

# İntrakraniyal diffüz astrositomlarda AgNOR tekniğinin özgüllük ve duyarlılığı ile güvenirliliğinin analizi (Gözlemciler arası değişkenlik)

Dr. Özlem Kurtkaya\* Dr. Aydın Sav\* Stj. Dr. İlker Kayabeyoğlu\*\* Ecz. Gülsün Ekicioğlu\*

## ÖZET

Bu çalışmada, 18 adet intrakraniyal diffüz astrositom olgusunun parafin kesitleri, AgNOR tekniği uygulanarak nükleer AgNOR'lar işaretlendi. Bu olguların 4'ü grade 2, 4'ü grade 3, 10'u ise grade 4 idi. Histolojik tanılarına bakılmaksızın AgNOR boya tekniği uygulanmış preparatlar iki farklı gözlemci tarafından birbirlerinden habersiz olarak değerlendirildi. AgNOR sayımlarında ışık mikroskobu ile x1000 büyütmede 100 hücre/olgu sayımı yapıldı. Aynı grade'deki her bir olgunun numerik AgNOR değerleri gözlemciler arasında karşılaştırıldı. Uyuşma yüzdeleri ve olgu sayıları istatistiksel çapraz sorgulama (crosstabulation) tekniği ile analiz edildi. Sonuç olarak gözlemciler arası yapılan çalışmada, AgNOR tekniği uygulanmış preparatlarda yüksek duyarlılık görüldüğü saptandı. Bu nedenle AgNOR boya tekniği, tekrarlanabilirliği yüksek olan bir yöntem olarak değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: AgNOR, Astrositom, Gözlemciler arası değişkenlik

## GİRİŞ

AgNOR yöntemi; ribozomal RNA (rRNA) sentezine kaynaklık eden ribozomal DNA (rDNA) segmentlerinde yer alan, non-histon yapısındaki bazı proteinlerin (AgNOR proteinleri) gümüş ile siyah tanecikler halinde boyanarak, incelenmesi yöntemidir.<sup>1,4,5,7</sup>

AgNOR taneciklerinin sayısının, rDNA gen segmentlerinin yapısal ve işlevsel özelliklerini yansıttığı düşünülmektedir.<sup>2,6</sup> Bu görüşten hareketle son yıllarda AgNOR yönteminin, tümöral lezyonların prognostikasyonunda kullanılabilecek bir proliferatif indeks olması ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır.<sup>1,2,4,6,7</sup>

AgNOR yöntemi ile boyanmış preparatlarda, AgNOR taneciklerini saymada uygulanan değişik metodlar vardır.<sup>2</sup> Bu çalışmada, aynı sayım tarzını uygulayan iki gözlemcinin elde ettiği sonuçlar ve uyuşma yüzdeleri karşı-

## SUMMARY

By using specific staining technique nuclear AgNORs of a group formed by 18 astrocytomas were demonstrated in this study. Histopathologically the study group consisted of four cases of astrocytoma grade 2, four cases of grade 3, and ten cases of astrocytoma grade 4. Two independent observers evaluated AgNOR per nucleus of each case of the whole group discarding the previous histopathologic diagnoses per se. Technically high power field of X1000 magnification for each case were counted reaching a total of 100 cells by using light microscope. Each individual mean AgNOR score of either observers were compared for every case. Inter observer variability ratios and scores were cross tabulated by using special statistical technique and results were analyzed. Conclusively, interobserver variability results were confirmed this particular staining and scoring method to be highly sensitive and reproducible.

Key Words: AgNOR, Astrocytoma, Interobserver variability.

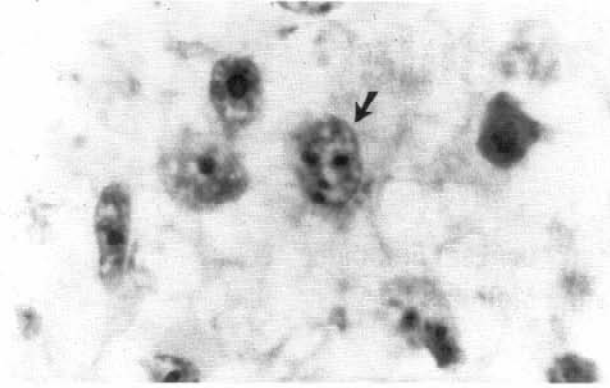
laştırıldı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Materyal olarak, 1987-1992 yılları arasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gelen intrakraniyal diffüz astrositom olgularından, 18 tanesi seçildi. Grade'lemesi Mayo Sistemi 1988'e (≠) göre yapılan bu olguların 4 tanesi; Grade 2 astrositom, 4 tanesi; Grade 3 astrositom, 10 tanesi ise; Grade 4 astrositom olgusu idi. Tüm olguların parafin kesitleri, standart AgNOR yöntemiyle boyandı. Histopatolojik tanıları bilinmeksizin, iki gözlemci tarafından dual mikroskopta aynı hücrelerin AgNOR'ları sayıldı (Resim). Sayım ışık mikroskobu x1000 büyütmede yapıldı ve her olgu için toplam 100 hücre değerlendirilmeye alındı. Her olgu için bulunan ortalama AgNOR değerlerinin standart sapmaları hesaplandı.<sup>5</sup>

\* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD

\*\* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 4 Öğrencisi



Resim: Diffüz astrositom grade 4, AgNor, X1000

1. Gözlemcinin AgNor sayım değeri: 4
2. Gözlemcinin AgNor sayım değeri: 5

### BULGULAR

18 adet intrakraniyal astrositom olgusunun iki ayrı gözlemci tarafından bulunan ortalama AgNOR değerleri, standart sapmaları ile iki gözlemcinin bulgularının istatistiksel karşılaştırması yapıldı (Tablo).

"p değeri" istatistik değerlerinde sınır değeri; 0.05'dir. Buna göre  $p > 0.05$  değerleri; istatistiksel olarak "anlamli fark yok",  $p < 0.05$  değerleri ise "anlamli fark var" şeklinde yorumlandı.<sup>5</sup>

### TARTIŞMA

AgNOR tekniği uygulanmış 18 adet diffüz astrositom olgusunda, iki farklı gözlemcinin herbir olgu için buldukları ortalama AgNOR değerlerinin birbirlerine çok yakın olduğu gözlemlendi. AgNOR/nukleus sayımlarında kullanılan 4 farklı yöntemden biri olan yalnızca intranükleer NOR pozitif argirofilik alanların sayılması yöntemi kullanılması nedeniyle sayım kolaylığı saptanın bu çalışmada her iki gözlemcinin sonuç skorları oldukça birbirine yakın bulundu.<sup>2</sup> Bunun nedeni, hem sayım tekniğinde NOR bölgelerinin kolay tanınması hem de sayım sırasında gözlemcinin şüpheli olabilecek nukleusları az sayıda gözlemlemesinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir. Sonuçların istatistik analizi de dolayısıyla anlamli farklılık olduğunu ortaya koymamıştır. Gözlemciler arası değişkenlik yazarların daha önce yapmış oldukları farklı çalışmalarda da ol-

OLGULAR	GÖZLEMCI 1 (Ort. AgNOR-st. sapma)	GÖZLEMCI 2 (Ort. AgNOR-st. sapma)	p DEĞERİ
1 (Grade2)	2.12+/-1.18	2.04+/-1.21	0.739666
2 (Grade2)	2.14+/-2.04	2.24+/-1.99	0.804843
3 (Grade2)	1.53+/-0.62	1.65+/-0.75	0.357998
4 (Grade2)	3.66+/-3.83	4.18+/-3.92	0.503974
5 (Grade3)	2.11+/-1.39	2.01+/-1.14	0.667745
6 (Grade3)	3.14+/-2.13	3.02+/-1.94	0.769609
7 (Grade3)	7.58+/-3.75	7.64+/-3.60	0.935158
8 (Grade3)	2.56+/-0.99	2.56+/-1.12	1
9 (Grade4)	1.98+/-1.04	2.01+/-1.04	0.88042
10 (Grade4)	1.68+/-0.79	1.72+/-0.94	0.819594
11 (Grade4)	2.56+/-1.65	2.56+/-1.47	1
12 (Grade4)	3.44+/-1.47	3.24+/-1.47	0.49962
13 (Grade4)	3.44+/-2.12	3.66+/-2.34	0.623703
14 (Grade4)	2.58+/-1.72	2.5+/-1.87	0.824918
15 (Grade4)	3.08+/-1.57	3 +/-1.41	0.789904
16 (Grade4)	2.08+/-1.02	1.98+/-0.99	0.62287
17 (Grade4)	3.98+/-1.82	4.28+/-1.99	0.433858
18 (Grade4)	2.66+/-1.20	2.68+/-1.26	0.935764

dukça birbirine yakın bulunmuştur (yayınlanmamış çalışma). Çalışması (AS) daha önce aynı boyama tekniği kullanılarak yapılmış olan farklı preparatların değerlendirilmesinde tekniği yalnızca nasıl değerlendirildiği bilgisi verilen tıp fakültesi öğrencileri ile tekniğe alışkın olan uzmanların skorları arasında da farkın olmadığını iki farklı çalışmada test etmiştir. Bu çalışmalarda da gözlemciler arası sonuçlar birbirine oldukça yakın olarak bulunmuştur (yayınlanmamış çalışma). AgNOR argirofilik yöntemi kullanılan sayım yöntemi ne olursa olsun boyanan hedef noktaların kolay tanınmasına olanak vermesi nedeniyle kolay sonuç veren ancak zaman emek-yoğun bir yöntemdir.<sup>2,4,7</sup> Ancak, hedef noktaların spesifikliğı için halen literatürde çok farklı görüş ve sonuçlar bulundurmaya devam etmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar argirofilik NOR boyama yöntem ve sayım tekniği; yöntemin sensitivitesinin ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğunu desteklemektedir. Ancak, bu çalışmanın yalnızca sayım ve boyama tekniğinin test edilmesine yönelik olması tekniğin normal ve patolojik dokulardaki biyolojik güvenilirliğini desteklemeye yeterli değildir.

### KAYNAKLAR

- 1 Anonymus: NORS, a new method for the pathologist. Lancet 1987, 1:413-414.
- 2 Crocker J. Boldly Dar, Egan MJ: How should we count AgNORs? Proposal for standardized approach. J Pathol 1989, 158: 185-188.
- 3 Howatt AJ, Giri DD, Cotton DWK, Slater D N: Nucleolar organizer regions in Spitz nevi and malign melanomas. Cancer 1989, 63: 474-478.
- 4 Ploton D, Thiry M, Maneger M, Lepoint A, Adnet AA, Gossens G: Behavior of during mitosis. A comparative ultrastructural study of various cancerous cell lines using the AgNOR staining procedure. Chromosoma 1987, 95:95-109.
- 5 Statgraphics, "two sample analysis", 1987, 11-3.
- 6 Underwood JLE and Giri DD: Nucleolar organizer regions as diagnostic discriminants for malignancy (editorial). J Pathol 1986, 155: 95-96.
- 7 Walker RA: The histopathological evaluation of nucleolar organizer region proteins. Histopathol 1988, 12:221-223.