

Meningiomlarda Histopatolojik Tanının Flowsitometrik DNA Analizi, PCNA ve Ki-67 ile Korelasyonu

Correlation of Flowsytometric DNA Analysis, PCNA and KI-67 in Histopathological Diagnosis of Menengiomas

ORHAN ŞEN, FAZİLET KAYASELÇUK, SUZAN ZORLUDEMİR,
M. VOLKAN AYDIN, BÜLENT ERDOĞAN

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji (OŞ, MVA, BE) ve Patoloji (FK) ABD'ları Ankara,
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji (SZ) ABD, Adana

Geliş Tarihi: 6.7.2001 ⇔ Kabul Tarihi: 15.10.2001

Özet: Amaç: Meningiomlarda son yıllarda yapılan flov sitometrik (FS) deoksiribonükleik asit (DNA) analizi çalışmalarında anöploidi oranının tümör grade'i ile korelasyon gösterdiği ve histolojik bulguların prognozu önceden tahmin etmede yetersiz kaldığı bildirilmektedir. Prognozun belirlenmesinde tümör hücrelerinde DNA analizi, proliferatif aktivitenin araştırılması önem kazanmaktadır.

Yöntem: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda meningiom tanısı almış olgular içinde parafin bloklarda yeterli materyali bulunan 12 olgu çalışmaya alındı. Olgulara ait Hematoksilen Eosin (H&E) preparatlar Dünya Sağlık Örgütü grade'leme sistemine göre derecelendirildi. Parafin bloklardan flov sitometrik DNA analizi, (PCNA) ve (Ki-67) değerleri araştırılarak karşılaştırıldı.

Bulgular : Flov sitometri ile histopatolojik grade arasında ilişki bulunamadı. Ki-67 ve PCNA ile histopatolojik grade karşılaştırıldığında grade ile ortalama (LI) arasında doğru ilişki saptandı

Sonuç: Elde edilen bulguların istatistiksel analizi yapıldığında PCNA ve özellikle Ki-67'nin rutin kullanımında meningiomlarda tümör grade'i ve rekürrens olasılığı hakkında yararlı bilgiler verebildiği, flov sitometri'nin ise meningiom grade'lemesinde faydalı bir yöntem olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Flov sitometri, grade, immünhistokimya, meningioma

Abstract: Objective: In recent years studies about flow cytometric deoxyribonucleic acid (DNA) analysis of meningiomas revealed the correlation between aneuploidy and tumor grade and also that histological findings are poor in predicting the prognosis. In predicting the prognosis, DNA analysis in tumor cells and proliferative activation is getting more popular.

Methods: Our study included 12 cases of meningioma diagnosed in Çukurova University Medical School Department of Pathology. The cases are graded according to WHO classification. Flow cytometric DNA analysis , Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) and Ki-67 are studied from paraffin embedded tissues.

Results: Based on the statistical analysis, there was no correlation between histopathological grading and Flow cytometric DNA analysis. However, when Ki67 and PCNA was compared with histopathological grade; a linear correlation was found between grade and mean labeling index (LI).

Conclusion: According to our study; PCNA and especially Ki-67 can be useful in tumor grading and recurrens in meningiomas but flow cytometric DNA analysis has a poor value in grading the meningiomas.

Key words: Flow cytometry, grade, immunohistochemistry, meningioma

GİRİŞ

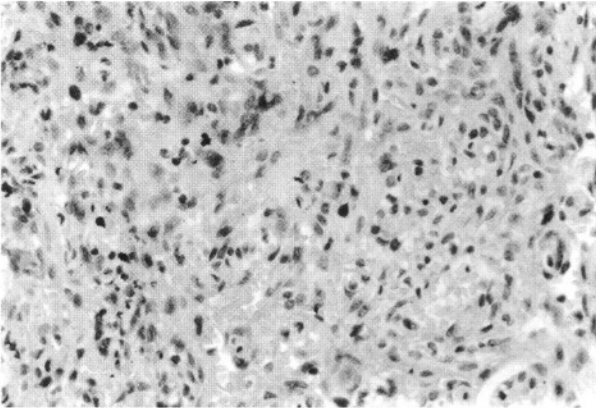
Proliferatif aktivitenin ölçümü tümör derecesi, rekürrens hızı ve maligniteyi belirlemede önem taşımaktadır. Proliferatif aktivitenin belirlenmesinde sellülarite, mitotik indeks, nekroz, vasküler proliferasyon gibi subjektif değerlendirmelere ilaveten Flov sitometri (FS), DNA sentez işaretleyicileri ve proliferasyon antijenleri gibi daha objektif yöntemler geliştirilmiştir(6,20).

Hücre siklusunun proliferatif fazını görüntülemek için kullanılan proliferatif hücre nükleer antijen (PCNA) ve Ki-67 tümör proliferasyonunu değerlendirmede de yaygın olarak kullanılan iki nükleer işaretleyicidir. PCNA, DNA sentezini katalize eden, DNA tamirinde yer alan DNA polimeraz d'nun kofaktörüdür. Sentezi hücre siklusunun geç G1 fazında başlayarak orta- geç S fazında en yüksek değere ulaşmaktadır(5,19). Ki-67 bir nükleer antijen olup proliferatif hücrelerde siklusun tüm aktif fazları boyunca salgılanmaktadır. Hücre çoğalmasında mutlaka gereklidir ve istirahat fazındaki hücrelerde bulunmamaktadır(7,9,23). Flov sitometri ise hücre siklusunun bütün fazları gösterilerek elde edilen verilerle tümör derece ve prognozu hakkında bilgi veren bir tekniktir(20,23).

Bu çalışmada histopatolojik tanıları malign ve benign meningiom olan olguların FS, PCNA ve Ki-67 değerleri karşılaştırılmış, meningiomların biyolojik davranışları ve hücre kinetik parametrelerinin birbirleriyle ilişkisi tartışılmıştır.

GEREÇLER VE YÖNTEM

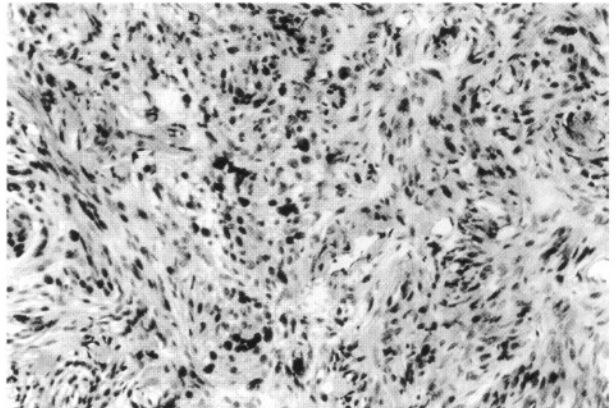
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda meningiom tanısı almış olgular



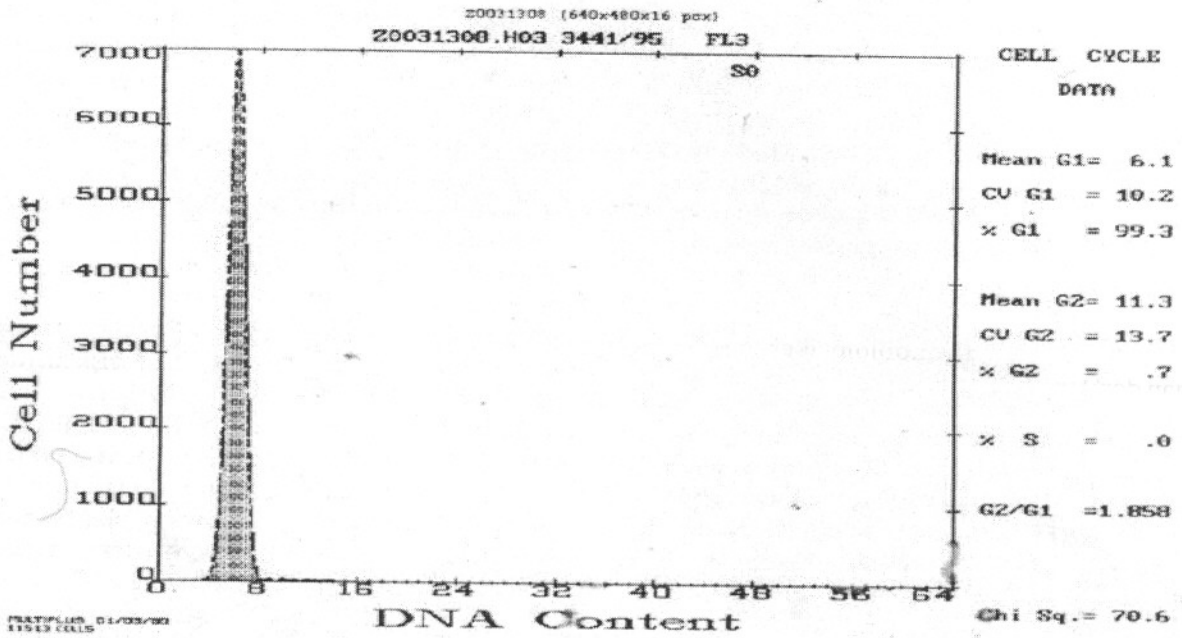
Şekil 1: Grade I Meningiom olgusunda Ki-67 ile nükleer boyanma(HEX100).

içinden 12 olgu çalışmaya alındı. Olgulara ait hemotoksilen eosin (H&E) preparatlar ışık mikroskopunda incelendi ve Dünya Sağlık Örgütü sistemine göre derecelendirildi. Dokuz olgu derece I, üç olgu ise derece III idi. Her olgu için uygun parafin bloklar seçildi ve seçilen parafin bloktan hazırlanan histolojik kesitlere Strept - Avidin - Biotin kompleks immünoperoksidaz yöntemiyle Ki-67 mAb (MIB1, Kod No: A0047, Dako A /S Denmark) ve PC 10 (Concentrated Mouse Anti Proliferating Cell Nuclear Antigen, Biogenex) uygulandı. Örnekler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Ki-67 ve PCNA ile tümör hücrelerinde nükleer boyanma izlendi (Şekil 1-2). Her iki işaretleyici için de labeling indeks(LI= Antijen pozitif hücre sayısı/ örneklenen tümör alanındaki hücre sayısı) hesaplanmasında 40 büyütmede en yoğun boyanan alanlardan başlayarak birbirini takip eden beş alanda ortalama 1000 hücrede pozitif boyanan nükleus sayısı esas alındı. PCNA, Ki-67 boyanmasında her olgu için orta, ortalama değer ve standart deviasyon (SD) değerleri bulundu.

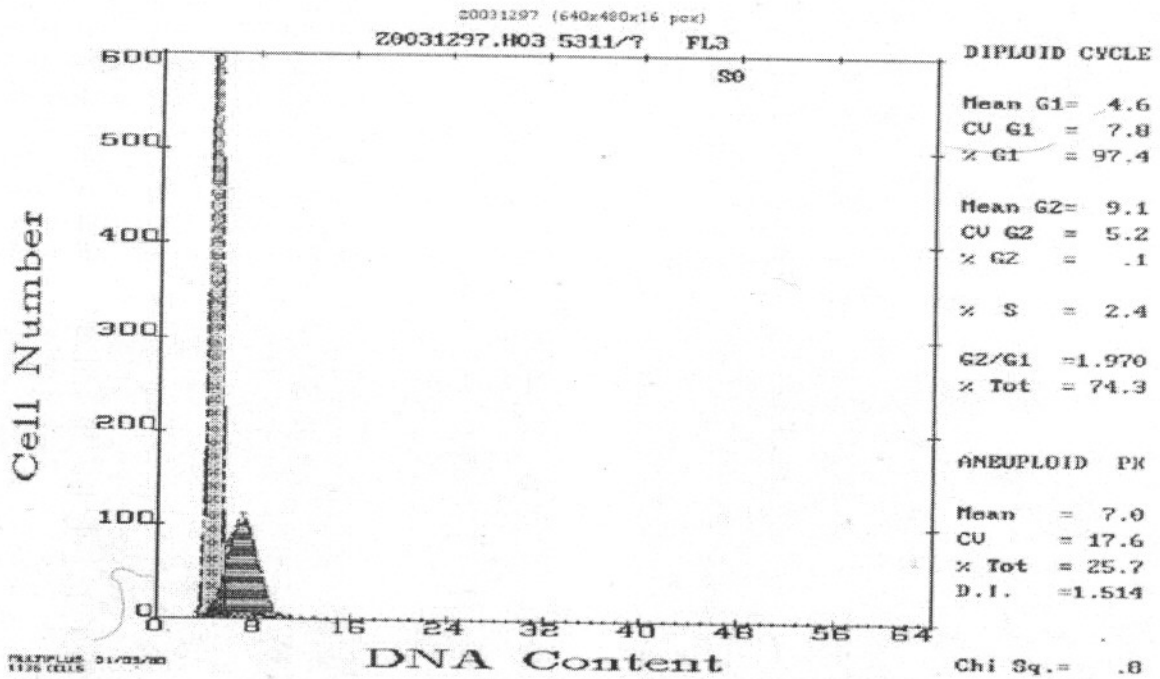
Flov sitometrik inceleme için aynı parafin bloklardan 50 -100 mikron kalınlığında 3-5 adet kesit alınarak 15 ml'lik konik tüpe kondu, değişik basamaklardan geçirilerek elde edilen DNA'nın FS cihazında ölçümü yapıldı (Şekil 3-4). Elde edilen sonuçlar Mplus Av (version; 3.01) bilgisayar programı ile değerlendirildi (Coulter Electronics, USA) . SPF ve G 2 M ölçümleri bu program yardımı ile yapıldı. Hesaplanan DI 1.03 üzerinde olanlar diploid, 0,97 ve altında olanlar anöploid olarak değerlendirildi. Bulunan Ki-67 ve PCNA LI, FS sonuçları SSPS Mann-Whitney U, Wilcoxon W ve Spearman korelasyon testi ile karşılaştırıldı.



Şekil 2: Grade I Meningiom olgusunda PCNA ile nükleer boyanma(HEX100).



Şekil 3: DNA Histogramı- Diploid.



Şekil 4: DNA Histogramı- Anöloid.

SONUÇLAR

Oniki olgunun yaş, cins, histopatolojik tanı, histolojik derece, PCNA ve Ki-67 LI değerleri, FS sonuçları tabloda sunulmuştur (Tablo I). Olguların beş tanesi (%41,6) kadın, yedisi erkek (%58,4) olup kadınlarda ortalama yaş 59,4; erkeklerde 46,1 idi.

Flov sitometrik çalışmada 12 olgudan altı tanesi (%50) anöploid, altı tanesi (%50) ise diploid idi. Histopatolojik tanısı malign meningiom olanlardan iki tanesi diploid, bir tanesi anöploid iken benign olanlardan dört tanesi diploid, beş tanesi anöploid idi.

Üç malign meningiom olgusunda PCNA ve Ki-67 LI ortalama değerleri sırasıyla $48,8 \pm 45,8$ (ortalama: 41,6) ve $25,5 \pm 18,9$ (ortalama: 23,3) idi. En düşük ve en yüksek Ki-67 LI değeri 7,7-45,5; PCNA LI 7-97,8 arasında değişmekteydi. Bu hastalardan ikisinde diploidi saptanırken en yüksek LI değerlerine sahip hastada anöploid bulundu. Dokuz derece I meningiomda ise Ki-67 LI ortalama değeri $0,48 \pm 0,48$ (ortalama: 0,33), en yüksek 1,4 en düşük 0,1; PCNA LI ortalama $7,41 \pm 3,96$ (ortalama: 7,4), en yüksek 11,3 en düşük 1,4 idi. Ki-67 LI değerleri derece I meningiomlu yedi hastada birin altındaydı. İki hastada LI değerleri 1,2 ve 1,4 olarak saptandı, bu hastalardan biri diploid, diğeri ise anöploid bulundu. Derece ve Ki-67 değerleri karşılaştırıldığında p değeri anlamlı bulundu (p:0,009), PCNA ve derece arasındaki p değeri ise anlamlı bulunmadı (p:0,1). PCNA - Ki-67 korelasyon katsayısı; r:0,64, p:0,02 olarak saptandı.

Flov sitometri sonucu anöploid olan beş derece I, bir derece III meningiom olgusunun PCNA LI ortalama değeri $20,5 \pm 37,9$; Ki-67 LI ortalama değeri $7,96 \pm 18,3$ idi. Bir anöploid malign meningiom

olgusunda ise Ki-67 LI: 45,5; PCNA LI: 97,8'di. Diploid altı olguda ise PCNA LI: $14,9 \pm 13,2$; Ki-67 LI $5,51 \pm 9,18$ 'di. Diploid ve anöploid olgularda Ki-67 ve PCNA LI değerleri arasında p değeri anlamlı bulunmadı. Flov sitometri ile histopatolojik derece arasında ilişki bulunamadı. Ki-67 ve PCNA ile histolojik derece karşılaştırıldığında derece ile ortalama LI arasında doğru ilişki saptandı.

TARTIŞMA

Meningiomlar tüm santral sinir sistemi tümörlerinin %15'ini oluşturur. Sıklıkla erişkinlerde görülen bu tümörler %90 intrakranial, %9 intraspinal, %1 ise kemik, orbita, paranazal bölge gibi değişik yerleşimlerde izlenir. Meningiomların büyümesinde östrojen, progesteron gibi bazı hormonlar yanısıra epidermal büyüme faktörü gibi pek çok büyüme faktörü suçlanmıştır. Ancak bu faktörlerin invivo etkileri açık değildir.

Meningiomlarda benignenden malign fenotipe ilerlemeyle rekürrens hızı artar. Meningiomlarda hızlı rekürrensi belirleyen faktörler; hücresellik, mitotik aktivite, nekroz, nükleer pleomorfizm, çevre dokulara invazyon ve yetersiz cerrahi çıkartımdır. Ayrıca hasta yaşı, tümör lokalizasyonu, operasyon tipi, preoperatif kemoterapi gibi birçok faktör hasta prognozunu etkilemektedir (24,25).

Meningiomlarda histolojik derece ve morfolojik özelliklerle birlikte DNA'nın içeriği veya proliferatif aktivitenin değerlendirilmesi prognozu yorumlarken faydalı olmaktadır (21,29). Artmış proliferasyon indeksinin saptanması rekürrensi önceden belirlemek açısından yararlı olabilir. Meningiomlarda proliferatif aktivite bromodeoksiüridin (BrdU) gibi DNA sentez

Tablo I: Meningiom olgularında yaş, cinsiyet, histolojik tip, derece, FS, PCNA ve Ki-67 LI değerlerinin dağılımı

Olgu no	Yaş/Cin.	Histopatolojik tanı	Derece	Flov sitometri	PCNA LI	Ki-67 LI
1	55/K	Meningiom	I	Anöploid	8,8	0,5
2	53/K	Meningiom	I	Anöploid	1,4	0,1
3	35/E	Meningiom	I	Anöploid	7,4	1,2
4	30/E	Meningiom	I	Anöploid	1,4	0,1
5	67/ K	Meningiom	I	Anöploid	6,7	0,4
6	63/ K	Meningiom	I	Diploid	12,2	0,3
7	59/ K	Meningiom	I	Diploid	11,3	1,4
8	74/ E	Meningiom	I	Diploid	6,6	0,3
9	45/E	Meningiom	I	Diploid	10,9	0,1
10	22/E	Malign meningiom	III	Diploid	41,6	23,3
11	55/E	Malign meningiom	III	Anöploid	97,8	45,5
12	62/E	Malign meningiom	III	Diploid	7,0	7,7

işaretleyicileri, akım sitometrisi gibi yöntemlerle ölçülmüş ve hastalığın klinik davranışı ile uyumlu bulunmuştur. Morimura ve ark(22) meningiomlarda Ki-67 LI, BrdU LI'yi karşılaştırmışlar, Ki-67 LI'yi BrdU LI'dan daha yüksek bulmuşlardır. Roggendorf ve ark. (27) Ki-67 LI değerlerini tümör rekürrensi ve klinik davranışıyla karşılaştırarak malign meningiomlarda LI: % 9,3 - 20,5; benign meningiomlarda ise 0 - 15,4 arasında bulmuşlar ve yüksek proliferasyon hızına sahip olan beş benign meningiomdan üçünde rekürrens saptamışlardır. Schiffer (28) ise 13 düşük dereceli meningiomda PCNA LI: $8,3 \pm 4,4$; iki anaplastik meningiomda $18,2 \pm 12,8$ bulmuştur. Karamitopoulou ve ark(14,15) nun 51 meningiom içeren serilerinde PCNA LI : $3,80 \pm 7,35$; Ki-67 LI: $2,74 \pm 1,83$ 'dür. Bu seride 10 olguda histolojik benign görünüşün tersine PCNA LI değerleri 10 ve üzerindedir, 41 olguda ise seyrek pozitif immun boyanma görülmüştür. Bizim çalışmamızda üç malign meningiom olgusunda PCNA ve Ki-67 LI ortalama değerleri sırasıyla $48,8 \pm 45,8$ ve $25,5 \pm 18,9$; dokuz derece I meningiomda ise Ki-67 LI ortalama değeri $0,48 \pm 0,48$; PCNA LI ortalama değeri $7,41 \pm 3,96$ 'dü. Bu sonuçlar derece ile Ki-67 ve PCNA LI arasında korelasyonu desteklemektedir. Derece ve Ki-67, PCNA değerleri karşılaştırıldığında, p değerinin Ki-67 için anlamlı olması Ki-67'nin PCNA'den daha güvenilir olduğunu düşündürmektedir.

Flov sitometri hücre siklus süresi, DNA miktarı, karyotip gibi pekçok özelliği belirleyebilen bir yöntemdir. Santral sinir sistemi tümörlerinde FS sonuçları bazı çalışmalarda tümör derece ve prognozuyla uyum gösterirken Hoshino ve arkadaşları glial tümörlerde DNA indeksi, DNA ploidi ve morfolojik görünümün tümörün bölgesel yerleşimindeki farklılıklar nedeniyle farklı sonuçlar verebildiğini bildirmişlerdir(12,13). Nishizaki ve arkadaşları 13 meningiom içeren serilerinde meningiomlarda DNA ploidi ile histolojik görünüm arasında korelasyon bulamamışlardır(23). Benzer sonuçlar Ahyai ve Spaar'ın çalışmalarında da elde edilmiştir(1). Garcia ve arkadaşlarının 87 meningiom içeren heterojen serilerinde benign tümörlerde de sıklıkla anöploid patern bildirilmiştir(8). Bu çalışmada Ki-67'nin tüm olgularda benign ve malign ayrımında daha yararlı olduğu vurgulanmıştır. Benzer bir sonuç FS, Ki-67 ve p53'ün meningiomlardaki prognostik önemini araştıran Perry ve arkadaşlarının 425 olguluk çalışmalarında bildirilmiştir(26). Yasue ve arkadaşlarının 81 meningiomdaki DNA FS ve Ki-67 çalışmalarında ise her iki yöntemin meningiomların biyolojik davranışını belirlemede yardımcı olabileceği belirtilmiştir(31). Glial tümörlerde ve farklı tümör

tiplerinde de FS ile heterojen sonuçlar elde edilmiştir (3,4,10,11,17,30).

Son yıllarda tümör invazyon ve metastazını değerlendirmede kullanılan ve birkaç yakın tipi içinde barındıran bir adezyon molekülü olan CD44 meningiomlara da uygulanarak farklı boyanma paternleri veya negatif boyanma bildirmiştir(18). Ariza ve ark. beyin parenkimine invazyon göstermeyen meningiomlarda CD44s-/ CD44v- fenotipini saptamışlardır(2). FS ile Floresan İn situ Hibridizasyonu'nun (FISH) meningiom ve gliomlarda karşılaştırıldığı bir çalışmada ise FISH ile çoğu meningiomda kromozom 22 ve10'da düşük, atipik meningiomlarda ise gliomlarla benzer şekilde kromozom 17'de yüksek aberasyon bulunarak rekürren ve atipik meningiomlarda yüksek DNA içeriği saptanmıştır(16).

Çalışmamızda meningiomlarda histopatolojik tanı ile FS sonuçları arasında ve Ki-67, PCNA LI ve FS arasındaki korelasyonda p değeri anlamlı bulunamadı. Sonuç olarak; bizim bulgularımız kaynaklardaki bilgiler ışığında değerlendirildiğinde Ki-67 rutin kullanımında meningiomlarda tümör derecesi ve rekürrens olasılığı hakkında yararlı bilgiler verebilir. PCNA grade ile artmakla birlikte Ki-67'den daha az duyarlı görülmektedir. FS ise heterojen sonuçlar nedeniyle benign- malign meningiom ayrımında faydalı bir yöntem değildir.

KAYNAKLAR

1. Ahyai A, Spaar FW: DNA and prognosis of meningiomas: a comparative cytological and fluorescence-cytophotometrical study of 71 tumours. *Acta Neurochir (Wien)* 87(3-4):119-28, 1987
2. Ariza A, Lopez D, Mate JL: Role of CD44 in the invasiveness of glioblastome multiforme and the noninvasiveness of meningioma: An immunohistochemistry study. *Hum Pathol* 26:1144-1147, 1995
3. Armitage NC, Robias RA, Evans DF, Turner DR, Baldwin RW, Hardcastle JD: The influence of tumour cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. *Br J Surg* 72(10):828-30, 1985
4. Barlogie B, Drewinko B, Schumann J, Gohde W, Dosik G, Latreille J, Johnston DA, Freireich EJ: Cellular DNA content as a marker of neoplasia in man. *Am J Med* 69(2):195-203, 1980
5. Bravo R, Macdonald-Bravo H: Existence of two populations of Cyclin / Proliferating Cell Nuclear Antigen during the cell cycle: Association with DNA replication sites. *J Cell Biol* 105(4):1549-554, 1987
6. Cote RJ, Taylor CR: Immunohistochemistry and related marking techniques in Damjanou I, Linder J (eds):

- Anderson's pathology. cilt 1 Louis: Mosby 1996: 136-175 içinde
7. Dervan PA, Magee HM, Buckley C, Carney DN: Proliferating Cell Nuclear Antigen counts in formalin-fixed paraffin-embedded tissue correlate with Ki-67 in fresh tissue. A J Clin Pathol 97(5):21-8, 1992
 8. Garcia R, Bueno A, Castanon S, Ruiz-Barnes P, Maria de Campos J, Kusak E, Fortes JR, Ortiz F, Sarasa JL: Study of the DNA content by flow cytometry and proliferation in 281 brain tumors. Oncology 54(2):112-7, 1997
 9. Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad HD: Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. Am J Pathol 138(4):867-73, 1991
 10. Gustafson H, Tribukait B, Esposti PL: DNA profile and tumour progression in patients with superficial bladder tumours. Urol Res 10(1):13-8, 1982
 11. Helio H, Karahorju E, Nordling S: Flow cytometric determination of DNA content in malignant and benign bone tumours. Cytometry 6(2):165-71, 1985
 12. Hoshino T, Knebel KD, Rosenblum ML, Dougherty DV, Wilson CB: Clonogenicity of multiple populations of human glioma cells in vitro sorted by DNA content. Cancer 50(5):997-1002, 1982
 13. Hoshino T, Nomura K, Wilson CB, Knebel KD, Gray JW: The distribution of nuclear DNA from human brain - tumor cells. Flow cytometric studies. J Neurosurg 49(1):13-21, 1978
 14. Karamitopoulou E, Perentes E, Diamantis I, Maraziotis T: Ki-67 immunoreactivity in human central nervous system tumors: a study with MIB 1 monoclonal antibody on archival material. Acta Neuropathol 87(1):47-54, 1994
 15. Karamitopoulou E, Perentes E, Melachrinou M, Maraziotis T: Proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity in human central nervous system neoplasm. Acta Neuropathol 85(3):316-22, 1993
 16. Kasai H, Kawamoto K: Cytogenetic analysis of brain tumors by FISH (fluorescence in situ hybridization) and FCM (flow cytometry). Noshuyo Byori 12(1):75-82, 1995
 17. Kreicberges A, Silvfersward C, Tribukait B: Flow analysis of primary bone tumours. Relationship between cellular DNA content and histopathologic classification. Cancer 53(1):129-36, 1984
 18. Kuppner MC, Van Meir E, Gauthier T, Hamou MF, de Tribolet N: Differential expression of the CD44 molecule in human brain tumours. Int J Cancer 50(4):572-7, 1992
 19. Louis DN, Edgerton S, Thor AD, Hedley- Whyte ET: Proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 immunohistochemistry in brain tumors : a comparative study. Acta Neuropathol 81(6):675-79, 1991
 20. Mc Keever PE, Burger PC, Nelson JS: Introduction to neurooncology in Nelson JS, Parisi JE, Schochet SS. (eds). Principles and practice of neuropathology. Mosby, 1993:109-122 içinde
 21. Merkel DE, McGuire WL: Ploidy, proliferative activity and prognosis. DNA flow cytometry of solid tumors. Cancer 65(5):1194-205, 1990
 22. Morimura T, Kitz K, Budka H: In situ analysis of cell kinetics in human brain tumors. A comparative immunocytochemical study of S phase cells by a new in vitro bromodeoxyuridine-labeling technique, and of proliferating pool cells by monoclonal antibody Ki-67. Acta Neuropathol 77(3):276-82, 1989
 23. Nishizaki T, Orita T, Furutani Y, Ikeyama Y, Aoki H, Sasaki K: Flow - cytometric DNA analysis and immunohistochemical measurement of Ki-67 and BUdR labeling indices in human brain tumors. J Neurosurg 70(3):379-84, 1989
 24. Nishizaki T, Orita T, Kajiwara K, Ikeda N, Ohshita N, Nakayama H, Furutani Y, Ikeyama Y, Akimura T, Kamiryo T, Ito H: Correlation of in vitro bromodeoxyuridine labeling index and DNA aneuploidy with survival or recurrence in brain-tumor patients. J Neurosurg 73(3):396-400, 1990
 25. Nishizaki T, Orita T, Sakai M, Furutani Y, Aoki H: Cell kinetics studies of human brain tumors by in vitro labeling using anti-BUdR monoclonal antibody. J Neurosurg 69(3):371-74, 1988
 26. Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ, Lohse CM: The prognostic of MIB-1, p53, and DNA flow cytometry in completely resected primary meningiomas. Cancer 82(11):2262-9, 1998
 27. Roggendorf W, Schuster T, Peiffer J: Proliferative potential of meningiomas determined with the monoclonal Ki-67. Acta Neuropathol 73(4):361-64, 1987
 28. Schiffer D, Chio A, Giordana T, Pezzulo T, Vigliani MC: Proliferating cell nuclear antigen expression in brain tumors, and its prognostic role in ependymomas: an immunohistochemical study. Acta Neuropathol 85(5):495-502, 1993
 29. Spaar FW, Ahyai A, Blech M: DNA-fluorescence-cytometry and prognosis (grading) of meningiomas: a study of 104 surgically removed tumors. Neurosurg Rev 10(1):35-9, 1987
 30. Tribukait B, Hammarberg C, Rubio C: Ploidy and proliferation patterns in colo-rectal adenocarcinomas related to Dukes' classification and to histopathological differentiation. A flow-cytometric DNA study. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand (A) 91(2):89-95, 1983
 31. Yasue M, Akasaki Y, Numoto TR, Abe S, Abe T, Takeuchi Y, Tanaka J: MIB-1 immunostaining and DNA flow cytometry in meningiomas. Noshuyo Byori 13(1):17-20, 1996

Menenjiomlar için yapılmış birçok değişik klasifikasyon sistemi vardır. Bunların çoğuna göre menenjiomlar: klasik, anjiyoplastik, atipik ve malign olarak sınıflandırılırlar. Klasik menenjiomlarsa kendi içlerinde meningoteliyal ya da sinsitiyal, fibröz ve tranzisyonel olarak sınıflanırlar.