

# Astroisitomlarda Akım Sitometrik İnceleme ve p53 Protein ile EGFr İmmünreaktivitesi

## Flow cytometry, p53 protein and epidermal growth factor receptor immunoreactivity in astrocytomas

ABDÜLKADİR REİS, SÜLEYMAN BAYKAL, KAYHAN KUZEYLİ, YAVUZ TEKELİOĞLU,  
YAVUZ ÖZORAN, ERCÜMENT OVALI, ÜMİT ÇOBANOĞLU, ERTUĞRUL ÇAKIR

KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji (AR,YÖ,ÜÇ), Nöroşirürji (SB,KK,EÇ), Histoloji (YT) ve İç Hastalıkları (Hematoloji-Onkoloji) (EO) Anabilim Dalı, Trabzon

Geliş Tarihi: 6.7.1999 ⇔ Kabul Tarihi: 3.8.1999

**Özet:** Son yıllarda astroisitomlarda yapılan akım sitometrik DNA analizi çalışmalarında, aneuploidi oranının tümör grade'i ile korelasyon gösterdiği, aynı zamanda bu tümörlerde p53 ve EGFr gen mutasyonlarının, klinik davranışın agressif olduğu yüksek grade'li tümörlerde daha yüksek oranda bulunduğu bildirilmektedir. KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda son beş yılda tanı almış astroisitomlar içinde parafin bloklarda yeterli materyali bulunan 35 olgu çalışmaya alındı. WHO-1993 sistemine göre yeniden grade'lenen olgular düşük ve yüksek grade'li olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Parafin bloklardan akım sitometrik DNA analizi ve p53 ile EGFr immünreaktivitesi araştırıldı. Bulguların istatistiksel analizi yapıldığında; p53 pozitifliği ve DNA aneuploidisi yüksek grade'li olgularda anlamlı bulundu ( $p < 0.05$  ve  $p < 0.001$ ). EGFr pozitifliği - grade ve sentez fazı - grade arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Astroisitomlarda mutant p53 protein ya da aneuploidi araştırılması, tümörün histolojik grade'inin saptanmasında güçlük çekilen küçük doku örneklerinde yararlı olabilir. Tümör grade'inin tam olarak saptanamadığı olgularda özellikle akım sitometrik DNA analizi hastaların takip ve tedavisine katkı sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Astroisitom, akım sitometri, immünohistokimya

**Abstract:** In recent years studies about flow cytometric DNA analysis of astrocytomas revealed the correlation between aneuploidy and tumor grade. Also, p53 and EGFr gene mutation rates were found to be high in these clinically aggressive tumors. Our study included 35 cases of astrocytomas diagnosed in KTU Pathology Department between 1994-1998. The cases are divided into two subgroups according to WHO-1993 classification as low and high grade tumors. Flow cytometric DNA analysis and p53-EGFr immunoreactivity are studied from paraffin embedded tissues. The relation between p53 positivity-DNA aneuploidy and high grade tumors was statistically significant ( $p < 0.05$  and  $p < 0.001$ , respectively). In contrast, S-indices and EGFr positivity were not statistically related to grade of the tumors. Mutant p53 protein and aneuploidy studies may be helpful in grading especially in small biopsy specimens. Also, flow cytometric DNA analysis seems to be useful for predicting survival and therapy of the cases.

**Key Words:** Astrocytoma, flow cytometry, immunohistochemistry

## GİRİŞ

Astroitik tümörlerin histolojik özellikleri ile klinik davranışlarının test edildiği bir çok çalışmada, düşük grade'li tümörlerden bazılarının grade

progresyonu gösterdiği, histolojik bulguların prognozu önceden tahmin etmede yetersiz kaldığı görülmüştür. Bu nedenle son yıllarda prognozun belirlenmesinde tümör hücrelerinde DNA analizi, proliferatif aktivite, onkogen ve tümör supressör gen

değişikliklerinin araştırılması önem kazanmıştır (1,2).

Astrositomlarda yapılan akım sitometrik DNA analizi çalışmalarında, tümörün histopatolojik grade'i ile DNA aneuploidisi arasında iyi bir korelasyon bulunduğu öne sürülürken, sentez fazı konusunda farklı görüşler de mevcuttur (3-8).

Glial tümörlerde mutant p53 tümör supressör gen ve Epidermal Growth Factor receptor (EGFr) gen mutasyonlarının, klinik davranışın ağırsif olduğu yüksek grade'li tümörlerde daha yüksek oranda bulunduğu sitogenetik çalışmalarla gösterilmiştir (9-15).

p53 tümör supresör geni normalde hücre büyümesinde düzenleyici rolü olan 53 kD nükleer fosfoproteindir. Normal p53 proteinin hücre sel miktarı çok az ve yarılanma ömrü kısa (20dk.) olduğundan, standart immünohistokimyasal yöntemle gösterilemez. 17p kromozomu üzerinde yer alan p53 geninin genelde nokta mutasyonu ile oluşan mutant formu hücre içinde normalin 10-100 katına, yarılanma ömrü ise 24 saate çıkmaktadır. Bu miktar immünohistokimya ile gösterilebilir (9).

EGFr 170 kD transmembran glikoprotein olup intrasellüler tirozin kinaz aktivasyonu yaparak DNA sentez uyarılmasına ve mitozlara yol açar. Malign gliomlarda 7. kromozom üzerinde yer alan EGFr geninde genişleme ve yeniden yapılanma olduğu gösterilmiştir. Glioblastoma multiforme başta olmak üzere malign gliomların çoğunda EGFr ekspresyonu artmıştır (9).

Bu çalışmada, astrositomlarda histopatolojik tümör grade'i ile DNA paterni ve sentez fazı ilişkisi yanısıra p53 protein ve EGFr immünoaktivitesi araştırıldı. Tümörlerin biyolojik davranışları hakkında ilave bilgi edinerek, takip ve tedavilerine katkı sağlamak amaçlandı.

## MATERYAL VE METOD

KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda son beş yılda tanı almış astrositomlar içinde parafin bloklarda yeterli materyali bulunan 35 olgu çalışmaya alındı. Olgular ilk kez operasyona alınmış ve ameliyat öncesinde herhangi bir tedavi uygulanmamıştır.

WHO-1993 sistemine göre (16) sınıflandırılan olguların 8'i grade-I pilositik astrositom, 5'i grade-II fibriler astrositom, 1'i grade-III anaplastik astrositom

ve 21'i grade-IV astrositom (glioblastom) dur. Çalışmada olgular düşük grade'li (I-II) ve yüksek grade'li (III-IV) olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Parafin bloklardan akım sitometrik DNA analizi ve p53 ile EGFr immünoaktivitesi araştırıldı.

%10 tamponlu nötral formalinde fikse edilmiş spesmenlere ait seçilmiş parafin bloklardan 5 µm'lik kesitler hazırlandı. Deparafinizasyon işleminden sonra Peroksidaz-Labeled Avidin-Biotin yöntemi uygulandı. Primer antikor olarak Zymed monoklonal mouse p53 (clone No:BP53-12) ve EGFr (clone No:31G7), kromojen madde olarak AEC kromojen, zıt boyamada Mayer Hematoksilin kullanıldı. Her boyama işleminde negatif kontrol uygulandı. Pozitif kontrol için p53 ve EGFr ekspresyonu gösteren larinks karsinomu kesitleri kullanıldı. Boyanma derecesi, şiddeti ve yaygınlığı dikkate alınmaksızın pozitif yada negatif olarak değerlendirildi. p53 pozitifliğinin intranükleer, EGFr pozitifliğinin intrasitoplazmik olduğu görüldü.

Aynı parafin bloklardan akım sitometrik çalışma için 50 µm'lik yeterli miktarda kesit alınıp deparafinizasyon işlemleri tamamlandıktan sonra tek hücre süspansiyonu hazırlandı. Bunun için, mekanik parçalamayı takiben %0.5'lik pepsin solusyonu ile 30dk. oda ısısında muamele edilen materyalde çöktürme işleminden sonra üstte kalan kısım kullanıldı. Hücre süspansiyonu halindeki bu materyale, hücre membran geçirgenliği ve eritrosit lizisi için DNA-prep LPR (Coulter PN 6604454) ilave edildi. Akım sitometrik analiz için Coulter EPICS ELITE ESP marka ve model cihaz kullanıldı. Herbir histogram için  $2 \times 10^4$  -  $4 \times 10^4$  hücre analiz edildi. DNA-diploid standardı olarak tavuk eritrosit çekirdekleri kullanıldı. Veri analizleri için "Multiple option cell cycle fitting" adlı DNA analiz programı kullanıldı.

Bulguların istatistiksel analizinde Mikrostat 1984 Bilgisayar Programı kullanılarak Ki-kare testi uygulandı. Gözlenen değerlerin 5'den aşağıya olması halinde Fisher exact Ki-kare testi kullanıldı. Beklenen değerlerin 25'den aşağıya olması halinde Yates düzeltmesi yapıldı. Grade-sentez fazı karşılaştırmasında ise Mann-Whitney-U testi kullanıldı.

## BULGULAR

35 olgunun patoloji protokol numaraları eşliğinde yaş, cins, histolojik grade, p53 ve EGFr immünoaktivitesi ile DNA ploidsi, sentez fazı ve aneuploid olguların DNA indeksleri Tablo I'de sunulmuştur.

Buna göre olguların 19' u kadın (%54), 16'sı erkek (%46) olup kadınlarda ortalama yaş 42.6, erkeklerde 41.7 dir. Olguların 8'i grade-I pilositik astrositom, 5'i grade-II fibriler astrositom, 1'i grade-III anaplastik astrositom ve 21'i glioblastomdur (Tablo II).

Akım sitometrik çalışmada, 35 olgudan 17'si (%48.5) diploid, 18' i (%51.4) aneuploid DNA paterni gösterdi. Bunlardan, düşük grade'li 13 olgunun tamamı (%100) diploid bulunurken, yüksek grade'li 22 olgunun 4'ü (%18.1) diploid, 18'i (%81.8)

aneuploid idi (Tablo III).

DNA aneuploidisi yüksek grade'li olgularda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.001$ ). Sentez fazı oranları bakımından düşük ve yüksek grade'li olgular ile aneuploid ve diploid olgular arasında istatistiksel yönden anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ). İmmünohistokimyasal analiz sonucunda pilositik astrositomların ağırlıkta olduğu 13 düşük grade'li olgunun hiçbirinde reaktivite saptanmazken, 22 yüksek grade'li olgunun 9'unda (%40.9) p53, 7' sinde (%31.8) EGFr pozitif bulundu (Tablo IV).

Tablo I: Olguların yaş, cins, histolojik grade dağılımı ile immünohistokimyasal ve akım sitometrik DNA analiz sonuçları.

No	Biop. No	Yaş/cins	Grade	p53	EGFr	DNA Ploidy	S-Phase%	DNA index
1	B.157.94	32 / K	II	-	-	Diploid	34.2	
2	B.233.94	50 / E	IV	-	-	Aneuploid	38.7	1.3
3	B.1187.94	65 / K	III	+	+	Aneuploid	32.4	1.4
4	B.1204.94	48 / E	I	-	-	Diploid	32.8	
5	B.2726.94	8 / E	II	-	-	Diploid	37.8	
6	B.2905.94	11 / K	II	-	-	Diploid	47.5	
7	B.1207.95	0.5 / E	IV	-	-	Aneuploid	17.7	1.5
8	B.1628.95	22 / K	I	-	-	Diploid	32.9	
9	B.2086.95	50 / E	IV	+	+	Aneuploid	37.1	1.5
10	B.2222.95	6 / E	IV	-	-	Aneuploid	20.9	1.5
11	B.2327.95	62 / E	IV	-	+	Aneuploid	55	1.3
12	B.3553.95	70 / E	IV	+	-	Diploid	42.4	
13	B.4706.96	72 / K	IV	-	+	Aneuploid	33	1.4
14	B.4659.96	52 / E	IV	+	-	Aneuploid	44.2	1.5
15	B.4227.96	70 / K	IV	+	-	Aneuploid	50.2	2.2
16	B.3558.96	43 / E	IV	-	-	Diploid	39.3	
17	B.3183.96	59 / K	IV	+	-	Aneuploid	22.4	1.4
18	B.2326.96	65 / K	IV	-	-	Aneuploid	28.8	1.7
19	B.2050.96	45 / K	IV	-	-	Diploid	27.1	
20	B.1902.96	60 / E	IV	-	+	Aneuploid	38	1.5
21	B.1788.96	68 / E	IV	+	+	Aneuploid	33.5	1.3
22	B.1706.96	23 / E	I	-	-	Diploid	40.2	
23	B.1549.96	11 / K	I	-	-	Diploid	30.2	
24	B.839.96	60 / E	IV	-	-	Diploid	37	
25	B.273.96	20 / K	I	-	-	Diploid	39	
26	B.1916.97	32 / K	I	-	-	Diploid	35.2	
27	B.2704.97	9 / K	I	-	-	Diploid	37.5	
28	B.4646.97	50 / K	IV	-	-	Aneuploid	23.6	
29	B.1203.97	50 / K	II	-	-	Diploid	31.4	
30	B.467.97	50 / K	IV	+	-	Aneuploid	32.5	1.4
31	B.4673.97	60 / K	IV	+	-	Aneuploid	40.5	1.5
32	B.4791.97	0.5 / E	I	-	-	Diploid	28.8	
33	B.669.98	50 / K	IV	-	-	Aneuploid	51.9	1.2
34	B.745.98	67 / E	IV	-	+	Aneuploid	37.4	1.4
35	B.475.98	38 / K	II	-	-	Diploid	37.7	

Tablo II: 35 olgunun histolojik tip ve grade dağılımı.

Histolojik Tip	Grade	Olgu sayısı
Pilositik astrositom	I	8
Fibriler astrositom	II	5
Anaplastik astrositom	III	1
Glioblastom	IV	21

Tablo III: Düşük ve yüksek grade'li 35 olguda DNA ploidi dağılımı.

Grade	Aneuploid (%)	Diploid (%)	Toplam
Düşük (I-II)	-	13 (100)	13
Yüksek (III-IV)	18 (81.8)	4 (18.1)	22
Toplam	18 (51.4)	17 (48.5)	35

Tablo IV: p53 ve EGFr pozitifliğinin histolojik tip ve grade dağılımı.

Grade	Olgu sayısı	p53(+)(%)	EGFr(+)(%)
Düşük (I-II)	13	-	-
Yüksek (III-IV)	22	9 (40.9)	7 (31.8)

Bir anaplastik astrositom ve iki glioblastomda p53 ve EGFr birlikte pozitifliği.

Düşük ve yüksek grade'li olgular arasında, yüksek grade'li olgularda p53 pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Yüksek grade'li olgulardaki EGFr pozitifliği istatistiksel yönden anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ). DNA aneuploidisi ile p53 ve EGFr pozitifliği arasında istatistiksel yönden anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

## TARTIŞMA

Olgularımızda akım sitometrik çalışmada, 35 olgunun 18'inde (%51.4) DNA aneuploidi bulundu. Düşük grade'li 13 olguda aneuploidi bulunmazken, yüksek grade'li 22 olgudan 18'i (%81.8) aneuploid pik içermekte idi. DNA aneuploidisi yüksek grade'li olgularda istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, DNA aneuploidisi ile p53 ve EGFr pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Ayrıca sentez fazı oranları bakımından düşük ve yüksek grade'li olgular ile aneuploid ve diploid olgular arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Astrositomlarda yapılan akım sitometrik DNA analizi çalışmalarında; Vavruch ve ark.(3) hem aneuploid DNA paterni hem de yüksek sentez fazı oranlarının artan malignensi ile korelasyon gösterdiğini, yaş ve cinsin akım sitometrik

parametrelerle ilişkili olmadığını ve akım sitometrik parametrelerin sağ kalıma önemli bir etkisinin bulunmadığını ileri sürmüşlerdir. Vavruch ve ark.(4)'ün rekürren astrositomları içeren bir diğer çalışmada ise tekrarlayan tümörlerde sentez fazı oranlarında önemli bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Prognoz çalışmalarının çoğunda, aneuploid DNA paterni saptanan glioblastom olgularının sağ kalım sürelerinin kısa olduğu, sentez fazının ise grade, DNA ploidi ve yaşam süresi ile ilişkili olmadığı bildirilmektedir (5,6,7,8).

İmmünohistokimyasal çalışmada materyalimizi oluşturan 35 astrositik neoplazmdan 9'u (%25.7) p53, 7'si (%20) EGFr ile immünreaktif bulundu. Olgularımız içinde 8 grade-I pilositik astrositom ve 5 grade-II fibriler astrositomun hiçbirinde p53 ve EGFr ile immünreaktivite saptanmadı. Mutant p53 protein, yüksek grade'lilerde %40.9 oranında pozitif olup istatistiksel yönden anlamlı idi. Haapasalo ve ark.(14)'ün 102 olguyu kapsayan çalışmada, mutant p53 yüksek grade'li olgularda %49, grade-II olgularda %19 pozitif bulunurken, grade-I olguların hiçbirinde immünreaktivite belirlenmedi. Bir başka çalışmada ise Louis ve ark.(12) yüksek grade'lilerde ağırlıkta olmak üzere 34 astrositomun %50'sinde mutant p53 pozitifliği saptamışlardır. Bazı çalışmalarda p53 negatif grade-II astrositomlar içinde, zamanla rekürrens gösterenlerde mutant p53'ün saptanması, astrositomlarda rekürrens ve grade progresyonunda p53 mutasyonunun rolü olabileceği görüşünü desteklemektedir (9,17).

Astrositomlarda EGFr ekspresyonu kötü prognozu işaret eder. Glioblastoma multiforme başta olmak üzere malign gliomların çoğunda EGFr ekspresyonu artmıştır (9). Çalışmamızda % 31.8 oranında EGFr ekspresyonu yalnızca yüksek grade'li astrositomlarda mevcuttur. Ancak olgu sayısı az olması nedeni ile istatistiksel çalışma EGFr için anlamlı bulunmadı. Kordek ve ark.(15)'ün 56 olguyu kapsayan çalışmada EGFr, grade-II'lerde %11.1, grade-III'lerde %22.2, grade-IV'lerde %33.3 bulunmuştur. Jaros ve ark.(9)'ün 43 olguluk çalışmada ise EGFr için bu oranlar sırasıyla %33, %85 ve %95' dir.

Astrositomlarda p53 ve proliferasyon oranını yansıtan proliferating cell nuclear antigen (PCNA)'in birlikte kullanıldığı immünohistokimyasal çalışmada, p53 pozitif tümörlerin daha yüksek oranda proliferasyon indeksi gösterdiği belirlendi (14). Bu da, histolojik bakımdan benzer tümörlerin immünohistokimyasal olarak gösterilen p53

ekspresyonuna göre, prognostik anlamda alt gruplara ayrılabilmesine işaret etmektedir. Yapılan sağ kalım çalışmalarında p53 pozitif yada EGFr pozitif astroisitomlarda yaşam süresi daha kısa bulunmuştur (9).

Glioblastomların gelişiminde iki alternatif yoldan söz edilmektedir. Ya doğrudan glioblastom olarak (de novo) ya da düşük grade'li iyi diferansiye astroisitomların progresyonu ile gelişirler (1-3). Chozick ve ark.(17) grade progresyonu gösteren tümörlerde p53 inaktivasyonunun rolü olduğunu, ancak de novo tümör gelişiminde rol almadığını göstermiştir. Buna göre p53 pozitif glioblastomların daha önceki iyi diferansiye bir astroisitomun progresyonu ile, EGFr pozitif glioblastomların ise de novo olarak geliştiği ileri sürülebilir.

Chozick ve ark.(17) pilositik astroisitomların ayrı bir klinikopatolojik antite olarak kabul edilmesini gerektiğini öne sürmektedir. Çalışmamızda olduğu gibi hemen hemen tüm çalışmalarda pilositik astroisitomlarda p53 ve EGFr ile immünreaktivite izlenmemesi ve bu tümörlerin diploid DNA paterni içermesi bu görüşü desteklemektedir.

Bu çalışmada her ne kadar benzer çalışmalara yakın sonuçlar elde etmiş olsak da, hastalar tedavi için farklı merkezleri tercih ettiğinden klinik takip yapamadığımız sürece bu tip çalışmalar şüphesiz eksik kalmaktadır. Ancak bizim sonuçlarımız ve ilgili diğer çalışma sonuçlarından anlaşıldığı üzere, astroisitomlarda aneuploidi ve mutant p53 araştırılması ile, diğer klinik ve histopatolojik parametrelere ilave olarak tümörün biyolojik davranışı ve dolayısıyla hastaların sağ kalım süresi hakkında önemli bilgiler elde edinilebilir.

Düşük grade'li bir astroisitomun ileride glioblastoma dönüşüp dönüşmeyeceği, immünhistokimyasal yöntemle mutant p53'ün araştırılması ile önceden belirlenebilir. Ayrıca tümör grade'inin tam olarak tesbit edilemediği küçük doku örneklerinde, DNA analizi ve mutant p53 araştırılması katkı sağlayabilir.

**Yazışma Adresi:** Doç.Dr.Abdülkadir Reis  
KTÜ Tıp Fakültesi  
Patoloji A.D. 61080, TRABZON  
Tel : 0 462 325 30 11 / 5577  
0 462 325 62 58 (ev)  
e-mail: areis@meds.ktu.edu.tr

**NOT:** Bu çalışma KTÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiş ve 1-7 Nisan 1999 tarihinde Kuşadası'nda gerçekleştirilen XIV. Ulusal Patoloji Kongresi'nde Poster Bildiri olarak sunulmuştur.

## KAYNAKLAR

1. Daumas DC, Scheithauer BW, O'Fallon J: Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer* 62: 2152-65, 1988
2. Schiffer D, Chio A, Giordan MT: Prognostic value of histologic factors in adult cerebral astrocytoma. *Cancer* 61:1386-93, 1988
3. Vavruck L, Nordenskjöld B, Carstensen J, Eneström S: Prognostic value of flow cytometry and correlation to some conventional prognostic factor: a retrospective study of archival specimens of 134 astrocytomas. *J Neurosurg* 85(1): 146-51, 1996
4. Vavruck L, Nordenskjöld B, Carstensen J, Eneström S: DNA ploidy and S- phase in recurrent astrocytomas: a retrospective study by flow cytometry of deparaffinized specimens. *J Neurooncol* 30(1): 37-45, 1996
5. Zaprianov Z, Chiristov K: Histological grading, DNA content, cell proliferation and survival of patients with astroglial tumors. *Cytometry* 9 : 380-86, 1988
6. Coons SW, Davis JR, Way DL: Correlation of DNA content and histology in prognosis of astrocytomas. *Am J Clin Pathol* 90: 289-93, 1989
7. Jimenez O, Timms A, Quirke P: Prognosis in malignant glioma: a retrospective study of biopsy specimens by flow cytometry. *Neuropathol Appl Neurobiol* 15:331-38, 1989
8. Struikmans H, Rutgers DH, Jansen GH, Tulleken CA, van der Tweel I, Battermann JJ: S-phase fraction, 5-bromo-2'-deoxy-uridine labeling index, duration of S-phase, potential doubling time, and DNA index in benign and malignant brain tumors. *Radiat Oncol Investig* 5(4):170-9, 1997
9. Jaros E, Perry RH, Adam L: Prognostic implications of p53 protein, epidermal growth factor receptor and Ki 67 labelling in brain tumors. *Br J Cancer* 66:373-85, 1992
10. Fufts D, Brockmeyer d, Tullous MJ: p53 mutation and loss of heterozygosity on chromosomes 17 and 10 during human astrocytoma progression. *Cancer Res* 52: 674-9, 1992
11. Frankel RH, Bayona W, Koslow M: p53 mutations in human malignant gliomas. Comparison of loss of heterozygosity with mutation frequency. *Cancer Res* 52: 1427-33, 1992
12. Louis DN, Deimling AV, Chung RY: Comparative study of p53 gene and protein alterations in human astrocytic tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 52:31-8, 1993
13. von Demling A, Louis DN, von Ammon K, Petersen I, Hoell T, Chung RY, Martuza RL, Schoenfeld DA, Yasargil MG, Wiestler OD: Association of epidermal growth factor receptor gene amplification with loss of chromosome 10 in human glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 77(2):295-301,1992

14. Haapasalo H, Isola J, Sallinen P, Kalimo H, Helin H, Rantala I: Aberant p53 expression in astrocytic neoplasms of the brain: Association with proliferation. Am J Pathol 142(5):1347-51, 1993
15. Kordek R, Biernat W, Alwasiak J, Maculevicz R, Yanagihara R, Liberski PP: p53 protein and epidermal growth factor receptor expression in human astrocytomas. J Neurooncol 26(1):11-16, 1995
16. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW: The new WHO classification of brain tumors. Brain Path 3:255-68, 1993
17. Chozick BS, Weicker ME, Pezzulo JC, Jackson CL, Finkelstein SD, Ambler MW, Epstein MH, Finch PW: Pattern of mutant p53 expression in human astrocytomas suggests the existence of alternate pathways of tumorigenesis. Cancer 73:406-15, 1994

## YORUM :

Astrositomlarda akım sitometrik inceleme ve p53 protein ile EGFR immünreaktivitesi isimli makale, 35 astrositom olgusu üzerinde gerçekleştirilen retrospektif bir çalışmadır.

Gerçektende TP53 tümör süpresör gen inaktivasyonu grade II astrositom gelişiminde rol oynayan genetik bir olay olarak bildirilmektedir. Ayrıca wild tip TP53 aktivitesinin kaybının neden olduğu genomik instabilitenin neoplastik progresyonu ivmelediği düşünülmektedir. TP53 hem düşük grade'li astrositom gelişiminde hem de sekonder glioblastoma progresyonda rol oynamaktadır. Buna karşın primer glioblastomlarda TP 53 mutasyonları son derece nadirdir. EGFR amplifikasyonunun hemen daima 10. kromozom kaybı ile birlikte olduğu ve genellikle primer glioblastomlarda gözleendiği bilinmektedir. TP53 inaktivasyonunun pilositik astrositom gelişiminde rol oynamadığı, ancak immünhistokimyasal olarak TP53 protein akümülyasyonunun pilositik astrositomlarda gösterilebildiği bilinmektedir. Yazarlar serilerinin küçüklüğü nedeniyle pilositik astrositom ve WHO grade II diffüz infiltratif astrositomu bir grupta incelemek zorunda kalmışlardır. Glioblastomları da primer ve sekonder olarak ayırmamışlar ve bulgularını yukarıda özetlemeye çalıştığım mekanizmalarla yorumlamamışlardır.

Yazarların belirttiği gibi üzücü olan, ülkemiz koşullarında hasta izlemi ve sağkalım ile karşılaştırmalı çalışmaların yapılamamasıdır.

Ülkemiz koşullarında yapılabilecek, çok düzgün ve kapsamlı bir çalışma olması nedeniyle ingilizce özet ve primer / sekonder glioblastom olgulara açıklık getirilmesi önerisiyle yazının yayımlanması uygun olur kanısındayım.

Doç. Dr. Figen SÖYLEMEZOĞLU

## YORUM :

"Astrositomlarda Akım Sitometrik İnceleme ve p53 Protein ile EGFR İmmünreaktivitesi" isimli makale son bilgiler eşliğinde, güncel yöntemlerin, rutin patolojik inceleme ile birleştirilmesi sonucu oluşturulmuş bir araştırma çalışmasıdır. Özellikle günümüzde tanı amacıyla açık cerrahi girişimin yapılmadığı, küçük, intrakraniyal, tümör örneklerinde grade'leme problem oluşturmaktadır. Bilindiği gibi çok önemli prognostik bir parametre olan tümör grade'inin belirlenmesi intrakraniyel tümörün tanınması kadar değerlidir. Glial tümörlerin heterojen bir morfolojiye sahip olması küçük doku örneklerinde grade'lemenin güçlüğüne daha da artırmaktadır. Bu çalışmada, DNA analizi ve immünhistokimyasal yöntemler ile p53 ve EGFR araştırılmasının, grade belirlenmesinde problem olan, küçük dokularda prognostik bir parametre olabileceği önerilmiştir. Araştırmacıların 35 olguluk kendi serilerinde aneuploidinin ve p53 ekspresyonunun genellikle yüksek grade'li tümörlerde saptandığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak gerek içerik gerekse de sunum açısından nitelikli olan bu çalışmanın Nöroşirürji ve Patoloji alanında çalışanlar ve bunların hizmet ettikleri hastalar açısından yararlı olacağı düşünülmüştür.

Doç. Dr. Esra ERDEN