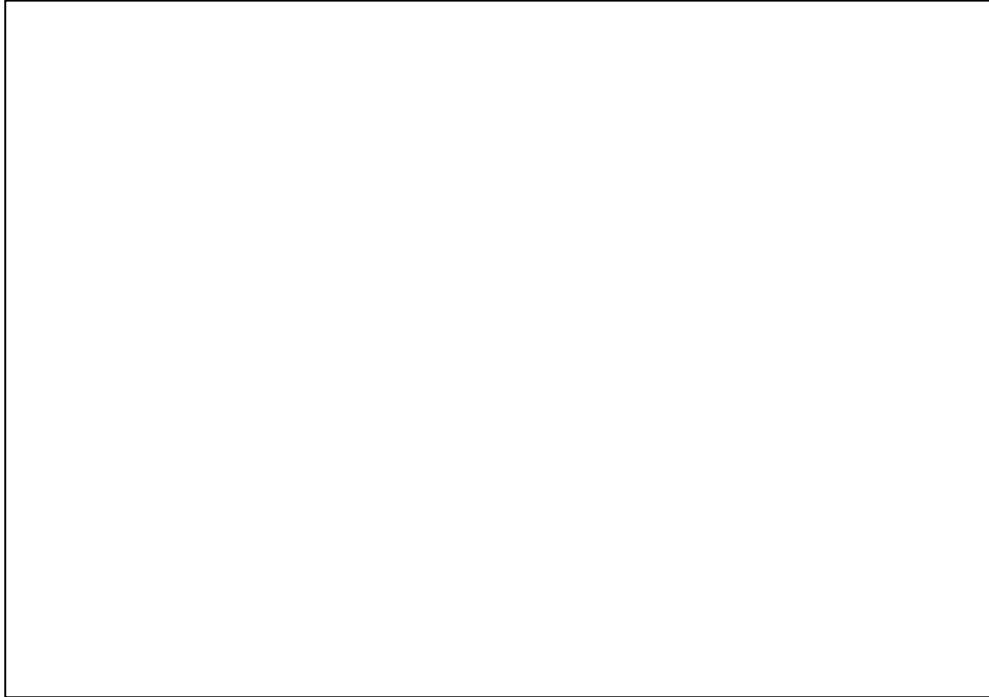
MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma ++ için, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p>0.05$).

MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma +++ için, Grade I ile Grade II arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p<0.05$). Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p>0.05$).

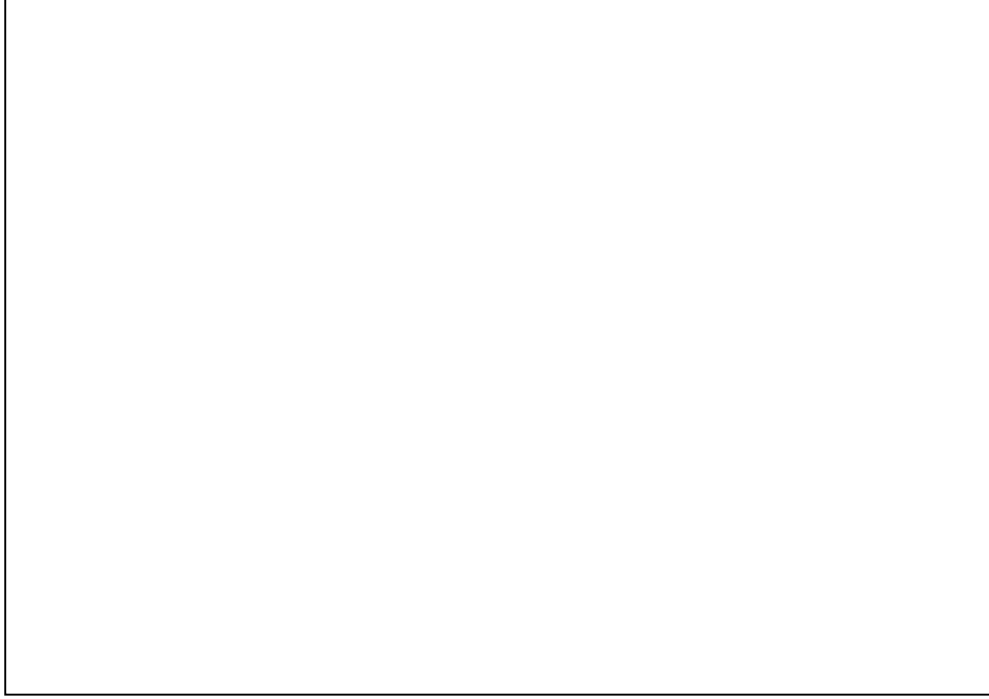
MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma ++++ için, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu

($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

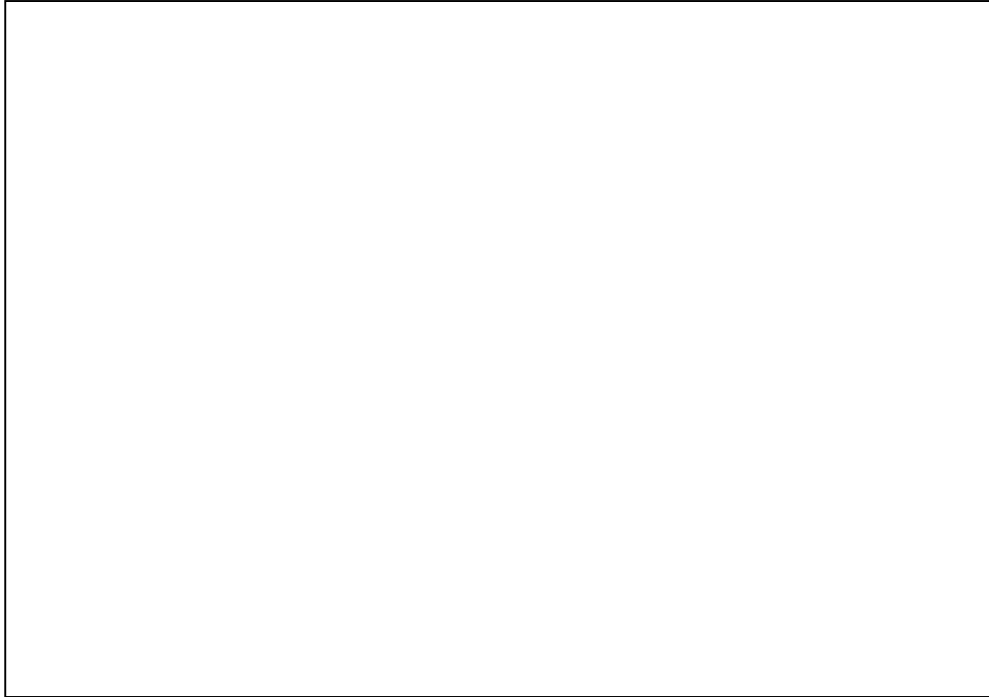
CD44 ve MT1-MMP boyanma yoğunluğunun grade'ler arasında yapılan karşılaştırılmasında istatistiksel olarak farklılığın anlamsız bulunmasının nedeni Grade III olgularının DSÖ kriterlerine göre yeniden değerlendirilmesi sonucunda 3 olgunun bulunmasıdır. Bu nedenle çalışmada, Grade I ve Grade II olguları düşük dereceli astrositik tümörler (DDAT), Grade III ve Grade IV olguları yüksek dereceli astrositik tümörler (YDAT) olarak sınıflandırıldı. Düşük dereceli astrositik tümörler ve yüksek dereceli astrositik tümörler, CD44 ve MT1-MMP boyanma yoğunluğu yönünden yeniden istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



Resim-4.26. MT1-MMP ile ++ sitoplazmik boyanma gösteren difüz astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



Resim-4.27. MT1-MMP ile ++++ sitoplazmik boyanma gösteren difüz astrositom (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)



Resim-4.28. MT1-MMP ile +++ sitoplazmik boyanma gösteren glioblastoma multiforme (MT1-MMP, avidin-biotin-peroksidaz; x50)

CD44 ile membranöz boyanma yoğunluğunun düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı **Tablo 4.5**'de verilmiştir. CD44 ile membranöz boyanma yoğunluğu bakımından DDAT'deki 23 olgunun 10'unda (%43.5) zayıf membranöz boyanma, 13'ünde (%56.5) orta membranöz boyanma gözlemlendi. YDAT'lerdeki 47 olgunun 8'inde (%17.0) orta membranöz boyanma, 39'unda (%83.0) kuvvetli membranöz boyanma gözlemlendi. DDAT'lerde kuvvetli membranöz boyanma, YDAT'lerde zayıf membranöz boyanma izlenmedi. DDAT'lerde 13 (%56.5) olguda orta membranöz boyanma izlenirken, YDAT'lerde 39 (%83.0) olguda kuvvetli membranöz boyanma gözlemlendi. DDAT'lerin ve YDAT'lerin CD44 ile membranöz boyanma yoğunluğu grafik olarak gösterilmiştir (**Şekil 4.1**).

Yapılan istatistiksel analizde DDAT'ler ile YDAT'ler arasında CD44 ile zayıf, orta, kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=47.55$, $p < 0.05$).

Tablo-4.5: CD44 ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı

	CD44 membranöz boyanma			Toplam
	+	++	+++	
DDAT	10 %43.5	13 %56.5	0 %0.0	23 %100
YDAT	0 %0.0	8 %17.0	39 %83.0	47 %100
Toplam	10	21	39	70 %100

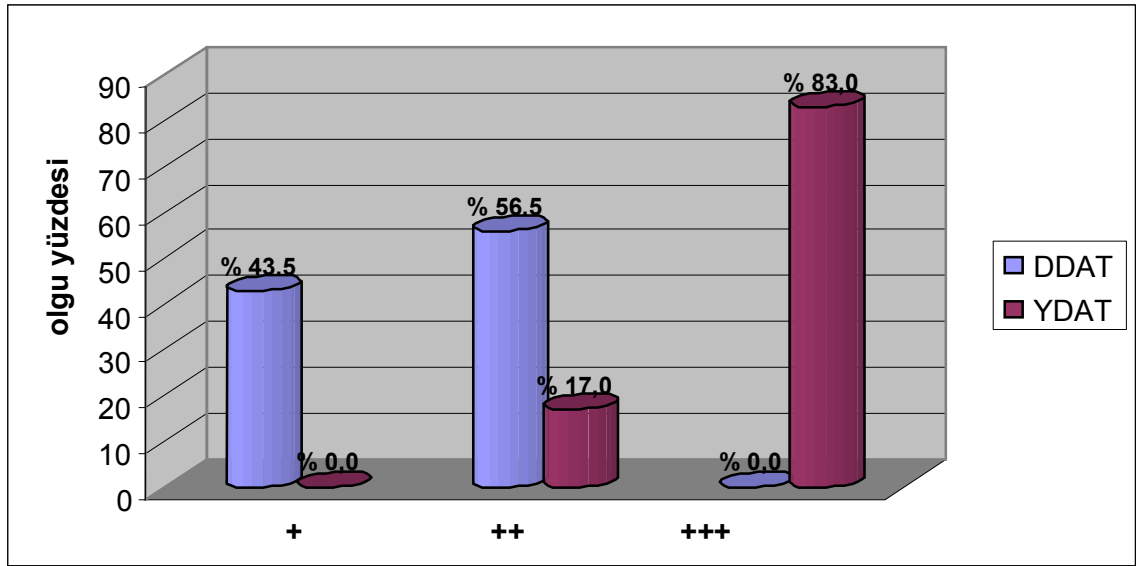
* : Zayıf boyanma

** : Orta boyanma

*** : Kuvvetli boyanma

DDAT: Düşük dereceli astrositik tümör

YDAT: Yüksek dereceli astrositik tümör



Şekil 4.1: CD44 ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.

CD44 ile sitoplazmik boyanma oranının düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı **Tablo 4.6**'da verilmiştir. CD44 ile sitoplazmik boyanan hücrelerin oranı değerlendirildiğinde DDAT'lerdeki 23 olgunun 10'unda (%43.5) sitoplazmik boyanma izlenmedi, 7 (%30.4) olguda sitoplazmik boyanma +, 5 (%21.7) olguda sitoplazmik boyanma ++, 1 (%4.3) olguda sitoplazmik boyanma +++ idi. YDAT'lerdeki 1 (%2.1) olguda sitoplazmik boyanma +, 1 (%2.1) olguda sitoplazmik boyanma ++, 14 (%29.8) olguda sitoplazmik boyanma +++, 31 (%66) olguda sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi. DDAT'lerde ++++ sitoplazmik boyanma izlenmedi. DDAT'lerdeki 10 (%43.5) olguda sitoplazmik boyanma izlenmez iken, YDAT'lerdeki 31 (%66) olguda sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi. DDAT'lerin ve YDAT'lerin CD44 ile sitoplazmik boyanma yoğunluğu grafik olarak gösterilmiştir (**Şekil 4.2**).

Yapılan istatistiksel analizde DDAT'ler ile YDAT'ler arasında CD44 ile sitoplazmik boyanma, +, ++, +++, ++++ sitoplazmik boyanma oranı yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=58.02$, $p < 0.05$).

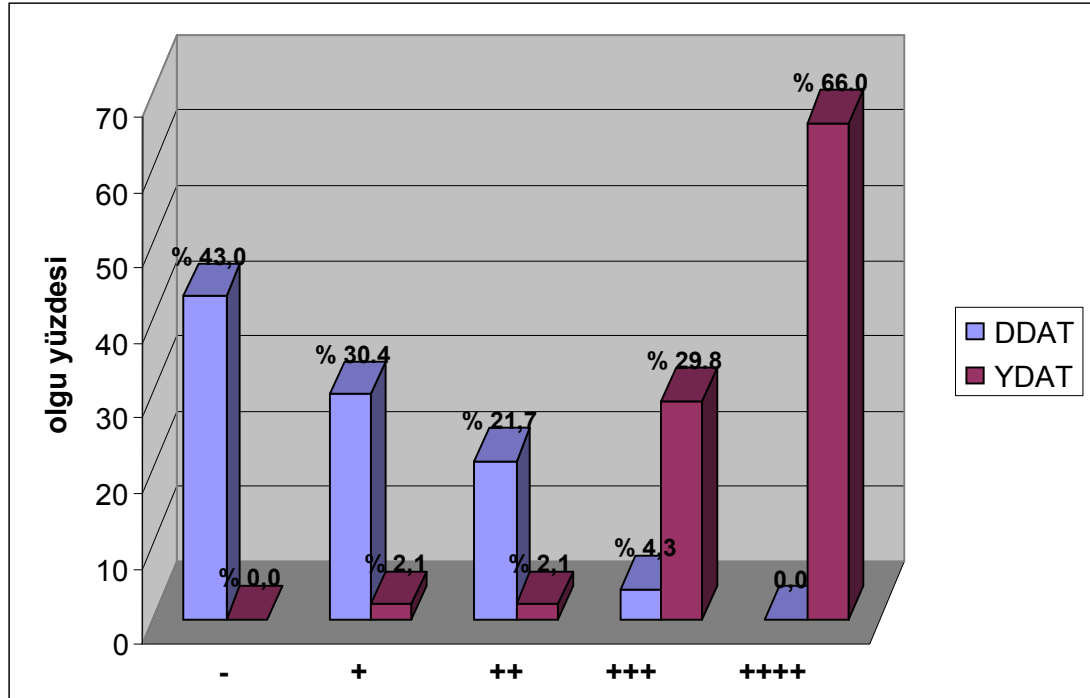
Tablo-4.6: CD44 ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı

	CD44 sitoplazmik boyanma oranı					Toplam
	-	+	++	+++	++++	
DDAT	10 %43.5	7 %30.5	5 %21.7	1 %4.3	0 %0.0	23
YDAT	0 %0.0	1 %2.1	1 %2.1	14 %29.8	31 %66.0	47
Toplam	10	8	6	15	31	70

* : Zayıf boyanma

** : Orta boyanma

*** : Kuvvetli boyanma



Şekil 4.2: CD44 ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı.

MT1-MMP ile membranöz boyanma yoğunluğunun düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı **Tablo 4.7**'de verilmiştir. MT1-MMP ile membranöz boyanma yoğunluğu DDAT'lerdeki 23 olgunun 16'sında (%69.6) zayıf membranöz boyanma, 6'sında (%26.1) orta membranöz boyanma, 1'inde (%4.3) kuvvetli membranöz boyanma izlendi. YDAT'lerdeki 47 olgunun 32'sinde (%68.1) orta membranöz boyanma, 15'inde (%31.9) kuvvetli membranöz boyanma saptandı. YDAT'lerde zayıf membranöz boyanma izlenmedi. DDAT'lerdeki 16 (%69.6) olguda zayıf membranöz boyanma izlenir iken, YDAT'lerdeki 32 (%68.1) olguda orta membranöz boyanma izlendi. DDAT'lerin ve YDAT'lerin MT1-MMP ile membranöz boyanma yoğunluğu grafik olarak gösterilmiştir (**Şekil 4.3**).

Yapılan istatistiksel analizde DDAT'ler ile YDAT'ler arasında MT1-MMP ile zayıf, orta, kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=42.84$, $p < 0.05$).

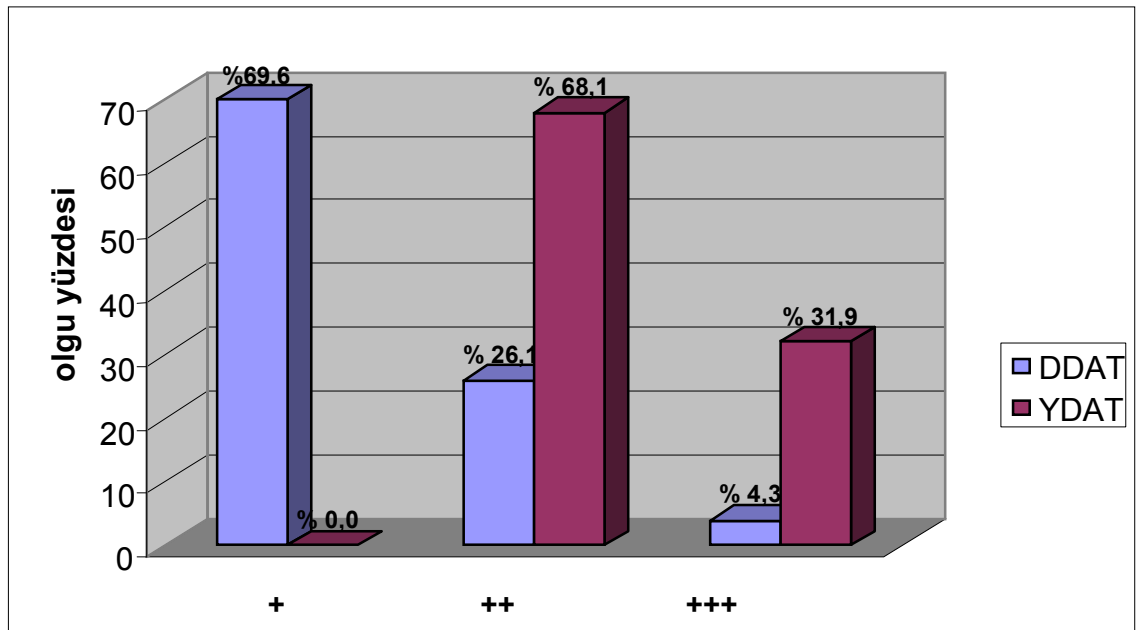
Tablo-4.7: MT1-MMP ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı

	MT1 - MMP membranöz boyanma			Toplam
	+	++	+++	
DDAT	16 %69,6	6 %26,1	1 %4,3	23
YDAT	0 %0.0	32 %68,1	15 %31,9	47
Toplam	16	38	16	70

* : Zayıf boyanma

** : Orta boyanma

*** : Kuvvetli boyanma



Şekil 4.3: MT1 – MMP ile membranöz boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı

MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımları **Tablo 4.8'**de verilmiştir. MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma oranları değerlendirildiğinde DDAT'lerdeki 23 olgunun 1'inde (%4.3) sitoplazmik boyanma izlenmedi, 6 (%26.1) olguda sitoplazmik boyanma +, 7 (%30.4) olguda sitoplazmik boyanma ++, 6 (%26.1) olguda sitoplazmik boyanma +++, 3 (%13) olguda sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi. YDAT'lerdeki 47 olgunun 9'unda (%19.1) sitoplazmik boyanma +++, 38 (%80.9) olguda sitoplazmik boyanma ++++ gözlemlendi. YDAT'lerde + ve ++ sitoplazmik boyanma izlenmedi. DDAT'lerdeki 7 (%30.4) olguda ++ sitoplazmik boyanma izlenirken, YDAT'lerdeki 38 (%80.9) olguda ++++ sitoplazmik boyanma gözlemlendi. DDAT'lerin ve YDAT'lerin MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma yoğunluğu grafik olarak gösterilmiştir (**Şekil 4.4**).

Yapılan istatistiksel analizde DDAT'ler ile YDAT'ler arasında MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmama, +, ++, +++, ++++ sitoplazmik boyanma yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=41.07$, $p < 0.05$).

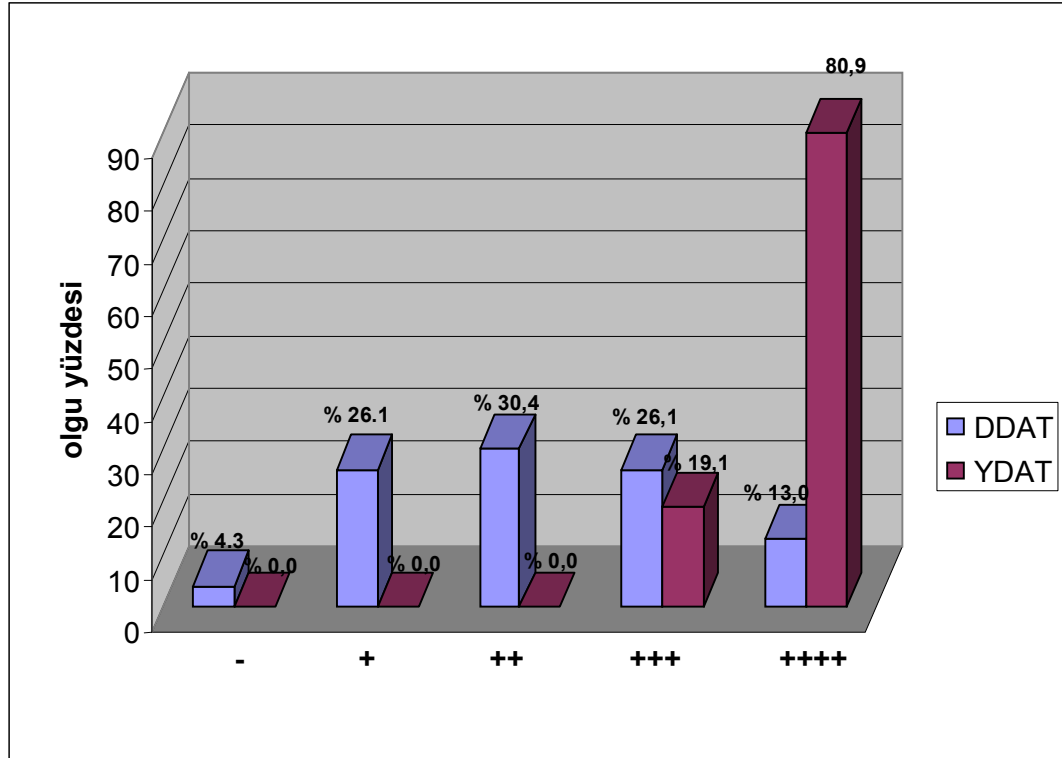
Tablo-4.8: MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı

	MT1 – MMP sitoplazmik boyanma					Toplam
	-	+	++	+++	++++	
DDAT	1 %4.3	6 %26.1	7 %30.4	6 %26.1	3 %13.0	23
YDAT	0 %0.0	0 %0.0	0 %0.0	9 %19.1	38 %80.9	47
Toplam	1	6	7	15	41	70

* : Zayıf boyanma

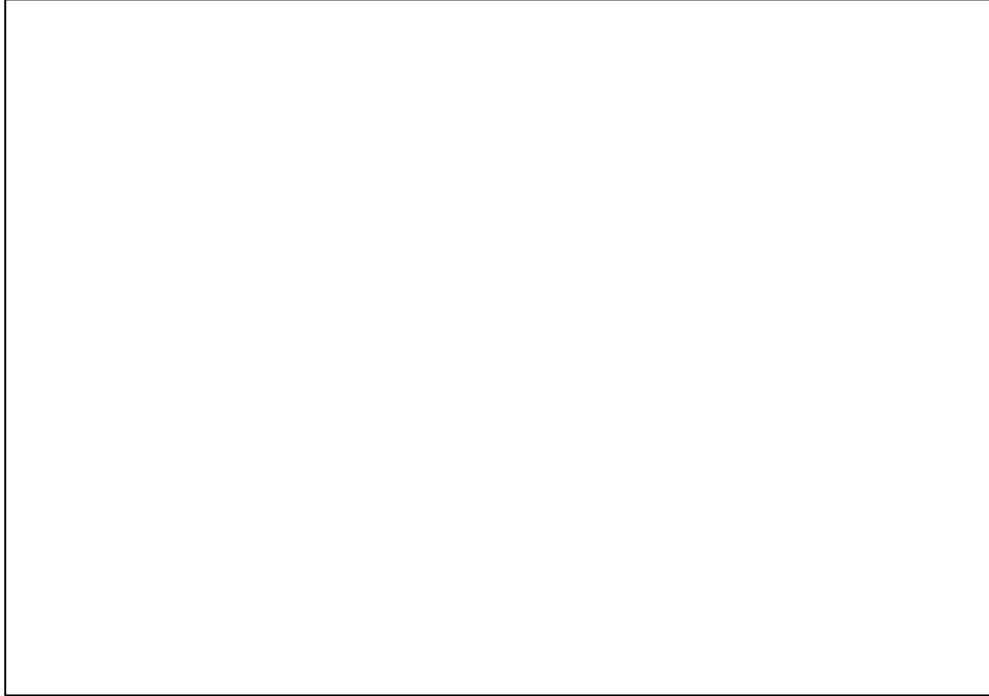
** : Orta boyanma

*** : Kuvvetli boyanma

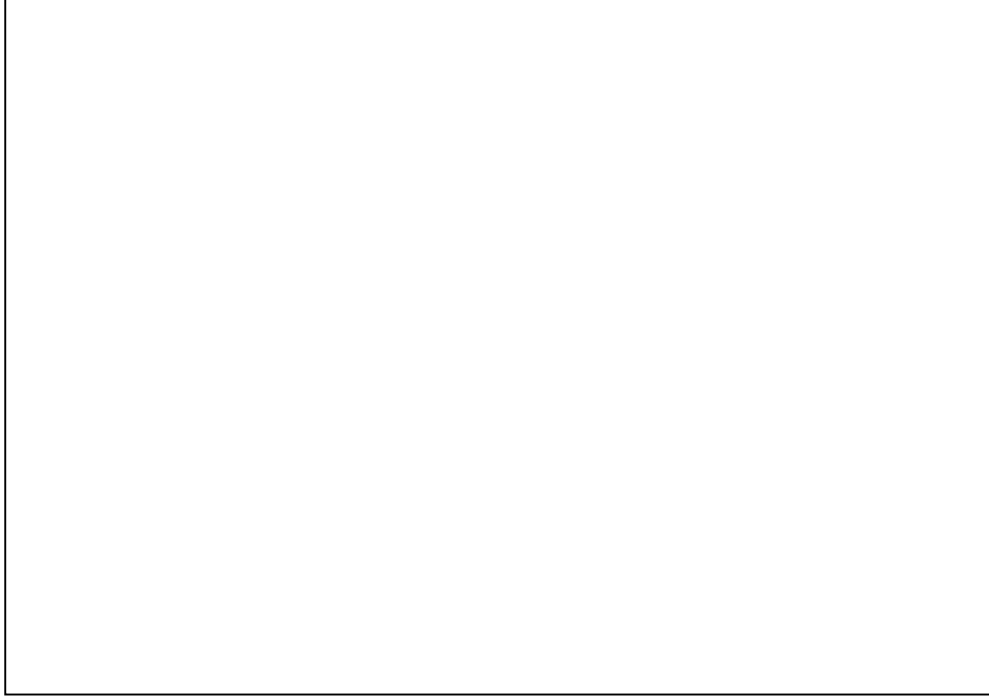


Şekil 4.4: MT1 – MMP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı

Ki-67 antikoru ile düşük dereceli astrositik tümörlerde ve yüksek dereceli astrositik tümörlerde nükleer boyanma oranları değerlendirildi. Proliferasyon indeksleri düşük dereceli astrositik tümörlerde 4.54 ± 7.81 , yüksek dereceli astrositik tümörlerde 18.31 ± 9.51 olarak saptandı (**Resim 4.29,30,31**). Yapılan istatistiksel analizde düşük dereceli astrositik tümörler ile yüksek dereceli astrositik tümörler arasında Ki-67 proliferasyon indeksi yönünden fark anlamlı bulundu ($t=6.01$, $p < 0.05$).



Resim-4.29. Ki-67 indeksi % 6 olan düşük dereceli astrositik tümör (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.30. Ki-67 indeksi % 17 olan yüksek dereceli astrositik tümör (Ki-67, avidin-biotin-peroksidaz; x25)

GFAP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımları **Tablo 4.9**'da verilmiştir. GFAP ile sitoplazmik boyanma oranları değerlendirildiğinde DDAT'lerdeki 23 olgunun 6'sında (%26.1) sitoplazmik boyanma + (**Resim 4.32**), 11 (%47.8) olguda sitoplazmik boyanma ++ (**Resim 4.33**), 4 (%17.4) olguda sitoplazmik boyanma +++, 2 (%8.7) olguda sitoplazmik boyanma ++++ idi. YDAT'lerdeki 47 olgunun 11'inde (%23.4) sitoplazmik boyanma ++ (**Resim 4.34**), 17 (%36.2) olguda sitoplazmik boyanma +++ (**Resim 4.35**), 19 (%40.4) olguda sitoplazmik boyanma ++++ (**Resim 4.36**) gözlendi. YDAT'lerde + sitoplazmik boyanma izlenmedi. DDAT'lerde 11 (%47.8) olguda sitoplazmik boyanma ++ iken, YDAT'lerde 19 (%40.4) olguda sitoplazmik boyanma ++++ idi. DDAT'lerin ve YDAT'lerin GFAP ile sitoplazmik boyanma yoğunluğu grafik olarak gösterilmiştir (**Şekil 4.5**).

Yapılan istatistiksel analizde DDAT'ler ile YDAT'ler arasında GFAP ile +, ++, +++, ++++ sitoplazmik boyanma yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=22.18$, $p < 0.05$).

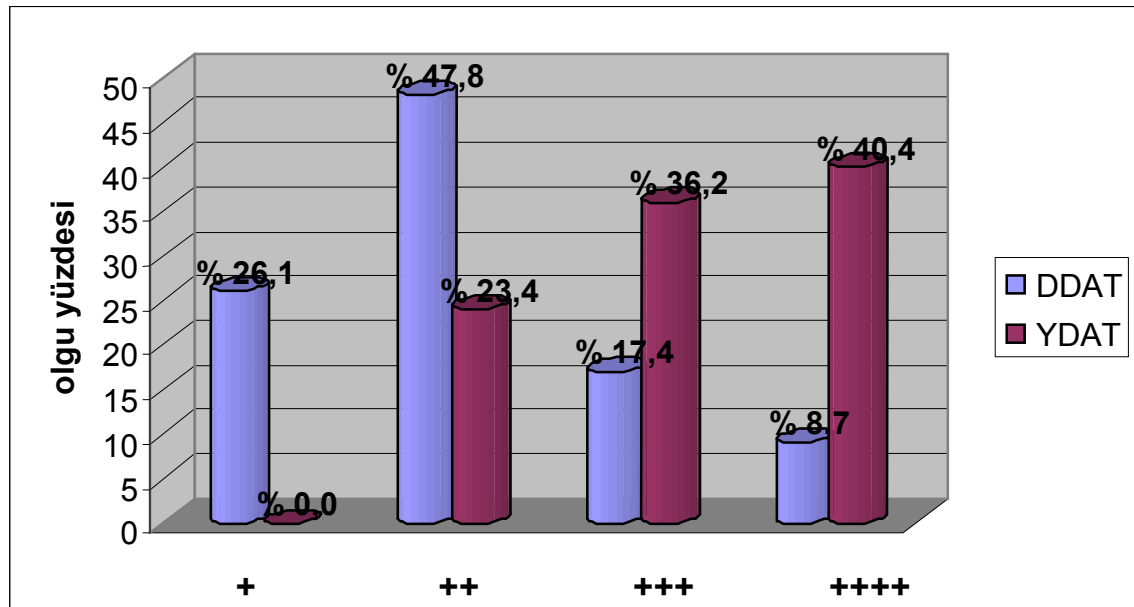
Tablo-4.9: GFAP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı

	GFAP ile sitoplazmik boyanma				Toplam
	+	++	+++	++++	
DDAT	6 %26,1	11 %47,8	4 %17,4	2 %8,7	23
YDAT	0 %0,0	11 %23,4	17 %36,20	19 %40,4	47
Toplam	6	22	21	21	70

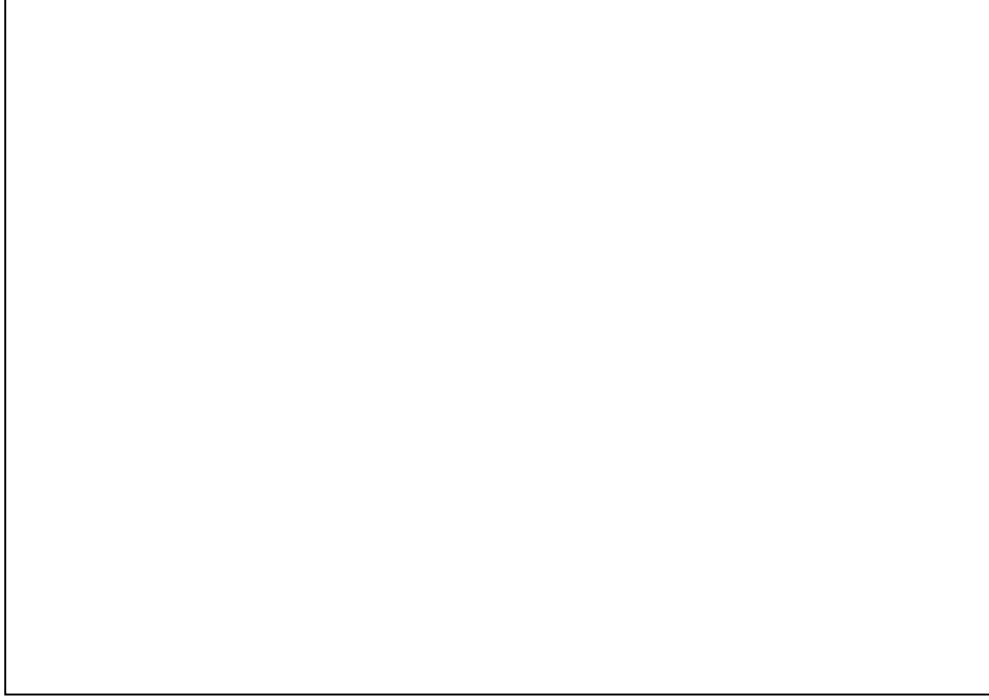
* : Zayıf boyanma

** : Orta boyanma

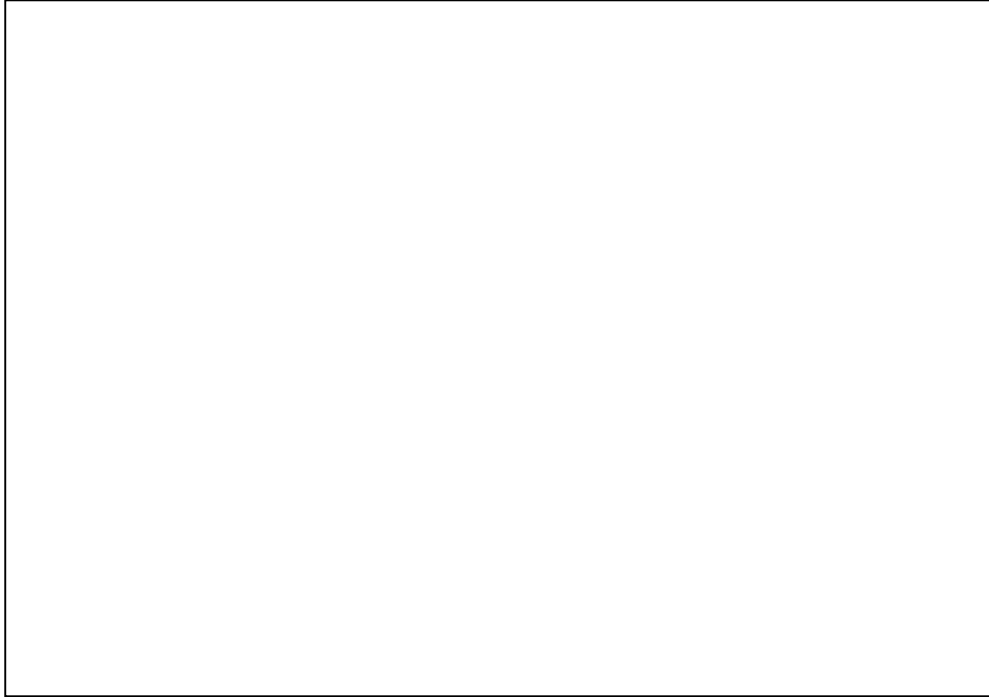
*** : Kuvvetli boyanma



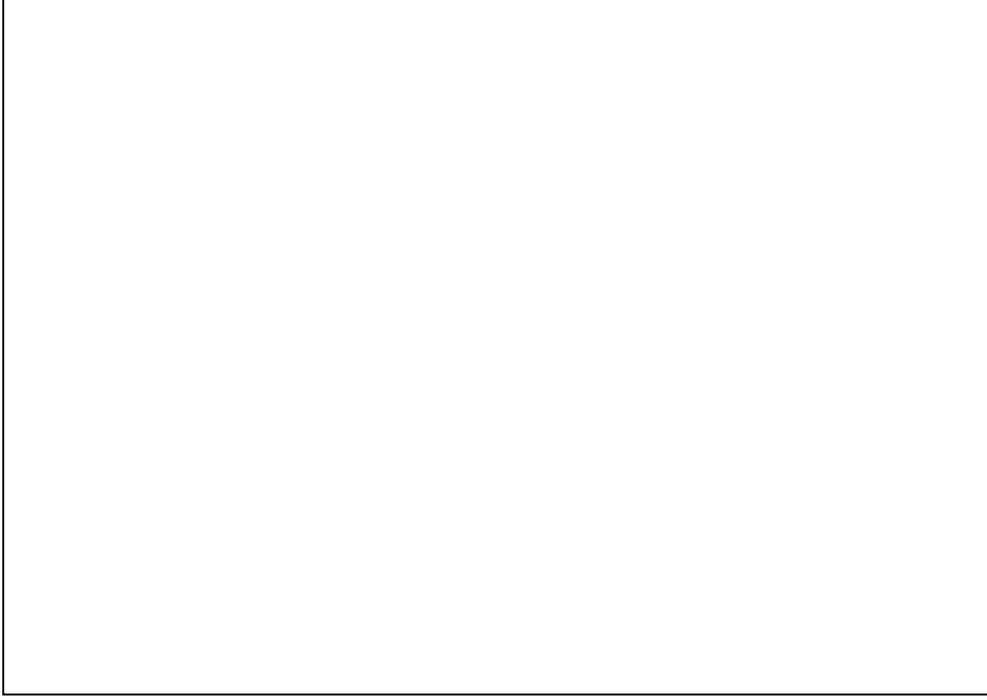
Şekil 4.5: GFAP ile sitoplazmik boyanmanın düşük ve yüksek dereceli astrositik tümörlere göre dağılımı



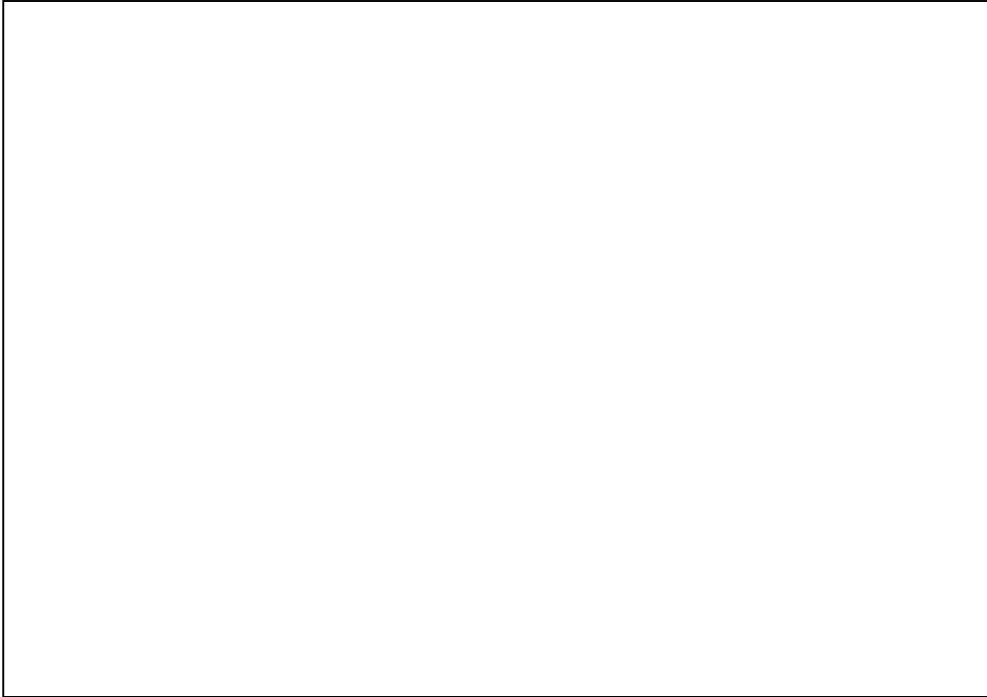
Resim-4.31. GFAP ile + sitoplazmik boyanma gösteren düşük dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



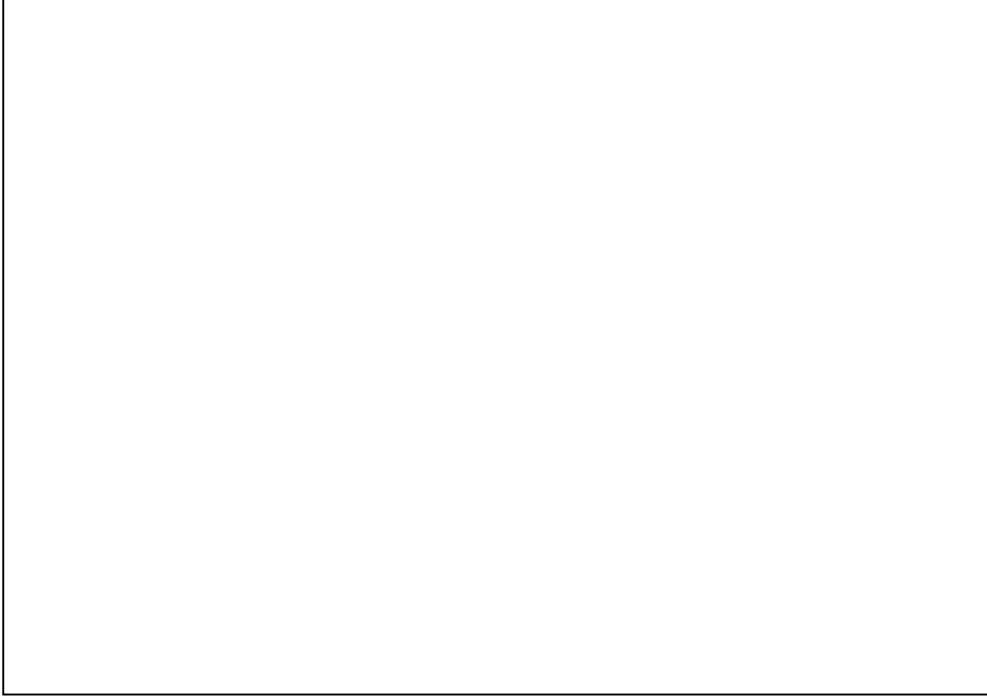
Resim-4.32. GFAP ile ++ sitoplazmik boyanma gösteren düşük dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.33. GFAP ile ++ sitoplazmik boyanma göstern yüksek dereceli astroitik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.34. GFAP ile +++ sitoplazmik boyanma gösteren yüksek dereceli astroitik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25)



Resim-4.35. GFAP ile ++++ sitoplazmik boyanma gösteren yüksek dereceli astrositik tümör (GFAP, avidin-biotin-peroksidaz; x25)

TARTIŞMA

Merkezi sinir sisteminin primer tümörleri erişkinlerde 100.000'de 6–10 oranında görülür (1). Kansere bağlı ölümler arasında ise primer beyin tümörleri küçük bir bölümü oluşturur. Amerika Birleşik Devletleri'nde bu oran yılda yaklaşık 100.000'de 3000'dir ve ortalama 300 milyonluk bir nüfusta her yıl yaklaşık 24 000 yeni primer beyin tümörü tanısı konmaktadır. Türkiye'de ise kesin bir rakam verilmemekle birlikte benzer olduğu sanılmaktadır (28). Erişkinlere kıyasla çocuklarda primer beyin tümörleri görülme sıklığı yüksek olup, lösemnin ardından ikinci sırayı alır (26-28). Primer beyin tümörleri içerisinde en sık görülen astrositik tümörlerdir (20,24,27,28,35,36,38).

MSS tümörlerinde, yirminci yüzyılın ortalarından itibaren günümüze kadar çeşitli yazarlar tarafından çok sayıda gradeleme sistemi sunulmuştur (30-32). Bugün için en çok kabul göreni DSÖ sistemidir (24,25,35,36,38). Astrositik tümörler, DSÖ'nün 2000 yılı sınıflamasına göre; daha iyi sınırlı, astrositomların özel varyantları ve diffüz infiltran astrositik tümörler olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Piloitik astrositom, daha iyi sınırlı, astrositomların özel varyantları sınıfında yer alan grade I tümörlerdir. Diffüz infiltran astrositik tümörler ise; astrositom (grade II), anaplastik astrositom (grade III) ve glioblastom multiforme'yi (grade IV) içerir. Astrositik tümörlerin %25'ini astrositomlar, %25-40'ını anaplastik astrositomlar, %50-60'ını glioblastom multiforme oluşturmaktadır (24,34-36,38,39).

Çalışmada sunulan 70 astrositik tümör olgusu selülarite, pleomorfizm, mitoz, nekroz ve VEP yönünden histopatolojik olarak yeniden değerlendirildi. Piloitik astrositomlar, hafif veya orta selülarite ile hafif pleomorfizm gösteren eozinofilik cisimler, Rosenthal fibriller içeren, kompakt ve spongiöz alanların oluşturduğu glial tümörlerdi. Astrositomlar ise hafif veya orta selülarite yanı sıra hafif ve/veya orta pleomorfizm içeren, mitozun bulunmadığı tümörlerdi. Anaplastik astrositomlar orta ve/veya şiddetli selülarite, orta ve/veya şiddetli pleomorfizm, belirgin mitotik aktivite içeren, nekroz ve VEP içermeyen tümörlerdi. Glioblastom multiforme, orta ve/veya şiddetli selülarite, orta ve/veya şiddetli pleomorfizm, belirgin mitotik aktivite, nekroz ve/veya VEP içeren tümörlerdi. Bu değerlendirme sonucunda 70 astrositik tümör olgusunun 9'u (%13) pilositik astrositom, 14'ü (%20) astrositom, 3'ü (%4) anaplastik astrositom, 44'ü (%63) glioblastom multiforme idi. Çalışma kapsamına

alınan astrositik tümörler arasında 9 adet anaplastik astrositom olgusu yeniden incelendiğinde olgulardan 6 tanesinde VEP ve nekroz saptanması nedeniyle glioblastom multiforme olarak değerlendirildi. Çalışmadaki anaplastik astrositom olguları azlığı, 70 olgunun DSÖ sınıflamasına göre yeniden değerlendirilmesinden kaynaklanmaktadır.

Pilositik astrositom en sık serebellumda görülür. Optik sinir, optik kiazma, hipotalamus, talamus, bazal ganglionlar, serebral hemisferler ve beyin sapı diğer görüldüğü yerlerdir. Difüz infiltran astrositomlar en sık serebral hemisferlerde, özellikle frontotemporal bölgede subkortikal ya da derin beyaz cevher yerleşimlidir (20,24,28,33,35-38). Astrositomlar, serebral hemisferlerin en sık frontal ve temporal loplara (olguların 1/3'ü) yerleşim gösterirler. Anaplastik astrositomların lokalizasyonu büyük oranda astrositomlar gibidir. Glioblastomlar, %31 temporal, %24 parietal, %23 frontal, %16 oksibital serebral hemisferlerde yerleşim göstermektedir (24,27-29,35,36,38,39). Çalışma grubundaki olgular yerleşim yerlerine göre değerlendirildiğinde sırasıyla; parietal lob 16 (%22.8) olgu, temporal lob 10 (%14.2) olgu, temporoparietal bölge 10 (%14.2) olgu, frontal lob 8 (%11.4) olgu, frontoparietal bölge 4 (%5.6) olgu, serebellum 3 (%4.2) olgu, parietooksibital bölge 3 (%4.2) olgu, oksipital lob frontotemporal bölge, III. ventrikül ve posterior fossa 2'ser (%2.8) olgu, talamus, kaudal nükleus, infratentorial supraserebellar bölge, pontoserebellar köşe, interhemisferik perikallosum, ve optik sinir 1'er (%1.4) olgu şeklinde dağılım göstermekte olup, 2 olgunun yerleşim yeri bilinmiyordu. Buna göre parietal lobta birinci sıklıkta görülmesi temporoparietal yerleşim yerinin ayrıca belirtilmiş olması yanı sıra yerleşim yeri belirtilmeyen 2 olgunun bulunması düşünülmüştür.

Pilositik astrositom olgularının çoğu yaşamın ilk iki dekadında görülür. Adölesanlar ve çocuklarda görülme oranı %75'den fazladır, 8 ve 13 yaşlar arasında görülme oranı artar. Düşük dereceli astrositomlar 30–40 yaşlarında görülür ve tüm erişkin olguların %25'ni oluşturur. 20 yaşından küçüklerde %10, 20–45 yaş arası bireylerde %60 ve 45 yaş sonrası %30 oranında izlenir. Anaplastik astrositom olguları biopsi yapıldığında ortalama 41 yaşındadır. Glioblastom her yaşta görülebilmeye rağmen 45–70 yaş arası bireylerde artış gösterir. Olguların %70'i bu yaş grubunda olup ortalama görülme yaşı 53'tür. Çocuklarda glioblastom görülme

oranı yalnızca %8.8'dir (24,27,29,35-39). Çalışmada, en genç hasta 3 yaşında olup pilositik astrositom, en yaşlı hasta 75 yaşında olup glioblastoma multiforme olarak tanımlandı. Yaş ortalaması 42.95 ± 18.72 idi. 70 olgunun 11'i (%15.7) 20 yaşın altında olup, 20 yaşın üstündeki 59 olgu, tüm olguların yaklaşık %84.2'sini oluşturmaktadır.

Pilositik astrositomda cinsiyet dağılımı açık değildir. Düşük dereceli astrositomlarda erkek/kadın oranı 1.18/1, Anaplastik astrositomda bu oran 1.87/1, glioblastomda ise bu oran 1.5/1 olarak tanımlanmaktadır (27,29,39). Çalışmada; 70 astrositik tümör olgusunun 40'ı erkek (%57.1), 30'u kadın (%42.9) olup, erkek/kadın oranı 1.3/1 idi.

Astrositik tümörler, beyin içine infiltratif büyüme ve kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterizedir. Çok iyi anlaşılmayan bazı nedenlerden ötürü çoğu primer beyin tümörü metastaz yapamamakta ve nadiren spinal sıvıyı aşmaktadır. Çeşitli hipotezler beyin dışına yayılımındaki eksikliği açıklamaya çalışmış, fakat moleküler mekanizmadaki bu yetersizliğin asıl nedeni henüz saptanamamıştır. Bazı araştırmacılar beyin ve diğer dokular arasındaki ekstraselüler çevrenin farklı olduğunu, bunun metastazı etkileyebileceğini söylemişlerdir. Bu da spesifik ESM komponentleri ve tümör hücre yüzey reseptörleri arasındaki spesifik etkileşim nedeniyle olabilir (59). ESM komponentlerinden olan lamininin, metastatik melanom hücrelerinin tip IV kollajene bağlanmasını uyarırken benzer şartlarda glial hücrelerin bağlanmasını inhibe ettiği, glial tümörlerin metastazda başarısız olmasının bu bulgu ile en azından kısmen açıklanabileceği belirtilmiştir. Deneysel olarak oluşturulmuş gliomlarda ve izole sıçan pial kan damarları kullanılan doku kültür çalışmalarında, vital bir vasküler bazal laminanın, neoplastik glial hücrelerin intravazasyonunu önlediğini gösterilmiştir (47,70).

Neoplastik glial hücreler metastazdaki belirgin başarısızlığına karşın, çevre beyin dokusuna lokal invazyon için belirgin eğilim gösterirler. Liotta'nın çeşitli solid kanserler için ileri sürdüğü hipoteze göre ESM'nin tümör hücreleri tarafından invazyonu için ilk basamak, matriks içine hücre adezyonudur. İkinci basamak, matriks içerisindeki bağlantı proteinleri ve yapısal kollajen içeren proteinlerin lokal yıkımı ve yeniden modellenmesidir. Üçüncü basamak tümöral hücrelerin parankim içine aktif migrasyonudur (71). Bu üç basamaklı hipotez, MSS'nin, neoplastik glial

hücreler tarafından invazyonu için de geçerli olabilir. İnvazyon, bu neoplazmların çok önemli biyolojik özelliğidir; sıklıkla tedaviyi etkisiz kılar; ayrıca her zaman tümörün grade'i ile doğru ilişkili değildir. Ana tümör kitlesinden birkaç milimetre uzağa migrasyon yapabilen neoplastik glia hücreleri (Guerilla hücreleri) nedeniyle tümörlerinin sınırları belirgin değildir. Bu yüzden total cerrahi çıkarım nadiren mümkündür. Tümör odağından migrasyon yapan invaziv hücreler çok iyi bilinmeyen bir nedenle siklus fazına geçerler ve tümör rekürrensleri oluştururlar. Hücre bölünmesinden kaçan bu hücreler sıklıkla radyoterapötik tedavi yaklaşımlarına dirençlidirler. Çoğu kez invazyon alanlarındaki sağlam kan-beyin bariyeri sayesinde sitotoksik ilaçların etkisinden de korunurlar (1,47,48,72).

Beyin tümörlerinin migrasyon ve invazyon mekanizması birbirine bağlı ve çok basamaktır. Tümöral kitle içindeki hücreler serbest kalabilmek için adezyon molekül yapılarını değiştirirler. Bunun sonucunda tümör hücresi ile ESM ve tümör hücresi ile normal hücre adezyonu gerçekleşir. Nöral hücre adezyon molekül ekspresyonu glial hücrelerin invaziv davranışı ile ters orantılı olduğu bilinirken, CD44, human nöral (HNr) hücre adezyon molekülü ve integrinlerin glial hücrelerin invaziv davranışı ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (1). Tümör invazyonunun gerçekleşebilmesi için ESM komponentlerine ihtiyaç vardır. ESM normal beyinde oldukça seyrek ve en fazla glial membrana limitans eksternada ve vasküler bazal laminada bulunur. Neoplastik glial hücreler parakrin mekanizmasıyla normal beyin hücrelerini laminin, tenaskin, HA gibi ESM proteinlerini sentetize etmeleri için uyatabilmektedirler. HA, beyin parankimal ESM'nin temel komponentlerinden biridir. Çoğu dokuda HA fibroblastlar tarafından üretildiği halde MSS'de astrositler tarafından üretildiğine dair veriler vardır. Doku matriksinde salgılanan HA, hidrasyon suyunu alarak ekstraselüler boşluğa uzanır ve neoplastik hücrelerin invaze olacağı bir yol meydana getirir. İnvazyon yapan hücreler HA'ya RHAMM (hiyaluridik asitin motilitesine arabuluculuk eden reseptör), ICAM-1 (intraselüler adezyon molekülü-1) ve CD44 gibi çeşitli hücre yüzey reseptörleri ile tutunur (47,53,54).

İlk olarak hematopoietik hücrelerde izole edilen CD44; MSS, akciğer, epidermis, karaciğer ve pankreas gibi çok çeşitli dokularda da bulunmuştur. CD44, hücre yüzeyinde geniş bir yayılım gösteren, fizyolojik ve patolojik olaylara farklı

oranlarda karışan bir adezyon molekülüdür. Lenfosit aktivasyonu, hücre-matriks etkileşimi, hücre migrasyonunun düzenlenmesinde yer alır. Tümör büyümesi ve metastazında rol oynar. Değişik CD44 izoformları ve yaygın doku dağılımı nedeniyle birden fazla ligandı bulunmasına rağmen temel ligand HA'dır (5,6,53,54,73). CD44'ün ESM komponentlerinden olan HA'ya bağlanması, malign epitelyal hücrelerin invazyon ve metastazında kritik bir noktadır (74).

CD44s ve CD44v formlarının çeşitli hücre tiplerindeki ekspresyonu hücre tipinin biyolojik davranışına göre farklılıklar gösterir. CD44s ve CD44v ekspresyonundaki artış gastrik karsinom, kolon karsinomu, hepatosellüler karsinom, vulvar karsinom ve osteosarkomda agresif klinik gidişi gösterir. Bu durumun tersi olarak CD44s ve CD44v ekspresyonundaki azalmanın bulunduğu yassı hücreli karsinom, safra kesesi karsinomu, endometrial karsinom ve melanomda agresif bir klinik gidiş saptanır (75). Bu nedenle pek çok çalışma, tümörler ve karşılığı olan normal dokulardaki CD44 ekspresyonunun karşılaştırması için yapılmıştır. Normalde hücre yüzeyinde CD44 varyantları taşıyan epitelyal kökenli tümörlerin, genel olarak CD44 transkriplerini yüksek konsantrasyonda ürettikleri, fakat bu bulgunun standart olmadığı belirtilmiştir (53). Hudson ve arkadaşları çok katlı yassı epitelden eksprese edilen CD44 varyantlarının, yassı hücreli karsinom olgularında azaldığını, bu azalmanın az diferansiye alanlar ve metastazlarda daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir (76). Givchian ve arkadaşları, normal solunum epitelinin CD44 ekspresyon profilini korumasına rağmen, akciğerin yassı hücreli karsinom ve diğer tüm tümörlerinde CD44'ün standart veya varyant formlarında ya belirgin azalma olduğunu ya da hiç ekspresyon olmadığını belirtmişlerdir (77). Khoursheed ve arkadaşları CD44 ekspresyonun, kolorektal karsinomlarda normal kolorektal dokuya göre önemli derecede artış gösterdiğini, belirtmişlerdir (78). Arıcı ve arkadaşları, CD44'ün gastrik adenokarsinomlarda, özellikle tümör diferansiyasyonu azaldıkça yüksek düzeylerde eksprese edildiğini, tümör progresyonu ve metastazdaki öneminin ise belirlenemediğini belirtmişlerdir (79).

CD44'ün tümörögenezdeki rolü ile ilgili olası mekanizmalar hakkında pek çok teori vardır. CD44 ekspresyonu yüksek bir oranda hücre bölünmesi ile ilişkilidir. CD44 ve ligandları arasındaki etkileşimler, tümör hücrelerinin otokrin büyüme faktörleri üretmelerini indükleyebilir ve tümör büyümesi için çok önemli olabilir

(53). Malign melanom için yapılan bir çalışmada, melanositik hücrelerde CD44 ekspresyonu görülmediği halde tümörögenез için CD44'e gereksinim duydukları belirtilmiştir. Gene aynı çalışmada, CD44 monoklonal antikorlarının, melanom hücrelerinin büyüme ve metastazını inhibe ettiği, buna karşın pulmoner metastazın, CD44 antijen ekspresyon derecesi ile korele olduğu bildirilmiştir (53). Bazı çalışmalarda, hücrelerin, tümörögenез veya metastazda CD44'ü kullanmadıkları ileri sürülmüştür. Nöroblastom ve Burkitt lenfomada CD44 varyantlarının genel olarak yer almadığı belirtilmiştir (80,81). Aynı çalışmalarda, nöroblastomlu hastalardaki CD44s yokluğunun kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (81).

Pek çok çalışma, CD44s ve CD44v ekspresyonu ile tümör metastazı arasındaki ilişkiye odaklanmıştır. Vısca ve arkadaşları kolorektal karsinomlarda, CD44s ekspresyonunun rolünü ve prognozdaki önemini araştırmışlar, ekspresyondaki artışın karsinomlardaki agresif davranış ve metastazla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (66). Friedrichs ve arkadaşları, meme karsinomlarında, CD44 ekspresyonunun önemini belirlemek için yaptıkları çalışmada, tümör büyüklüğü ve grade artışı ile CD44s ve CD44v9 ekspresyonu arasında bir korelasyon olduğunu ve ekspresyondaki artışın yüksek mortalite ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (82). Bir başka çalışmada, metastatik invaziv meme karsinomları ile non-metastatik invaziv meme karsinomları CD44 ekspresyonu yönünden karşılaştırılmış, CD44 ekspresyonunun metastatik invaziv meme karsinomlarında belirgin artış gösterdiği, bunun meme karsinomlarındaki metastazı belirlemede yararlı bir belirteç olabileceği belirtilmiştir (83).

CD44 eksprese eden tümör hücrelerinin ESM komponentlerine tutunması, tümör hücrelerinin bu ortamlarda daha etkin olarak kolonize olmalarını sağlar. CD44'ün, HA'yı tutma ve parçalama fonksiyonları, tümör hücrelerinin HA'dan zengin dokuları invaze etmelerini kolaylaştırmaktadır. Meme kanser hücreleri ile in vitro olarak yapılan bir çalışmada, HA'nın bulunduğu aktif invazyon alanlarında CD44 seviyelerinin yüksek olduğu, bunun tümör hücrelerinin invazyon sürecinde adezyon ve migrasyon davranışlarını etkilediği belirtilmiştir (84).

Stokes ve arkadaşları, endometrial karsinomda, myometrial invazyon ile CD44 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırmışlar, CD44v6 ekspresyon yokluğunun, endometrial karsinomlarda derin myometriyal invazyonla ilişkili olduğunu

belirtmişlerdir (85). Bir başka çalışmada CD44 ekspresyonunun metastatik malign melanomlu ve displastik nevüslü hastalarda belirgin azalma gösterdiği belirtilmiştir. CD44 ekspresyonunun primer malign melanom ve bileşik nevüslerde selektif retansiyonu nedeniyle, bu molekülün sistemik metastazdan çok lokal yayılımda rol oynadığı bildirilmiştir (86).

Rioux ve arkadaşları, renal hücreli karsinomlarda artmış CD44 ekspresyonunun, hücre proliferasyon oranının yüksekliğine ve kötü prognoza işaret ettiğini, kötüye giden hastaların saptanmasında yararlı bir belirleyici olabileceğini belirtmişlerdir (87).

Glial tümörlerde CD44 ekspresyonunu ve invazyon arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılmış çalışmalar az sayıdadır. Bu durum MSS tümörlerinin diğer organ tümörlerine göre biyolojik davranışının farklı olması nedeniyle olabilir.

Hagel ve arkadaşları, primer ve rekürren oligodendrogliom olgularında CD44 ekspresyonunu araştırmışlar, CD44 ekspresyonunun, primer tümör ve tümör rekürrenslerinde grade ile korelasyon gösterdiğini, istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen rekürrenslerde ekspresyon artışının çok daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir (88).

Bir membran glikoproteini olan CD44, standart form (CD44s) ve çok yönlü varyant isoformundan (CD44v) oluşur. Ariza ve arkadaşları, beyinin noninvaziv ve invaziv tümörlerinde CD44'ün etkisini anlamak için 10 konvansiyonel meningiom ve 10 glioblastom multiformede olgusunda CD44s ve CD44v ekspresyonunu immunohistokimyasal olarak araştırmışlardır (74). Meningiom olguları CD44s ve CD44v ile boyanma göstermez iken glioblastom olgularında CD44s ile VEP alanları hariç, tümöral hücrelerde kuvvetli membranöz boyanma varlığını tespit etmişler ve CD44v ile boyanma görmemişlerdir. Meningiom ve glioblastomdaki CD44v ekspresyon yokluğunun bu tümörlerin metastazdaki başarısızlığı nedeniyle olabileceğini, CD44v'nin nonmetastatik tümör hücrelerine metastatik özellik kazandırabileceğini ve glioblastomdaki CD44s ekspresyonunun lokal invazyonda etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Daha önce yapılmış çalışmalarda, sekonder beyin tümörlerinde CD44v ekspresyonu, glioblastom gibi primer beyin tümörlerinde ise yalnızca CD44s ekspresyonunun görüldüğü belirtilmiştir (89). Mirtha ve arkadaşları, primer glial

tümörlerdeki CD44s ve CD44v ekspresyonunun kötü prognozla ilişkisini araştırmışlardır (6). Bunun için 16 astrositom, 19 anaplastik astrositom ve 24 glioblastom olgusunu immünohistokimyasal olarak değerlendirerek, tümörlerde grade arttıkça CD44s ekspresyonunun arttığını fakat CD44v ekspresyonunun negatif olduğunu, CD44 ekspresyonundaki artışın, sağ kalım için bağımsız bir prognostik faktör olmamasına rağmen malign glial tümörlerin gelişimi ve ilerlemesiyle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Ylagan ve arkadaşları düşük ve yüksek gradeli gliomlarda CD44s ekspresyonunu araştırmışlardır (7). CD44'ün, hücre yüzey adezyon molekülüne uygun olarak, düşük ve yüksek gradeli glial tümörlerde birbirine yakın oranlarda, tümöral hücrelerinin sitoplazmik membranlarında ++ ya da +++ boyanma yoğunluğu gösterdiğini saptamışlar ve CD44s ekspresyonu ile tümör gradesi arasında bir korelasyon olmadığını, düşük ve yüksek gradeli glial tümörlerin davranış farklılığını anlamak için başka faktörlerin araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Öz ve arkadaşları, astrositik tümörlerde CD44s ekspresyonunu ve ESM proteinlerinin dağılımı üzerine yaptıkları çalışmada, 10 astrositom olgusunun 5'inde, 7 anaplastik astrositom olgusunun 3'ünde, 35 glioblastom olgusunun 29'unda CD44s ile membranöz boyanma saptamışlardır (59). CD44s ekspresyonunun grade ile doğru orantılı artış gösterdiğini, CD44s'in tümöral hücreler için bir otokrin büyüme faktörü olabileceğini ve CD44s ile ESM proteinleri arasındaki etkileşimin tümöral hücrelerin beyin dokusuna adezyonunda ve invazyonunda etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmada, CD44'ün standart formu olan CD44s kullanıldı. CD44s için boyanma düşük dereceli astrositomlarda, tümöral hücrelerde ya hiç yoktu ya da hafif sitoplazmik boyanma şeklinde idi. Tümörde grade arttıkça sitoplazmik boyanma daha belirgin olup yüksek dereceli astrositomlarda sitoplazmik boyanmaya ek olarak tümöral hücrelerde kuvvetli membranöz boyanma görüldü. CD44s eksprese eden tümöral hücreler stroma içerisinde çoğunlukla tek tek dağılmış olarak, bazı alanlarda ise damarların çevresinde gruplar halinde izlendi. VEP alanlarında boyanma hiç görülmedi. Çalışmada düşük dereceli astrositomlar ve yüksek dereceli astrositomlar arasında CD44s ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Grade artışı ile CD44s ekspresyonundaki artış sağkalım için bağımsız bir prognostik faktör olmamasına rağmen tümöral hücrelerin ESM proteinleri arasındaki

etkileşim ile beyin dokusuna adezyon ve lokal invazyonunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Tümör komşuluğundaki nöroglial doku içinde CD44s ile hafif pozitif boyanma gözlemlendi. Bu boyanma şekli, reaktif fibriler astrositlerin karakteristiği olan radyal uzantılar şeklinde olup tümöral hücre boyanmasından farklı idi. Tümör çevresindeki CD44s boyanmış reaktif astrositler, tümör hücrelerinin adezyonunda, büyümesinde ve rekürrenslerinde etkili olabileceğini desteklemektedir.

Lokal tümör invazyonunu kolaylaştırdığı düşünülen ESM'nin yıkılması ve yeniden yapılması çeşitli proteolitik enzimlerin üretimi ve sekresyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Bugüne kadar glial hücre invazyonu hakkında yapılan araştırmaların büyük bir kısmı çinko bağımlı endopeptitazların, matriks metalloproteinaz grubu üzerine yoğunlaşmıştır. Glial tümörlerin diğer proteazları da eksprese etmelerine rağmen, MMP'lerin, ESM komponentlerinin büyük bir çoğunluğunun yıkılmasında ve tümör hücre geçişine uyacak şekilde yeniden yapılanmasında çok daha önemli olduğu düşünülmektedir. MSS'de, tümör invazyonunda, MMP'lerin kesin rolü tam olarak bilinmemekle birlikte yapılan in vitro çalışmalar neoplastik glial hücrelerden bazı farklı MMP'lerin salgılandığını göstermiştir (9,47).

MMP'ler, tümörögenезisin tüm aşamalarında, erken karsinogenезis, tümör büyümesi, tümör invazyonu ve metastazında rol oynamaktadır. Bugüne kadar tanımlanan MMP'ler, substrat spesifikliğine göre, çözünür tip MMP ve membran tip MMP (MT-MMP) başlığı altında subgruplara ayrılmıştır. Çözünür MMP'ler; kollejenazlar, jelatinazlar, stromelinler, matrilisinler ve diğerleri olmak üzere subgruplarına göre sınıflandırılmıştır ve ESM'ye daha fazla geçiş göstererek dokunun yeniden biçimlenmesinde rol oynarlar. MT-MMP'ler; MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT4-MMP, MT5-MMP ve MT6-MMP olarak subgruplarına göre sınıflandırılmış olup migrasyon ve invazyon için periselüler ortamların düzenlenmesinde yer alırlar. MMP'lerin çoğu zimojen şeklinde eksprese edilir. Aktivasyonları aktivatör ve inhibitörlerin (TIMP) kontrolü altındadır. Çözünür MMP'ler içinde en önemlileri MMP-2 ve MMP-9'dur. ESM'deki tip IV kollajenin yıkımı için spesifiktir. MMP-2 ya da jelatinaz A'nın tümör hücrelerinin malign davranışında özellikle önemli olduğu düşünülür ve çoğu dokudaki ekspresyonu, doku dağılımı ve aktivasyonu diğer MMP'lerden farklıdır. Diğer proenzim olan MMP'lerden farklı olarak proMMP-2 ve proMMP-9 (projelatinaz B) endojen

inhibitörleri olan sırasıyla TIMP-2 ve TIMP-1 ile kompleks oluştururlar. Hem serbest enzim hem de enzim-inhibitör kompleksi, hücre yüzeyinde lokalize MT-MMP'ler ile aktive olabilir. Bunun sonucunda, patolojik ve fizyolojik olayların gerçekleşmesinde çok önemli olan ESM yıkımı ve yeniden yapılanması gerçekleşir (47).

Çeşitli kanser türlerinin prognozu ile MMP'lerin aşırı ekspresyonu arasındaki ilişkiyi saptamak için birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, MT-MMP'ler için yapılmış çalışmalar az sayıdadır. Yapılan çalışmalar da, MMP-2 ve MT-MMP'lerin birlikte, tümör gelişimine, invazyona ve metastazdaki rollerini araştırmaya yöneliktir. Bunun nedeni de özellikle MT1-MMP'nin MMP-2 üzerine olan etkisidir (1,9,47,62).

MT1-MMP ilk olarak invaziv tümör hücrelerinin yüzeyinde proMMP-2'nin (proGela) bir aktivatörü olarak belirtilmiştir. Tümör dokusunda, MMP-2'nin aktivasyon oranı, MT1-MMP'nin ekspresyon oranı ve tümör yayılımı arasında bir korelasyon vardır (90). Sato ve arkadaşları, MT-MMP'lerin hücre invazyonundaki etkilerini araştırmıştır (91). MT1-MMP'nin, proMMP-2'nin hücre yüzeyi lokalizasyonunda ve aktivasyonunda önemli bir rol oynadığını, bu mekanizma yoluyla tümör hücrelerinin invazyon ve metastazla ilişkili proteolizise aracılık eden ekzojen proMMP-2'yi kullandıklarını belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada, 58 akciğer karsinom olgusu lenf nodu metastazı ve MMP-2 arasındaki ilişki yönünden araştırılmıştır (62). Aktive MMP-2'nin tümör dokusunda saptandığı, lenf nodu metastazı içeren olgularda lenf nodu metastazı içermeyen olgulara göre MMP-2 aktivasyon oranının belirgin olarak artış gösterdiği, MT1-MMP ekspresyonunun aktive MMP-2 miktarı ve tümör yayılımı ile yakından ilişkili olabileceği belirtilmiştir.

Mori ve arkadaşları, 68 mide karsinom olgusunda MMP-2 aktivasyon oranını, MMP-2 aktivasyonu ve MT1-MMP ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır (92). Bunun için MT1-MMP ekspresyonunun tümör-normal dokudaki oranını (T/N), revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonunu kullanarak incelemişlerdir. MT1-MMP ekspresyonunun normal dokuya göre tümöral dokuda belirgin artış gösterdiğini, derin invazyon ve lenf nodu metastazı gösteren 20 karsinom olgusunda $T/N > 4.8$ olduğunu ve bu özellikleri içermeyen 48 karsinom olgusunda ise $T/N < 4.8$ olduğunu saptamışlardır. MT1-MMP ekspresyonunun, lenf

nodu metastazı ve invazyonda bağımsız faktör olmasına rağmen, T/N>4.8 olan olguların kötü prognoz göstermeleri nedeniyle prognozda önemli olduğunu ve mide karsinomlarındaki MT1-MMP'nin, MMP-2 aktivasyonuna olan etkisi nedeniyle klinik için önemli olabileceğini belirtmişlerdir.

Zhai ve arkadaşları, normal doku, düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSİL), yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSİL) ve invaziv karsinom içeren servikal dokuya ait 58 olguda MT1-MMP ekspresyonunu araştırmışlardır (93). MT1-MMP ekspresyonunun normal serviks ve LSİL olgularında çok düşük ya da hiç olmadığını, HSİL olgularında kolaylıkla saptandığını ve hemen hemen tüm invaziv karsinom olgularında çok kuvvetli eksprese edildiğini saptamışlar ve MT1-MMP ekspresyonunun servikal karsinomun progresyonuna etki eden bir anahtar enzim olduğunu belirtmişlerdir.

Upadhyay ve arkadaşları, benign prostat epiteli, yüksek gradeli prostatik intraepitelyal neoplazi (HGPN) ve prostat karsinomlarında MT1-MMP ve MMP-2 ekspresyonu ve immüno lokalizasyonunu araştırmışlardır (94). Benign prostat epiteline, MT1-MMP ile bazal hücrelerde uniform boyanma, sekretuar hücrelerde nadiren pozitif boyanma, MMP-2 ile sekretuar hücrelerin luminal yüzeyinde ve bazal hücrelerde zayıf boyanma saptamışlardır. HGPN'de, MT1-MMP ve MMP-2 ile sekretuar hücrelerde kuvvetli sitoplazmik boyanma, prostat karsinomunda ise MT1-MMP ve MMP-2 ile heterojen boyanma saptamışlardır. Prostat karsinomundaki MT1-MMP ve MMP-2 boyanma paterni nedeniyle, proMMP-2 aktivasyonunda MT1-MMP'nin önemli olduğunu, HGPN ile ilişkili MT1-MMP ve MMP-2'nin intraselüler dağılımı ve lokalizasyonundaki değişiklikler nedeniyle bu enzimlerin prostat karsinomunun erken evresinde önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

Lida ve arkadaşları, MT1-MMP'nin melanomun büyüme ve invazyonundaki etkisini araştırmışlardır (95). MT1-MMP ve MMP-2 ekspresyonunun melanom hücrelerinin büyümesini, migrasyonunu ve invazyonunu multiple mekanizmalarla artırabileceğini, tümör progresyonunda önemli olan bu aktive MMP'lerin inhibisyonu yoluyla invazyon ve metastazın önlenebileceğini belirtmişlerdir.

Uchibori ve arkadaşları, osteosarkomlu hastalarda prognoz ile MT1-MMP ekspresyonunu arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır (96). MT1-MMP ve MMP-2'nin

birlikte aşırı ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu, hastalısız geçen zamanın azalmasıyla korelasyon gösterdiğini ve prognozu belirlemede bu hastalar için önemli olduğunu belirtmişlerdir.

MSS’de, tümör invazyonunda, MMP’lerin kesin rolü tam olarak bilinmemekle birlikte in vitro çalışmalar neoplastik glial hücrelerden bazı farklı MMP’lerin salgılandığını göstermiştir. Glial tümörlerde normal beyin hücrelerine kıyasla çok yüksek düzeyde MMP–2, MMP–9 ve MT1-MMP’ye rastlandığı belirtilmiştir. MT1-MMP ekspresyonu glial tümörlerin progresyonu ve MMP–2 aktivasyonu ile koreledir (8-10,48,49,62). Son zamanlarda Lampert ve arkadaşları jelatinaz A - B ve TIMP-1’in glioblastomda önemli olduğunu ve MT1-MMP ve jelatinaz ekspresyonundaki artışın glial tümörlerin malign progresyonu ile yakından ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (97). Bir diğer çalışmada, neoplastik glial hücrelerin MT1-MMP ile etkileşimi sonucu, hücre yüzeyindeki proMMP–2 aktivasyonunun gerçekleştiği ve bunun sonucunda kollajenin parçalanması ve tümör alanından hücre migrasyonunun arttığı belirtilmiştir (9).

Belien ve arkadaşları, in vivo olarak keme C6 glioblastom hücrelerinde, MT1-MMP ekspresyonunun beyin invazyonuna olan etkisini araştırmışlardır (98). Sağlıklı bir beyinde MT1-MMP ekspresyonunun düşük seviyelerde iken gliomlarda belirgin artış göstermesi nedeniyle astrositomlar için bir malignite belirleyicisi ve prognoz belirteci olarak kullanılabileceğini ve MT1-MMP’nin diffüz astrositomlar ve özellikle de glioblastom için gelecekteki tedaviler için hedef olabileceğini belirtmişlerdir.

Nakada ve arkadaşları, astrositik tümörlerdeki MT-MMP’lerin doku lokalizasyonunu ve ekspresyonunu araştırmak için, 5 epilepsi olgusuna ait normal beyin, 9 astrositom, 9 anaplastik astrositom, 17 glioblastom, 4 metastatik beyin tümörü (akciğer karsinomu) içeren taze dokuda, jelatin zimografi, RT-polimeraz zincir reaksiyonu, in situ hibridizasyon ve immünohistokimya tekniklerini kullanarak çalışmışlardır (99). MT1-MMP, MT2-MMP ve MMP–2 ile normal beyin dokusunda ve astrositom olgularında boyanma görülmez iken, anaplastik astrositom ve metastatik beyin tümör olgularında atipik hücrelerde çok az da olsa olan, glioblastom olgularında ise neoplastik astrositlerde ve damar endotel hücrelerinde daha yoğun boyanmanın olduğunu saptamışlardır. MT1-MMP, MT2-MMP ve MMP-2’nin

glioblastom hücrelerinde birlikte lokalize olduklarını, MMP'lerin bu kombinasyonunun glioblastomlarda periselüler ESM'nin sindirimi için önemli olduğunu ve bunun da gliom hücrelerinin invazyonunu kolaylaştırdığını belirtmişlerdir.

Çeşitli araştırmalar, MMP'ler ve inhibitörleri arasındaki dengenin ESM'nin proteolizisinin kontrolünde kritik bir nokta olduğunu vurgulamıştır. TIMP-1 ve TIMP-2'nin hem normal beyinde hem de tümör dokusunda eksprese edildiği fakat invaziv glioblastomlarda bu ekspresyonun aşırı derecede azaldığı bildirilmiştir. Düşük dereceli glial tümörlerin, yüksek dereceli glial tümörlere kıyasla daha fazla TIMP üretebildiği ve bunun invazyonun derinliğini açıklamada yararlı olabileceği belirtilmiştir (8,9,49,62). Hur ve arkadaşları, glial tümörlerdeki MMP ekspresyonunu araştırmak için, taze beyin tümör dokusu olan 2 meningiom, 2 astrositom, 2 anaplastik astrositom ve 6 glioblastom olgusu ve 8 gliom hücre serisi ile maymun normal beyin dokusunda northern blot, western blot, jelatin zimografi ve immünopresipitasyon tekniklerini kullanarak çalışmışlardır (8). MT1-MMP ekspresyonunun malign gliomlarda ve gliom hücre serisinde yüksek seviyede eksprese edildiğini ve MMP-2'nin glioblastomda baskın bir şekilde artış gösterdiğini ve özellikle MT1-MMP ekspresyonunun artış gösterdiği 5 glioblastom olgusunda aktive MMP-2'nin de yüksek seviyelerde olduğunu saptamışlardır. Diğer yandan aktive MMP-2'yi, anaplastik astrositom ve astrositom olgularında hiç saptanmamıştır. MT1-MMP ve aktive MMP-2 ekspresyonundaki artış ile glioblastomun malign potansiyeli ve invazyonu arasında korelasyon olduğunu, yüksek MMP-2 aktivitesi ile düşük TIMP-2 ekspresyonunun malign gliom invazyonunda önemli bir faktör olduğunu belirtmişlerdir.

Glial tümörlerde, MT1-MMP ile az sayıda olan moleküler çalışmalar bulunmaktadır. Bugüne kadar parafin bloklarda immunhistokimyasal değerlendirme yapılan çalışmalara rastlanmamıştır. Çalışmada parafin bloklarda MT1-MMP ekspresyonu immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. MT1-MMP için boyanma düşük dereceli astrositomlarda, tümöral hücrelerde ya hiç yoktu ya da hafif sitoplazmik boyanma şeklinde idi. Tümörde grade arttıkça sitoplazmik boyanma daha belirgin olup yüksek dereceli astrositomlarda sitoplazmik boyanmaya ek olarak tümöral hücrelerde membranöz boyanma görüldü. MT1-MMP eksprese eden tümöral

hücreler stroma içerisinde çoğunlukla tek tek dağılmış olarak izlendi. Damarların çevresinde ise gruplar halinde boyanma dikkati çekti. Damar endotel hücrelerinde boyanma saptanmadı. VEP alanlarında boyanma hiç görülmedi. Çalışmada düşük dereceli astrositomlar ve yüksek dereceli astrositomlar arasında MT1-MMP ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Grade artışı ile MT1-MMP ekspresyonundaki artış sağ kalım için bağımsız bir prognostik faktör olmamasına rağmen, bu tümörlerin lokal invazyon yapma özellikleri nedeniyle cerrahi ve radyoterapiye ek olarak, glial tümörlerin invazyonunun engellenmesinde MMP inhibitörlerinin kemoterapide kullanılabileceği düşünüldü.

Düşük dereceli astrositik tümörler genel olarak yavaş büyürler fakat bazıları anaplastik astrositom ve glioblastoma ilerleyebilir. Yaş, cerrahi öncesi durum, rezeksiyon boyutları, histopatolojik grade önemli prognostik faktörlerdir. Fakat tek başına tümör grade'ine dayanarak bir hasta üzerinde klinik sonuçları tahmin etmek mümkün değildir, çünkü aynı gradeli astrositik tümörler farklı şekillerde davranabilirler (68).

Glial astrositik tümörlerde prognostik alt grupları saptamak için bugüne kadar birçok yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerden bazıları, histolojik sınıflama, tümör derecesi, klinik değişkenlerin analizi ve immünohistokimyasal değerlendirme sonuçlarıdır. Histolojik sınıflama ve tümör derecesi ışık mikroskopu incelemesine dayanır ve subjektiftir (100). Uygulanan kriterlerin subjektifliğine, tümörün kendi içindeki heterojenitesi ve örnekleme yetersizlikleri de eklenince, bu tümörlerin derecelendirilmesinde gerek kurumlar arasında, gerek gözlemcilerin kendi içerisinde uyumsuzluk ortaya çıkmaktadır (63). Bu yüzden glial tümörlerin proliferasyon potansiyelinin immünohistokimyasal olarak belirlenmesi, bu tümörlerin biyolojik davranışını tahmin etmede yararlı olacaktır. Proliferasyon aktivitesi, mitotik aktivite ve histolojik derece ile korelasyon göstermektedir (100). Proliferasyon aktivitesinin değerlendirilmesi, doğru histopatolojik tanı, prognoz ve tedavi yaklaşımlarını belirlemede önemlidir (11).

Glial tümörlerde proliferasyon aktivitesini belirlemek için bugün en çok kullanılan, hücre döngüsünün dinlenme safhası dışında, tüm proliferatif dönemlerinde eksprese edilen Ki-67 monoklonal antikordur. Ki-67 antikoru nükleer antijeni tanır ve bu yüzden sadece aktif bölünmeye giren hücreleri boyar

(11,63,68,100,101). Kordek ve arkadaşları, astrositik tümörlerde immunhistokimyasal olarak proliferasyon hücre nükleer antijen (PCNA) ve Ki-67 boyanma özelliklerini araştırmışlar ve PCNA'nın yalnızca düşük dereceli glial tümörler ve yüksek dereceli glial tümörlerin ayırımında istatistiksel olarak önemli olduğunu, Ki-67'nin ise glial tümörlerin her bir grubunu ayırt etmede daha spesifik ve sensitiv olduğunu belirtmişlerdir (101). McKeevor ve arkadaşları Ki-67'nin, PCNA ve bromodeoksiüridin gibi diğer proliferasyon belirleyicileri ile karşılaştırıldığında, sağ kalım süresini belirlemede diğerlerine göre daha üstün olduğunu belirtmişlerdir (102).

Montine ve arkadaşları Ki-67 proliferasyon indeksinin (PI) önemini belirlemek için 39 astrositik tümör olgusu üzerinde çalışmıştır (64). Gradeler arası ortalama Ki-67 PI'sı karşılaştırıldığında anaplastik astrositom ve glioblastomun, astrositomdan önemli derecede farklılık gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca her üç grup hastanın sağ kalım süreleri ile Ki-67 PI'yı karşılaştırarak, astrositik tümörlerde saptadıkları Ki-67 $PI \geq 7.5$ değerinin, yüksek histolojik grade ve düşük sağ kalım süresi ile ilişkili olduğunu, Ki-67 PI'nın histolojik grade'den daha çok sağkalım sürelerini belirlemede daha önemli olabileceğini belirtmişlerdir. Neder ve arkadaşları astrositik tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksini araştırmışlar ve Ki-67 indeksi ile hastaların sağ kalım süreleri arasında, bu tümörlerin histolojik grade'lerine göre daha önemli bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir (103).

Astrositik tümörlerdeki biyolojik heterojenite yer yer hasta sonuçlarını değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Ki-67 indeksi özellikle astrositom ve anaplastik astrositom arasındaki proliferasyon aktivitesinin farklılıklarını tespit edebilmeyi sağlamıştır. Bu iki grup için tedavi önerileri genel olarak farklıdır ve Ki-67 astrositom ve anaplastik astrositomların histopatolojik derecelendirmelerine önemli katkılar sağlayabilir (11). Torp ve arkadaşları, yer yer malignitenin açık histopatolojik özelliklerini göstermeyen astrositik tümör biopsi örneklerinde, yüksek Ki-67 değerlerinin saptanmasının, yüksek grade'li bir tümörün varlığına işaret edebileceğini ve Ki-67'nin astrositik tümörlerde güçlü bir prognostik faktör olan mitozların saptanmasında önemli olduğunu belirtmişlerdir (68). Sallien ve arkadaşları, 50 astrositik tümör olgusunda prognoz ile proliferasyon indeksi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır (11). Proliferasyon indeks ölçümlerinin, astrositik

tümörlerde prognozu belirlemede önemli olduğunu, histopatolojik tanıya ek olarak proliferasyon analizinin hastaların tedavilerine karar vermede yararlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Ki-67 indeksini belirlemek için değişik teknikler kullanılması, gözlemcilerin subjektivitesi, tümör örneği içerisindeki Ki-67'nin heterojenitesi, bazı çalışmalarda incelenen hasta grubunun küçüklüğü gibi sebeplerden dolayı Ki-67'nin prognostik önemi açısından farklı sonuçlar bildirilmektedir (63,102). Khoshyomn ve arkadaşları in vivo olarak beyin tümörlerinde invazyon ve Ki-67 indeksi arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve invazyonla Ki-67 PI'sı arasında bir ilişki olmadığını belirtmişlerdir (104). Litofsky ve arkadaşları, rekürren glial tümörlerde Ki-67 proliferasyon indeksini araştırarak rekürren glial tümörlerde, PI'nın tümörlerin büyüme özellikleri hakkında ek bilgiler sağlayabileceğini, ancak hastaların sağ kalımla ilgili prognostik bilgilerine çok fazla katkıda bulunmayacağını belirtmişlerdir (105). Rekürren glial tümörler ve Ki-67 ilişkisini araştıran bir başka çalışmada, PI'nın prognostik faktörlerden bağımsız olduğu Ki-67'nin bu tümörlerin malign potansiyellerini değerlendirmede histopatolojiye büyük oranda katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (106).

Çalışmada PI'yı belirlemek için Ki-67 monoklonal antikoru kullanıldı. Tümördeki nekroz ve VEP alanları değerlendirme dışı bırakıldı. Tümör stromasında proliferasyon gösteren hücre nükleusları değerlendirildi. Düşük dereceli astrositlerde proliferasyon indeksi 4.54 ± 7.81 , yüksek dereceli astrositlerde proliferasyon indeksi 18.31 ± 9.51 idi. Çalışmada düşük dereceli astrositler ve yüksek dereceli astrositler arasında Ki-67 proliferasyon indeksi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Çalışmada Ki-67 indeksinin astrositik tümörlerin histolojik derecesi arttıkça daha yüksek olduğu saptandı. PI'nın tümör derecesi ile orantılı olarak artış göstermesi malign potansiyelin değerlendirilmesinde önemli olduğu kanısına varıldı.

İlk olarak multiple skleroz plaklarından izole edilen GFAP, bir astrosit diferansiyasyon belirleyicisi olarak kabul edilen intermediyer filament (IF) proteindir. Normal beyinde bulunan fibröz astrositlerin sitoplazmalarında bol miktarda bulunduğu gibi, MSS'nin reaktif süreçlerinde de astrosit sitoplazmaları içinde artmış miktarda bulunduğu gösterilmiştir (12,13). Yapılan birçok çalışmada,

astrositlerdeki IF'lerin yokluğunun, MSS'nin zedelenmelerinde izlenen iyileşmenin çok uzamasına ve bozulmasına neden olduğu belirtilmiştir (107).

GFAP, normal ve tümöral astrositlerin güvenilir belirleyicilerinden biridir. GFAP ekspresyonunun, hücrenin diferansiyasyonu azaldıkça IF'lerin azalması ve ortadan kalkması nedeniyle tümör grade'i ile orantılı olarak azaldığı belirtilmektedir (13). Yapılan birçok çalışmada, yüksek grade'li astrositik tümörlerde genellikle GFAP ekspresyonunun kaybolduğu belirtilmiştir (13,65,). Başka bir çalışmada ise GFAP negatif hücrelerin, GFAP pozitif hücelere göre çok daha hızlı proliferasyon gösterdikleri belirtilmiştir. Wilhelmsson ve arkadaşları, yüksek grade'li astrositik tümörlerde sıklıkla GFAP ekspresyonunun kaybolduğunu, bu durumun tümör gelişim basamaklarına etki etmekten ziyade bu hücrelerin diferansiyasyon kaybına işaret edebileceğini belirtmişlerdir (107). Chen ve arkadaşları da astrositik tümör hücre kültürlerinde yaptıkları çalışmada, GFAP ekspresyonunun tümörün histolojik grade'i ile ters orantılı olduğunu belirtmişlerdir (65). Buna karşılık, yapılan çalışmaların bazılarında GFAP ile iyi diferansiye tümörlerde bütün hücrelerin boyanmamasına karşın kötü diferansiye tümörlerde yaygın ve güçlü bir boyanma görülebildiği belirtilmiştir (13). Reyaz ve arkadaşları, nöroglial tümör gradeleri ve GFAP arasındaki korelasyonu araştırmışlar, astrositik neoplazmlardaki GFAP pozitif hücre sayısının ve kuvvetli boyanmanın malignitenin derecesi ile direkt ilişkili olduğunu saptamışlar ve GFAP boyanmasının bu tümörlerin spesifik tanısına yardımcı olduğunu, histolojik grade'leme sistemine ek olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (108).

Çalışmada GFAP ekspresyonu yönünden, düşük dereceli astrositik tümörler ile yüksek dereceli astrositik tümörler değerlendirildi. Düşük dereceli astrositik tümörlerde zeminde glial fibriler ağ şeklinde veya hafif sitoplazmik boyanma şeklinde izlenen GFAP boyanması, grade arttıkça tümöral hücrelerde belirgin sitoplazmik boyanma şeklinde görüldü. Yüksek dereceli astrositik tümörlerde ise zemin boyanması hiç yoktu ve sitoplazmik boyanma daha kuvvetli idi. Tümör çevresi reaktif astrositlerdeki GFAP boyanması, ince hücre uzantıları şeklinde olup tümör hücrelerinin boyanma şeklinden farklı idi. Nekroz ve VEP alanlarında boyanma yoktu. Çalışmada düşük dereceli astrositomlar ve yüksek dereceli astrositomlar arasında GFAP ekspresyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark

bulundu ($p<0.05$). GFAP boyanma özelliğinin düşük dereceli astrositik tümörlerde fibriler hafif sitoplazmik, yüksek dereceli astrositik tümörlerde kuvvetli sitoplazmik boyanmanın saptanması histolojik derece ile ilişkili olabileceği düşünüldü. GFAP'ın yüksek dereceli astrositik tümörlerde genellikle boyanmadığı bazen boyanmanın olabileceği belirtilmektedir (13,65,107,108). Bu nedenle astrositik tümörlerin derecesini belirlemek için GFAP boyanma özelliğinden çok histopatolojik verilerin üzerinde durulması, sadece primer veya metastatik MSS tümörlerinin ayırıcı tanısında glial kökenin tanımlanmasında yararlı olduğu kanısına varıldı.

Sonuç olarak çalışmada düşük dereceli astrositik tümörlere göre yüksek dereceli astrositik tümörlerin CD44, MT1-MMP ve Ki-67 ile daha şiddetli boyanma özelliği gösterdiği saptandı. CD44, MT1-MMP ve Ki-67'nin astrositik tümörlerde ayrı ayrı kullanıldığında histolojik derecenin tanımlanmasında yardımcı olabileceği, astrositik tümörlerin daha agresif davranabileceğinin ön görülmesi açısından önemli birer belirleyici olabileceği kanısına varıldı.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada astrositik tümör tanısı alan 70 olguya ait H&E boyalı preparatlar 2000 yılında yeniden gözden geçirilerek düzenlemeler yapılan 1993'deki DSÖ sınıflaması dikkate alınarak selülarite, pleomorfizm, mitoz, nekroz ve VEP yönünden ışık mikroskopunda yeniden incelendi. Olgulara ait parafin bloklardan hazırlanan kesitler astrositik tümörlerin derecesi ile beyin dokusu invazyonu arasındaki ilişkiyi saptamak için immünohistokimyasal olarak Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi ile CD44, MT1-MMP, Ki-67, GFAP antikoları ile boyandı. Aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

1. Çalışma grubundaki 70 astrositik tümör olgusunun yaşları 3-75 arasında olup, yaş ortalaması 42.95 ± 18.72 idi.
2. Çalışma grubunu oluşturan 70 hastanın 40'ı erkek (%57.1), 30'u kadın (%42.9) idi.
3. Olgular yerleşim yerine göre değerlendirildiğinde; parietal lob 16 (%22.8) olgu, temporal lob 10 (%14.2) olgu, temporoparietal bölge 10 (%14.2) olgu, frontal lob 8 (%11,4) olgu, frontoparietal bölge 4 (%5.6) olgu, serebellum 3 (% 4,2) olgu, parietooksubital bölge 3 (%4.2) olgu, oksipital lob, III. ventrikül, frontotemporal bölge ve posterior fossa 2'şer (%2,8) olgu, talamus, kaudal nükleus, infratentorial supraserebellar bölge, pontoserebellar köşe, interhemisferik perikallosum, ve optik sinir 1'er (%1,4) olgu şeklinde dağılım göstermekte olup, 2 olgunun yerleşim yeri bilinmemekte idi. Yerleşim yeri bilinen olguların hepsi supratentoriyal yerleşimde idi.
4. Olgular tümör selülaritesi yönünden değerlendirildiğinde; selülaritesi + olan 6 (%8.6) olgu, ++ olan 20 (%28.5) olgu, +++ olan 44 (%62.9) olgu saptandı.
5. Olgular tümör pleomorfizmi yönünden değerlendirildiğinde; pleomorfizmi + olan 12 (%17.1) olgu, ++ olan 34 (%48.6) olgu, +++ olan 15 (%21.4) olgu saptandı.
6. Olgular normal veya atipik mitoz varlığına göre değerlendirildiğinde; mitoz bulunan 47 (%67.2) olgu, mitoz bulunmayan 23 (%32.8) olgu saptandı.

7. Olgular nekroz yönünden değerlendirildiğinde; nekroz bulunan olgu 28 (%40), nekroz bulunmayan 42 (%60) olgu saptandı.

8. Olgular VEP yönünden değerlendirildiğinde; VEP bulunan 43 (%61.4) olgu, VEP bulunmayan 27 (%38.6) olgu saptandı.

9. Bu değerlendirme sonucunda DSÖ sınıflamasına göre Astroitik tümörlerin 9'u (%13) Piloitik astrositom (Grade I), 14'ü (%20) Difüz astrositom (Grade II), 3'ü (%4) Anaplastik astrositom (Grade III), 44'ü (%63) Glioblastoma multiforme (Grade IV) idi.

10. Olgular CD44 ile membranöz boyanma yoğunluğu yönünden değerlendirildiğinde; zayıf membranöz boyanma yoğunluğu yönünden Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız idi ($p > 0.05$). Orta membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade II arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

11. Olgular MT1-MMP ile membranöz boyanma yoğunluğu yönünden değerlendirildiğinde; zayıf membranöz boyanma yoğunluğu yönünden Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Orta membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden; Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

12. Olgular CD44 ile sitoplazmik boyanma yönünden değerlendirildiğinde; boyanmama yönünden, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma + için, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade II ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma ++ için, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma +++ için, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma ++++ için, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

13. Olgular MT1-MMP ile sitoplazmik boyanma yönünden değerlendirildiğinde; boyanmama yönünden, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma + için, Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma ++ için, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade I ile Grade III arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma +++ için, Grade I ile Grade II arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Sitoplazmik boyanma ++++ için, Grade I ile Grade III arası, Grade I ile Grade IV arası, Grade II ile Grade IV arası farklılık anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Grade I ile Grade II arası, Grade II ile Grade III arası, Grade III ile Grade IV arası farklılık anlamsız bulundu ($p > 0.05$).

14. Çalışmada Grade I ve Grade II olguları DDAT'ler, Grade III ve Grade IV olguları YDAT'ler olarak sınıflandırılıp CD44 ve MT1-MMP boyanma yoğunluğu yönünden yeniden değerlendirildi.

15. DDAT'ler ile YDAT'ler arasında CD44 ile zayıf, orta, kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=47.55$, $p < 0.05$).

16. DDAT'ler ile YDAT'ler arasında CD44 ile sitoplazmik boyanmama, +, ++, +++, +++++ sitoplazmik boyanma oranı yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=58.02$, $p < 0.05$).

17. DDAT'ler ile YDAT'ler arasında MT1-MMP ile zayıf, orta, kuvvetli membranöz boyanma yoğunluğu yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=42.84$, $p < 0.05$).

18. DDAT'ler ile YDAT'ler arasında MT1-MMP ile sitoplazmik boyanmama, +, ++, +++, +++++ sitoplazmik boyanma yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=41.07$, $p < 0.05$).

19. Ki-67 indeksi DDAT'lerde 4.54 ± 7.81 , YDAT'lerde 18.31 ± 9.51 olarak saptandı ve DDAT'ler ve YDAT'ler arasında Ki-67 proliferasyon indeksi yönünden fark anlamlı bulundu ($t=6.01$, $p < 0.05$).

20. DDAT'ler ile YDAT'ler arasında GFAP ile +, ++, +++, +++++ sitoplazmik boyanma yönünden farklılık anlamlı bulundu ($X^2=22.18$, $p < 0.05$).

21. Sonuç olarak; çalışmada düşük dereceli astrositik tümörlere göre yüksek dereceli astrositik tümörlerin CD44, MT1-MMP ve Ki-67 ile daha kuvvetli boyanma özelliği gösterdiği saptandı. CD44, MT1-MMP ve Ki-67'nin astrositik tümörlerin histolojik derecesini gösterirken, tümörlerin daha agresif davranabileceğinin ön görülmesi açısından birbirinden bağımsız önemli birer belirleyici olabileceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Bolteus AJ, Berens ME, Pilkington GJ. Migration and Invasion in Brain Neoplasms. *Current Science* 2001; 1; 225–232.
2. Parisi JE, Scheithauer BW. Glial Tumors. In: *Principles and Practice Neuropathology*. Eds: Nelson JS, Parisi JE, Schochet SS. St Louis: Mosby, 1993: 123-183.
3. Malign Astrositer Tümörlü Hastalarda Yaşam Süresini Etkileyen Faktörler ve Ki-67 (MIB I) Proliferasyon İndeksinin Prognoz Üzerine Etkisi. Tuğcu B, Tıpta Uzmanlık tezi, Bakırköy Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları ve Araştırma Hastanesi – II. Nöroşirurji Kliniği, 2004, İstanbul. s 2- 26. ref. Danışmanı: Op. Dr. Halil Toplamaoğlu.
4. Monaghan M, Mulligan KA, Gillespie H, Trimble A, Winter P, Johnston PG, McCormick D. Epidermal Growth Factor Up-regulates CD44-dependent Astrocytoma Invasion In vitro. *J Pathol* 2000; 192; 519–525.
5. Bouterfa H, Janka M, Meese E, Kerkau S, Roosen K, Tonn JC. Effect of Changes in the CD44 Gene on Tumor Cell Invasion in Gliomas. *Neuropathol App Neurobiolgy* 1997; 23; 373–379.
6. Mirtha V, Spercterman S, Ladeda V ve ark. CD44 Expression in Human Gliomas. *ASCO Annual Meeting* 1999.
7. Ylagan LR, Quinn B. CD44 Expression in Astrocytic Tumors. *Mod Pathol* 1997; 10(12); 1239–1246.
8. Hur JH, Park MJ, Park IC ve ark. Matrix Metalloproteinases in Human Gliomas: Activation of Matrix Metalloproteinase–2 (MMP–2) May be Correlated with Membrane-Type–1 Matrix Metalloproteinase (MT1-MMP) Expression. *J Korean Med Sci* 2000; 15;309–314.
9. Chintala SK, Tonn JC, Rao JS. Matrix Metalloproteinases and Their Biological Function in Human Gliomas. *Int J Devl Neuroscience* 1999; 17(5–6); 495–502.

10. Nabeshima K, Inoue T, Shimao Y, Sameshima T. Matrix Metalloproteinases in Tumor Invasion: Role for Cell Migration. *Pathology International* 2002; 52; 255-264.
11. Sallien PK, Haapasalo HK, Visakorpi T, ve ark. Prognostication of Astrocytoma Patient Survival by Ki-67 (MIB-1), PCNA, and S-Phase Fraction Using Archival Parafin- Embedded Samples. *J Pathol* 1994; 174; 275-282.
12. Gomes FCA, Paulin D, Neto VM. Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) Modulation by Growth Factors and Its Implication in Astrocyte Differentiation. *Brazilian J Med Biol Res* 1999; 32; 619-631.
13. Sav A. Cerrahi Nöropatolojide İmmünohistokimyanın Yeri. *Nöropatoloji Kurs Kitabı*. 5-7 Ekim 2005: 52–80.
14. Sadler T. W. Langman's Medical Embryology. 7 th ed. Çeviri Editörü: Başaklar A.C. Langman's Medikal Embriyoloji. Palme Yayıncılık. 1996: 358–396.
15. Gürsoy E, Koptagel E. Embriyoloji Atlası. Esnaf Ofset Matbaacılık. 1997: 180–188.
16. Nelson JS. Developmental and Perinatal Neuropathology. In: Principles and Practice Neuropathology. Eds:Nelson JS, Parisi JE, Schochet SS. St Louis: Mosby, 1993: 21–41.
17. Dere F. Nöroanatomi Fonksiyonel Nöroloji Atlası ve Ders Kitabı. 3. baskı 2000: 1–146.
18. Canda Ş. Temel Patoloji IV: Nöropatoloji. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları 1992 No: 142: 1- 66.
19. Junqueira LC, Corneiro J, Kelley RO. Basis Histology. 7 th Ed. Çeviri Editörü: Aytekin Y. Temel Histoloji. Barış Kitabevi 1993: 152–180.
20. Frosch MP, Anthony DC, Girolami UD. The Central Nervous System. In: Pathologic Basis of Disease. Eds: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. 7 th ed. Philadelphia: Elsevier, 2004:1347–1420.
21. Russel DS, Rubinstein LJ. Tumors of Central Neuroepithelial Origin. In:Pathology of Tumors of the Nervous System. 5 th ed. Frome and London: Tanner Ltd, 1989: 83–289.

22. Graeber MB, Blakemore W.F, Kreutzberg GW. Cellular Pathology of the Central Nervous System. In: Greenfield's Neuropathology Volume 1. Eds: Graham DI, Lantos PL. 7 th ed. London. 2002: 123–174.
23. Scheithauer BW. The WHO Classification of Tumors of the Nervous System. Nöropatoloji Kurs Kitabı. 5-7 Ekim 2005: 94-130.
24. Lantos PL, Louis DN, Rosenblum MK, Kleihues P. Tumors of the Nervous System. In: Greenfield's Neuropathology. Eds: Graham DI, Lantos PL. Volume 2. 7 th ed. London. 2002: 765–810.
25. Kleihues P, Cavenee WK (eds). World Health Organization Clasification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumors of the Nervous System. Lyon, France: IARC Pres, 2000, pp 6-7.
26. Demirkaya M, Sevinir B. Çocukluk Çağı Beyin Tümörleri. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Güncel Pediatri Dergisi 2005: Aralık 3(4). www.guncelpediatri.com.
27. Gross S, Konop R, Cripe TP, Pallares D, Coppes MJ. Astrocytoma. eMedicine World Medical Library 2002. www.emedicine.com.
28. Demir A, Yazıcı J. Nöro-Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi 2000. www.itfnoroloji.org.
29. Shepard RC, Talavera F, Kahn MJ, McKenna R, Macdonald JS. Glioblastoma Multiforme. eMedicine World Medical Library 2005. www.emedicine.com.
30. Kernohan JW, Mabon RF, Svien HJ, Adson AW: A Simplified classification of gliomas. Proc Staff Meet Mayo Clinic 24:71,1949.
31. Ringertz J: Grading of gliomas. Acta Pathol Microbiol Scand 27:51,1950
32. Daumas-Duport C, Scheithauer BW, O'Fallon J, Kelly P: Grading of astrocytomas. A Simple and Reproducible method.
33. Fuller GN, Goodman JC. Tumors. In: Practical Review of Neuropathology. Philedelphia: Lippincott Williams, 2001: 144-190.
34. Wharton S, Bridges L, Ellison D, Hilton D, Ironside J, Levy D. Minimum Dataset for the Histopathological Reporting Of Tumours Of The Central Nervous System. Brit Neuropathol Soc 2003.

- 35.** McKeever PE, Boyer PJ. The Brain, Spinal Cord and Meninges. In: Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Edts: Carter D, Greenson JK, Oberman HA, Reuter V, Stoler MH. Volume 1. 4 th ed. Philadelphia: Lippincot Williams, 2004: 399-503.
- 36.** Beatris M, Lopes S, Horten BC. Central Nervous System Tumors. In: Modern Surgical Pathology. Eds: Weidner N, Cote R J, Suster S, Weiss LM. Philadelphia: WB Saunders, 2003: 2059- 2120.
- 37.** Erdoğan Ş, Astrositik Tümörler II, Sınırlı Astrositomlar. Nöropatoloji Kurs Kitabı. 5-7 Ekim 2005: 154-163.
- 38.** Rosenblum MK, Bilbabo JM, Ang LC. Neuromuscular system. In: Ackerman's Surgical Pathology. Eds: Rosai J. Volume 2. 9 th ed. St. Louis: Mosby, 2004: 2461–2683.
- 39.** Zorludemir S. Difüz Astrositom. Nöropatoloji Kurs Kitabı. 5-7 Ekim 2005: 131-153.
- 40.** Demir MK, Hakan T, Akıncı O, Berkman Z. Primary Cerebellar Glioblastoma Multiforme. Diagn Interv Radiol. 2005 Jun;11(2):83-86.
- 41.** Oktar N. Gliom Gelişimi ve Değişimine Moleküler Bir Bakış. Türk Nöroşirurji Derneği (TND) Nöro-Onkoloji Grubu. 2004: Bülten 3.
- 42.** Wrensch M, Fisher JL, Schwartzbaum JA, Bondy M, Berger M, Aldape KD. The Molecular Epidemiology of Gliomas in Adults. Neurosurg Focus 2005: 19 (5): E5.
- 43.** Fueyo J, Gomez-Manzano C, Liu T-J, Alfred Yung W.K. Delivery of Cell Genes to Block Astrocytoma Growth. J Neuro-Oncol 2001: 51; 277–287.
- 44.** Döşoğlu M, Orakdöğen M. Glioblastoma'da Prognozu Etkileyen Faktörler. İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası 1999: 62; 2.
- 45.** Böhm C, Wassmann H, Paulus W. No Evidence of Tumour Cells in Blood of Patients with Glioma. Molec Pathol 2003: 56;187–189.
- 46.** Pilkington CJ. Tumour Cell Migration in the Central Nervous System. Brain Pathol 1994 4: 157–166.
- 47.** Pilkington CJ. The Role Of The Extracellular Matrix in Neoplastic Glial Invasion of the Nervous System. Braz J Medical Biol Res 1996: 29 (9); 1159–1172.

48. Chintala SK, Rao JS. Invasion Of Human Glioma: Role Of Extracellular Matrix Proteins. *Frontiers in Bioscience* 1996; 1; 324–339.
49. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisson LM. Matrix Metalloproteinases: Biologic Activity and Clinical Implications. *J Clin Oncol* 2000; 18(5); 1135-1149.
50. Friedlander DR, Zagzag D, Shiff B, ve ark. Migration of Brain Tumor Cells on Extracellular Matrix Proteins In Vitro Correlates with Tumor Type and Grade and Involves α and β_1 Integrins. *Cancer Res* 1996;56; 1939–1947.
51. Reichardt L.F. Extracellular Matrix Molecules and Their Receptors. In: *Guidebook to The Extracellular Matrix and Adhesion Proteins*. Eds: Kreis T, Vale R. New York: Oxford University Pres, 1993: 3–11.
52. Gilcrease MZ, Truong L, Brown RW. Correlation Of Very Late Activation Integrin and CD44 Expression With Extrarenal Invasion and Metastasis of Renal Cell Carcinomas. *Hum Pathol* 1996; 27 (12); 1355–1360.
53. Sneath RJS, Mangham D. C. The Normal Structure and Function of CD44 and Its Role In Neoplasia. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 1998; 51; 191–200.
54. Goodison S, Urquidi V, Tarin D. CD44 Cell Adhesion Molecules. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 1999; 52; 189–196.
55. Fox SB, Fowcett Y, Jackson DG, ve ark. Normal Human Tissues in Addition to Some Tumors, Express Multiple Different CD44 Isoforms. *Cancer Res* 1994; 54; 4539–4549.
56. Tarin D, Matsumura Y. Dearranged CD44 Gene Activity in Malignancy. *J Pathol* 1993;171; 249–250.
57. Aho R, Jakanen S, Kalimo H. CD44 Hyaluronate Interaction Mediates In Vitro Lymphocyte Binding to the White Matter of the Central Nervous System. *J Neuropathol- Exp- Neurol* 1994; 53(3); 295–302.
58. Akiyama H, Tooyama I, Kawamata T, ve ark. Morphological Diversities Of CD44 Positive Astrocytes in the Cerebral Cortex of Normal Subjects and Patients With Alzheimer's Disease. *Brain Res* 1993; 632 (1–2); 249–259.
59. Öz B, Karayel FA, Gazioğlu N, Özlen F, Balcı K. The Distribution of Extracellular Matrix Proteins and CD44S Expression in Human Astrocytomas. *Pathol OncolRes* 2000; 6 (2); 118–124.

60. Nagase H, Woessner JF. Matrix Metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274; 491- 494.
61. Seiki M. Membran-type Matrix Metalloproteinases. *APMIS* 1999; 107; 137-143.
62. Curan S, Murray GI. Matrix Metalloproteinases in Tumor Invasion and Metastasis. *J Pathol* 1999; 189; 300-308.
63. Elagöz Ş, Arıcı S, Özüm Ü, Özer H, Göze F, Göksel M. Gliyal Astroitik Tümörlerde Grade ile Proliferating Nuclear Cell Antigen (PCNA) İlişkisi. *Turk J Neop* 1999; 7(1); 1-5.
64. Montine TJ, Vandersteenhoven J, Aguzzi A, ve ark. Prognostic Significance of Ki-67 proliferation Index in Supratentorial Fibrillary Astrocytic Neoplasms. *Neurosurg* 1994; 34 (4); 674-679.
65. Chen MH, Yang WK, Peng JW, Lee LS, Huang TS. Differential İnducibilities of GFAP Expression, Cytostasis and Apoptosis in Primary Cultures of Human Astrocytic Tumors. *Apoptosis* 1998; 3;171-182.
66. Visca P, Nonno FD, Botti C, ve ark. Role and Prognostic Significance of CD44s Expression in Colorectal Cancer. *Anticancer Resea* 2002; 22; 2671-2676.
67. Weinrach DM, Wang KL, Wiley EL, Laskin WB. Immunohistochemical Expression of Matrix Metalloproteinases 1, 2, 9 and 14 in Dermatofibrosarcoma Protuberans and Common Fibrous Histiocytoma (Dermatofibroma). *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128; 1136-1141.
68. Torp SH, Alsaker M. Ki-67 Immunoreactivity, Basic Fibroblastic Growth Factor (bFGF) Expression, and Microvessel Density as Supplementary prognostic Tools in Low-Grade Astrocytomas. *Pathol Res Pract* 2002; 198; 261-265.
69. Saunders BD, Trap GR. Basic and Clinical Biostatistics. Prentice-Hall International 1990: 142-160.
70. Bernstein JJ, Woodard CA. Glioblastoma Cells Do Not Intravasate Into Blood Vessels. *Neurosurg* 1995; 36; 124-132.
71. Liotta LA. Tumor Invasion and Metastases- Role of Extracellular Matrix. Rhoads Memorial Award Lecture. *Cancer Res* 1986; 46; 1-7
72. Tonn JC, Goldbrunner R. Mechanisms of Glioma Cell İnvasion. *Acta Neurochir Suppl* 2003; 88; 163-167.

73. Okamoto I, Tsuiki H, Lawrence C, ve ark. Proteolytic Cleavage Of The CD44 Adhesion Molecule In Multiple Human Tumors. *Am J Pathol* 2002; 160; 441-447.
74. Arıza A, Lopez D, Mate J, ve ark. Role Of CD44 In The Invasiveness of Glioblastoma Multiforme and the Noninvasiveness Of Meningioma: An Immunohistochemistry Study. *Hum Pathol* 1995; 26; 1144-1147.
75. Montgomery E, Abraham SC, Fisher C, ve ark. CD44 Loss in Gastric Stromal Tumors as a Prognostic Marker. *Am J Surg Pathol* 2004; 28; 168-177.
76. Hudson D, Speight P, Watt F. Altered Expression Of CD44 Isoforms in Squamous-cell Carcinomas and Cell Lines Derived From Them. *Int J Cancer* 1996; 66; 457-463.
77. Givehchian M, Woerner S, Lacroix J. Expression Of CD44 Splice Variants in Normal Respiratory Epithelium and 11 Bronchial Carcinomas: No Evidence For Altered CD44 Splicing in Metastasis. *Oncogene* 1996; 12; 1137-1144.
78. Khoursheed M, Mathew TC, Markar RR, ve ark. Expression of CD44s in Human Colorectal Cancer. *Pathol Oncol Res* 2002; 8 (3); 170-174.
79. Arıcı S, Kıvanç F, Özer H, Eğilmez R, Elagöz Ş. Mide kanserinde CD44 Ekspresyonunun İmmünohistokimyasal Yöntemle Araştırılması. 18. Ulusal Patoloji Sempozyumu. 7-11 Mayıs 2006: 256; 317.
80. Salmi M, Grön-Virta K, Sointu P. Regulated Expression of Exon v6 Containing Isoforms of CD44 In Man: Downregulation During Malignant Transformation Of Tumors Of Squamocellular Origin. *J Cell Biol* 1993; 122; 431-442.
81. Favrot M, Combaret V, Lasset C. CD44 A New Prognostic Marker For Neuroblastoma. *N Engl J Med* 1993; 329-396.
82. Friedrichs K, Franke F, Lisboa B-W. CD44 Isoforms Correlate with Cellular Differentiation but not Prognosis In Human Breast Cancer. *Cancer Res* 1995; 55; 5424-5433.
83. Özer E, Canda T, Kurtoğlu B. The Role of Angiogenesis, Laminin and CD44 Expression in Metastatic Behavior of Early-stage Low-grade Invasive Breast Carcinomas. *Eur Cancer Letters* 1997; 121; 119-123.

- 84.** Herrera-Gayol A, Jothy S. Effects of Hyaluronan on the Invasive Properties of Human Breast Cancer Cells In Vitro. *Int J Exp. Pathol* 2001; 82; 193-200.
- 85.** Stokes GN, Shelton JB, Zahn CM, Kendall BS. Association Of CD44 Isoforms Immunohistochemical Expression with Myometrial and Vascular Invasion in Endometrioid Endometrial Carcinoma. *Gynecol Oncol* 2002; 84; 58-61.
- 86.** Sağol Ö, Erdener Ö, Kuyucuoğlu F. Assesment Of CD44 Expression and Laminin Alterations in Cutaneous Melanocytic Tumors. *Turk J Dermatopathol* 1197; 7;3-4.
- 87.** Rioux-Leclerc N, Epstem J, Bansard J, ve ark. Clinical Significance of Cell Proliferation, Microvessel Density and CD44 Adhesion Molecule Expression in Renal Cell Carcinoma. *Hum Pathol* 2001; 11; 1209-1215.
- 88.** Hagel C, Stavrou DK. CD44 Expression in Primary and Recurrent Oligodendrogliomas and in Adjacent Glotic Brain Tissue. *Neuropath Applied Neurobiol* 1999; 25 (4); 313-318.
- 89.** Li H, Liu J, Hofmann M. CD44 Expression Patterns in Primary and Secondary Tumors. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1995; 75 (9); 525-533.
- 90.** Kajita M, Itoh Y, Chiba T, Mori H, Okada A. Membrane-type 1 Matrix Metalloproteinase Cleaves CD44 and Promates Migrarion. *J Cell Biol* 2001; 153; 893- 904.
- 91.** Sato H, Okada Y, Seiki M. Membrane-Type Matrix Metalloproteinases (MT-MMP) in Cell Invasion. *F K Schattauer Verlags* 1997; 78 (1); 497-500.
- 92.** Mori M, Mimori K, Shiraishi T, ve ark. Analysis of MT1-MMP and MMP2 Expression in Human Gastric Cancers. *Int J Cancer* 1997; 20; 74 (3); 316- 321.
- 93.** Zhai Y, Hotary KB, Nan B, ve ark. Expression of Membran Type 1 Matrix Metalloproteinase is Associated with Cervical Carcinoma Proression and Invasion. *Cancer Res* 2005; 1;65 (15); 6543-6550.
- 94.** Upadhyay J, Shekarriz B, Nemeth JA, ve ark. Membran Type 1 Matrix Metalloproteinase (MT1-MMP) and MMP–2 Immunolocalization in Human Prostate: Change in Cellular Localization Assciated with High-Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia. *Clin Cancer Res* 1999; 5; 4105-4110.

95. Lida J, Wilhelmson KL, Price MA, ve ark. Membran Type 1 Matrix Metalloproteinase Promotes Human Melanoma Invasion and Growth. *J Invest Dermatol* 2004: 122; 167-176.
96. Uchibori M, Nishida Y, Nagasaka T, ve ark. Increased Expression of Membran Type Matrix Metalloproteinase-1 is Correlated with Poor Prognosis in Patients with Osteosarcoma. *Int J Oncol* 2006: 28(1); 33-42.
97. Lambert K, Machein U, Machein MR, Conca W, Volk B. Expression of Matrix Metalloproteinase and Their Tissue Inhibitors in Human Brain Tumors. *Am J Pathol* 1998: 153(2); 429-437.
98. Belien ATJ, Paganetti PA, Schwab ME. Membran Type 1 Matrix Metalloproteinase (MT1-MMP) Enaples Invasive Migration of Glioma Cells in Central Nervous System White Matter. *J Cell Biol* 1999: 144(2); 373-384.
99. Nakada M, Nakamura H, Ikeda E, ve ark. Expression and Tissue Localization of Membrane- Type 1, 2 and 3 Matrix Metalloproteinase in Human Astrocytic Tumors. *Am J Pathol* 1999: 154; 417-428.
100. Fisher BJ, Naumova E, Leighton CC, ve ark. Ki-67: A Prognostic Factor For Low-Grade Glioma. *J Radiation Oncol Biol Phys* 2002: 52(4); 996-1001.
101. Kordek K, Biernat W, Alwasiak J, Liberski PP. Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) and Ki-67 Immunopositivity in Human Astrocytic Tumors. *Acta Neurochir* 1996: 138; 509-513.
102. McKeevor P, Ross D, Strawderman M, ve ark. A Comparison of the Predictive Power for Survival in Gliomas Ğrovided by MIB-1, Bromodeoxyuridine and Proliferating Cell Nuclear Antigen with Histopathologic and Clinical Parameters. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997: 56; 798-805.
103. Neder L, Colli BO, Machado HR, ve ark. MIB-1 Labelling Index in Astrocytic Tumors – a clinicopathologic study. *Clin Neuropathol* 2004: 23(6); 262-270.
104. Khoshyomn S, Lew S, DeMattia J, ve ark. Brain Tumor Invasion Rate Measured in vitro does not Corelate with Ki-67 Expression. *J Neurooncol* 1999: 45(2); 111-116.

- 105.** Litofsky NS, Mix T-CH, Baker SP, ve ark. Ki-67 (Clone MIB-1) Proliferation Index in Recurrent Glial Neoplasms: No Prognostic Significance. *Surg Neurol* 1998; 50; 579-585.
- 106.** Enestrom S, Vavruch L, Franlund B, Nordenskjold B. Ki-67 Antigen Expression as a Prognostic Factor in Primary and Recurrent Astrocytomas. *Neurochirurg* 1998; 44(1); 25-30.
- 107.** Wilhelmsson U, Eliasson C, Bjerkvig R, Penky M. Loss of GFAP Expression in High-Grade Astrocytomas does not Contribute to Tumor Development or Progression. *Oncogene* 2003; 22; 3407-3411.
- 108.** Reyaz N, Tayyab M, Khan SA, Siddique. Correlation of Glial Fibrillary Protein (GFAP) with Grading of the Neuroglial Tumors. *JCPSP* 2005; 15(8); 472-475.