



Glial Tümörlerde DNA Piloidi ve Ki-67 Proliferatif İndeksi ile Tümör Derecesi Arasındaki İlişki

Relationship between DNA Ploidy, Ki-67 Proliferation Index and Tumor Grade in Glial Tumors

Caner ÖZBEY¹, Güzide Ayşe OCAK², Elif İNANÇ GÜRER²

¹Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Niğde, Türkiye
²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Yazışma Adresi
Correspondence Address

Caner ÖZBEY
Niğde Ömer Halisdemir
Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Niğde, Türkiye
E-posta: canerozbey@ohu.edu.tr

Geliş tarihi \ Received : 12.02.2018
Kabul tarihi \ Accepted : 03.04.2018
Elektronik yayın tarihi : 04.10.2018
Online published

Özbey C, Ocak GA, İnanç Gürer E.
Glial tümörlerde DNA piloidi ve Ki-67
proliferatif indeksi ile tümör derecesi
arasındaki ilişki. Akd Tıp D 2019;1:86-93.

Caner ÖZBEY
ORCID ID: 0000-0002-5001-5150
Güzide Ayşe OCAK
ORCID ID: 0000-0001-5947-7434
Elif İNANÇ GÜRER
ORCID ID: 0000-0003-4044-0652

ÖZ

Amaç: Glial tümörler en sık görülen primer beyin tümörleridir. Tümör hücrelerinde DNA piloidi ve proliferasyon indeksi belirlenmesi, birçok neoplazide olduğu gibi glial tümörlerde de prognoz ile yakından ilişkilidir. Bu çalışmanın amacı glial tümörlerde DNA piloidi ve Ki-67 proliferatif indeksi tayini ile tümör dereceleri arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmaya Ekim 2003 ile Haziran 2005 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından incelenen 30 glial tümör olgusu alındı. DNA piloidi belirlenmesi için ameliyat sırasında tümör dokusundan hazırlanan imprint preparat, histokimyasal Feulgen boyama tekniğiyle boyanıp, Autocyte Quic® DNA programı kullanılarak incelendi. Ki-67 proliferatif indeksini belirlemek için parafin bloktan alınan kesitlere immünohistokimyasal Ki-67 boyası uygulandı. Işık mikroskopide 400x büyütmede toplam 1000 tümör hücresinde pozitif nükleer boyanan hücreler sayıldı ve yüzdeleri alındı. Olgularda derece belirlemek için Dünya Sağlık Örgütü dereceleme sistemi kullanıldı.

Bulgular: Tümör derecesi ile DNA indeksi (DI) ve Ki-67 proliferatif indeksi arasında anlamlı ilişki bulundu. Yüksek dereceli tümörlerde bu iki parametrenin de düşük dereceli tümörlere göre daha yüksek olduğu bulundu. Ki-67 proliferatif indeksi ile DI arasında da anlamlı ilişki bulundu. Yüksek Ki-67 değerleri yüksek DI değerleri ile ilişkiliydi.

Sonuç: Glial tümörlerin DNA piloidisi ve Ki-67 proliferatif indeksi tümör derecesi hakkında güvenilir bilgi vermektedir. DNA piloidisinin, Ki-67 proliferatif indeks ve histopatolojik tanı/derece ile beraber daha objektif prognostik veriler elde edilmesine olanak sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: DNA piloidi, Glial tümörler, Ki-67

ABSTRACT

Objective: Glial tumors are the most common primary brain neoplasms. As in many tumors, evaluation of DNA ploidy and the proliferation index have prognostic relevance in glial tumors. In this study, we aimed to evaluate the DNA ploidy and Ki-67 proliferation index values of 30 glial tumors and their relationship with the tumor grade.

Material and Methods: Thirty glial tumor cases were investigated in this study between October 2003 and June 2005 at the Akdeniz University Faculty of Medicine Pathology Department. During surgery, we prepared touch preparations of tumors and then we stained them with the histochemical Feulgen staining technique. We examined Feulgen stained preparations using the Autocyte Quic® DNA program to determine the DNA ploidy. For the proliferation index, Ki-67 immunohistochemical staining was performed on the sections prepared from paraffin embedded tissue blocks. Positive nuclear stained cells were counted in a total of 1000 tumor cells at 400x magnification using a light microscope and the percentages were calculated. The World Health Organization grading system was used to grade the tumors.

Results: We established that tumor grade has a good correlation with DNA index (DI) and Ki-67 values. These two parameters had higher values in high grade tumors than low grade ones. There was also a significant correlation between the Ki-67 proliferation index and DI. High Ki-67 values were associated with high DI values.

DOI: 10.17954/amj.2018.1059

Conclusion: In glial tumors, DNA ploidy and Ki-67 proliferative index provide reliable information about tumor grade. In addition to tumor grade, determining DNA ploidy and Ki-67 proliferation index in glial tumors help us predict the prognosis more objectively in glial tumors.

Key Words: DNA ploidy, Glial tumors, Ki-67

GİRİŞ

Glia tumorları en sık görülen primer beyin tumorlarıdır. Tüm santral sinir sistemi tumorlarının %40-%50' sini oluştururlar. Diğer organ tumorlarından farklı olarak total olarak çıkartılmaları yüksek mortalite ve morbidite oranları nedeniyle oldukça zordur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tüm santral sinir sistemi tumorları histolojik özelliklerine göre 4 farklı dereceye ayırmıştır. Derece I tumorları genellikle düşük proliferatif potansiyeli olan ve cerrahi rezeksiyon sonucu tamamen kür sağlanan iyi sınırlı tumorlardır. Derece II tumorları infiltratif özelliktedir ve düşük proliferasyon potansiyelleri olmasına karşın cerrahi sonrası rekürrens sıklıktır. Derece III tumorları nükleer atipi, yoğun mitotik aktivite gibi malignite kriterlerine sahiptir. Çoğu derece III tumor hastasına adjuvant radyoterapi ve/veya kemoterapi tedavisi uygulanır. Derece IV tumorları derece III tumorlarla benzer hücresel özellikler taşımalarının yanında, tumor nekrozu ve/veya vasküler endotelial proliferasyon (VEP) gibi bazı ilave histolojik özelliklere sahiptirler (1,2).

Deoksiribonükleik asit (DNA) ploidi tayini hücresel DNA içeriğinin, DNA içeriği bilinen bir standartla karşılaştırılmasıyla bulunur. İncelenen örnekten elde edilen G0G1 değerinin ortalama değerinin kontrol grubunun G0G1 pikinin ortalama değerine bölünmesiyle DNA indeksi (DI) bulunur. Bu değer diploid tumorlarda 0,9-1,1 aralığındadır. Bu sınırların altındaki veya üstündeki DI değerlerine sahip tumorları anaploid olarak adlandırılır. Tumor DNA içeriğinin anaploid olması sıklıkla kötü klinik gidişle ilişkili iken bunun klinik seyre yansımadığını bildiren yayınlar da vardır (3-11).

DNA ploidi belirlenmesi için kullanılabilecek farklı yöntemler vardır. Bilgisayar destekli görüntü analiz sistemleri ve flow sitometrik incelemeler en sık kullanılan yöntemlerdir. Her iki yöntem de sonuçta aynı amaca hizmet etse de birbirlerine göre bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (12).

Flow sitometrik incelemede, tumor dokusu olduğu kanıtlanmış taze dokudan veya parafine gömülü tumor dokusundan alınacak kalın kesitlerden hazırlanan hücre süspansiyonları, çeşitli aşamalardan geçirilerek sadece hücre çekirdeği içeren bir karışım haline getirilir. DNA içeriğini seçen bir boyayla boyandıktan sonra otomatik sitometri cihazıyla her bir hücrenin DNA içeriği ölçülür. Bu yöntemin avantajı otomatik olarak çok sayıda (10000'in

üzerinde) hücre sayılabilesidir. Dezavantajı ise sayım sırasında farklı kökenden gelen hücrelerin de otomatik olarak sayılıp sonuçlara ilave edilmesidir (6-9).

Bilgisayar destekli görüntü analiz sistemlerinde sıklıkla taze dokudan yapılan yayma preparatları veya parafin bloklardan alınan dokuların süspansiyon haline getirilmesinden sonra hazırlanan yayma preparatları kullanılmaktadır. Mikroskop altında, bir bilgisayar yazılımı yardımıyla, her bir tumor hücresi tek tek seçilerek ölçüm yapılır. Bu yöntemin avantajı ölçüme alınan her bir hücrenin tek tek seçilebilmesi ve böylece alınan ölçüm sonuçlarının tumor hücrelerine ait olduğundan emin olunabilmesidir. Dezavantajı ise yayma preparatı üzerinde sayılabilecek tumor hücre sayısının flow sitometri yöntemine göre daha az olmasıdır (ortalama 50-300 hücre) (5,11,13,14).

Yüksek tumor derecesi genellikle anaploid DNA içeriği ile beraberken bazı yayınlarda yüksek ve düşük dereceli tumorları arasında DNA içeriği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı bildirilmiştir (11).

Nükleer bir antijen olan Ki-67, proliferasyon gösteren hücrelerde siklusun G0 dışındaki tüm fazları boyunca salgılanmaktadır (15). Bu da onu proliferasyon gösteren hücreleri belirlemede kullanılabilen çok güvenilir bir nükleer belirteç yapmıştır. Birçok glial tumorunda immünohistokimyasal yöntemle belirlenen Ki-67 değerinin prognostik değeri olduğu kanıtlanmıştır (15-21).

Bu çalışmanın amacı glial tumorlarda DNA ploidi ve Ki-67 proliferatif indeksi tayini ile tumorların dereceleri arasındaki ilişkiyi incelemek, gelecekte hastaya spesifik tedavi protokollerinin oluşumuna katkıda bulunmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışmaya Ekim 2003 ile Haziran 2005 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi 'nde opere edilen ve ameliyat materyalleri Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından incelenen 30 glial tumor olgusu alınmıştır. Çalışmamız Helsinki Bildirgesi kriterlerine uygun olarak yapılmıştır.

Ameliyat sırasında tumor dokusundan hazırlanan iki adet imprint preparattan bir tanesi %96'lık konsantrasyondaki alkolde tespit edilirken diğeri havada kurutulmuştur. Alkolde tespit edilen preparat PAP boyama yöntemiyle (22) boyanıp ışık mikroskopik inceleme sonucunda glial tumor dokusu olduğu görüldükten sonra diğeri havada kurutulmaya

birakılan preparat histokimyasal feulgen boyama tekniğiyle boyanmak üzere ayrılmıştır.

Feulgen Boyama Tekniği

%15 formaldehit, %5 asetik asit ve %80 metanol ile feulgen fiksatif hazırlandı. Preparatlar feulgen fiksatifinde 10 dakika bekletildi. Distile suda 10 dakika daha bekletildikten sonra oda ısısında 6N HCL ile 15 dakika boyunca arada çalkalanarak muamele edildi. 6N HCL döküldükten sonra yeni hazırlanan 6N HCL içerisinde yine oda ısısında 10 dakikada bir çalkalanarak 1 saat bekletildi. 4 kez birer dakika arayla distile suda yıkandı. Schiff's Reagent Feulgen içerisinde 2 saat oda ısısında bekletildi. Her seferinde solüsyon dökülmek üzere, 4 kez 1'er dakika sülfür banyosunda (5g KNa Metabisülfid ve 50 ml 1N HCL + 950 ml distile su) bekletildi. Çeşme suyunda 10 dakika yıkandı. %70, %80, %90 ve %99'luk alkollerde dehidrate edilip ksilol ile şeffaflaştırıldıktan sonra kapatıcı ile kapama işlemi yapıldı. Kapama işleminden sonra preparatların ışık görmeyecek şekilde muhafaza edilmeleri sağlandı.

Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyama Tekniği ve Değerlendirmesi

Tümörü en iyi temsil eden preparata ait parafin bloktan mikrotom ile 4 mikronluk kesitler alındı. 56 derecedeki etüvde 2 saat bekletildi. Parafini eriyen preparatlar ksilol, alkol ve çeşme suyu ile muamele edilerek tamamen deparafinize edildikten sonra citrate buffer ile muamele edildi. Neomarker monoklonal Ki-67 antikoruna ile Leica Bond-Max tam otomatik immünohistokimya ve in-situ hibridizasyon boyama makinesinde boyandı.

Ki-67 proliferatif indeksini belirlemek için ışık mikroskopide 400 büyütmede toplam 1000 tümör hücresinde pozitif nükleer boyanan hücreler sayıldı ve yüzdeleri alındı.

Glial Tümörlerde Histolojik Derece Belirleme

Olgularda derece belirlemek için DSÖ derecelendirme sistemi kullanıldı. Buna göre iyi sınırlı, sellülaritesi fazla olmayan, nükleer atipi, mitoz, nekroz, VEP taşımayan, çevre beyin parankiminden iyi sınırlarla ayrılmış olgular derece I, sadece sellülaritesi artmış veya nükleer atipi gösteren olgular derece II olarak değerlendirildi. Sellülarite artışı yanısıra anaplastik özellikler ve mitotik aktivite gösteren olgulara derece III, buna ilave olarak tümör nekrozu ve/veya VEP gösteren olgular derece IV olarak değerlendirildi. Anaplazi için nukleusta pleomorfizm ve hiperkromazi özellikleri, VEP için endotel tabakasındaki sıralanma artışı dikkate alındı.

DNA Piloidi Değerlendirmesi

Feulgen boyalı preparatlar Autocyte Quic® DNA programı kullanılarak incelendi. İnceleme sırasında Avrupa Analitik Sellüler Patoloji Topluluğu'nun (ESACP) "DNA Görüntü

Sitometri Ölçümü Standardizasyonu Konsensus Raporu" dikkate alındı (23).

DNA ölçümü için kullanılacak referans hücreler için ölçümün yapılacağı preparat içerisindeki lenfositler kullanıldı. Her ölçüm için 50 tane lenfosit 2N referans aralığını belirlemek için seçildi. Referans aralığında değişim katsayısı değerinin (CV) %6'yı geçmemesine dikkat edildi (24). Her bir preparat için en az 211 en çok 375 (ortalama 293) tane sitolojik olarak iyi korunmuş, nükleer sınırları net seçilebilen, başka bir hücreyle üst üste düşmemiş, tüm sınırları ölçüm yapılan alan içerisinde kalan tümör hücresi ölçüme alındı (14). Ortaya çıkan histogramda DNA indeks (DI) skor piki 0,9-1,1 arasında kalan olgular diploid, 1,1'in üzerinde veya 0,9'un altında olanlar anaploid olarak değerlendirildi.

Tümör derecesi ile DI ve Ki-67 proliferatif indeksi arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi uygulanarak incelendi.

BULGULAR

Hastaların 14'ü kadın, 16'sı erkektir. Olguların 2 tanesi DSÖ derece I (pilositik astrositom), 11 tanesi derece II (5 tane difüz astrositom, 3 tane oligodendrogliom, 2 tane ependimom, 1 tane pleomorfik ksantoastrositom), 7 tanesi derece III (2 tane anaplastik astrositom, 4 tane anaplastik oligoastrositom, 1 tane anaplastik ependimom), 10 tanesi derece IV'tür (glioblastom) (Şekil 1,2, Tablo I).-

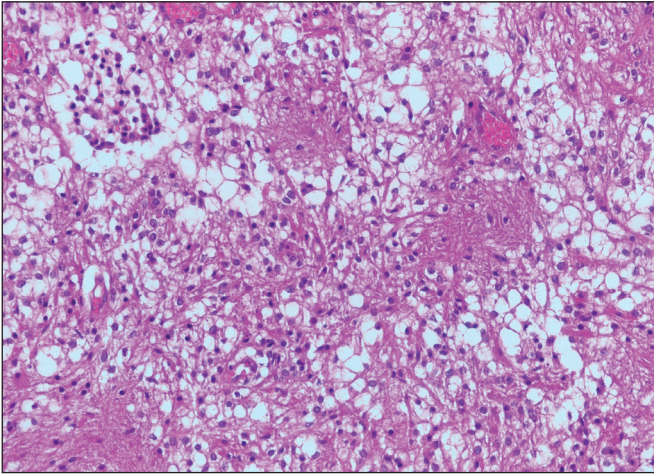
DSÖ derece I tümörlerin tamamı, derece II tümörlerin sekizi (%72) diploiddir. Derece III tümörlerin altısı (%85), derece IV tümörlerin ise sekizi (%80) anaploiddir (Şekil 3,4, Tablo II).

Tümör derecesi ve DI arasında anlamlı ilişki bulundu. Yüksek dereceli tümörlerin DI değerleri düşük dereceli tümörlere göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksekti (p=0,002). Derece ve Ki-67 proliferatif indeksi arasında da anlamlı ilişki bulundu. Yüksek dereceli tümörler daha yüksek Ki-67 proliferatif indeksi değerlerine sahipti (p=0,001) (Şekil 5,6, Tablo III).

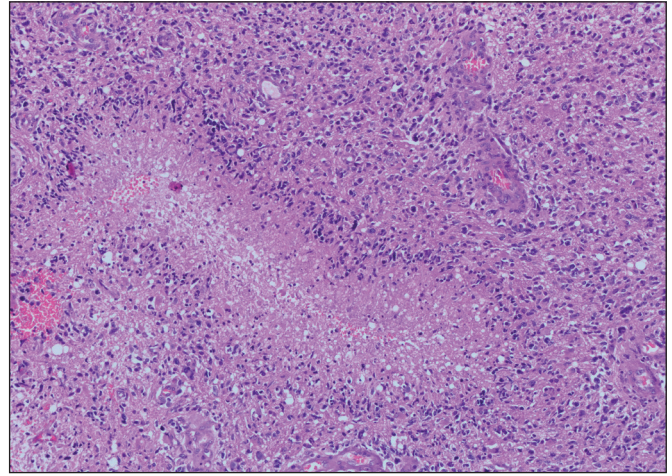
Ki-67 proliferatif indeksi ile DI arasında da anlamlı ilişki bulundu. Yüksek Ki-67 değerleri yüksek DI değerleri ile ilişkiliydi (p=0,001 / r= -0,61).

TARTIŞMA

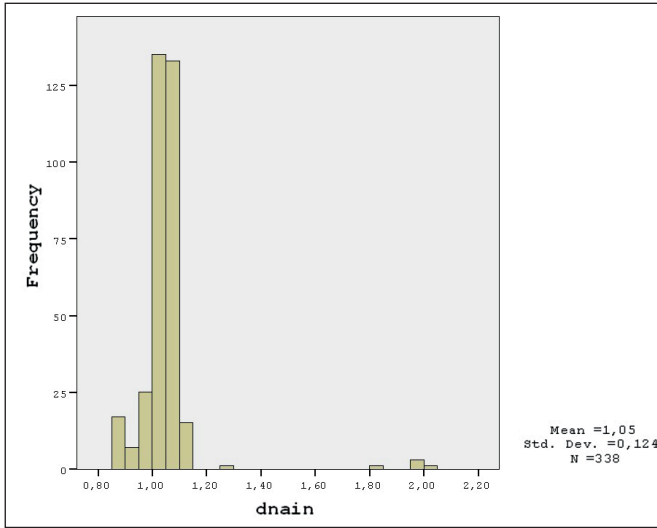
Birçok klinik özellik glial tümörlerde prognozu etkilerken en önemlilerinden birisi tümör derecesidir. Tümör derecesi prognoz hakkında çok önemli bilgiler verirken, mikroskopik özelliklerin araştırmacılar arasındaki yorum farklılıkları nedeniyle farklı tanımlara neden olması olasıdır. Özellikle tanı koymak için alınan biyopsi materyalinin çok küçük olması kesin tanıyı olanaksız kılabilceği gibi tedaviyi yönlendirmek konusunda da zorluklara yol açacaktır (8).



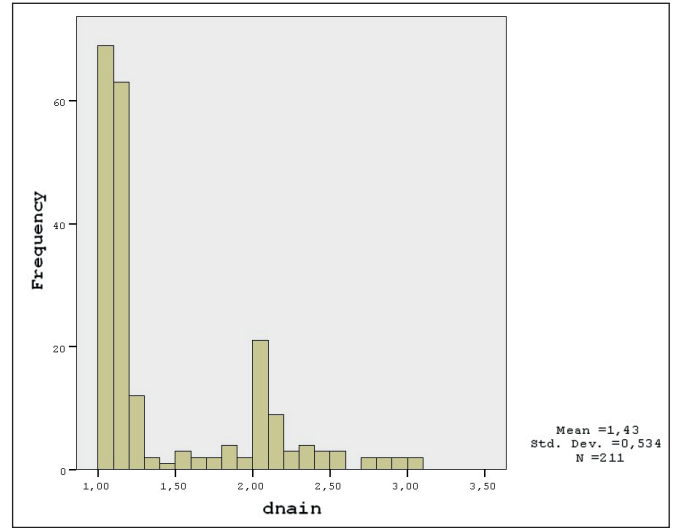
Şekil 1: Pilositik astrositom, HEx200.



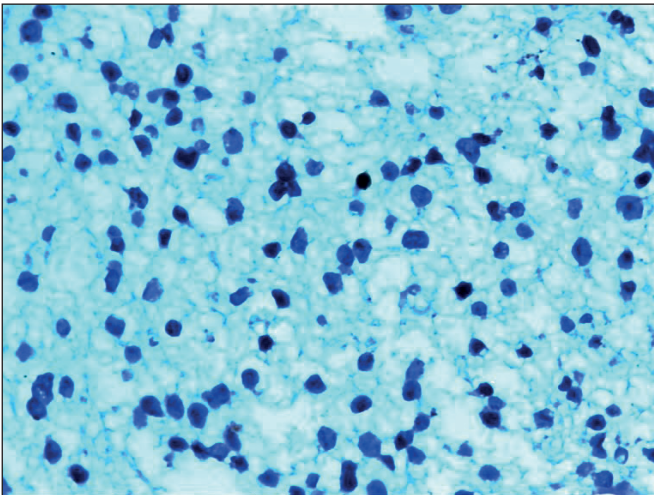
Şekil 2: Glioblastom, HEx200.



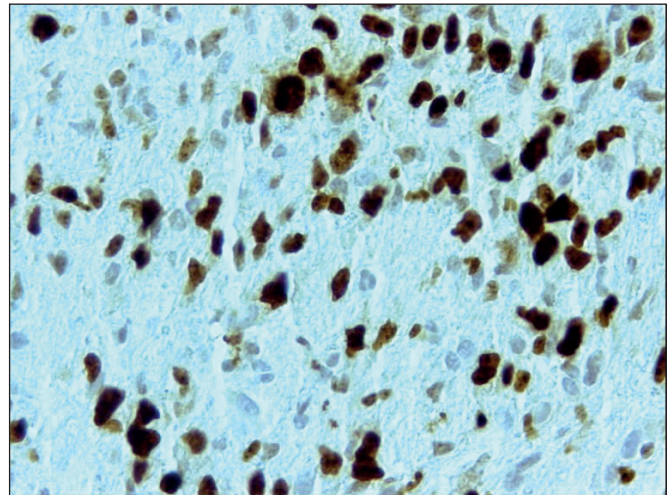
Şekil 3: Pilositik astrositom histogramı.
dnain: DNA indeksi, Frequency: Ölçüm yapılan tümör hücre sayısı, DNA indeksi: 1,05, diploid tümör, Ölçüm yapılan hücre sayısı: 338, CV: 0,12.



Şekil 4: Glioblastom histogramı.
dnain: DNA indeksi, Frequency: Ölçüm yapılan tümör hücre sayısı, DNA indeksi: 1,43, anaploid tümör, Ölçüm yapılan hücre sayısı: 211, CV: 0,53.



Şekil 5: Pilositik astrositom, Ki-67x400.



Şekil 6: Glioblastom, Ki-67x400.

DNA piloidi tayini ile glial tümörlerde prognoz hakkında fikir sahibi olmak daha objektif bir metottur. Anaploid DNA içeriği sıklıkla yüksek dereceli glial tümörlerde beklenirken Derece I-II tümörlerle de anaploidi bulunabilir (3,8). Bizim çalışmamızda, düşük dereceli 13 tümörün üçü anaploid, 10'u diploid DNA içeriğine sahipken, yüksek dereceli 17 tümörün ise 14'ü anaploid, üçü diploid bulunmuştur. Buna karşın literatürde DI ile tümör derecesi arasında anlamlı ilişki bulunmadığını öne süren çalışmalar da vardır. Jimenez ve ark. (25) 78 astrositik tümörün incelendiği bir çalışmada olguların 49'unu (%63) diploid, 29'unu (%37) anaploid bulmuştur. Histolojik derece ve DNA piloidisi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır. Flow sitometri yöntemiyle yapılan bu çalışmada CV değerinin anaploid DNA içeriği için % 7,7, diploid DNA değeri için %8,2 gibi yüksek değerlerde olması tekniğin güvenilirliğini sorgulatmaktadır. Mathew ve ark. (8) pediatrik yaş grubunda 57 glial tümörü incelediği

çalışmalarında 57 olgunun 21'i derece I, 20'si derece II, sekizi derece III, sekizi derece IV tümördür. Olguların 46'sı diploid bulunmuştur. 41 düşük dereceli tümörün 39'u (%95) diploid DNA içeriğine sahipken, bir gangliositom ve bir oligodendrogliom olgusu anaploid bulunmuştur. 16 yüksek dereceli tümörün 11'i (%69) diploid DNA içeriği taşıyorken beşi anaploid bulunmuştur. Bu sonuçlarla DNA piloidisi ve tümör derecesi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0.015$). Gasinska ve ark. (10) 75 glial tümörü içeren çalışmalarında (53 derece III ve IV, 22 derece I ve II) anaploid DNA içeriği yüksek ve düşük dereceli tümörler içinde eşit ve %55 oranında saptamıştır. Reis ve ark. (6) 35 astrositik tümörü içine alan çalışmalarında yüksek tümör derecesi ve DNA anaploidisi arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmuştur. Özellikle histopatolojik tanı güçlüğü çekilen küçük biyopsi örneklerinde DNA piloidi tayini yönteminin tümör derecesinin belirlenmesi amacıyla kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir.

31 ependimal tümörde çalışan Zamecnik ve ark. (7) Ki-67 proliferatif indeksi ve DNA piloidisini değerlendirmiştir. Ki-67 proliferatif indeks tayininde yüksek dereceli tümörlerde düşük dereceli tümörlere göre belirgin yüksek değerler bulunmuştur. DNA piloidi incelemesinde 16 tümör diploid, 14 tümör anaploid bulunmuş, bir olgu ise kötü kalite yüzünden çalışılmamıştır. Bu çalışmanın bir ilginç özelliği de histolojik özelliklere dayanarak yapılan derecelemede ortaya çıkan gözlemciler arasındaki farklılıkları ortaya koymasındır. 21 olguda (%67,7) üç gözlemcinin üçü de aynı dereceyi verirken, 10 olguda (%32,3) üç gözlemciden ikisi derece konusunda aynı fikre sahip olmuştur, bir araştırmacı ise farklı derece vermiştir. Danova ve ark. (26) 153 nöroepitelyal tümör olgusunda DNA piloidi, yaş, cinsiyet, histolojik tipin korelasyonunu inceledikleri çalışmalarında histolojik alt tip ve DNA piloidinin tek başlarına

Tablo I: Tümörlerin histopatolojik tip ve derece dağılımı.

Histolojik Tip	Derece	Olgu Sayısı
Pilositik astrositom	I	2
Difüz astrositom	II	5
Oligodendrogliom	II	3
Ependimom	II	2
Pleomorfik ksantoastrositom	II	1
Anaplastik astrositom	III	2
Anaplastik oligoastrositom	III	4
Anaplastik ependimom	III	1
Glioblastom	IV	10

Tablo II: Düşük ve yüksek dereceli tümörlerin DNA piloidi dağılımı.

Derece	Tümör Tipi	Anaploid (%)	Diploid (%)	Toplam
Düşük (I-II)	Pilositik astrositom	0	2 (100)	2
	Difüz astrositom	0	5 (100)	5
	Oligodendrogliom	2 (66)	1 (34)	3
	Pleomorfik ksantoastrositom	1 (100)	0	1
	Ependimom	0	2 (100)	2
Yüksek (III-IV)	Anaplastik astrositom	2 (100)	0	2
	Anaplastik oligoastrositom	3 (75)	1 (25)	4
	Anaplastik ependimom	1 (100)	0	1
	Glioblastom	8 (80)	2 (20)	10
Toplam		17 (56,7)	13 (43,3)	30

önemli prognostik faktörler olduğunu bildirmişlerdir. Taylor ve ark. (27) 89 ganglionöroma ve nöroblastom olgusunu inceledikleri çalışmalarında olguların %60'ında anaploid DNA içeriği saptamışlardır. Yazarlar DNA analiz sonuçlarının tümör ilerlemesinin iyi bir göstergesi olduğunu, anaploid olgularda farklı kemoterapi stratejileri planlanabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca yazarlar anaploid tümör olgularında sağ kalım süreleri ile DNA analiz sonuçlarının korele olduğunu vurgulamaktadır.

DNA ploidi ve Ki-67 proliferatif indeks tayini ile glial tümörlerin derecesine ilişkin bulgularımız çok sayıda çalışma ile sonuçları bakımından uyumludur. Ancak Reavey ve ark. tarafından da bildirildiği gibi Ki-67 pozitifliği aynı tümörün farklı alanlarında, farklı yoğunluklarda bulunabilmektedir. Bu durum gözlemler arasında uyumsuzluğa yol açmaktadır. Bu yüzden Ki-67 proliferatif indeks bulgularının DNA ploidi değerleri ile beraber yorumlanması daha güvenilir bir yaklaşım olacaktır (28).

Tablo III: Olguların cinsiyet, yaş, tümör tipi, tümör derecesi, DI, DNA Ploidi durumu ve Ki-67 proliferatif indeksleri.

Olgu	Cinsiyet	Yaş	Tümör Tipi	Tümör Derecesi	DI	DNA Ploidi	Ki-67%
1	K	22	Pilositik astrositom	1	1,05	Diploid	1
2	E	39	Pilositik astrositom	1	1,01	Diploid	1
3	E	31	Difüz astrositom	2	1,04	Diploid	4
4	E	44	Difüz astrositom	2	1,03	Diploid	4
5	E	45	Difüz astrositom	2	1,05	Diploid	3
6	E	39	Difüz astrositom	2	1,01	Diploid	2
7	K	19	Difüz astrositom	2	1,09	Diploid	1
8	E	55	Oligodendrogliom	2	1,18	Anaploid	4
9	E	45	Oligodendrogliom	2	1,05	Diploid	3
10	K	13	Oligodendrogliom	2	1,86	Anaploid	10
11	K	31	Pleomorfik ksantoastroitom	2	1,16	Anaploid	3
12	K	2	Ependimom	2	1,08	Diploid	3
13	K	20	Ependimom	2	1,04	Diploid	7
14	E	56	Anaplastik astrositom	3	1,13	Anaploid	19
15	K	46	Anaplastik astrositom	3	1,18	Anaploid	10
16	E	61	Anaplastik oligoastroitom	3	1,13	Anaploid	32
17	E	37	Anaplastik oligoastroitom	3	1,09	Diploid	8
18	K	29	Anaplastik oligoastroitom	3	2,06	Anaploid	35
19	K	49	Anaplastik oligoastroitom	3	1,32	Anaploid	13
20	K	13	Anaplastik ependimom	3	1,16	Anaploid	25
21	E	62	Glioblastom	4	2,41	Anaploid	11
22	E	59	Glioblastom	4	1,51	Anaploid	30
23	K	45	Glioblastom	4	2,8	Anaploid	30
24	E	49	Glioblastom	4	1,43	Anaploid	36
25	E	63	Glioblastom	4	1,05	Diploid	10
26	K	71	Glioblastom	4	1,14	Anaploid	9
27	K	61	Glioblastom	4	1,16	Anaploid	12
28	K	50	Glioblastom	4	1,31	Anaploid	11
29	E	40	Glioblastom	4	1,18	Anaploid	6
30	E	35	Glioblastom	4	1,08	Diploid	10

SONUÇ

Glial tümörlerde, tümör derecesine ek olarak DNA piloidisinin ve Ki-67 proliferatif indeksinin belirlenmesi hastalarda prognoz tahmininde önemli bilgiler vermektedir. Görüntü analiz sistemiyle DNA piloidi tayininin, histopatolojik tanı verilemeyecek kadar küçük olan biyopsi örneklerinde bile çalışılabilmesi önemli bir avantajdır. Bunun yanında, cerrahi olarak çıkarılması mümkün olmayan tümörlerde yapılacak ince iğne

aspirasyonlarında DNA piloidi tayini mümkündür. Bu da doku biyopsisi olmaksızın hastalığın prognozu hakkında fikir edinilebilmesine olanak sağlamaktadır (29).

Bu çalışma bir ön çalışma niteliğinde olup DNA piloidi ölçümünün rutin olarak yapılmasının, Ki-67 proliferatif indeks ve histopatolojik tanı/derece ile beraber daha objektif prognostik veriler elde edilmesine olanak sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131(6):803-20.
- Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 2005; 64(6):479-89.
- Bağdatoğlu C, Silav G, Kanık A, Dolgun H, Bademci G, Deda H. The importance of flow cytometric dna analysis in glial tumors. *Turkish Neurosurgery* 2001; 11:18-25.
- Coons SW, Davis JR, Way DL. Correlation of DNA content and histology in prognosis of astrocytomas. *Am J Clin Pathol* 1988; 90(3):289-93.
- Zaprianov Z, Christov K. Histological grading, DNA content, cell proliferation and survival of patients with astroglial tumors. *Cytometry* 1988; 9(4):380-6.
- Reis A, Baykal S, Kuzeyli K, Tekelioğlu Y, Özoran Y, Ovalı E, Çobanoğlu Ü, Çakır E. Astrositomlarda akım sitometrik inceleme ve p53 protein ile EGFR immünreaktivitesi. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 1999; 9(3):1-6.
- Zamecnik J, Snuderl M, Eckschlager T, Chanova M, Hladikova M, Tichy M, Kodet R. Pediatric intracranial ependymomas: Prognostic relevance of histological, immunohistochemical, and flow cytometric factors. *Mod Pathol* 2003; 16(10):980-91.
- Mathew P, Look T, Luo X, Ashmun R, Nash M, Gajjar A, Walter A, Kun L, Heideman RL. DNA index of glial tumors in children: Correlation with tumor grade and prognosis. *Cancer* 1998; 78(4), 881-6.
- El-Rayes BF, Norton CS, Sakr W, Maciorowski Z, Smith D, Pietraszkiewicz H, Del Mar Alonso M, Ensley JF. DNA content parameters as prognostic indicators in human astrocytomas; *Journal of Neuro-Oncology* 2005; 71(2): 85-9.
- Gasińska A, Krzyszkowski T, Niemiec J, Adamczyk A, Skotyszewski J. Prognostic significance of DNA ploidy and proliferation rate in human astrocytic gliomas. *Folia Histochem Cytobiol* 2000; 38(4):175-80.
- Budak Y, Kurtkaya Ö, Yanıkaya Demirel G, Baloğlu H, Işıtmangil G. Diffüz astrositoma olgularında DNA içerik tayini. *İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi* 2004; 67(2):83-91.
- Darzynkiewicz Z, Crissman H, Jacobberger JW. Cytometry of the cell cycle: Cycling through history. *Cytometry A* 2004; 58(1):21-32.
- Giaretti W. Flow cytometry and applications in oncology. *Clin Pathol* 1997;50:275-7.
- Meijer GA, Beliën JA, van Diest PJ, Baak JP. Image analysis in clinical pathology. *Clin Pathol* 1997; 50:365-70.
- Suzuki S, Oka H, Kawano N, Tanaka S, Utsuki S, Fujii K. Prognostic value of Ki-67 (MIB-1) and p53 in ependymomas. *Brain Tumor Pathol* 2001; 18:151-4.
- Bennetto L, Foreman N, Harding B, Hayward R, Ironside J, Love S, Ellison D. Ki-67 immunolabeling index is a prognostic indicator in childhood posterior fossa ependymomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998; 24:434-40.
- Figarella-Branger D, Civatte M, Boovier-Labit C, Gouvernet J, Gambarelli D, Gentet JC, Lena G, Choux M, Pellissier JF. Prognostic factors in intracranial ependymomas in children. *Journal of Neurosurgery* 2000; 93:605-13.
- Ho DM, Hsu CY, Wong TT, Chian H. A clinicopathologic study of 81 patients with ependymomas and proposal of diagnostic criteria for anaplastic ependymoma. *J Neurooncol* 2001; 54:77-85.
- Schroder R, Ploner C, Ernestus RI. The growth potential of ependymomas with varying grades of malignancy measured by the Ki-67 labeling index and mitotic index. *Neurosurg Rev* 1993; 16:145-50.
- Ritter AM, Hess KR, McLendon RE, Langford LA. Ependymomas. MIB-1 proliferation index and survival. *J Neurooncol* 1998; 40:51-7.

21. Rushing EJ, Brown DF, Hladik CL, Risser RC, Mickey BE, White CL. Correlation of bcl-2, p53, and MIB-1 expression with ependymoma grade and subtype. *Mod Pathol* 1998; 11:464-70.
22. Papanicolaou GN. A new procedure for staining vaginal smears. *Science* 1942; 95:438-9.
23. Haroske G, Baak JP, Danielsen H, Giroud F, Gschwendtner A, Oberholzer M, Reith A, Spieler P, Böcking A. Fourth updated ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. *Anal Cell Pathol* 2001; 23:89-95.
24. Montironi R, Diamanti L, Santinelli A, Magi Galluzzi C, Scarpelli M, Giannulis I, Mangili F. Computed cell cycle and DNA histogram analyses in image cytometry in breast cancer. *Clin Pathol* 1993; 46:795-800.
25. Jimenez O, Timms A, Quirke P. Prognosis in malignant glioma: A retrospective study of biopsy specimens by flow cytometry. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1989; 15:331-8.
26. Danova M, Giaretti W, Merlo F. Prognostic significance of nuclear DNA content in human neuroepithelial tumors. *Int J Cancer* 1991; 48:663-7.
27. Taylor SR, Blatt J, Costantino JP, Roederer M, Murphy RF. Flow cytometric DNA analysis of Neuroblastoma and Ganglioneuroma. A 10-year retrospective study. *Cancer* 1988; 62:749-54.
28. Reavey-Cantwell J, Haroun RI, Zahurak M, Clatterbuck RE, Parker RJ, Mehta R, Fruehauf JP, Brem H. The prognostic value of tumor markers in patients with glioblastoma multiforme: Analysis of 32 patients and review of the literature. *Journal of Neuro - Oncology* 2001; 55(3):195-204.
29. Ellen Greenebaum, Leopold G. Koss, Andrew B. Sherman, Flora Elequin. Comparison of needle aspiration and solid biopsy technics in the flow cytometric study of DNA distributions of surgically resected tumors. *American Journal of Clinical Pathology* 1984; 82(5):559-64.