



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

**GLİOBLASTOM OLGULARINDA İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
MGMT VE p53 EKSPRESYONU İLE BULGULARIN PROGNOTİK
FAKTÖRLER İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Muhammed Semih KAZANCI

**TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr. Özlem ÖZEN**

ANKARA, 2016

**02.12.2015 tarih ve KA15/327 nolu sayı
Bu Tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Bana karşı her zaman yol gösterici olan anabilim başkanımız Prof.Dr. B.Handan Özdemir'e, bende çok emeği olan tez hocam Prof.Dr. Özlem Özen'e, çok şey öğrendiğim Prof. Dr. Nihan Haberal'a çok teşekkür ederim. Bana evladınız gibi davrandınız.

Doç.Dr. Ebru Şebnem Ayva'ya, Doç.Dr. Ayşen Terzi'ye, Yrd.Doç.Dr.Merih Tepeoğlu'na, Uzm.Dr. Eda Yılmaz Akça'ya, Uzm.Dr. Pelin Börcek'e, Uzm.Dr.Gonca Özgün'e bana öğrettikleri ve ablam oldukları için çok teşekkür ederim.

Doç. Dr. Ebru Şebnem Ayva'ya tez aşamasında bana desteği, önceki sayamayacağım kadar çok şey ve sonrası için ayrıca çok teşekkür ederim. Ablacım iyi ki varsın.

Kıdemlim, her zaman yanımda olan, çok şey öğrendiğim Uzm. Dr. Alev Ok Atılğan'a çok teşekkür ederim.

Çok sevdiğim, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum kardeşlerim Dr. Zeynep Taştepe'ye, Dr. Ebru Deniz'e, Dr. Zeyneb Tunca'ya, Dr. Çiğdem Sercan'a, Dr Dila Gök'e çok teşekkür ederim. Aramızdan ayrılan Dr. Halit Üner'e, Dr. Gülderen Karali'ye teşekkür ederim. Çok değerlisiniz.

Tezimin istatistiklerini yapan ve tez aşamasında ve her zaman desteğini hissettiğim Dr. Zeyneb Tunca'ya ayrıca çok teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan dolayı çok mutlu olduğum biyolog arkadaşlarım Ayşegül Yücel Polat, Ceren Gülgör'e, Melis Deniz'e, aramızda ayrılan Özlem Ataol Demirkan'a ve Funda Gerçek'er'e çok teşekkür ederim.

Güler yüzleri, sabır ve yardımları için Ayten Şahin'e, Ümit Yılmaz'a, Neşe Güneş'e, Tolga Akbulut'a ve aramızdan ayrılan Sema Behlülgil'e çok teşekkür ederim.

Patoloji mutfağında birlikte çalıştığım arkadaşlarım Halil Özcan'a, Fatma Yalçın'a, Leyla Başkan'a, tezimde ayrıca emeği olan Esra Aslan'a, Hatice Özen'e, Hacer Dikme'ye, Şeyma Özer'e, Yasemin Atılğan'a, Cansu Yanal'a, Büsra Kumru'ya, tezimde arşiv konusunda çok yardımcı olan Gülizar Danışman'a çok teşekkür ederim.

Güler yüzleri, samimiyetleri ve yardımları için Mustafa Akdemir'e, Huriye Aksu'ya ve aramızda ayrılan Sultan Değirmenci' ye çok teşekkür ederim. Güvenliğimiz Necip Aktaş'a ve eski güvenliğimiz Gülden Ünal'a teşekkür ederim.

Dünyanın en iyi annesi Adalet Kazancı'ya, dünyanın en iyi babası Memduh Kazancı'ya çok teşekkür ederim. Kardeşlerim Emre Kazancı, Selvihan Kazancı Kök, Onur Kök ve dünya tatlısı yiğenim Ali Mert Kök'e çok teşekkür ederim.

Sizleri çok seviyorum. İyi ki varsınız...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER.....	vi
RESİMLER.....	vii
TABLolar.....	viii
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Santral sinir sistemi embriyolojisi.....	3
2.2. Santral sinir sistemi anatomisi.....	4
2.3. Santral sinir sistemi histolojisi.....	5
2.4. Astrositik tümörler.....	7
2.5. Glioblastom.....	12
2.6. Patoloji.....	15
2.7. Genetik ve moleküler çalışmalar.....	23
2.8. Prognostik ve prediktif faktörler.....	28
2.9. Tedavi ve tedaviye cevap mekanizması.....	29
3.GEREÇ YÖNTEM.....	30
4.BULGULAR.....	33
5.TARTIŞMA.....	44
6.SONUÇ.....	48
7.ÖZET.....	49
8.SUMMARY.....	51
9.KAYNAKLAR.....	53
EKLER	
EK 1. Olguların klinikopatolojik tanımlayıcı verileri.....	61

KISALTMALAR

DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
MGMT	: 0-6-metilguanin- DNA metil transferaz
TP53	: Tümör protein 53
H&E	: Hematoksilen Eozin
IDH	: İzositrat dehidrogenaz
HIF 1 alfa	: Hipoksi indükleyici faktör 1 alfa
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
LOH	: “Loss of heterozigosity”
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
TGF alfa	: “Transforming growth factor –alfa”
PI3K	: Fosfotidilinositol 3-kinaz
PIP2	: Fosfotidilinositol 4.5 bifosfatı
MDM2	: “Mouse double minute 2 homolog”
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. DNA hasarına karşı hücrenin p53 ile cevabının şematik gösterilmesi.....	25
Şekil 2. MGMT aracılı DNA tamir mekanizmasının şematik gösterilmesi.....	26
Şekil 3. Sağkalımın Kaplan Meier eğrisi ile gösterilmesi.....	41
Şekil 4. p53 ekspresyon derecelerinin sağkalım hızlarının Kaplan Meier eğrisi ile karşılaştırılması.....	42
Şekil 5. MGMT ekspresyon derecelerinin sağkalım hızlarının Kaplan Meier eğrisi ile karşılaştırılması.....	43

RESİMLER

	Sayfa
Resim 1. Glioblastomda artmış mitozun mikroskopik görünümü (H&Ex400 büyütme).....	17
Resim 2. Glioblastomda hücrel pleomorfizmin mikroskopik görünümü (H&Ex100 büyütme).....	17
Resim 3. Glioblastomda palizatlanan nekrozun mikroskopik görünümü (H&Ex100 büyütme).....	18
Resim 4. Glioblastomda mikrovasküler proliferasyonun mikroskopik görünümü (H&Ex200 büyütme).....	18
Resim 5. Nükleer p53 ekspresyonu (1+) (x200 büyütme).....	35
Resim 6. Nükleer p53 ekspresyonu (2+) (x100 büyütme).....	36
Resim 7. p53 negatifliği (x200 büyütme).....	36
Resim 8. Nükleer MGMT ekspresyonu (1+) (x200 büyütme).....	38
Resim 9. Nükleer MGMT ekspresyonu (2+) (x200 büyütme).....	38
Resim 10. MGMT negatifliği (x200 büyütme).....	39

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 1. Santral sinir sistemi glial tümörlerin derecelenmesi (DSÖ, 2016)....	8
Tablo 2. Santral sinir sistemi glial tümörler sınıflandırması (DSÖ, 2016).....	11
Tablo 3. Glioblastom tanılı olguların cinsiyet,yaş ve lokalizasyon özellikleri..	33
Tablo 4. Glioblastom olgularında immünohistokimyasal p53 ekspresyon şiddetleri.....	34
Tablo 5. Glioblastom olgularında yaş grupları ve cinsiyete göre immünohistokimyasal p53 ekspresyonu.....	35
Tablo 6. Glioblastom olgularında immünohistokimyasal MGMT ekspresyon şiddetleri.....	37
Tablo 7. Glioblastom olgularında yaş grupları ve cinsiyete göre immünohistokimyasal MGMT ekspresyonu.....	37
Tablo 8. Glioblastom olgularında p53 ekspresyon derecesine göre immünohistokimyasal olarak MGMT ekspresyon derecesinin karşılaştırılması.....	39
Tablo 9. MGMT ekspresyon derecelerine göre ortalama sağ kalım süreleri....	40
Tablo 10. p53 ekspresyon derecelerine göre ortalama sağ kalım süreleri.....	40
Tablo 11. MGMT ve p 53 ekspresyon dereceleri ile ortalama sağ kalım sürelerinin korelasyonu.....	41
Tablo 12. p53 ekspresyon derecelerine göre ortalama sağ kalım süreleri.....	42
Tablo 13. MGMT ekspresyon derecelerine göre ortalama sağ kalım süreleri...	43

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Glioblastomlar en sık görülen primer malign beyin tümörüdür. Astrositlerden köken alan glioblastom, “glioblastoma multiforme” (GBM) ile sinonim olarak kullanılır. Temel histopatolojik özellikleri nükleer atipi, sellüler pleomorfizm, mitotik aktivite artışı ve nekrozdur. Tipik olarak erişkinlerde görülür ve hemisferlerde lokalizedir. Çoğu glioblastom olgusu prekürsör bir lezyon olmaksızın “de-novo” gelişir (1). Sekonder glioblastom, diffüz astrositom (grade II) veya anaplastik astrositom (grade III)’un progresyonu sonucu oluşur. Tümörün invaziv natürüne bağlı olarak tamamen rezeke edilmeleri zordur. Radyoterapi ve kemoterapideki gelişmelere rağmen hastaların %50’sinden daha azı 1 yıldan daha fazla yaşar (2).

Glioblastomlarda, tumor protein 53 (TP53) ve 0-6-metilguanin- DNA metil transferaz (MGMT) radyoterapi ve kemoterapiye karşı dirençte rol oynayan tümör süpresör genleridir (3). TP53 geni 17. Kromozomun kısa kolunda lokalize tümör süpresör genidir (17p13) (4). İnsanlarda görülen kanserlerde en sık mutasyona uğrayan genidir. Normal TP53 geni 53 kDa büyüklüğünde bir fosfoprotein sentezler. Bu molekül DNA hasarı, hipoksi, ısı şoku, metabolik değişiklikler, sitokinler gibi hücrel strese yol açan uyarılara karşı oluşan cevapta önemli rol oynar. Glioblastomlarda TP53 geninde en sık transisyon mutasyonları izlenir (5). Glioblastomların yaklaşık %40’ında guanin-sitozin baz çiftinin yerini adenin-timin alarak transisyon mutasyonu oluşur (6).

MGMT geni 10. kromozomda lokalizedir. Bu gen hücrel genomu endojen ve çevresel karsinojenlerin mutajenik etkisinde koruyan bir DNA tamir proteinini kodlar. Kanser tedavisinde, guaninin O6 pozisyonunun metilasyonu yoluyla DNA hasarına yol açan çeşitli alkilleyici ajanlar kullanılır. Tümör hücresi bu hasara DNA tamir veya apoptozis yollarını aktive ederek cevap verir. O6 metil guanin, MGMT tarafından tanınır ve tamir edilir (7). MGMT geninin epigenetik olarak inaktivasyonu ile MGMT ekspresyonu azalmakta ve kanser hücresinin alkilize edici ajanlara duyarlılığı artmaktadır (8). Hücredeki “wild” tip p53 seviyesinin artması da MGMT seviyesini düşürmekte ve kanser hücresinin alkilize edici ajanlara duyarlılığı artmaktadır (9). Ayrıca hücrede mutant p53 seviyesinin artmasıyla MGMT düzeyinin düştüğünü gösteren yayınlar vardır (10).

Bu çalışmada 1995-2015 yılları arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı’nda glioblastom tanısı almış 71 olgunun biyopsilerinin arşiv parafin bloklarından hazırlanan kesitlerine immünohistokimyasal olarak p53 ve MGMT

antikorları uygulanmıştır. Klinik, histopatolojik, immünohistokimyasal bulgular ile prognostik parametreler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmanın beklentisi primer beyin tümörleri arasında en sık görülen ve en agresif tümör olan glioblastom olgularının tedavisinde son yıllarda önem kazanan alkile edici ajanların ortaya çıkmasına neden olan MGMT ekspresyonunun bizim olgularımızdaki görülme sıklığının belirlenmesi ve glioblastom tümörigenezinde önemli rol oynayan p53 tümör süpresör gen ekspresyonu ile ilişkisini araştırmak yanı sıra hastalarının sağ kalımına etkilerini değerlendirip literatüre katkıda bulunmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Santral sinir sistemi embriyolojisi

Santral sinir sistemi, embriyonel 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 yükselerek orta hatta birbirine yaklaşır ve nöral tüpü oluşturmak üzere kaynaşırlar. Kaynaşma servikal bölgede başlar, kaudal ve sefalik yönler 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 yönler olmak üzere iki yönlü olarak gerçekleşir. Kranial nöropor tam olarak 18–20 somit evresinde (25. gün), kaudal nöropor ise 27. günde kapanır (11).

Embriyonel gelişimin yaklaşık 4. haftasında nöral tüpün sefalik ucunda, primer beyin vezikülleri adı verilen üç dilatasyon ortaya çıkar. Bunlar, prosensefalon (ön beyin), mezensefalon (orta beyin) ve rombensefalon (arka beyin) dur. Sefalik uca eş zamanlı olarak, biri arka beyinle spinal kordun birleşim yerinde olan servikal fleksur, diğeri ise orta beyin bölgesindeki sefalik fleksur olmak üzere iki de fleksur meydana gelir. Embriyo 5 haftalık olduğunda, prosensefalon iki parçadan oluşur. Bunlar, orta bölüm ve iki lateral çıkıntının (primitif serebral hemisferler) oluşturduğu telensefalon ile optik veziküllerin dışı doğru büyümesiyle karakterize diensefalonudur. Mezensefalon rombensefalondan, rombensefalik istmus adındaki derin bir yarıkla ayrılır. Prosensefalon gibi, rombensefalon da iki parçadan oluşur (12). Bu parçalar, daha sonra pons ve serebellumu oluşturacak olan metensefalon ve miyelensefalonudur. Bu iki parça arasındaki sınırı ise pontin fleksur oluşturur. Spinal kordun lümeni olan merkezi kanal, beyin veziküllerinin lümenleri ile devamlılık gösterir. Rombensefalon boşluğu, dördüncü ventrikül, diensefalon boşluğu, üçüncü ventrikül ve beyin hemisferleri 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 adını alır. Lateral ventriküller de üçüncü ventrikülle olan ilişkilerine foramen Monro (interventriküler foramen) yoluyla sağlar. Ventriküllerin içini pleksus koroideus döşer ve beyin omurilik sıvısını (BOS) salgılar. Pleksus koroideusu ependim hücreleri oluşturur. Yeni kapanmış nöral tüpün

duvarları, nöroepiteliyal hücrelerden meydana gelir. Nöroepiteliyal hücreler bölünerek, primitif sinir hücrelerini yani nöroblastları oluşturur. Nöroblastlar çoğalır, artar ve gri cevheri yapar. Nöroblastların uzantıları sinir liflerinin oluşturduğu zona marjinalis'i oluşturur. Myelinle sarılan sinir uzantıları da beyaz cevheri oluşturur. Nöroblastların üretiminin durmasının ardından, nöroepiteliyal hücreler ilkel destek dokusu hücreleri olan glioblastların büyük bir kısmını oluşturur. Glioblastlar, nöroepiteliyal 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. Nöroepiteliyal hücreler, nöroblast ve glioblast üretimini bitirdikten sonra, spinal kordun merkezi kanalını döşeyen ependimal hücrelere farklılaşır (12).

2.2. Santral sinir sistemi anatomisi

Beyin kafatası içinde lokalizedir. Erişkin insan beyni yaklaşık 1400 gr kadardır. Vucut ağırlığının yaklaşık % 2' sini oluşturur. Beyin temel olarak beyin yarı küreleri, beyincik ve beyin sapı olmak üzere 3 ana bölüme ayrılır. Beyin sapı devamlılığında omurilik bulunur (13).

Beyin ve medulla spinalisin dış yüzünde meninks adı verilen 3 tabakalı zar katmanı bulunur. En içteki zar piameter olarak isimlendirilir. Piameter beyin ve omurilik dış yüzünü sıkıca sarar. İkinci zar katmanı olan araknoid, durameter iç yüzünü örter. En dışta durameter bulunur. Piameter ile araknoid arasındaki boşluğa subaraknoid aralık denir ve burada beyin omurilik sıvısı bulunur. Durameter ile kafatası arasındaki boşluğa subdural aralık denir (14).

Hemisferler sağ ve sol olmak üzere 2 tanedir ve birbirine simetriktir. Anatomik olarak yarım küreler frontal lob, parietal lob, oksipital lob ve temporal lob olmak üzere 4 lobtan oluşur. Beyin yarım küreleri dış kısmında gri cevher, iç kısmında beyaz cevher izlenir. Beyaz cevher içine gömülü olarak gri renkli ve sert kıvamlı bazal gangliyonlar görülür. Bunlar nükleus kaudatus, nükleus lentiformis, nükleus klastrum ve korpus amigdale'dir. Hemisferler ve mezensefalon arasında diensefalon bulunur. Beyin sapını mezensefalon, pons ve bulbus oluşturur. Serebellum kafatası arka çukurunun büyük

kısmını doldurur. Yaklaşık 150 gr ağırlığında olup beynin 2. büyük parçasıdır. Pons ve bulbus ile birlikte 4. ventrikülü çevreler (13).

Medulla spinalis merkezi sinir sisteminin vertebral kanal içindeki kısmıdır. Yaklaşık 30 gr ağırlığında olup, 40-45 cm uzunluğunda ve 1 cm çapındadır. Medulla spinalis, embriyolojik olarak tüpün en az değişikliğe uğrayan kısmıdır (13).

Beyin içinde ventrikül adı verilen boşluklar bulunur. Yan ventriküller çift olup sağ ve sol hemisfer içinde bulunur. Üçüncü ventrikül tektir ve büyük kısmı diensefalonda bulunur. Dördüncü ventrikül yine tektir ve beyincik, pons ve bulbus arasında izlenir. Ventrikül duvarlarında belirgin bölgelerde toplanmış olarak genişlemiş kapiller damar ağı bulunur ve koroid pleksus adını alır (14).

Subaraknoid aralık, ventriküller ve kanalis santralis içinde beyin omurilik sıvısı (BOS) bulunur. Beyin omurilik sıvısının büyük çoğunluğu yan ventriküller içinde yer alan koroid pleksus tarafından yapılır. Subaraknoid boşluktaki araknoid villuslar tarafından emilir ve venöz kan dolaşımına verilir. BOS miktarı 80-150 ml arasında değişir (13).

Beyin dokusu arterial kanı vertebral ve karotis arterden alır. Vertebral arterler foramen magnumdan kafatası içine girer ve ponsun alt kenarında birleşerek basiler arteri yapar. Basiler arter, pons'un üst bölümünde serebri posterior arter ve süperior serebelli dallarına ayrılır. A. karotis interna kanalis karotikustan kafatasına girer. A. kominikans posterior, a.koroidea anterior, a.serebri anterior ve a.serebri media dallarını verir. Basiler arter ve a.karotis internanın dallarının birleşmesi ile "Willis poligonu" oluşur (14).

Beynin venleri kas dokusu olmayan çok ince duvarlı, kapaksız venlerdir. Beyinden çıkıp subaraknoid aralığa uzanırlar ve venöz sinüslere dökülürler. Beyinde serebral, serebellar ve beyin sapı venleri bulunur. Serebri magna veni, iki interna serebri veninin birleşmesiyle oluşur ve sinüs rektusa dökülür (14).

2.3. Santral sinir sistemi histolojisi

Merkezi sinir sisteminde iki tip hücre bulunur. Bu hücreler uzun sinir lifleri içeren nöronlar ve nöronları koruyan ve çevreleyen glial hücrelerdir. Glial hücrelerin sayısı nöronlardan 10 kat daha fazladır. Sinir dokusunun gerçek anlamda hücreler arası matriksi yoktur. Bu nedenle yumuşak ve jel kıvamındadır. Glial hücreler nöron etkinliği için uygun

mikroçevreyi sağlar. Farklı kökene, morfolojiye ve işleve sahip glial hücreler vardır. Bu hücreler astrosit, oligodendrosit, ependim hücreleri ve mikroglialardır (15).

2.3.1. Astrositler

Astrositler nöroektodermal kökenlidir. Uzantıları nedeniyle yıldız şeklindedir. 8-10 mikron boyutlarında, yuvarlak-oval nükleuslu, nükleol içermeyen hücrelerdir. Fibriler ve protoplazmik formları vardır. Fibriler astrositler beyaz cevherde, protoplazmik astrositler ise gri cevher yerleşimlidir. Diğer alt tipleri ise serebellum korteksinde izlenen “Bergmann” astrositler ve periventriküler alan, serebellum ve spinal kordta izlenen pilositik astrositlerdir. Astrositlerin yıldız şeklindeki uzantıları metalik impenyasyon ve immünohistokimyasal olarak glial fibriler asidik protein (GFAP) ile gösterilir (16).

2.3.2. Oligodendrositler

Oligodendrositler nöroektodermal kökenlidir. Nükleusları astrositlerden daha küçük ve yuvarlaktır. Sitoplazmaları dar, uzantıları kısa ve azdır. Beyaz cevherde ve daha az oranda gri cevherde izlenir. Miyelin kılıfının ve nöron gövdelerinin çevrelerinde bulunur. Miyelin yapılımdan sorumludur. Oligodendrositler Hemotoksilen Eozin (H&E) boyamada sitoplazmalarının şişmesi ve vakoulizasyonu ile oluşan perinükleer halo ile tanınırlar (16).

2.3.3. Ependim hücreleri

Nöroektodermal kökenlidir. Sanral sinir sistemi boşluklarını döşeyen küboidal-kolumnar hücrelerdir. Çocukluk çağında daha belirgin silyaları vardır. Koroid pleksusu döşeyen ependimal hücreler özelleşmiş hücrelerdir ve BOS yapımından sorumludurlar (16).

2.3.4. Mikroglialar

Mezodermal kökenlidir. Kemik iliği kaynaklı mononükleer fagositik sistem hücrelerindendir. Beyin dokusunda yaygın olarak izlenen mikroglialar küçük, koyu, elonge nükleusludur. Hemotoksilen Eozin kesitlerinde seçilemezler (16).

2.4. Astrositik tümörler

2.4.1. Astrositik tümörlerin genel özellikleri

Astrositik tümörler neoplastik astrositlerden oluşan, santral sinir sisteminin farklı alanlarında yerleşim gösteren, progresyon gösterme eğilimleri ve klinik davranışları farklı geniş bir neoplazi grubudur (2). Astrositik tümörler, lokalize ve infiltratif olmak üzere başlıca iki ayrı grupta ele alınır. Diffüz infiltratif patern gösteren astrositom, anaplastik astrositom ve glioblastom için diffüz astrositik tümörler terminolojisi uygun görülmüştür. Diğer gruptaki pilositik astrositom, pleomorfik ksantostrositom ve subependimal dev hücreli astrositom daha iyi sınırlı, lokalize ve çoğu düşük dereceli astrositik tümörlerdir (2).

2.4.2. Diffüz astrositik tümörler

Diffüz astrositik tümörler tüm primer beyin tümörlerinin %60'ından fazlasını oluşturur. Santral sinir sisteminin herhangi bir bölgesinde gelişebilmekle birlikte en çok görüldüğü yer serebral hemisferlerdir. Genellikle yetişkinlerde görülür. Beyin parankimine diffüz infiltrasyon göstermeleri en önemli özelliklerinden biridir (2). Diffüz astrositik tümörleri derecelendirmede kullanılan kriterler; 1988 yılında yayınlanan ve aynı zamanda yazarlarının adı (Daumas-Duport) ile bilinen St.Anne/Mayo sistemi ile belirlenmiştir (17). Günümüzde kullanılan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) derecelendirme sisteminin temelini oluşturan bu çalışmada 4 histopatolojik özellik esas alınmaktadır. Bunlar; hipersellülarite, nükleer atipi, mitotik aktivite, vasküler proliferasyon ve/veya nekrozdur. Bu derecelendirme sistemi sağ kalımı öngörmeye oldukça başarılıdır. Genel kural olarak derecelendirme anaplazinin en yüksek olduğu yere göre yapılır (17).

2.4.3. Diffüz astrositik tümörlerin derecelendirilmesi

Son çalışmalar ışığında diffüz astrositik tümörlerin derecelendirilmesinde, prognostik açıdan önemli bilgiler veren moleküler parametrelerin de histolojik parametrelere ek olarak kullanılması önerilmiştir (18). DSÖ 2016 sınıflamasında da St.Anne/Mayo sistemi, Ringherts sistemi ve önceki yayımlanan DSÖ şemalarında olduğu gibi üçlü derecelendirme sistemi kullanılmıştır (Tablo 1). Buna göre sadece sitolojik atipi içeren tümörler (diffüz astrositom) “grade” II, ek olarak mitotik aktivite artışı ve anaplazi içeren tümörler (anaplastik astrositom) “grade” III, bunlara ek olarak mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekroz içeren tümörler (glioblastom) ise “grade” IV olarak derecelendirilmiştir. Sitolojik atipi, nükleer hiperkromazi yanı sıra nükleer şekil ve boyut

farklılıklarının bulunması olarak tanımlanmıştır. “Grade” III astrositom tanısı için mitoz görülmesi şarttır. Bununla birlikte yeterli bir örnekte izlenen tek bir mitoz, “grade” III tanısı için yeterli değildir. Böyle durumlarda grade II ve grade III tümörlerin ayırımında Ki-67 proliferasyon indeksi yardımcı olabilir. Mikrovasküler proliferasyon, endotelial hücrelerin belirgin tabakalanması veya glomerüloid görünüm almasıdır. Nekroz, klasik olarak perinekrotik palizatlanma ile karakterli olabileceği gibi geniş alanlarda tümör hücre nekrozu şeklinde de görülebilir. Bütün bu kriterlerin meydana geliş sırası ise atipi, atipiyi takip eden mitotik aktivite artışı, sellülaritede artış ile mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekroz şeklindedir (18).

Tablo 1. Santral sinir sistemi glial tümörlerin derecelendirilmesi (DSÖ, 2016)

DİFFÜZ ASTROSİTİK VE OLİGODENDROGLİAL TÜMÖRLER	
Diffüz astrositom, IDH-mutant	II
Anaplastik astrositom, IDH-mutant	III
Glioblastom, IDH-wild tip	IV
Glioblastom, IDH-mutant	IV
Diffüz midline gliom, H3 K27M-mutant	IV
Oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q kodelesyonu gösteren	II
Anaplastik oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyonu gösteren	III
DİĞER ASTROSİTİK TÜMÖRLER	
Pilositik astrositom	I
Subependimal dev hücreli astrositom	I
Pleomorfik ksantoastrositom	II
Anaplastik pleomorfik ksantoastrositom	III
EPENDİMAL TÜMÖRLER	
Subependimoma	I
Miksopapiller ependimoma	I
Ependimoma	II
Ependimoma, RELA füzyon pozitif	II/III
Anaplastik ependimom	III
DİĞER GLİOMLAR	
Anjiyosentrik gliom	I
Üçüncü ventrikülün koroid gliomu	II

2.4.4. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 santral sinir sistemi tümörleri sınıflanması

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 santral sinir sistemi tümörleri sınıflaması önceki 2007 sınıflamasına göre teorik ve pratik açılardan avantajlar göstermektedir (2). İlk kez bu sınıflandırmada antitelerin sınıflandırılmasında, histolojik özelliklere ek olarak moleküler parametreler kullanıldı. Diffüz gliomlar, medulloblastom ve diğer embriyonel tümörlerin sınıflandırılması yeniden yapılandırıldı. Histolojik ve moleküler özelliklerine göre yeni antiteler tanımlanarak sınıflandırmaya dahil edildiği görülmektedir (Tablo 2). Ayrıca biyolojik ve tanısal açıdan anlamlı olmayan bazı antite, varyant ve paternler sınıflandırılmadan çıkarıldı (19).

Parsons ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, düşük dereceli glioblastom zemininde oluşan sekonder glioblastomlarda izositrat dehidrogenaz (IDH) mutasyonu tespit edildi (20). Böylelikle IDH mutasyonunun genç hastalarda görülen ve daha iyi prognoza sahip olan sekonder glioblastomların primer glioblastomlardan ayrımında bir belirteç olarak kullanılması gündeme geldi (18).

Yeni sınıflamada IDH mutasyonun varlığına göre glioblastom sınıflandırması yeniden yapılandırıldı. Glioblastom, IDH-“wild” tip olarak tanımlanan birinci grup vakaların yaklaşık %90’ını oluşturmaktadır. IDH-“wild” tip glioblastom “de-novo” olduğu düşünülen, daha ileri yaştaki hasta popülasyonunda izlenen primer glioblastomdur (19).

Glioblastom, IDH-mutant ise vakaların yaklaşık %10’nu oluşturan, diffüz ve anaplastik glioblastom zemininde gelişen, genç hastalarda görülen, sekonder glioblastomdur. IDH mutasyonu için moleküler test yapılamadığı durumlar için glioblastoma, NOS terminolojisi kullanıldı. (19).

Epiteloid glioblastom, dev hücreli glioblastom ve gliosarkomun yanı sıra, IDH-wild tip glioblastomun yeni bir varyantı olarak kabul edildi. Epiteloid glioblastom; geniş epiteloid hücrelerden oluşur. Geniş eozinofilik sitoplazması, veziküler kromatini ve belirgin nükleolü vardır. Rabdoid morfolojide hücreler izlenebilir. Genç erişkin ve çocuklarda sık izlenir. Yüzeysel serebral ve diensefalik bölgelerde lokalize olurlar. Sıklıkla BRAF ve V600E mutasyonları gösterirler (21).

Ayrıca sınıflamaya primitif nöronal komponent içeren glioblastom paterni eklendi. Bu patern daha önce literatüre PNET benzeri komponent içeren glioblastom olarak girmişti. Bu komponent nöronal diferansiyasyon gösteren primitif hücrelerden oluşan iyi sınırlı nodüller şeklinde izlenir. Hem glial hem de primitif nöronal komponent R132H IDH1 immünohistokimya pozitifliği gösterir (22).

Diffüz ve anaplastik astrositomlarda yine IDH mutasyonu açısından IDH “wild”, IDH mutant ve NOS gruplarına ayrıldı (23).

Pediyatrik diffüz gliomlar önceki DSÖ sınıflandırmalarında erişkin gliomları içinde yer alıyordu. Diffüz pattern gösteren, H3 histon geninde K27M mutasyonu izlenen, orta hatta (talamus, beyin sapı, medulla spinalis) lokalize olan ve çoğunlukla pediyatrik yaş gruplarında izlenen “Diffüz midline gliom, H3 K27M-mutant” antitesi tanımlandı (23).

Oligodendrogliom ve anaplastik oligodendrogliom tanısı için yeni sınıflamada IDH mutasyonu yanısıra 1p19q kodelesyonu gerekmektedir. Bu mutasyonlara yönelik genetik test yapılamadığı ve tipik histolojik bulgular gösteren olgular için NOS kategorisi kullanıldı (23).

Bu sınıflara dahil edilmeyen astrositik tümörler ise diğer astrositik tümörler başlığı altında toplandı (23).

Ependimomlar için ise RELA füzyon mutasyonunun izlendiği “Ependimom RELA füzyon pozitif subtipi tanımlandı. Bu varyant pediyatrik yaş ependimomlarının büyük kısmını oluşturmaktadır (24).

Üçüncü ventrikülün koroid gliomu, anjiosentrik gliom ve koroid pleksus gliomu diğer gliomlar başlığı altında toplandı (23).

Tablo 2. Santral sinir sistemi glial tümörlerin sınıflandırılması (DSÖ, 2016)

<p>DİFFÜZ ASTROSİTİK VE OLİGODENDROGLİAL TÜMÖRLER</p> <p>Diffüz astrositom, IDH-mutant</p> <p> Gemistositik astrositom, IDH-mutant</p> <p>Diffüz astrositom, IDH-wild tip</p> <p>Diffüz astrositom, NOS</p> <p>Anaplastik astrositom, IDH-mutant</p> <p>Anaplastik astrositom, IDH wild tip</p> <p>Anaplastik astrositom, NOS</p> <p>Glioblastom, IDH-wild tip</p> <p> Dev hücreli glioblastom</p> <p> Gliosarkom</p> <p> Epiteloid glioblastom</p> <p>Glioblastom, IDH-mutant</p> <p>Glioblastom, NOS</p> <p>Diffüz midline gliom, H3 K27M-mutant</p> <p>Oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q kodelesyonu gösteren</p> <p>Oligodendrogliom, NOS</p> <p>Anaplastik oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyonu gösteren</p> <p>Anaplastik oligodendrogliom, NOS</p> <p>Oligoastrositoma, NOS</p> <p>Anaplastik oligoastrositoma, NOS</p>	<p>DİĞER ASTROSİTİK TÜMÖRLER</p> <p>Pilositik astrositom</p> <p> Pilomiksoid astrositom</p> <p>Subependimal dev hücreli astrositom</p> <p>Pleomorfik ksantoastrositom</p> <p>Anaplastik pleomorfik ksantoastrositom</p>
	<p>EPENDİMAL TÜMÖRLER</p> <p>Subependimoma</p> <p>Miksopapiller ependimoma</p> <p>Ependimoma</p> <p> Papiller ependimoma</p> <p> Şeffaf hücreli ependimoma</p> <p> Tanisitik ependimoma</p> <p>Ependimoma, RELA füzyon pozitif</p> <p>Anaplastik ependimom</p>
	<p>DİĞER GLİOMLAR</p> <p>Üçüncü ventrikülün koroid gliomu</p> <p>Anjiosentrik gliom</p> <p>Astroblastom</p>

2.5. Glioblastom

2.5.1. Glioblastom tanımı

Glioblastom ilk olarak Virchow tarafından “glial orjinli tümör” olarak tanımlanmıştır (25). Strauss ve Globus ilk kapsamlı tarifini yapmışlar ve spongioblastoma multiforme terimini kullanmışlardır (26). Bailey ve Cushing, 1926 yılında, spongioblastoma multiforme terimini glioblastoma multiforme olarak değiştirmişlerdir (26). Scherer ve Kernohan GBM’ nin malign astrositoma olduğunu ve bazen daha düşük dereceli lezyonların progresyonu ile geliştiğini söylemiştir (27). Glioblastom astrositik tümör spektrumunun en malign üyesidir. Glioblastom hipersellülerite, nükleer atipi, mitotik aktivite artışı gösteren yüksek dereceli infiltratif astrositik tümördür. Glioblastom tanısı için nekroz ve/veya mikrovasküler proliferasyon gerekmektedir (2).

2.5.2. Glioblastom insidansı

İntrakranyal neoplazmların %12-15’ini ve astrositik neoplazmların %60-75’ini oluşturur (28, 29). Kuzey Amerika ülkelerinde insidansı 100.000 kişide 3-4 yeni vakadır (28). Amerika Birleşik Devletlerinde 100.000 kişide 2.6 yeni vakadır. İsviçre’de toplum bazlı yapılan bir çalışmada bu oran 3.55 olarak bulunmuştur (29).

2.5.3. Yaş ve cinsiyet

Glioblastomlar herhangi bir yaşta ortaya çıkabilse de özellikle erişkinleri etkiler. En sık görüldüğü yaş aralığı 45-75 yaş arasındadır (30). Toplum bazlı bir çalışmada glioblastomun ortalama ortaya çıkış yaşı 61.3 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada hastaların %80’ inin 50 yaşın üzerinde olduğu görülmüştür (30). Aynı çalışmada 715 hastanın sadece 7 tanesinin (%1) 20 yaşın altında olduğu görülmüştür. Glioblastom erkeklerde kadınlardan biraz daha sık görülür. Erkek/kadın oranı Amerika Birleşik Devletlerinde 1.26, isviçrede 1.28 dir (31).

2.5.4. Lokalizasyon

Glioblastom sıklıkla beyin hemisferlerinin subkortikal bölgesinde yerleşimlidir. Zürih Üniversitesinde 987 olgudan oluşan seride incelenen glioblastom vakalarında tümörün; %31 oranında temporal lobta, %23 oranında parietal lobta, %23 oranında frontal lobta, %13 oranında oksipital lobta yerleşim gösterdiği bulunmuştur. Özellikle frontal ve temporal lob yerleşim birlikteliği siktir (29). Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan

çalışmada benzer sonuçlar bulunmuştur (32). Tümör sıklıkla komşu hemisferi ve korpus kallozum yoluyla komşu hemisferi infiltre eder. Bazal gangliyon ve talamus yerleşimli glioblastom nadir değildir ve öncelikle çocuklarda görülür. Beyin sapı lokalizasyonlu glioblastom sık olmamakla birlikte yine çocuklarda görülür (29). Spinal kord ve serebellum nadir lokalizasyonlardır.

2.5.5. Klinik

Sekonder glioblastom olguları dışındaki glioblastomların %50' sinde hastaların klinik öyküleri 3 aydan daha kısadır. Hastalarda intrakraniyal basınç artışına bağlı semptomlar (baş ağrısı, bulantı/kusma, papil ödem gibi) sıktır. Hastaların yaklaşık 1/3' ünde epileptik nöbetler görülür. Baş ağrısı ve kişilik değişikliği gibi özgül olmayan nörolojik semptomlar görülebilir (33).

2.5.6. Histogenez

Glioblastomun hücresel orijini tartışma konusudur. Uzun yıllar glioblastom hücrelerinin astrositlerin transforme olduktan sonra dediferansiyasyon olması ile oluştuğu düşünülüyordu. Bununla birlikte glioblastomun hücresel, biyokimyasal ve genetik heterojenitesi yanısıra histolojik benzerliğe sahip hücrelere göre farklı gidişe sahip olması, bu tümörün bipotansiyel prekürsör hücre, primordiyal hücre veya nöral kök hücreden köken alabileceğini düşündürmektedir (34). Subventriküler alandaki hücrelerin kök hücre benzeri özellikler gösterdiği ve bu hücrelerden glioblastom oluştuğu gösterilmiştir. Ayrıca glioblastomdan kök hücre benzeri hücreler izole edilmiştir (35).

2.5.7. Yayılım ve metastaz

İnfiltratif yayılım diffüz astrositomların yaygın bir özelliği olması ile birlikte özellikle glioblastomlar komşu beyin parankimine hızlı invazyon özelliği ile bilinmektedir (36). “Kelebek gliom” olarak bilinen, korpus kallozum yolu ile karşı hemisfere uzanım, sıklıkla görülen simetrik bir lezyondur. Benzer olarak internal kapsül, forniks ve anterior komissür yolu ile tümörün hızlı yayılımı görülebilir. Bu yapılar genişlemiş ve bozulmuş olarak metastaz yollarına dönüşebilir. Ve bunun sonucunda radyolojik olarak multifokal glioblastom görünümü oluşur (2).

Cerrahi ve radyoterapiye rağmen invaziv hücreler tedavi sonrası lokal rekürrens için kaynak oluştururlar (2).

Tümörün hızlı gelişimi ve infiltratif büyüme paternine rağmen subaraknoid aralığa invazyon ve serebrospinal sıvı yoluyla yayılım eğilimi yoktur (37). Perivasküler aralıklar yolu ile tümörün invazyonu sık olmasına karşın tümörün damar lümenine invazyonu nadir görülür (38). Cerrahi bir girişim olmaksızın tümörün hematojen yayılımı çok nadirdir. Ventriküloperitoneal şant yoluyla tümörün peritoneal metastazı tanımlanmıştır (39). Duramater, venöz sinüs ve kemik infiltrasyonu çok nadirdir (40).

2.5.8. İnvazyon mekanizması

Glioblastom invazyonuna aracılık eden, TGF-Beta ve AKT yollarını da içeren, birkaç adet moleküler mediatörün glioblastom invazyonuna aracılık ettiği öne sürülmektedir (41). Tümör hipoksisinin HIF-1 alfa aktivasyonu yoluyla invazyonu indükleyebileceği bildirilmektedir (42). Glioblastom invazyonunda tümör hücreleri tarafından proteolitik enzimler salınır ve ekstrasellüler matriks invazyon için uygun hale getirilir (43).

2.5.9. Multifokalite

Glioblastomlarda multifokalite sık değildir. Kalıtsal neoplastik sendromların dışındaki sıklığı net bilinmez. Odaklar supra ve infra tentoriyal olduklarında, median komissur gibi bağlantı odakların dışında olduklarında bağımsız odaklar olabilecekleri düşünülür. Gerçek multifokal glioblastomlar muhtemelen poliklonaldirler ve moleküler belirteçler yardımı ile ortaya konur (44).

2.5.10. Primer ve sekonder glioblastomlar

Primer ve sekonder glioblastom terminolojisi ilk olarak 1940 yılında Scherer tarafından kullanılmıştır. Sekonder glioblastomların primer glioblastomlardan ayırt edilmesi gerektiğini savunmuş ve bu tümörlerin muhtemelen uzun klinik seyirli glioblastomlardan sorumlu olduğunu vurgulamıştır (45). Primer glioblastomlar herhangi bir prekürsör lezyon tespit edilmeksizin 3 aydan daha kısa klinik seyir ile ortaya çıkar ve glioblastomların yaklaşık %90' nı oluşturur. Bu hastaların ortalama yaşı 62' dir (31). Sekonder glioblastomlar diffüz astrositom (DSÖ grade II) veya anaplastik astrositomdan (DSÖ grade III) köken alırlar. Tüm glioblastomların yaklaşık %10' unu oluştururlar (31, 46). Sekonder glioblastom hastaları daha gençtir. Ortalama yaşları 45' dir. Primer ve sekonder glioblastomlar farklı genetik yollardan oluştuğu ve farklı antiteler olduğu kabul edilmektedir (29). Tedaviye cevapları da farklıdır. Fakat her ikisinde de sıklıkla LOH 10q

mutasyonu izlenir ve bu mutasyonun olasılıkla glioblastom fenotipinde önemli rolü vardır (47).

2.6. Patoloji

2.6.1. Makroskopi

Hastaların klinik öykülerinin kısa olmasına karşın tanı anında tümör büyük boyutlara ulaşmış ve lobun büyük kısmını kaplamış olabilir. Tümör çoğunlukla tek taraflıdır. Ancak beyin sapı ve korpus kallozum tutulumu ile birlikte bilateral simetrik tutulum görülebilir. Supratentorial bilateral tutulum, tümörün korpus kallozum ve temporal loblara uzanan forniksler gibi miyelinli yapılar boyunca hızlı büyümesine bağlı izlenir (2).

Glioblastomlar çoğunlukla parankim içi beyaz cevherde sınırlı iken seyrek olarak leptomeniksler ve duraya kadar uzanabilir. Bu durum cerrahlar ve nöroradyologlar tarafından metastatik karsinom veya meningiom gibi bir ekstraaksiyel bir lezyon olarak yorumlanabilir (48). Glioblastom kesit yüzünde periferik alanlar gri renkli ve santral alanlar ise miyelin yıkılımına bağlı sarı renkli, nekrotik görünümündedir. Periferdeki gri zon tümör dokusundan oluşur ve yumuşak kıvamlıdır. Tümör nekroz alanları canlı tümör dokusu bulunmadan direkt komşu beyin parankimi ile devamlık gösterebilir (23). Nekroz tümör dokusunun %80' ni oluşturabilir. Likefiye nekrotik tümör dokusuna bağlı olarak tümör kesit yüzü koyu renkli akışkan olarak izlenebilir. Glioblastom kesit yüzünde tipik olarak kanamaya bağlı kırmızı ve kahverengi noktasal alanlar izlenir. Kanama yaygın olduğunda hastada inme benzeri semptomlar görülebilir (2).

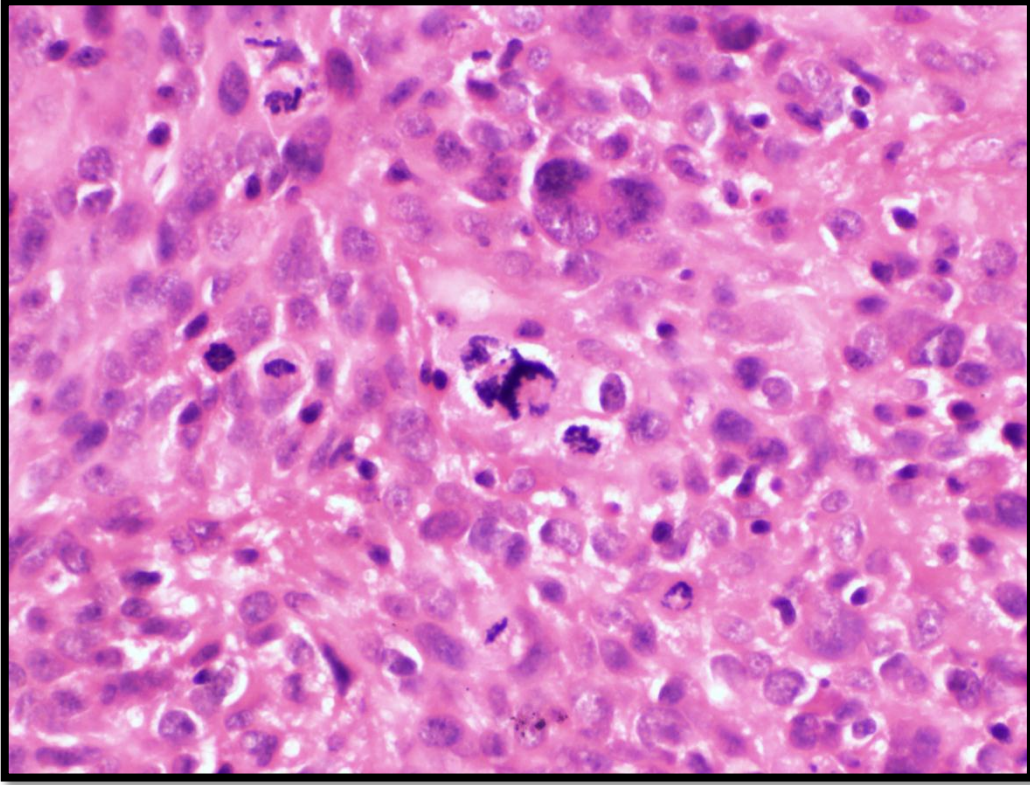
2.6.2. Histopatoloji

Glioblastom yüksek nükleer atipi ve sık mitoz (Resim 1) içeren az diferansiye pleomorfik astrositik hücrelerden oluşur (Resim 2). Anaplastik sellüler bir gliomdur. Nekroz (Resim 3) ve belirgin mikrovasküler proliferasyon (Resim 4) temel tanısal özellikleridir. Tümörün histopatolojik değişkenliği "Glioblastoma multiforme" isimlendirmenin kaynağıdır. Bazı lezyonlar multinükleer dev hücrelerle birlikte yüksek dereceli nükleer pleomorfizm gösterirken bazı tümörler monoton tümör hücrelerden oluşur. Tümörlerin bir kısmında astrositik köken fokal da olsa ayırt edilebilirken, diğerlerinde yüksek dereceli anaplazi nedeniyle daha zor anlaşılır. Glioblastom tanısı bölgesel heterojenite nedeniyle stereotaktik iğne biyopsilerinde zordur (49).

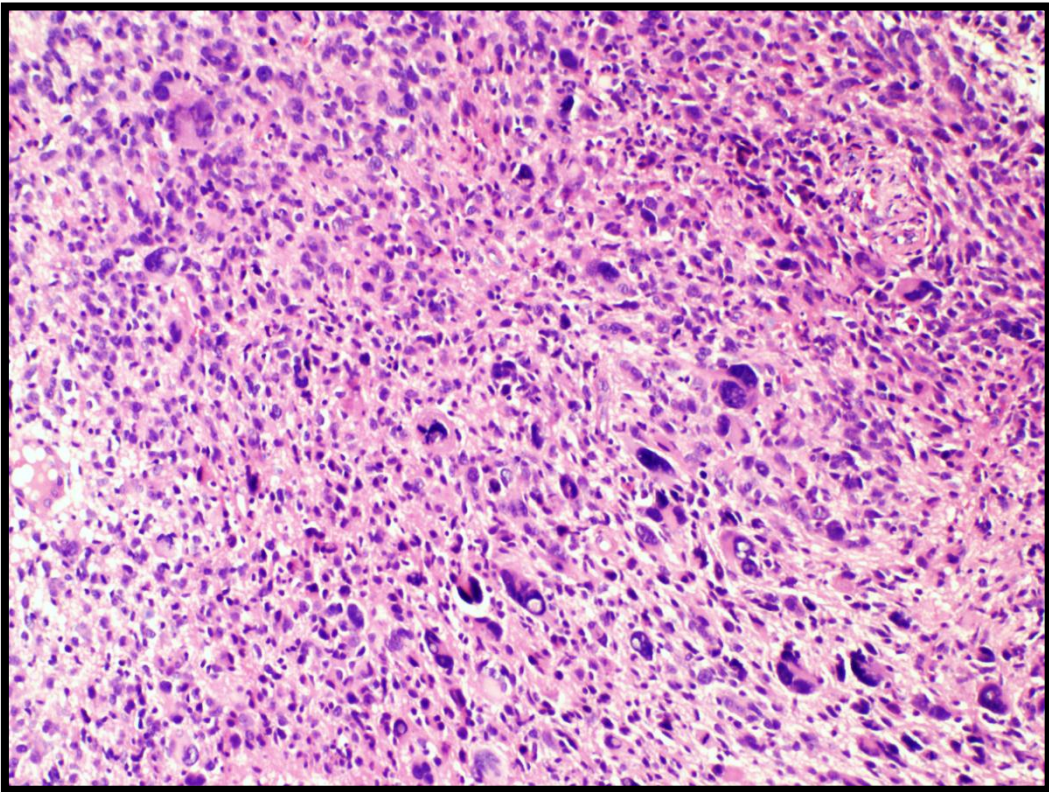
Glioblastom tanısı hücresel tiplendirmeden ziyade doku paternine dayanır. Anaplastik glial hücreler, mitotik aktivite, vasküler proliferasyon ve/veya nekroz tanı için gereklidir. Tümörlerde sıklıkla santral nekroz ve bunun çevresinde palizatlanan canlı tümör hücreleri izlenir. Vasküler proliferasyon, nekroz çevresinde ve lezyon periferinde izlenir (23).

2.6.3. Tümör hücre proliferasyonu

Mitotik aktivite tümörler arasında ve tümör içinde bölgesel heterojenite gösterir. Atipik mitozlar sıkça izlenir. Proliferasyon aktivitesi, mitozlarla birlikte neredeyse tüm olgularda belirgindir. Proliferasyon indeksi Ki-67/MIB 1 antikoru ile saptanır. Ortalama değer %15-20 arasındadır (50). Küçük andiferansiye, fusiform hücrelerden oluşan tümörler yüksek proliferasyon indeksi gösterirken, neoplastik gemitositlerden oluşan tümörlerde proliferasyon indeksi daha düşüktür. Klinik gidiş ile proliferasyon indeksi arasında korelasyon gösterilememiştir (51).

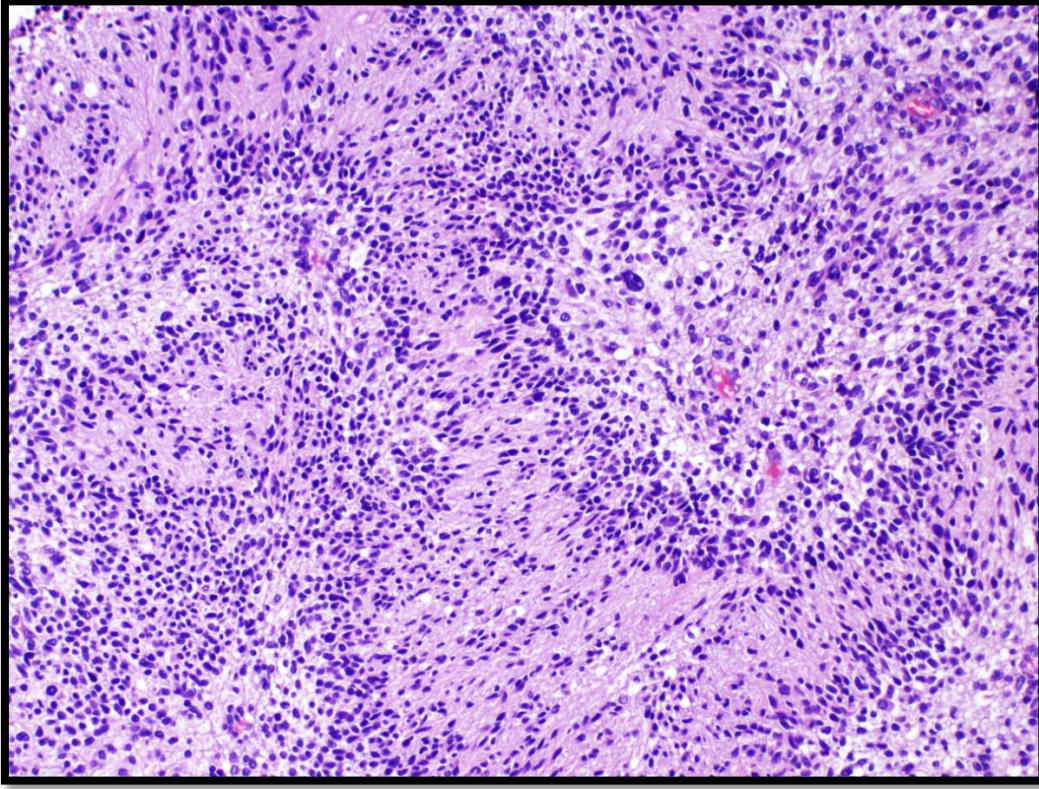


Resim 1. Glioblastomda artmış mitozun mikroskopik görünümü (H&Ex400 büyütme)

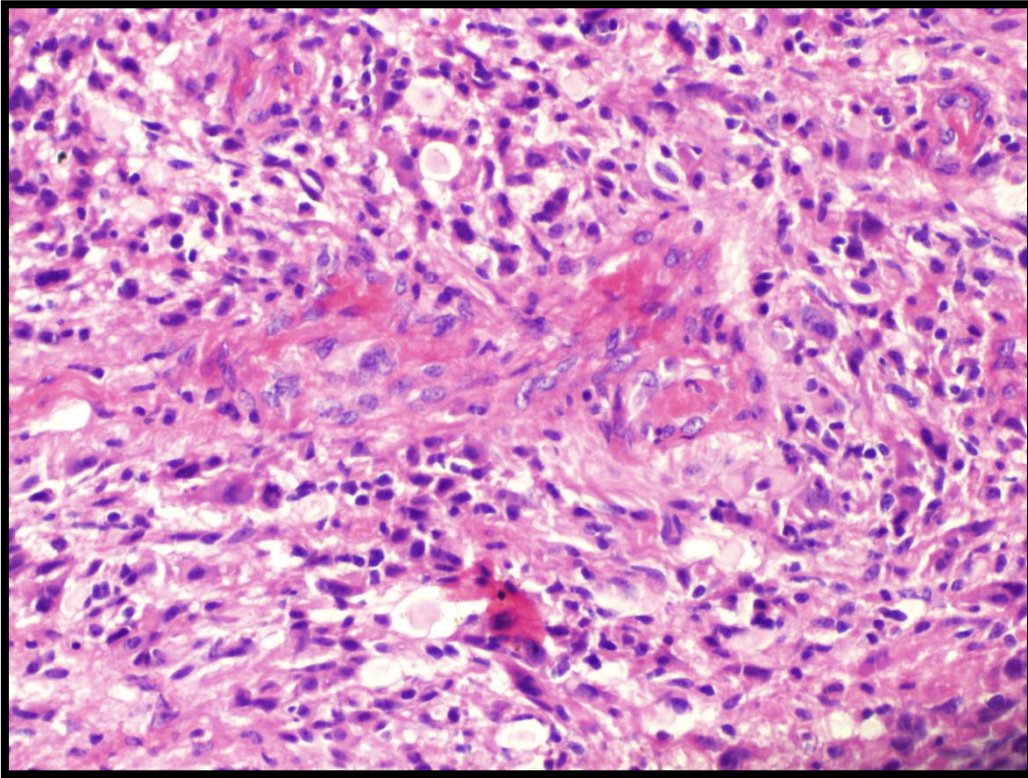


Resim 2. Glioblastomda hücresel pleomorfizmin mikroskopik görünümü

(H&Ex100 büyütme)



Resim 3. Glioblastomda palizatlı nekrozun mikroskopik görünümü (H&Ex100 büyütme)



Resim 4. Glioblastomda mikrovasküler proliferasyonun mikroskopik görünümü (H&Ex200 büyütme)

2.6.4. Anjiogenez ve mikrovasküler proliferasyon

Glioblastom insanlardaki en vaskülarize tümörlerden biridir. Glioblastom vaskülarizasyonu birkaç mekanizma ile oluşur. Önceden var olan damarların tümör hücreleri tarafından adaptasyonu, mevcut damarlardan endotelial hücre proliferasyonu, migrasyonu ve vaskülogenez ile yeni damarların filizlenmesi, vaskülarizasyonu destekleyen kemik iliği kaynaklı hücrelerin perivasküler alana yerleşmesi vb. (52). Hipoksi glioblastom anjiogenezinde en önemli indükleyici faktör olarak kabul edilir (53). HIF 1 alfa (hipoksi indükleyici factor 1 alfa) hücre içi birikimine yol açar. HIF1 alfa birikimi anjiogenez kontrol eden 100'den fazla genin transkripsiyonunu aktive eder. Bunlar arasında en önemlisi Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) genidir (54). VEGF özellikle nekroz çevresi palizatlanan hücrelerden sentez edilir. Bu süreçte endotelial hücreler yanı sıra perisit/düz kas hücreleri, perivasküler kemik iliği kaynaklı hücreler yeni damar sentezine katılır. Bu damar yapılanma süreci glioblastom için karakteristik olan mikrovasküler proliferasyona yol açar (52).

Mikrovasküler proliferasyon, nekroza ek olarak glioblastomların karakteristik özelliklerinden biridir. Işık mikroskopunda klasik görünümüleri nekroz çevresindeki glomerüloid yumaklar şeklindedir. Mikroskopik olarak çok katlı mitotik aktif endotelial hücreler, düz kas ve perisitlerden oluşurlar. Vasküler proliferasyonun daha az görülen formu ise küçük-orta çaplı damarların lümeninde oluşan endotelial hücre proliferasyonudur (55). Vasküler tromboz sıklıkla oluşur ve iskemik tümör nekrozunun oluşumundan sorumlu tutulmaktadır (56).

2.6.5. Nekroz

Tümör nekrozu glioblastomun temel özelliklerinden birisi olması yanı sıra kötü klinik gidiş açısından en önemli prognostik faktörlerden biridir (57). Nekroz tümörün %80' inden fazlasını kapsayabilir. Geniş nekroz alanları yetersiz kanlanma sonucu oluştuğu kabul edilir. Bu alanlar makroskopik olarak sarı veya beyaz renkli granüler koagulum olarak görülür (58). Geniş tümör nekrozu içinde damar çevresinde halka şeklinde bir alanda canlı tümör hücrelerini izleyebiliriz. Diğer nekroz paterni ise glioblastomda karakteristik olarak izlenen psödopalizatl nekrozdur (59). Küçük, çok sayıda, düzensiz sınırlı şerit veya serpenjinöz odaklar halindedir. Odaklarda ışınal uzanım gösteren sıkı kümeler halinde yuvarlak fusiform gliom hücreleri psödopalizatl görünümü oluşturur. Psödopalizatl nekroz primer ve sekonder glioblastomda eşit sıklıktadır (60). Psödopalizatlanan hücrelerin proliferasyon indeksi komşu tümör hücrelerinden daha

düşük, apoptozis oranları ise daha yüksektir (61). Bu hücreler hipoksiktirler. HIF 1 alfa ve VEGF salgılanmasından ile diğer proanjiojenik faktörler ile beraber mikrovasküler proliferasyondan sorumludurlar (62). Psödopalizatl nekrozun oluşumunda bir görüşe göre hücre kümelerinin ardışık apoptozisi, diğer görüşe göre ise mikroskopik vazooklüzyon ve trombozise bağlı hipoksinin indüklediği hücre migrasyonuna bağlı oluşmaktadır (56).

2.6.6. Apoptozis

Apoptozis programlı hücre ölümüdür. Mitokondriyal yolak (intrensek) ve ölüm reseptör yolağı (ekstrensek) olmak üzere 2 farklı apoptozis yolağı mevcuttur. Apoptozis mitokondriyal faktörlerin salınması veya ölüm reseptörlerinin uyarılması sonucu kaspaz-8 enziminin bölgede toplanması ve aktive olması ile oluşur (63). Ölüm reseptörlerinin prototipi tip 1 TNF (tümör nekroz faktörü) ve Fas (CD95)' tir (64). Nekroz çevresindeki psödopalizatlanan hücrelerde ölüm reseptörü sayısının veya bu reseptöre bağlanmanın artması nedeniyle apoptozis artar (64). Astrositik tümörlerde ölüm reseptör miktarları normal beyin dokusuna göre daha fazladır ve tümörün grade'i ile koreledir (64). Glioblastomlarda hücre ölümünde apoptozisin rolü koagülasyon nekrozundan daha azdır. Apoptozis oranı ile prognoz arasında ilişki yoktur (65).

2.6.7. Sekonder yapılar

Migrasyon gösteren tümör hücreleri bir engelle karşılaştığında görünür hale gelir. Tümör hücreleri kortekste piameter altında, subependimal bölgede, nöronların çevresinde (satellitosis) ve damarların çevresinde dizilirler. Oluşan paternler sekonder yapılar olarak adlandırılır (66). Sekonder yapılar glioblastom hücreleri ile yerel beyin yapılarının etkileşimi sonucunda meydana gelirler. Bu yapılar oldukça tanısaldır.

Tümör hücreleri miyelinli odaklardan ilerlerken fuziform şekil alırlar. Sekonder yapılar ve multifokal glioblastomlar, glial hücrelerin santral sinir sistemdeki yollarda migrasyonunu gösterir (67).

2.6.8. Epitelyal yapılar

Glioblastomlarda nadiren glandüler ve şerit benzeri yapılar izlenir (68). Bu yapılar geniş oval nükleus, belirgin nükleol ve belirgin yuvarlak iyi sınırlı sitoplazma içerirler. Yeni DSÖ sınıflamasında epitelyal komponentin baskın glioblastomlar için "Epiteloid glioblastom" varyantı tanımlanmıştır (23). Epiteloid glioblastom kötü gidişli bir glioblastom varyantıdır (69).

2.6.9. Hüresel kompozisyon

Glioblastomlar heterojen kompozisyonlu tümörlerdir. Az diferansiye, fusiform, yuvarlak veya pleomorfik hücreler baskın olabilir. Bununla birlikte yerel alanlarda sıklıkla daha iyi diferansiye astrositler izlenir (49). Bu özellik, diffüz astrositom WHO “grade” II’ den progrese olan glioblastomlar için bildirilmektedir. (70). Geçiş alanlardaki astrositik diferansiyasyon gösteren hücreler ve anaplastik hücreler keskin veya kademeli olabilir. Morfolojideki ani değişim bir veya birkaç genetik değişim sonucu yeni tümör gelişimini işaret eder (70).

Glioblastomlarda küçük, andiferansiye, lipidize, granüler ve dev hücreler izlenebilir. Ayrıca akson demetleri ve fasiküller arasında bipolar fuziform hücreler bulunur. Metastatik karsinom veya melanomu taklit eden iyi sınırlı hücre membranına sahip, yüksek pleomorfizm gösteren az diferansiye hücre kümeleri izlenebilir (2).

2.6.10. Multinükleer dev hücreler

Farklı büyüklük ve pleomorfizm gösteren büyük multinükleer dev hücreler glioblastomların kendine has özelliklerinden biridir. Eğer bu hücreler dominant hücre tipi ise tümör “dev hücreli glioblastom” olarak isimlendirilir (23). Bu hücreler malign görünümünün aksine klinik gidişlerinin daha kötü olacağına dair bir gösterge değildir. Bu hücrelerin varlığı regresif değişiklik olarak kabul edilir (71). Prognozu tipik glioblastomdan daha iyidir (72).

2.6. 11. Gemisitositler

Gemisitositler bol, şeffaf, non fibriler sitoplazma ve periferik yerleşimli koyu, angule nükleuslar içerirler. Künt sitoplazmik uzantıları vardır. GFAP pozitifliği hücre periferinde izlenirken organelden zengin santral zon negatiftir. Perivasküler lenfositler tümörün gemisitositlerden zengin alanlarında sıktır. Bu hücrelerin grade II ve III astrositomlarda izlenmesi, düşük proliferasyon indeksine rağmen, glioblastoma progrese olacağına dair bir göstergedir (73).

2.6.12. Granüler hücreler

Glioblastomlarda nadir olarak dağınık granüler sitoplazmalı büyük hücreler bulunur. Bu hücreler dominant komponent olduğunda hipofiz bezi ve diğer organlardaki granüler hücreli tümör ile benzer görünüm oluştururlar (74). Daha büyük ve kaba granüllü

olan hücreler makrofajları taklit edebilir ve lizozomal komponente bağlı olarak CD68 pozitifliği izlenebilir. Bazı granüler hücreler periferik GFAP pozitifliği gösterebilir. Bu hücrelerin farklı bir dejenerasyon yoluyla oluşan gliom hücreleri olduğu düşünülmektedir (75). Baskın granüler hücreli komponent içeren glioblastomların prognozları kötüdür (76)

2.6.13. Lipidize hücreler

Glioblastomlarda nadiren köpüksü sitoplazmaya sahip hücreler izlenir. Nadir olguda bu görünüm baskın komponent olabilir ve böyle tümörler “yoğun lipidize tümör hücreleri içeren malign gliom” olarak isimlendirilir. Genç hastalarda ve yüzeysel yerleşimli tümörlerde ayırıcı tanıda pleomorfik ksantoastrositom akılda tutulmalıdır (77).

2.6.14. Perivasküler lenfositler

Glioblastomların bir kısmında perivasküler lenfositik infiltrasyon izlenir. Özellikle homojen gemisitotik komponent içeren alanlarda görülür. Perivasküler lenfositik infiltrasyonun içeren olguların %75’ inde CD8 T lenfositler izlenir. CD4 T lenfositler daha az oranda izlenir. B lenfositlerin olguların %10’unda bulunduğu bildirilmektedir (78). Perivasküler lenfositler tümör büyümesine karşı bir direnç varlığına işaret eder. Yaygın CD8 T lenfosit infiltrasyonunun sağkalımda artış ile ilişkisi gösterilmiştir (79).

2.6.15. Metaplazi

Genel patolojide metaplazi geri dönüşümlü olarak matür bir hücrenin farklı tip bir diferansiye hücreye değişimi olarak tanımlanır (63). Sıklıkla preneoplastik bir epitelyal lezyon olarak karşımıza çıkar. Ayrıca bu kavram neoplastik hücrelerin anormal diferansiyasyonu için de kullanılmaktadır (63). Metaplazi glioblastomlarda yüksek dereceli genomik kararsızlığı gösterir. En sık skuamöz metaplazi izlenir. Adenoid metaplazi, skuamöz metaplazi, kemik ve kırıkta oluşumu çocukluk çağı santral sinir sistemi tümörleri ve gliosarkomda daha sık izlenirken glioblastomda da görülebilir (80).

2.6.16. Küçük hücreli glioblastom

Glioblastomlarda küçük hücreli komponent yaygın olarak izlenir. Bu komponentin predominant ve pür olması halinde küçük hücreli glioblastom olarak adlandırılır (23). Bu tümörler küçük, yuvarlak veya hafif elonge, orta derecede hiperkromatik, yüksek nükleer/sitoplazma oranına sahip hafif atipi gösteren monomorfik hücrelerden oluşur. Küçük hücreli glioblastom yüksek proliferasyon indeksine sahiptir. Küçük hücreli

glioblastom subtipinin prognozu diğer primer glioblastomlar ile benzerdir. Bir çalışmada ortalama sağkalımları 11 ay olarak bulunmuştur (81).

2.6.17. Oligodendrogliom komponenti içeren glioblastom

Bazı glioblastomlar oligodendrogliomları taklit eden odaklar içerirler. Bunlar değişik büyüklük ve sıklıktadır. Bu tümörler standart glioblastomlardan daha iyi prognoza sahiptir (82). Bu subtip 2016 DSÖ santral sinir sistemi tümörleri sınıflandırmasında yer almamaktadır (23).

2.7. Genetik ve moleküler çalışmalar

Nöroepitelyal hücrelerin malign transformasyonu, çok aşamalı ardışık genetik değişiklikler sonucu oluşur. Glioblastomların alt tiplerinde temel olarak TP53 mutasyonu, 10 ve 17p kromozomlarda “loss of heterozigosity” LOH gelişimi, EGFR amplifikasyon kombinasyonları gibi farklı genetik değişiklikler izlenir (83).

2.7.1. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR)

EGFR geni 7.kromozomda lokalizedir ve 170 kDa büyüklüğündeki transmembran reseptörünü kodlar. Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve “Transforming growth factor – alfa” (TGF alfa) gibi ekstrasellüler uyarıcılar yoluyla proliferasyon sinyalinin iletiminden sorumludur. EGFR glioblastomlarda en sık amplifiye olan genidir (84). Bu amplifikasyon ekspresyon artışı ile meydana gelir. EGFR amplifikasyonu primer glioblastomların yaklaşık %40’ ında izlenirken sekonder glioblastomlarda nadir olarak bildirilmektedir. EGFR amplifikasyonu yapısal değişiklikler ile ilişkilidir. Gen amplifikasyonunun birkaç ana varyantı vardır. En sık varyantı EGFRvIII’ tür ve EGFR amplifikasyonu gösteren glioblastomların %20-50’ sinde bulunur (85).

2.7.2. PI3K/PTEN/AKT yolu

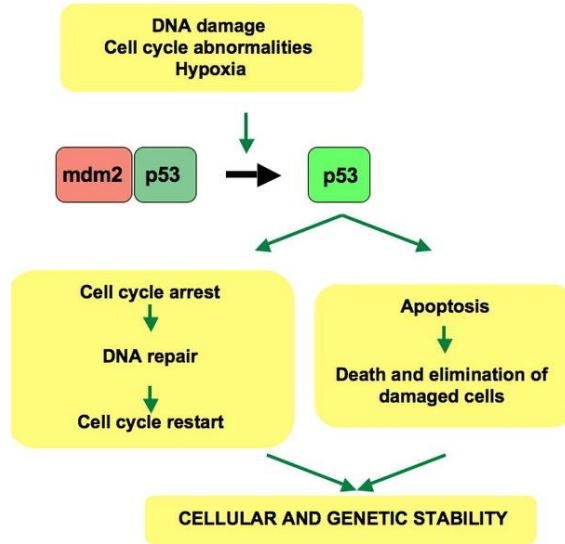
EGFR ve diğer büyüme faktörü reseptörleri EGF ve TGF alfa gibi büyüme faktörleri yoluyla aktive olur ve fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K) fosfotidilinositol 4.5 bifosfatı (PIP2) fosfotidilinositol 4.5 trifosfatı (PIP3)’ e dönüştürür. PIP3, AKT ve mammalian target of rapamycin (mTOR) gibi efektör molekülleri aktive eder ve hücre proliferasyonu ile sonuçlanır. Fosfotaz ve tensin homoloji geni (PTEN) 10q23.3’ de lokalizedir (86). Fosfotaz ve tensin homoloji geni (PTEN), PIP3 aktivasyonunu ve bu yolla

hücre proliferasyonunu inhibe eder. Olguların %15-40 PTEN mutasyonu izlenir ve bunların tama yakını primer glioblastomlardır (31).

2.7.3. p53

TP53 geni (17p13.1) bazı önemli hücresel süreçlerde rol alan p53 proteinini kodlar. Bu protein hücre döngüsü, hücrelerin DNA hasarına karşı cevabı, hücre ölümü, hücre diferansiyasyonu ve neovaskülarizasyonda önemli role sahiptir (63, 87). DNA hasarının ardında p53 aktive olur ve p21/waf1/Cp1 gibi genlerin transkripsiyonu aktive eder (88). Mouse double minute 2 homolog (MDM2) geni (12q14.3-q15) 54kDA büyüklüğünde bir protein kodlar. Bu protein mutant ve “wild” tip p53’ ü bağlar. Böylece “wild” tip p53’ ün promoter sekansları ile transkripsiyonu aktive etmesini önler (89). Buna karşın MDM2 genini transkripsiyonu “wild” tip p53 tarafından indüklenir (90). Normal hücrelerde p53 aktivasyonu ve MDM2 ekspresyonu bu feedback mekanizması ile kontrol edilir (Şekil 1).

Ayrıca MDM2 p53’ün yıkımını indükler. P14 ARF geni (9p21’deki CDKN2A kompleksi lokusunun bir parçasıdır) MDM2 proteinini bağlar ve MDM2 bağlı p53 yıkımını inhibe eder. Bununla birlikte p53, p14 ekspresyonunu azaltır (91). Sonuç olarak p53 fonksiyon kaybı, TP53, MDM2 ve P14 ARF genlerinin ekspresyon düzeyleri değişimi sonucu oluşabilir. TP53 mutasyonlarının dağılım ve tipleri primer ve sekonder glioblastomlarda farklılık gösterir. Prekürsör düşük dereceli astrositik lezyonlar veya anaplastik astrositomların neredeyse tümünde TP53 mutasyonu izlenir. TP53 mutasyonu sekonder glioblastomların genetik bir özelliğidir ve %65’in üzerinde görülür (92). Primer glioblastomlarda, TP53 mutasyonları yaklaşık %25 oranında bildilmektedir. (31). Sekonder glioblastomlarda mutasyonların %57’si 248 ve 273 “hotspot” kodonlarında lokalizedir. Primer glioblastomlarda ise mutasyonların dağılımı daha dengelidir ve %17’si 248 ve 273 “hotspot” kodonlarında izlenir (31). Sekonder glioblastomlarda promoter CpG alanlarında nükleotit G:C-A:T transisyon mutasyonu daha sık oranda izlenir. Bu bulgular primer ve sekonder glioblastomlardaki TP53 mutasyonlarında farklı moleküler mekanizmaların rol aldığını düşündürmektedir (92).



Şekil 1. DNA hasarına karşı hücrenin p53 ile cevabının şematik gösterilmesi (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:p53_pathways.jpg)

MDM2 amplifikasyon ve aşırı ekspresyonu p53'ün kontrol ettiği hücre büyümesi kontrolünden kaçmanın alternatif bir yoludur. Glioblastomların %10'unda TP53 mutasyonu olmaksızın MDM2 amplifikasyonu gösterilmiştir (93). MDM2 primer glioblastomların %50'sinden fazlasında immünohistokimyasal olarak pozitifdir (94).

2.7.4. P16(INK4a)/CD4K/RB1 yolağı

Bu yolak hücre döngüsünde G1 fazından S fazına geçişin kontrolünde önemlidir (95). retinablastom (RB) geni (10q14) 107 kDa büyüklüğündeki RB proteinini kodlar. CDK4/siklin D1 kompleksi RB proteinini fosfatlar. Böylece G1-S geçişini aktive eden E2F transkripsiyon faktörünü indükler (88). P16 geni CDK4' ü bağlayarak CDK4/siklin D1 kompleksini inhibe eden proteini kodlar (88). Böylece hücre döngüsünde G1-S geçişini inhibe eder. Glioblastomlarda p16 delesyonu ve RB değişiklikleri sıklıkla birliktelik gösterir (96). Bu yolağın genlerinin inaktivasyonu hem primer hem sekonder glioblastomlarda (%40-50) yaygındır (96).

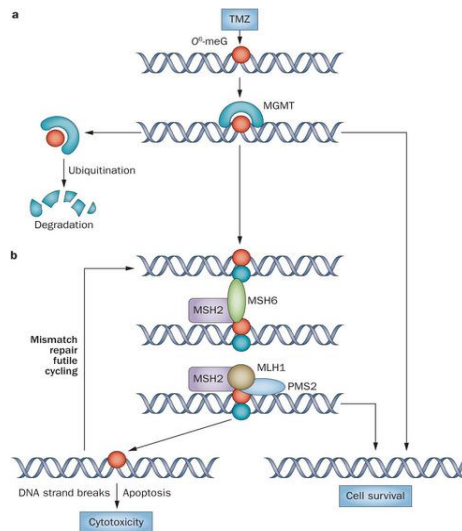
2.7.5. LOH 10 (Kromozom 10 kaybı)

Glioblastomların %60-80' inde izlenen en sık genetik değişim LOH10' dir (97). Çoğu glioblastomda 10. kromozom total kayba uğrar. LOH10 çalışmalarında delesyona uğrayan 3 bölge saptanmıştır. Bunlar 10p12-p15, 10q23-24 ve 10q25-pter olup potansiyel

tümör süpresör gen bölgeleridir (98). LOH10q25 difüz ve anaplastik astrositomların glioblastoma dönüşümü ile ilişkilidir. LOH10p özellikle primer glioblastomlarda izlenir. Ancak LOH10q, primer ve sekonder glioblastomlarda, 10q25-pter bölgesinde benzer sıklıkla izlenir. LOH10 daha düşük dereceli astrositik tümörlerde nadirdir (47).

2.7.6. O6-Metilguanin-DNA metiltransferaz

O6-Metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) promotajenik alkil gruplarını guaninin O6 pozisyonundan uzaklaştıran tamir protenidir (99). Böylelikle hücreleri alkile edici ajanlara karşı korur. Metil grubuna geri dönüşümsüz olarak bağlanan MGMT metil grubunu guaninin O6 pozisyonundan uzaklaştırır. Metil grubu ile birleşen MGMT kompleksi ubiquitin aracılı yıkıma uğrar. Hücre normal yaşam döngüsüne devam eder (100). Hücrede MGMT molekülünün bulunmadığı durumlarda, replikasyon sırasında O6-metilguanin, timin ile bağlanır ve yanlış baz çifti eşleşmesi oluşur. Bu baz çifti, DNA yanlış eşleşme tamir yolağı proteinleri (MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2) ile tanınır. Bu süreç sonunda DNA tamir edilir veya hücre apoptozise gider (100). MGMT ekspresyon kaybı promoter CpG adalarının metilasyonu yoluyla olabilir. MGMT promoter metilasyonu glioblastomların %45-75'inde mevcuttur (101). Sekonder glioblastomlarda promoter metilasyonu sıklığı primerlerden daha fazladır (102). Harris ve arkadaşları tarafından MGMT regülasyonunda p53 molekülünün baskılayıcı rolü gösterilmiştir (103). Ayrıca hipoksinin hipoksi indükleyici faktör (HIF)-1 α aracılığı ile MGMT ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (104) (Şekil 2).



Şekil 2. MGMT aracılı DNA tamir mekanizmasının şematik gösterilmesi (Nat Rev. Neurol.10:372-385, 2014)

2.7.7. İnsan genom atlası

Glioblastomlardaki genetik değişikliklerin saptanması glioblastomların subtiplerinin saptanmasına yardımcı olması yanısıra hastaların prognozu ve spesifik tedavilere vereceği yanıtlar açısından da yol göstericidir. 2008 yılında Parsons ve arkadaşları tarafından yapılan glioblastomlarda entegre genomik analiz çalışması sonucu glioblastomlardaki genetik değişiklikler tespit edilmiştir (20). Kromozomal translokasyonlar ve epigenetik değişiklikler çalışmanın kapsamı dışında kalmıştır. TP53 (TP53, MDM2, MDM4), RB1 (RB1, CDK4, CDKN2A) ve PI3K (PTEN, PIK3CA, PIK3R1, IRS1) yollarında genetik değişiklikler tespit edilmiştir. Bu yollardan birinde meydana gelen mutasyon, tümörigenez açısından diğer komponentlerde oluşan genetik değişimler ile eşit etki yaratmaktadır (20).

Sekonder glioblastomlarda primer glioblastoma oranla daha yüksek oranda TP53 mutasyonu tespit edilirken, buna karşılık primer glioblastomlarda, sekonder glioblastoma oranla daha sık oranda EGFR amplifikasyonları ve PTEN mutasyonları izlenmiştir. Bu değişiklikler primer sekonder ayırımı için yeterince spesifik değildir (105).

İnsan genom atlası çalışmasında beklenmedik şekilde glioblastom hastalarında izositrat dehidrojenaz 1 (IDH 1) gen değişiklikleri tespit edilmiştir. Bu gendeki değişiklikler sonucu 132. pozisyondaki izositrat bağlayan aminoasitte değişiklikler meydana gelmektedir (106). Glioblastom hastalarının %12'sinde IDH1 mutasyonu tespit edilmiştir. Bu mutasyonun izlendiği hastaların daha genç ve prognozunun daha iyi olduğu görülmüştür. Glioblastomlarda yüksek oranda IDH1 mutasyonu p53 mutasyonu ile birliktelik göstermektedir (20). Bu olgularda diğer genetik değişiklikler daha düşük sıklıkta izlenmiştir. IDH1 mutasyonun sekonder glioblastomun primer glioblastomdan ayırımında daha spesifik bir belirteç olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca IDH enzim inhibisyonunun bazı kemoterapi ajanlarına sensiviteyi artırdığı bulunmuştur (106).

2.7.8. İzositrat dehidrojenaz (IDH)

İzositrat dehidrojenaz, IDH1 ve IDH2 olmak üzere hücrenin farklı lokalizasyonlarında bulunan homodimerik enzimlerdir. Bu enzimler Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP+) bağımlı, alfa ketogluterat'ın izositrata oksidatif dekarboksilasyonunu katalize ederler (107). IDH1 proteini sitoplazmada, peroksizomda ve endoplazmik retikulumda bulunurken IDH2 proteini mitokondri lokalizasyonludur. Düşük dereceli astrositomların, oligodendrogliom ve sekonder glioblastomların çoğunda IDH1 mutasyonları izlenir (107). IDH2 mutasyonları daha az sıklıktadır. Gliom tümörigenezinde

IDH1 mutasyonlarının erken bir bulgu olduğu, genç hastalarda daha sık izlendiği ve iyi gidiş ile ilişkili olduğu ile sürülmektedir (108). Sekonder glioblastomların yaklaşık %70-80'inde izositrat dehidrogenaz 1 (IDH 1) geni mutasyonu izlenir (106). Akut miyeloid lösemi (AML) yanısıra kolorektal, prostat ve tiroid kanserleri ile melanomlarda da IDH1 ve IDH2 mutasyonları saptanmıştır (109).

2.8. Prognostik ve prediktif faktörler

Beyin tümörlerinde cerrahi tedavide, kemoterapi ve radyoterapideki gelişmelere rağmen glioblastom hastalarında ortalama sağ kalım süresi oldukça kısadır. İsviçre ve Kanada'da yapılan retrospektif toplum bazlı bir çalışmada hastaların %20'sinden azının 1 yıldan fazla yaşadığı ve %3'ünden daha azının ise 3 yıldan fazla yaşadığı gösterilmiştir (29). Klinik çalışmalarda daha iyi sonuçlar alınmış ve ortalama yaşam süresi 12 ay olarak bulunmuştur. Ancak bu çalışmalarda preoperatif Karnofsky performansları yüksek genç hastalar seçilmiştir. Yaş klinik gidişte önemli bir faktördür (29).

Bütün klinik çalışmalarda 50 yaşın altındaki hastaların prognozunun ciddi oranda daha iyi olduğu gösterilmiştir (71). Bütün yaş gruplarını içeren geniş, toplum bazlı bir çalışmada yaşın en önemli prognostik faktör olduğu ortaya konmuştur. Aynı çalışmada sekonder glioblastom hastalarında prognoz daha iyi olduğu gösterilmiştir (29). Ama bu sonuç muhtemelen tümörün biyolojik davranışından ziyade sekonder glioblastom gelişen hastaların daha genç olması sonucu ortaya çıkmıştır (29).

Tümörün nekroz içermesi ve nekrozun yaygınlığı sağ kalımdaki azalma ile ilgilidir (71). TP53 mutasyonunun glioblastomdaki prognostik değeri hakkındaki bilgiler çelişkilidir (9,10). TP53 mutasyonunun değerli bir prognostik faktör olduğunu savunan ve hiçbir prognostik değerinin olmadığına dair bilgiler mevcuttur. Daha uzun sağ kalım ve TP53 mutasyonu ile ilişkisi gösterilmiştir (31). Bununla birlikte hastaların daha genç yaşta olması nedeniyle sonuç anlamlı bulunmamıştır. Aynı çalışmada EGRF amplifikasyonunun sağ kalım ile ilişkisi bulunmamıştır (31). Yaşam süresini kısaltan en sık mutasyonun LOH 10 olduğu bulunmuştur. Ayrıca PTEN mutasyonunun prognoz ile ilişkisi bulunamamıştır (31).

Glioblastomlarda YLK-40 (chitinese-3-like-1) ekspresyonunun arttığı bildirilen ancak işlevi bilinmeyen bir proteindir (110). Bu proteinin LOH 10q ile ilişkisi bildirilmektedir. Ayrıca radyasyon tedavisine daha az yanıt verilmesi ve yaşam süresinin kısalmasıyla ilişkili bulunmuştur (111). YLK-40 matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ile

birlikte eksprese olur. Bu maddenin serumda saptanması tümör rekürrensi açısından bir belirteç olarak kullanılır. Glioblastom hastalarında GP3 sentaz mRNA ekspresyonunun artması ve birlikteliğinde GaINAcT mesajının azalmasının sağ kalım artımıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (112). İnsülin benzeri büyüme faktörünü bağlayan protein (IGFBP-2) ve (IGFBP-5)in gliom hücrelerinde birikimi ve ekspresyon miktarının histolojik grade ile korele olduğu gösterilmiştir (113). IGFBP-2'ün invazyonu arttırdığı düşünülmektedir. Bununla birlikte kötü klinik gidişte prognostik bir faktör olup olmadığına dair yeterli kanıt yoktur.

2.9.Tedavi ve tedaviye cevap mekanizması

Glioblastom tedaviye çok dirençli bir tümördür. Agresif cerrahi rezeksiyon, radyasyon tedavisi ve maksimum tolere edilebilen dozda kemoterapi (temozolamid veya veya nitrozüre) sonucu hastalarda nadir sağ kalım artışları olabilmektedir (23). Glioblastom hastalarının temozolamid ile tedavisi yaşam süresi uzamasına yol açtığı bildirilmektedir (101). Bununla birlikte tedaviye direnç sıklıkla izlenmektedir. Çok çeşitli direnç mekanizmaları tariflenmektedir (2). Bunlar kısaca aşağıdaki şekilde özetlenmiştir;

-Tümöre bağlı intesitisyel basınç artması sonucu kan-beyin bariyerini geçen ilaç miktarının azalması.

-Glioblastom hücrelerinin korpus kallozum yoluyla karşı hemisfere, beyin sapına, spinal korda ve intakt kan-beyin bariyeri dışı alanlara yayılması.

-Nöral kök hücresi benzeri tümör hücrelerinin rezistans mekanizmaları geliştirmesi ve bunun hücrel heterojeniteye yansması.

-DNA tamir mekanizmalarının kemoterapi ve radyoterapi etkinliğini azaltması

Glioblastomdaki moleküler anomaliler tedaviye özgül direnç ve duyarlılık mekanizmaları oluşturabilir. Nokta mutasyonlar sonucu genom instabilitesi, heterozigosite kaybı, kromozomal delesyonlar, gen amplifikasyonları ve epigenetik gen susturulması gibi nedenler genotipik ve fenotipik heterojenite sonucu tedaviye dirençli klonal hücre popülasyonlarının ortaya çıkmasına yol açar (2).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Olguların genel özellikleri

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan 1995-2015 yılları arasında glioblastom tanısı almış 71 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Gliosarkom olguları çalışmaya dahil edilmemiştir. Olguların hastane arşivinde bulunan dosyaları taranarak, çalışma için yaş (<50/≥50), cinsiyet, tümör lokalizasyonu, sağkalım ve takip süresi, tedavi şemaları kaydedilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen eksizyonel biyopsi materyallerinin, Hematoksilen&Eozin (H&E) boyalı kesitleri tekrar değerlendirilmiş ve her bir olgu için tümörü en iyi temsil eden bloklar seçilmiştir. Seçilen %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilmiş parafin bloklardan immunohistokimyasal çalışma için polilizin kaplı lamlara 3-4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanmıştır. Bu kesitlere aşağıda tariflenen şekilde immünohistokimyasal olarak p53 ve MGMT antikoları uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal bulgular, klinik, histopatolojik ve prognostik parametreler ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

3.2. İmmünohistokimyasal boyama yöntemleri

Hazırlanan kesitler, 70 derecelik etüvde 40 dakika bekletildikten sonra ksilolde deparafinize, alkolde rehidrate ve distile suda hidrate edilmiştir. İnkübe edilmeden önce antijenin geri kazanılması için "antigen retrieval" işlemi uygulanmıştır. Bunun için 10mM ve pH8.0 olarak hazırlanan EDTA tampon solüsyonu hazırlanmıştır. Kesitler sıvı seviyesi lamları örtecek şekilde hazırlanan EDTA tampon solüsyonuna yerleştirilip (DAKO, PT link, Denmark) cihazında 20 dakika kaynatılmıştır. EDTA solüsyonunun soğuması için oda sıcaklığında 20 dakika beklendikten sonra kesitler fosfatlanmış tamponlu tuz solüsyonunda (phosphate buffer salina-PBS) yıkanmıştır.

İmmünohistokimyasal boyama işlemi (Dako Autostainer Link 48, Denmark) cihazında otomatik olarak yapılmıştır. Yıkama işleminin ardından 1:20 oranında dilüe edilmiş konsantre anti MGMT (monoklonal mouse, clone MT3.1, Genetex) ve kullanıma hazır anti p53 (monoklonal rabbit, DO-7, Dako) antikoları oda ısısında 20 dakika uygulanmıştır. Daha sonra primer antikorla muamele edilmiş camlara FLEX/HRP solüsyonları damlatılarak 20 dakika inkübe edilmiştir. Kesitlere kromojen solüsyonu olan Envision FLEX DAB+ çalışma solüsyonu damlatılıp oda ısısında 10 dakika bekletildikten

sonra distile su ile yıkanmıştır. En son basamakta hematoksilin ile 5 dakika zıt boyama yapıp alkol, ksilen aşamalarından geçirilerek kapama işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.3. İmmünohistokimyasal boyalı kesitlerin değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal olarak MGMT ve p53 için nükleer boyanma anlamlı kabul edilmiştir. Nükleer dışı boyanmalar anlamlı kabul edilmemiştir. Boyalı kesitler, ışık mikroskopunda incelenerek her iki antikor içinde nükleer boyanmanın en yüksek olduğu alan seçilmiştir. MGMT ve p53 için 1000 tümör hücresi sayılarak; nükleer boyanma gösteren tümör hücrelerinin sayılan 1000 tümör hücresine oranı hesaplanarak boyanma indeksleri yüzde olarak saptanmıştır (90). p53 için boyanma indeksi %10' un altında ise negatif, %10-50 arasında ise 1(+) (hafif-orta), %50'in üzerinde ise 2(+) (şiddetli) olarak derecelendirilmiştir. (90). Benzer şekilde MGMT için boyanma indeksi %10' un altında ise negatif, %10-50 arasında ise 1(+) (hafif-orta), %50'nin üzerinde ise 2(+) (şiddetli) olarak derecelendirilmiştir.

Pozitif kontrol olarak MGMT için kuvvetli nükleer boyanma gösterdiği bilinen tonsilla palatina kesitleri, p53 antikoruna için ise yine kuvvetli nükleer boyanma gösterdiği bilinen kolon adenokarsinom kesitleri kullanılmıştır.

3.4. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz sonuçları veri tabanına girilmiş ve istatistiksel paket programı (SPSS 15.0, USA) kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı değişkenler için frekans dağılımı yapılmış, yüzde ve ortalama, \pm standart sapma (SD), ortanca değerleri sunulmuştur. Tanımlayıcı verilere göre p53 ve MGMT ekspresyon derecelerinin sıklıkları çapraz tablolar kullanılarak verilmiştir. Gruplar arasında bu sıklıklar bakımından fark bulunup bulunmadığı Ki-kare ya da Fisher testleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri ile incelendi. Değişkenlerin normal dağılım göstermediği belirlendiğinden parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen değişkenler arası ilişkiler (p53/MGMT ekspresyon derecesi-sağ kalım süreleri) korelasyon katsayıları ve istatistiksel anlamlılıklar Spearman testi ile hesaplanmıştır. MGMT ve p53 boyanma şiddetine göre gruplar arasında ortalama sağ kalım süreleri açısından farklılık Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. p53 ve MGMT ekspresyon derecelerinin sağ kalım üzerine etkileri log rank analizi kullanılarak incelendi. Sağ kalım hızları Kaplan- Meier sağ kalım analizi

kullanılarak hesaplandı. p değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuç şeklinde değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Klinik parametrelerin sonuçları

Glioblastom tanısı alan olguların 23'ü (%32.4) kadın ve 48'i (%67.6) erkektir. Çalışma grubumuzda erkek/kadın oranı 2.08/1'dir. Glioblastom olgularında tanı anında ortalama yaş±standart sapma 56.40 ±15.35 yıl olup yaş aralığı 1 ile 92 arasında değişmektedir. (Tablo 3). Çalışmamız sırasında hastaların 59 tanesinin (%83.1) exitus olduğu ve 6 tanesinin (%8.5) yaşadığı tespit edilmiştir. Olguların 59'nun ortalama sağ kalım süreleri hesaplanmıştır. Buna göre ortalama sağ kalım süresi 10.54 ±11.09 ay (0.39-63,05) olarak hesaplanmıştır.

En sık görülen tümör lokalizasyonları temporal lob (%32.9), parietal lob (%31.4) olup, bu lokalizasyonları frontal lob (%21.4) takip etmektedir (Tablo 3). Klinikopatolojik bilgileri içeren detaylı tablo ek 1' de sunulmuştur.

Tablo 3. Glioblastom tanılı olguların cinsiyet, yaş ve lokalizasyon özellikleri

	n (%)	Tanı anında yaş ortalaması ± standart sapma	Tanı anında yaş ortanca (min, max)
Cinsiyet			
Kadın	23 (32.4)	59±18.09	58 (21,92)
Erkek	48 (67.6)	55.16±13.89	58.5(1-77)
Tanı anında yaş grupları			
<50 yaş	19 (26.8)		
≥50 yaş	52 (73.2)		
Tümör lokalizasyonu			
Parietal bölge	22 (31.4)		
Frontal bölge	15 (21.4)		
Temporal bölge	23 (32.9)		
Oksipital bölge	5 (7.1)		
Talamik bölge	1 (1.4)		
Ventrikül içi	2 (2.8)		
Korpus kallozum	1 (1.4)		
Serebellum	1 (1.4)		

Glioblastom hastalarında standart tedavi modeli tümör rezeksiyon ve takiben radyoterapidir (total doz 60 Gy). Buna son yıllarda alkilleyici ajan temozolamid eklenmiştir. Hastanemizde Radyasyon Onkolojisi bölümü olmadığından olgular radyoterapi için dış merkezlere yönlendirilmiştir. Bu nedenle radyoterapi bilgisine ulaşamamıştır. Olguların kemoterapi tedavisi şemaları incelendiğinde cerrahi tedaviye ek olarak kemoterapi alanların sayısı 9' dur (%12.6). Bu 9 hastadan 2'sinin temozolamid tedavisi aldığı bilgisine ulaşılmıştır. Diğer 7 hastanın hangi kemoterapotik ajan kullandığı bilinmemektedir. Kemoterapi alan hastaların 2'si hayattadır. Takip süreleri sırasıyla 11 ve 73 ay'dır. Temozolamid tedavisi alan 2 hastadan biri takip süresi 11 ay olan hastadır. Kemoterapi alan diğer 7 hastanın tümü ilk 2 yıl içinde ölmüştür. Sağ kalım süreleri ortalama 10.57 ay'dır.

4.2. İmmünohistokimyasal p53 ekspresyon sonuçları ve klinik veriler ile ilişkisi

İmmünohistokimyasal p53 ekspresyonu, 33 olguda (%46.5), 1(+) boyanma (Resim 5), 14 olguda (%19.7) 2 (+) boyanma (Resim 6) izlenmiş olup, 24 olgu (%33.8) negatif (Resim 7) olarak kabul edilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Glioblastom olgularında immünohistokimyasal p53 ekspresyon şiddetleri

p53 ekspresyon şiddeti	n	%
Negatif	24	33.8
1(+)	33	46.5
2(+)	14	19.7

n: olgu sayısı

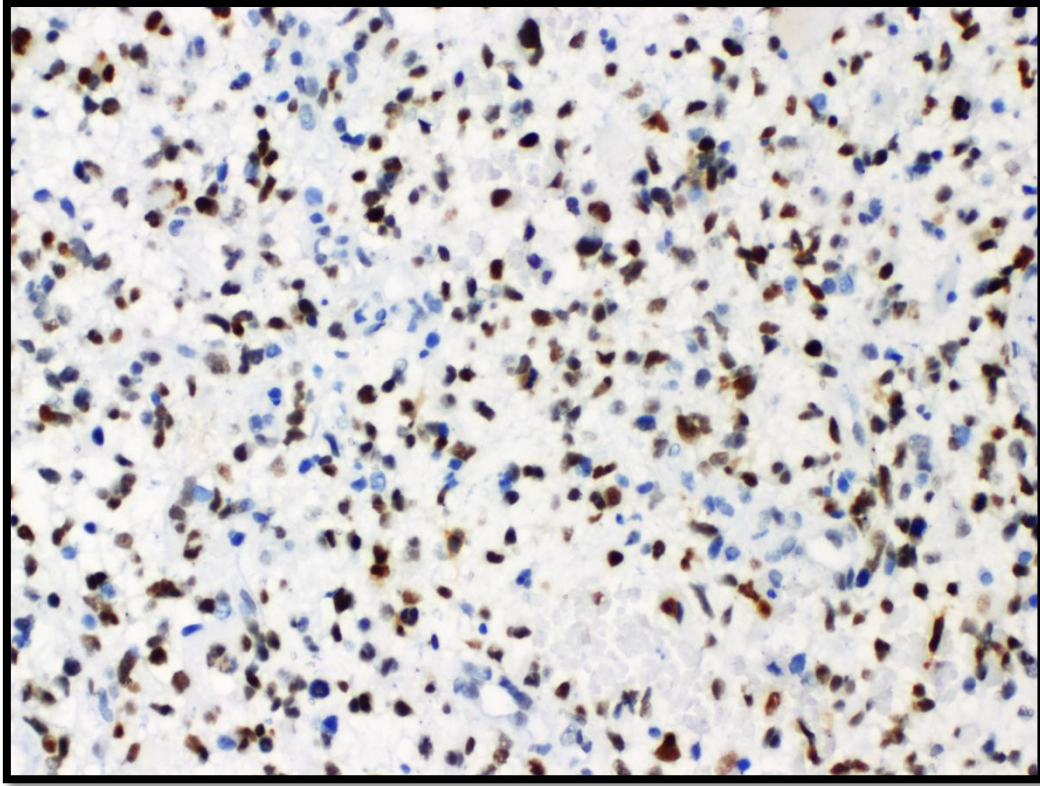
Glioblastoma olgularında immünohistokimyasal p53 ekspresyonu yaş grupları ve cinsiyet ile karşılaştırılmıştır (Tablo 5). Olgularda 50 yaşın altındaki hastaların 8'inde (%42.1) p53 ekspresyonu 1(+), 6'sında (%31.6) 2(+) ekspresyon saptanmış olup 50 yaş ve üzerindeki hastaların 27'sinde (%30.8) 1(+), 9'unda (%17.3) 2(+) ekspresyon saptanmıştır. 50 yaş ve üzerindeki gruptaki olguların %30.8'inde, 50 yaş altındaki olguların %42.1'inde p53 negatif saptanmıştır. Olgularda yaş artışı ile p53 ekspresyon şiddetinde artış izlenmiş olmasına rağmen yaş gruplarına göre p53 ekspresyon derecelerinin sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.31). Kadın hastaların 7'sinde (%30.4) p53 ekspresyonu 1(+), 7'sinde (%30.4) ise +2 saptanmıştır. Erkek hastaların ise 26'sında (%54.2) p53 ekspresyonu 1(+), 7'sinde (%14.6) 2(+) olarak tespit edilmiştir. Erkek

cinsiyetinde p53 ekspresyonunda minimal artış gözlense de cinsiyete göre p53 ekspresyon sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0.125).

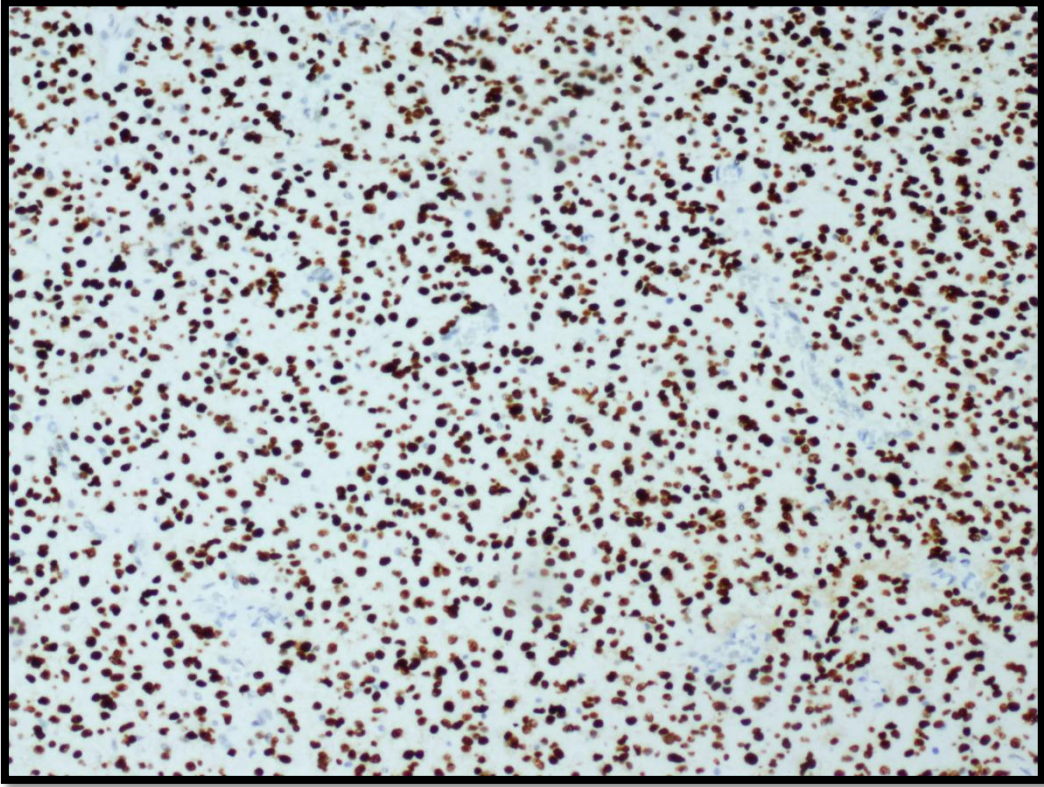
Tablo 5. Glioblastom olgularında yaş grupları ve cinsiyete göre immünohistokimyasal p53 ekspresyonu

	p53 ekspresyonu						P değeri
	Negatif		1(+)		2(+)		
Yaş grupları	n	%	n	%	n	%	
<50 yaş	8	42.1	6	31.6	5	26.3	0.31*
≥50 yaş	16	30.8	27	51.9	9	17.3	
Cinsiyet							
Kadın	9	39.1	7	30.4	7	30.4	0.125*
Erkek	15	31.3	26	54.2	7	14.6	

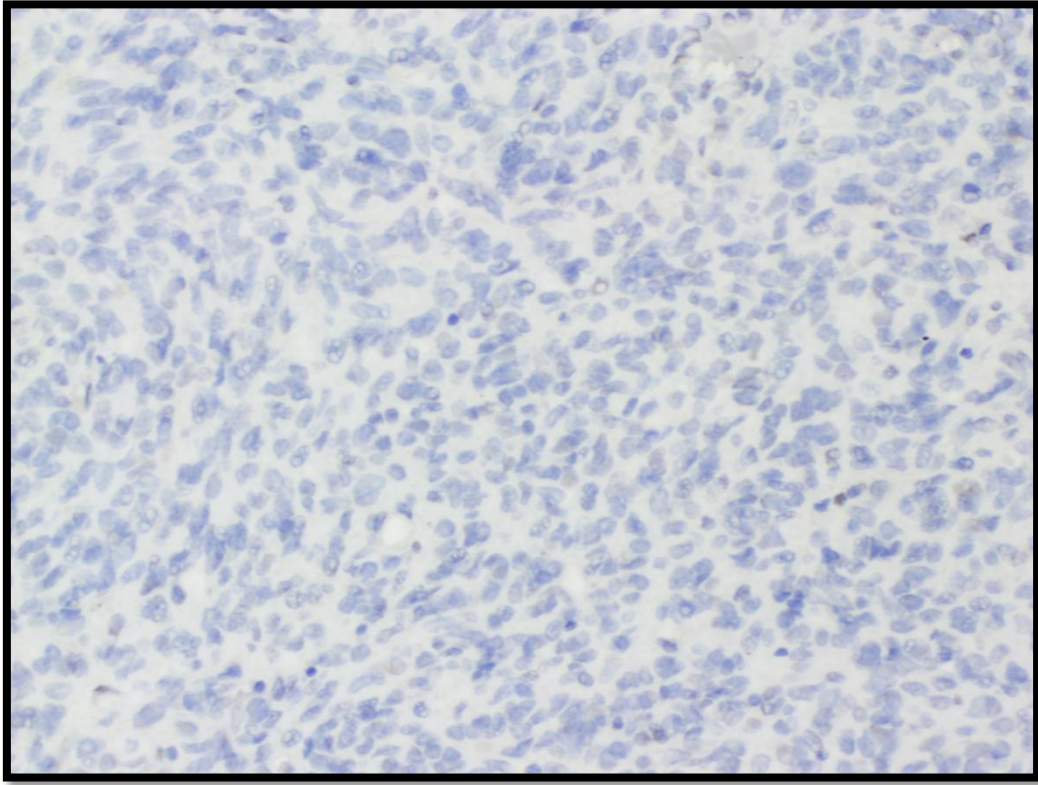
* Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. n: olgu sayısı



Resim 5. Nükleer p53 ekspresyonu 1(+) (x200 büyütme)



Resim 6. Nükleer p53 ekspresyonu 2(+) (x100 büyütme)



Resim 7. p53 negatifliği (x200 büyütme)

4.3. İmmünohistokimyasal MGMT ekspresyon sonuçları ve klinik veriler ile ilişkisi

Glioblastoma olgularında immünohistokimyasal olarak olguların 22'sinde (%31.0) 1(+) boyanma (Resim 8), 4'ünde (%5.6) 2(+) boyanma (Resim 9) izlenmiş olup 45 olgu (%63.4) (Resim 10) negatif olarak kabul edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Glioblastom olgularında immünohistokimyasal MGMT ekspresyon şiddetleri

MGMT ekspresyon şiddeti	n (%)
Negatif	45 (63.4)
1(+)	22 (31.0)
2+	4 (5.6)

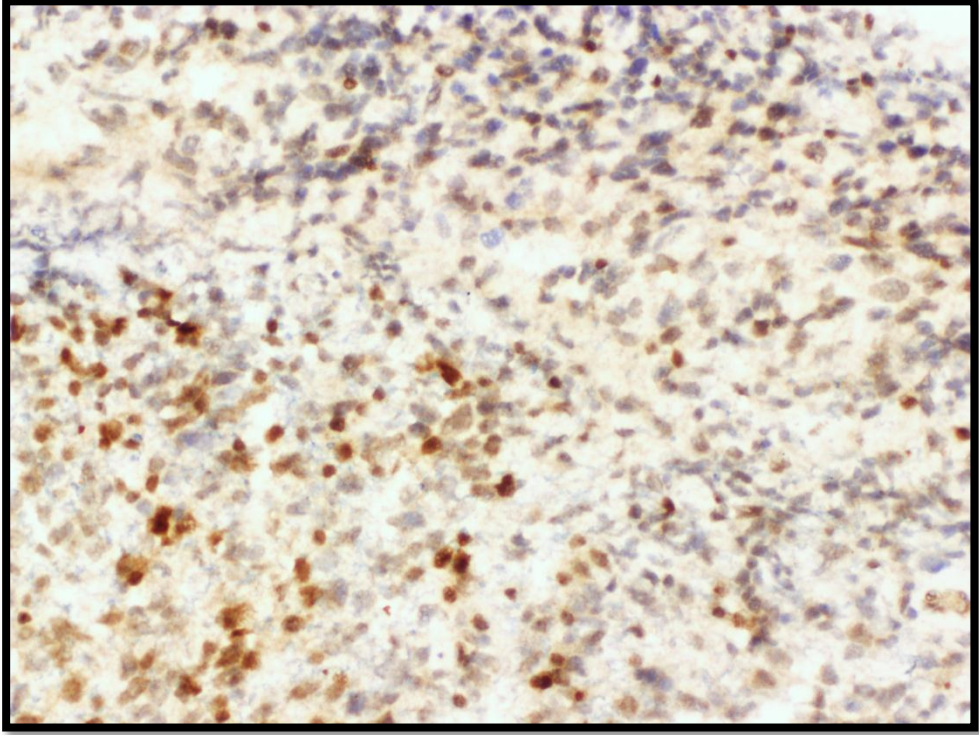
n: olgu sayısı

Olguların yaş grupları ve cinsiyetine göre MGMT ekspresyon derecelerinin sıklıkları karşılaştırılmıştır (Tablo 7). Yaşı 50'nin altındaki hastaların 6'sında (%31.6) MGMT ekspresyonu 1(+), 1'inde (%5.3) 2(+) ekspresyon saptanmıştır. Yaşı 50'nin üzerindeki hastaların 16'sında (%30.8) MGMT ekspresyonu 1(+) olup 3'ünde (%5.8) 2(+) ekspresyon saptanmıştır. Yaş artışı ile MGMT ekspresyon derecesinde azalma göze çarpsa da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.99). Kadın hastaların 8'inde (%34.8) MGMT ekspresyonu 1(+), 2'sinde (%8.7) 2(+) olarak saptanmıştır. Erkek hastaların ise 14'ünde (%66.7) MGMT ekspresyonu 1(+), 2'sinde (%4.2) 2(+) olarak tespit edilmiştir. Kadın cinsiyetinde MGMT ekspresyonunda minimal artış gözlenirse de bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.61).

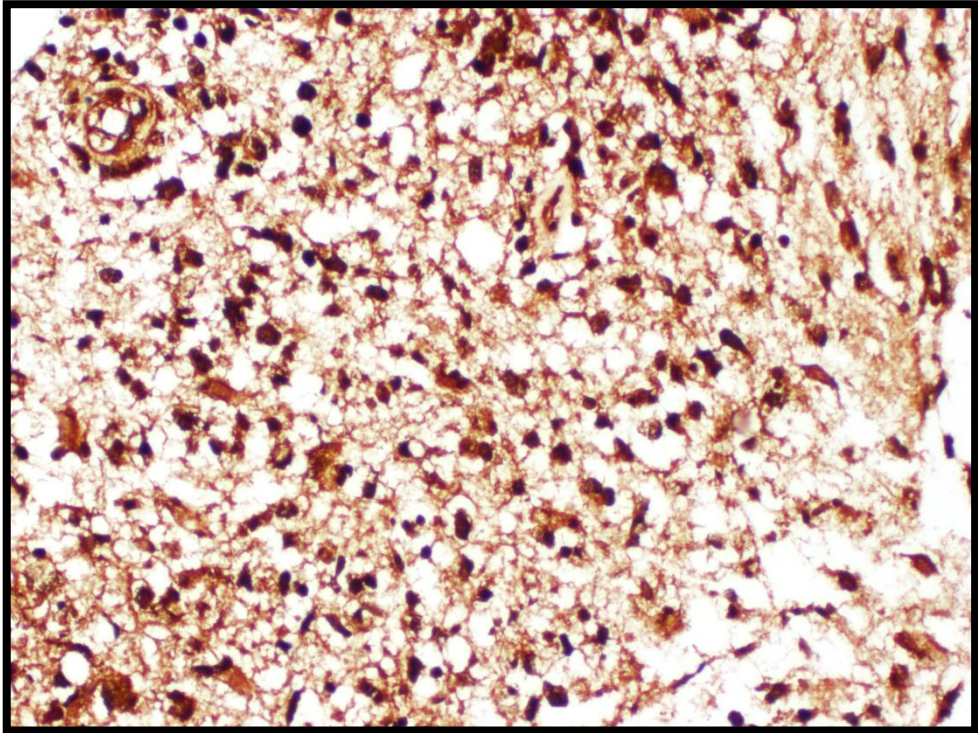
Tablo 7. Glioblastom olgularında yaş grupları ve cinsiyete göre immünohistokimyasal MGMT ekspresyonu

	MGMT ekspresyonu						P değeri
	Negatif		1(+)		2(+)		
Yaş grupları	sayı	%	sayı	%	sayı	%	
<50 yaş	12	63.2	6	31.6	1	5.3	0.99*
≥50 yaş	33	63.5	16	30.8	3	5.8	
Cinsiyet							
Kadın	13	56.5	8	34.8	2	8.7	0.61*
Erkek	32	66.7	14	29.2	2	4.2	

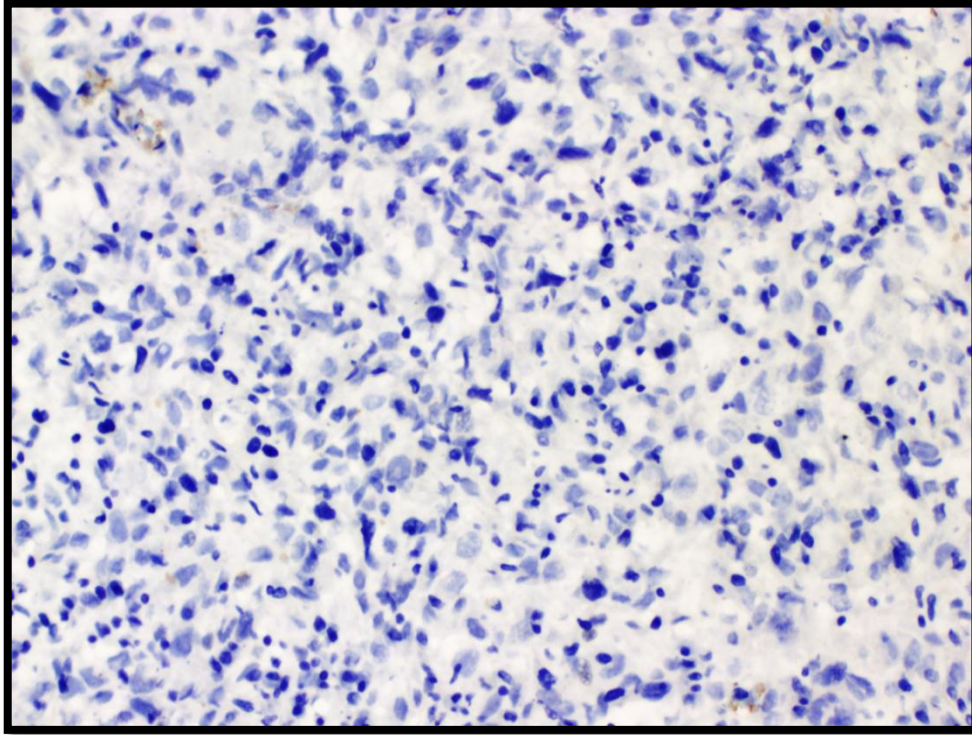
*Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. n: olgu sayısı



Resim 8. Nükleer MGMT ekspresyonu 1(+) (x200 büyütme)



Resim 9. Nükleer MGMT ekspresyonu (2+) (x200 büyütme)



Resim 10. MGMT negatifliği (x200 büyütme)

4.4. MGMT ve p53 ekspresyon düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

Her iki antikora ait immunohistokimyasal çalışma sonuçları karşılaştırıldığında p53 negatif olan gruptakilerin %62.5'sında MGMT negatif iken p53 1(+) ve 2(+) olanların %63.8'inde MGMT negatif olarak izlenmektedir (Tablo 8). Sıklıklar arasında farklılık görülmesine rağmen p53 ekspresyon derecelerine göre MGMT ekspresyon dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1.00$).

Tablo 8. Glioblastom olgularında p53 ekspresyon derecesine göre immunohistokimyasal olarak MGMT ekspresyon derecesinin karşılaştırılması

p 53 ekspresyonu (%)	MGMT ekspresyonu (%)				p değeri
	Negatif		1(+) ve 2(+)		
	n	%	N	%	
Negatif	15	62.5	9	37.5	1.00*
1(+) ve 2(+)	30	63.8	17	36.2	

* Yates düzeltilmeli ki-kare testi kullanılmıştır. n: olgu sayısı

4.5. MGMT ve p53 ekspresyon düzeylerinin sağ kalım ile ilişkisi

MGMT negatif grubundaki hastaların ortalama sağ kalım süreleri 11.28 ± 12.80 ay, 1(+) olan hastaların ortalama sağ kalım süreleri 8.95 ± 7.79 ay, 2(+) olan hastaların ortalama sağ kalım süreleri 11.59 ± 5.90 'dır (Tablo 9). MGMT ekspresyon dereceleri arasında ortalama sağ kalım süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.76$).

Tablo 9. MGMT ekspresyon derecelerine göre ortalama sağ kalım süreleri

MGMT ekspresyonu	n	Ortalama sağ kalım süresi \pm SS (ay)	Ortanca	p değeri
Negatif	37	11.28 ± 12.80	8.57	
1(+)	19	8.95 ± 7.79	7.39	0.76*
2(+)	3	11.59 ± 5.90	10.11	

* Kruskal-Wallis testi n: olgu sayısı

p53 negatif grubundaki hastaların ortalama sağ kalım süreleri 7.71 ± 6.66 ay, 1(+) olan hastaların ortalama sağ kalım süreleri 9.49 ± 7.69 ay, 2(+) olan hastaların ortalama sağ kalım süreleri 17.27 ± 18.22 aydır (Tablo 10). p53 ekspresyon dereceleri arasında ortalama sağ kalım süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.33$).

Tablo 10. p53 ekspresyon derecelerine göre ortalama sağ kalım süreleri

p53 ekspresyonu	n	Ortalama sağ kalım süresi \pm SS (ay)	Ortanca	p değeri
Negatif	21	7.71 ± 6.66	7.78	
1(+)	26	9.49 ± 7.69	7.90	0.33*
2(+)	12	17.77 ± 18.93	10.36	

* Kruskal-Wallis testi. N: olgu sayısı

4.6. MGMT ve p 53 ekspresyon dereceleri ile sağkalım sürelerinin korelasyonu

MGMT ve p53 ekspresyon dereceleri ile olguların sağkalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır (Tablo 11).

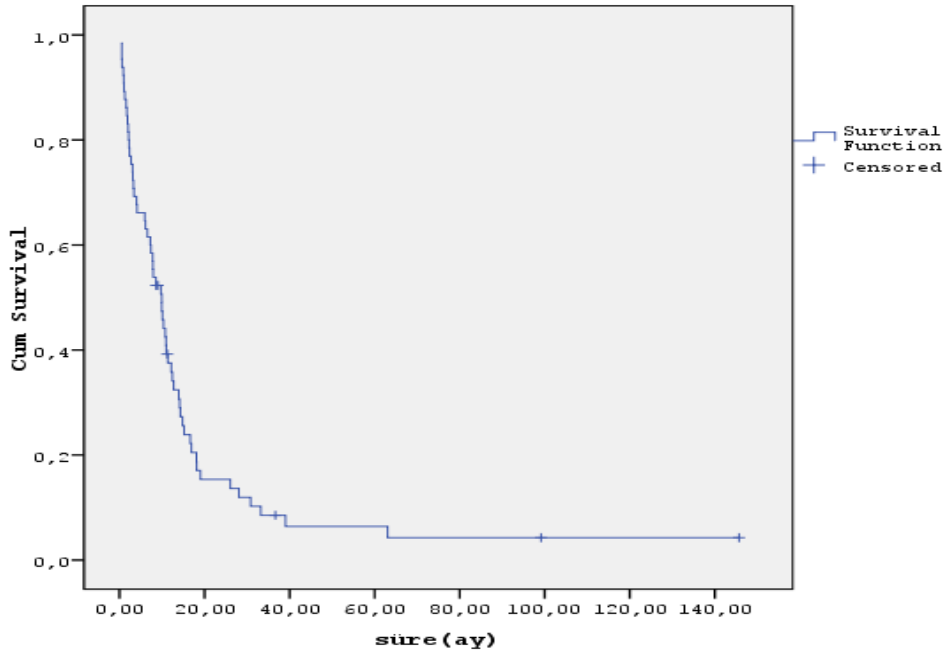
Tablo 11: MGMT ve p 53 ekspresyon dereceleri ile ortalama sağ kalım sürelerinin korelasyonu

	n	Korelasyon katsayısı (r)	p değeri
MGMT ekspresyonu	59	0.02	0.84
p53 ekspresyonu	59	0.19	0.14

n: olgu sayısı

4.7. Hastaların sağkalım hızları

Yapılan Kaplan Meier analizinde 65 hastanın 3. ayda sağkalım hızı 0.73, 6. ayda 0.63, 9.ayda 0.50, 12.ayda 0.35 olarak hesaplandı. Ortalama sağkalım süresi 17.023 ay, ortancası 9.922 ay olarak hesaplandı (Şekil 3).



Şekil 3. Sağkalımın Kaplan Meier eğrisi ile gösterilmesi

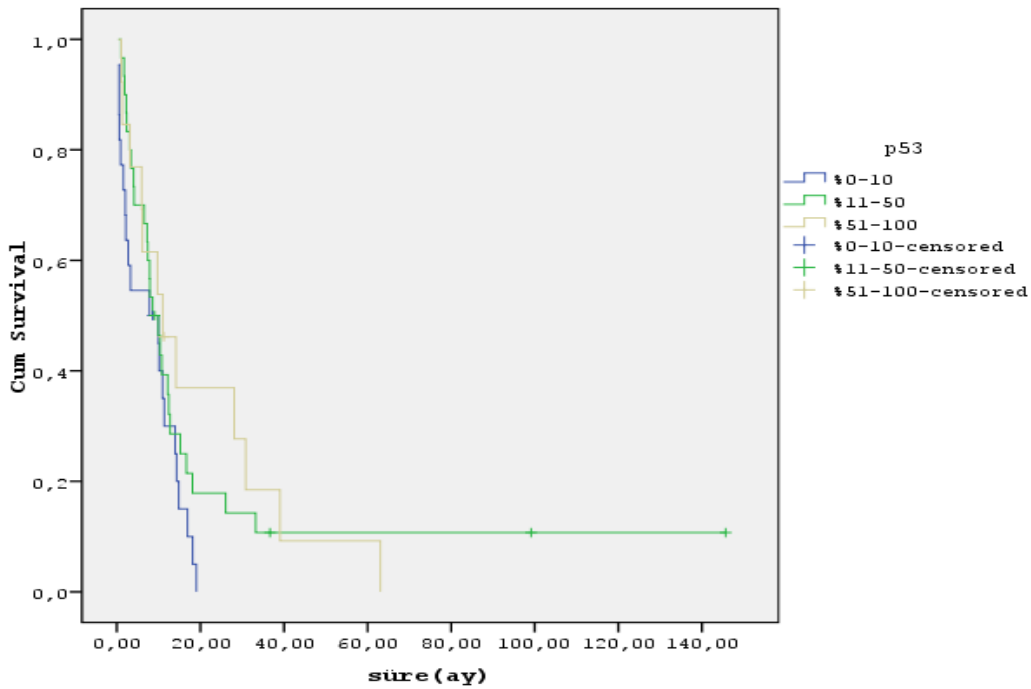
4.8. p53 ekspresyon derecelerine göre grupların Kaplan-Meier yöntemi ile takip süreleri ve sağkalım hızlarının karşılaştırılması

İmmünohistokimyasal p53 ekspresyon derecesi 1(+) olan grubun ortalama sağkalım süreleri 24.26 ay, 2(+) olan grubun 19.10 ay'dır (Şekil 4). p53 negatif olan grubun ortalama sağkalım süreleri 8.00 ay olup, gruplar içinde en düşük sağkalım ortalamasına sahiptir (Tablo 12). Ekspresyon dereceleri ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.16)

Tablo 12. p53 ekspresyon derecelerine göre ortalama sağkalım süreleri

p53	n	3.ay sağ kalım hızı	6. ay sağ kalım hızı	Ortalama sağ kalım süresi (ay)	p*
Negatif	22	0.54	0.50	8.00	0,16
1(+)	30	0.80	0.66	24.26	
2(+)	13	0.76	0.61	19.10	

*Log Rank testi kullanılmıştır. n: olgu sayısı



Şekil 4. p53 ekspresyon derecelerine göre sağkalım hızlarının Kaplan Meier eğrisi ile karşılaştırılması

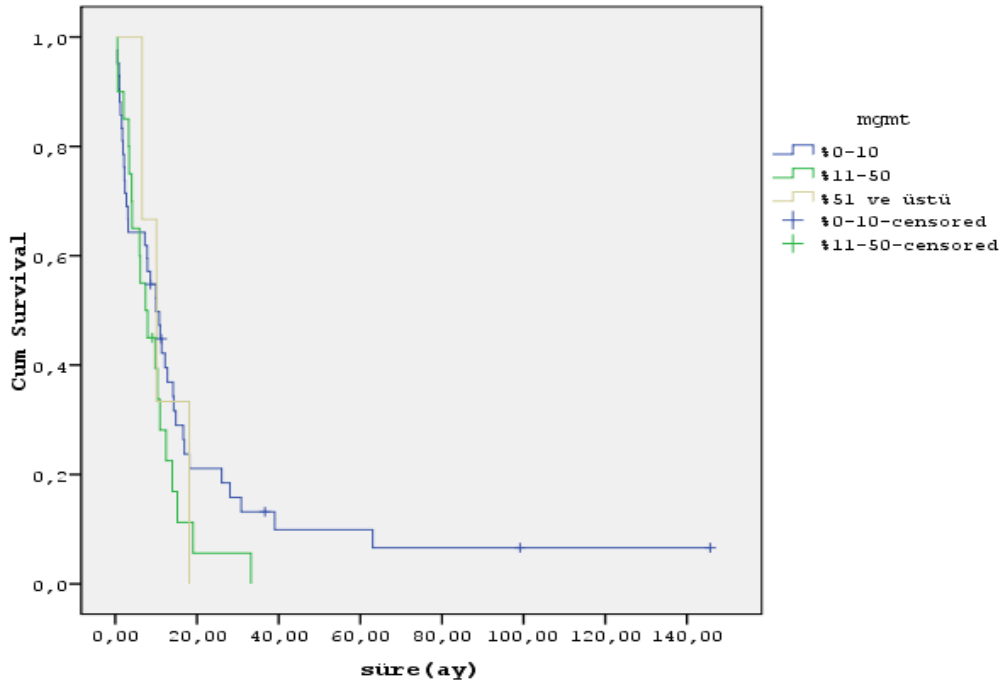
4.9. MGMT ekspresyon derecelerine göre grupların Kaplan-Meier yöntemi ile takip süreleri ve sağkalım hızlarının karşılaştırılması

MGMT ekspresyon derecesi 1(+) olan grubun ortalama sağkalım süreleri 9,29 ay olup, 2(+) olan grubun ortalama sağ kalım süreleri 11,59'dır. MGMT negatif olan grubun ortalama sağkalım süreleri 21,03 ay olup, diğer gruplardan daha yüksek sağkalım ortalamasına sahiptir. Ekspresyon dereceleri ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.40) (Tablo 13) (Şekil 5).

Tablo 13. MGMT ekspresyon derecelerine göre ortalama sağ kalım süreleri

MGMT	n	3.ay sağ kalım hızı	6. ay sağ kalım hızı	Ortalama sağ kalım süresi (ay)	P*
Negatif	42	0.66	0,61	21,06	0,40
1(+)	20	0.80	0.55	9,29	
2(+)	3	-	0,66	11,59	

* Log Rank testi kullanılmıştır. n: olgu sayısı



Şekil 5. MGMT ekspresyon derecelerinin sağkalım hızlarının Kaplan Meier eğrisi ile karşılaştırılması

5.TARTIŞMA

Glioblastom en sık görülen ve en agresif beyin tümörüdür. Glial kökenli tümör spektrumunun en malign üyesi olup DSÖ “grade” IV tür. Cerrahi tedavi yanı sıra kemoterapi ve radyoterapideki gelişmelere rağmen tedaviye oldukça dirençli olup prognozu kötüdür. Ortalama yaşam süresi nadiren 12 ayı bulur (2). Glioblastom hastalarında sağkalımın artırılması amacıyla yeni kemoterapötiklerin bulunması ve bu ajanların hangi hastalara uygulanacağı, birçok araştırmanın konusu olmuştur. Bu çalışmaların bir kısmının sonucu olarak 2005 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından yeni glioblastom tanısı almış erişkin hastalara radyoterapi eşliğinde alkile edici bir ajan olan temozolamid tedavisi verilmesi önerilmiştir (114). Bu çalışmada glioblastom olgularının tedavisinde son yıllarda önem kazanan alkile edici ajanların ortaya çıkmasına neden olan MGMT ekspresyonunun bizim olgularımızdaki görülme sıklığının belirlenmesi ve glioblastom tümörigenezinde önemli rol oynayan p53 tümör süpresör gen ekspresyonu ile ilişkisini araştırmak yanı sıra hastaların sağ kalımına etkileri incelenmiştir.

O6-Metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) promotajenik alkil gruplarını guaninin O6 pozisyonundan uzaklaştıran bir tamir proteindir (7). Böylelikle hücreleri mutajenik ve sitotoksik alkile edici ajanlara karşı korur. MGMT inaktivasyonu akciğer, kolon ve rektum kanserlerinde gösterilmiştir (115). MGMT aktivitesinin azalması hücreleri alkile edici ajanlara duyarlı hale getirir. Guaninin O6 pozisyonunun alkilizasyonu temozolamid aktivitesinin temel etki mekanizmasıdır. Promotör hipermetilasyonu, bu genin inaktivasyonuna ve MGMT protein ekspresyon kaybına yol açar (115). Promotör metilasyon düzeyi hastanın temozolomid tedavisine vereceği yanıt ve sağ kalım süresine dair ışık tutar (115). Burada MGMT promotör metilasyon düzeyi hangi hastaların kemoterapiden yarar göreceğini belirlemede yeterli mi sorusu akla gelir (116). Bu nedenle MGMT ekspresyonunun regülasyonunu sağlayan, moleküler yöntemler ile tespit edilebilen promotör metilasyonu yanısıra diğer etmenler de araştırılmalıdır. Önceki çalışmalarda, over kanserlerinde (117), kolorektal tümörlerde (118) ve hepatosellüler karsinomda (119) MGMT downregülasyonun p53 mutasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada glioblastom hastalarında değerlendirilen mutant p53 ekspresyonu, MGMT regülasyonuna ışık tutabilecek muhtemel adaylardan biridir.

p53 proteini, 17. kromozomun kısa kolunda yer alan (17p13) TP53 geni tarafından kodlanır. TP53 geni genomun gardiyanı yakıştırmayı yapan tümör süpresör genidir. TP53

geni; hücre döngüsü, hücrelerin DNA hasarına karşı cevabı, hücre ölümü, hücre diferansiyasyonu ve neovaskülarizasyon gibi süreçlerde rol oynar (87). TP53 insanlarda görülen kanserlerde en sık mutasyona uğrayan genidir. Glioblastom hastalarının %40'ında TP53 geninde G:C-A:T tip transisyon mutasyonları izlenir (23). TP53 mutasyonu sekonder glioblastomların genetik bir özelliğidir ve %65'in üzerinde görülür (92). Sekonder glioblastomun prekürsör lezyonları olan diffüz astrositom ve anaplastik astrositomların neredeyse tümünde izlenir. TP53 mutasyonları primer glioblastomlarda daha az görülür ve oranı %25 civarındadır (31). Bu çalışmada 71 glioblastom olgusunun immünohistokimyasal p53 ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak kuvvetli nükleer p53 ekspresyonunun diffüz astrositik tümörlerde TP53 mutasyonunu yüksek oranda gösterdiği bilinmektedir (120). Olguların tümünün kesitlerinde prekürsör bir lezyonu gösteren düşük dereceli alanlar izlenmediği gibi bilinen bir glial tümör hikayesi ve bilgisi yoktur. Tümü de novo glioblastom şeklinde prezente olmuştur. Bu verilere rağmen çalışmamızda immünohistokimyasal p53 ekspresyonu (%66.2) literatüre göre daha yüksek bulunmuştur. Glioblastomlarda p53 mutasyonun prognostik değeri yeterince açıklığa kavuşmamıştır. Bazı araştırmacılara göre p53 mutasyonunun prognostik bir değeri yoktur (108). Literatürde bazı çalışmalarda “wild” tip p53 pozitifliği gösteren tümör hücreleri kemoterapiye daha duyarlı bulunmuştur (121, 122). Bizim çalışmamızda genetik analiz yapılmadığından olgularımızın wild-tip p53 ekspresyon düzeyleri saptanamamıştır.

Çalışmamızda 71 glioblastom olgusunda immünohistokimyasal MGMT ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. Olguların 45'inde (%63,4) MGMT negatif bulunurken, 22 hastada (%31.0) 1(+), 4 hastada (%5.6) 2(+) izlenmiştir. Bu sonuçlar literatürdeki benzer çalışmalardaki MGMT ekspresyon oranları ile uyumludur (8, 9, 10, 99, 108). Ayrıca literatürde p53 ve MGMT düzeylerini karşılaştıran birçok araştırma vardır (8, 9, 10, 99, 108, 123, 124). Lotfi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada p53 pozitif olan hastaların %84,6'sında MGMT negatifken, p53 negatif olan hastaların % 54,1'inde MGMT negatiftir (99). Bu çalışmada p53 ekspresyon düzeyi arttıkça, MGMT ekspresyon düzeyinin düştüğü görülmektedir (99). Mutant p53 ve MGMT ekspresyon düzeyleri arasında negatif bir korelasyon vardır ($p<0.05$) (99). Literatürde MGMT ve p53 ekspresyon düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptayan çalışmalar da mevcuttur (123,124). Ancak hangi protein düzeyinin diğerini regüle ettiği tam açıklığa kavuşmamıştır. Bir hipoteze göre DNA hasarının indüklediği MGMT ekspresyonu ancak wild-tip p53 eksprese eden hücrelerde mümkündür (123). Diğer görüşe göre düşük düzeyde MGMT eksprese eden hücrelerde,

özellikle G:C-A:T transisyon mutasyonları olmak üzere, p53 mutasyonları birikmektedir (125). Çalışmaların bir kısmında glioblastom hücrelerinde “wild” tip p53 ekspresyon artışının MGMT ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (103, 126). Bu çalışmalarda otörler glioblastom oluşumunun erken evresinde “wild” tip p53 ekspresyon artışı, MGMT downregülasyonuna yol açtığını öne sürmektedir (103, 126). Ayrıca glioblastomun progresyonu ilerledikçe promotör metilasyonunun MGMT ekspresyonunu daha da azalttığı düşünülmektedir (127, 128). MGMT downregülasyonu ise dereceli olarak p53 mutasyonuna yol açmaktadır (127, 128). Aynı çalışmaların sonuçlarına göre promotör metilasyonu irreversible olduğundan hücrede bir noktadan sonra “wild” tip p53 proteinin downregülasyonun, MGMT ekspresyonunu upregüle etmesi mümkün olmamaktadır ve promotör metilasyonu izlenen tümör örneklerinin birçoğunda mutant p53 izlenmektedir. Ancak hücre kültüründe “wild” tip p53 proteinin indüklenmesi MGMT ekspresyon düzeyini azaltmaktadır (128). Bizde çalışmamızda yukarıda verilen bilgiler ışığında olgularımızda izlenen immünohistokimyasal mutant p53 ekspresyonu ile MGMT ekspresyon düzeylerini karşılaştırdık. Literatür ile uyumlu olarak olgulardan, p53 pozitif olan gruptakilerin %63.8’i MGMT negatif iken; p53 ekspresyonu negatif olanların %62.5’i MGMT negatiftir. Ancak p53 ve MGMT ekspresyon düzeyleri arasında negatif bir korelasyon görülmesine rağmen p53 ve MGMT ekspresyon dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=1.00$).

Çalışmamızda ayrıca MGMT ve mutant p53 ekspresyon düzeylerinin hastaların yaş ve cinsiyetleri ile ilişkisinin olup olmadığına bakılmıştır. Mutant p53 ekspresyon düzeyi 50 yaşın üzerindeki kadınlarda daha yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Yine MGMT ekspresyon düzeyi ile yaş ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki izlenmemiştir ($p>0.05$). Rolhion ve arkadaşlarının çalışmasında ise genç hastalarda ve erkek hastalarda MGMT ekspresyon seviyesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (6). Yine aynı çalışmada p53 ekspresyon düzeyi ile yaş veya cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (6).

Çalışmamız sırasında olguların 65’inin sağkalım bilgilerine ulaşılmış olup 59 hastanın (%83.1) exitus olduğu ve 6 olgunun (%8.5) yaşadığı tespit edilmiştir. Olguların 59’nun ortalama sağkalım süreleri hesaplanmıştır. Buna göre Kaplan-Meier yöntemine göre hastaların ortalama sağkalım süreleri 17.023 ay, ortancası 9.922 ay olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızda Kaplan-Meier yöntemine göre MGMT ekspresyon derecesi 1(+) olan hastaların ortalama sağkalım süresi 9.29 ay MGMT ekspresyon derecesi 2(+)

hastaların ortalama sağkalım süresi ise 11.59 ay olarak bulunmuştur. MGMT negatif olan hastaların sağ kalımı 21.03 aydır. MGMT ekspresyon düzeyi azaldıkça sağkalımda artış gözlenmektedir. MGMT ekspresyon dereceleri arasında ortalama sağkalım süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.40$). Literatürdeki çalışmalara göre MGMT ekspresyon düzeyinin azalmasıyla sağkalım artmaktadır (108, 129). Bizim çalışmamızdaki MGMT negatifliği izlenen hastalardaki sağkalım artış eğilimi literatürdeki benzer çalışmaları destekler niteliktedir.

Çalışmamızda Kaplan-Meier yöntemine göre p53 ekspresyon derecesi 1(+) olan hastaların ortalama sağkalım süresi 24.26 ay, p53 ekspresyon derecesi 2(+) hastaların ortalama sağkalım süresi ise 19.10 ay olarak bulunmuştur. p53 negatif olan hastaların sağkalımı 8.00 aydır. Olgularımızda mutant p53 ekspresyon düzeyi azaldıkça sağkalımda azalma gözlenmekle birlikte p53 ekspresyon dereceleri arasında ortalama sağkalım süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.60$). Literatürdeki çalışmalarda p53 mutasyonun sağkalıma etkisi hakkında fikir birliği yoktur. Bu konudaki yaygın kanaat p53 ekspresyon düzeyi ile sağkalım arasında ilişki olmadığı yönündedir (6, 10, 31, 108).

Bu çalışmada literatür ile uyumlu olarak glioblastomlarda p53 ekspresyonu yüksek olan olguların yaklaşık 2/3'ünde MGMT ekspresyonu düşük bulunmuştur. Dolayısıyla çalışmamız bu konuda literatüre katkıda bulunmuştur. Ayrıca her iki protein ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi Kaplan-Meier yöntemi ile karşılaştırılmış olup ekspresyon dereceleri ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

6.SONUÇ

Son yıllarda kanserin genetik ve aynı zamanda epigenetik bir hastalık olduğu anlaşılmıştır. İnsan vücudunun en agresif malign tümörlerinden biri olan glioblastomun, cerrahi tedavi yanısıra kemoterapi ve radyoterapi alanlarındaki gelişmelere rağmen prognozu kötüdür. Bu nedenle de bu tümörün karsinogenezis basamakları ve bu basamaklarda rol alan proteinlerin belirlenmesi terapötik tedavi açısından önemlidir. Bu çalışmada glioblastom karsinogenezinde rol oynayan p53 protein ekspresyonu ve tedavide alkilleyici ajanların kullanılmasının önünü açarak sağkalımın artmasına katkıda bulunan MGMT ekspresyon kaybı değerlendirildi. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak p53 ve MGMT ekspresyonları arasında negatif bir korelasyon bulduk. Diğer çalışmalarda olduğu gibi p53 mutant hücrelerde MGMT ekspresyonunun düşük olduğu saptanmıştır. Ancak çalışmamızda kısıtlı sayıda olgu olması nedeniyle bu iki protein ekspresyonu ve sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Ayrıca çalışmamız bu iki proteinin immünohistokimyasal paternlerinin değerlendirilmesi ile sınırlı kalmıştır. Genetik analiz yapılamadığından iki proteinden hangisinin diğerinin regülatörü olduğu saptanamamıştır. Bir diğer kısıtlamada hastaların çoğunda tedavi şemalarına ulaşamamış olup kemoterapi etkinliği ile bu proteinlerin ekspresyon paternleri arasındaki ilişkinin araştırılmamış olmasıdır. Bu nedenle tedavi protokolleri ve aşamaları bilinen daha fazla olgu üzerinde immünohistokimyasal ve genetik analiz birlikte yapılarak planlanacak gelecek çalışmalara gerek duyulmaktadır.

7. ÖZET

Bu çalışmada primer beyin tümörleri arasında en sık görülen ve en agresif tümör olan glioblastom olgularının tedavisinde son yıllarda önem kazanan alkile edici ajanların ortaya çıkmasına neden olan MGMT ekspresyonunun bizim olgularımızdaki görülme sıklığının belirlenmesi, glioblastom tümorigenezinde diğer bir önemli rol oynayan p53 tümör süpresör gen ekspresyonu ile ilişkisini araştırmak yanı sıra hastaların sağkalımına etkilerini değerlendirip literatüre katkıda bulunmayı amaçladık.

Bu çalışmada 1995-2015 yılları arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda glioblastom tanısı almış 71 olgunun parafin bloklarından hazırlanacak kesitlerine immünohistokimyasal olarak p53 ve MGMT antikorları uygulanmıştır. Klinik, histopatolojik, immünohistokimyasal bulgular ile prognostik parametreler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

İmmünohistokimyasal olarak her iki antikor için nükleer boyanma anlamlı kabul edilmiştir. Boyanan her kesit ışık mikroskopunda incelenerek her iki antikor içinde nükleer boyanmanın en yüksek olduğu alan seçilmiştir. MGMT ve p53 için 1000 tümör hücresi sayılarak; nükleer boyanma gösteren tümör hücrelerinin sayılan 1000 tümör hücresine oranı hesaplanarak boyanma indeksleri yüzde olarak saptanmıştır. p53 için ara değerler %10 ve %50 olarak belirlenip boyanma indeksi %10'un altında ise negatif, %10-50 arasında ise 1(+), %50-100 arasında ise 2(+) olarak sınıflandırılmıştır. MGMT için de aynı şekilde ara değerler %10 ve %50 olarak belirlenmiştir. Boyanma indeksi %10'un altında ise negatif, %10-50 arasında ise 1(+), %50'nin üzerinde ise 2(+) olarak sınıflandırılmıştır.

Bu çalışmada olgularda mutant p53 ekspresyonu ile MGMT ekspresyon düzeyleri immünohistokimyasal olarak karşılaştırılmıştır. p53 negatif olan gruptakilerin %62.5'sinde MGMT negatif iken p53 pozitif olanların %63.8'inde MGMT negatif olarak izlenmektedir. p53 ve MGMT ekspresyon düzeyleri arasında negatif bir korelasyon görülmesine rağmen p53 ve MGMT ekspresyon dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=1.00).

Hastaların MGMT ve p53 ekspresyon düzeylerine göre sağkalım süreleri Kaplan-Meier yöntemine göre karşılaştırılmıştır. İmmünohistokimyasal p53 ekspresyon derecesi 1(+) olan grubun ortalama sağkalım süreleri 24.26 ay, 2(+) olan grubun 19.10 ay'dır. p53 negatif olan grubun ortalama sağkalım süreleri 8.00 ay olup, gruplar içinde en düşük

sağkalım ortalamasına sahiptir. Ekspresyon dereceleri ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.16)

MGMT ekspresyon derecesi 1(+) olan grubun ortalama sağkalım süreleri 9,29 ay olup, 2(+) olan grubun ortalama sağkalım süreleri 11,59 'dır. MGMT negatif olan grubun ortalama sağkalım süreleri 21,03 ay olup, diğer gruplardan daha yüksek sağkalım ortalamasına sahiptir. Ancak ekspresyon dereceleri ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0.40).

Prognozu oldukça kötü olan glioblastom hastalarında sağkalım artışı sağlayan temozolamid tedavisinin hangi hastalara verileceğinin belirlenmesinde MGMT protein ekspresyon düzeyi önem taşır. Çünkü MGMT ekspresyon kaybının (MGMT promotör metilasyonu), alkilleyici kemoterapötiklere yanıtı artırdığı bilinmektedir. p53 tümör süpresör geni mutasyonu, MGMT proteini sentezi regülasyonunda önemli bir yere sahiptir. Bizim çalışmamızda bulgular, bu ilişkiyi destekler niteliktedir. Ancak kısıtlı sayıda olgu olması nedeniyle bu iki protein ekspresyonu ve sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Tedavi protokolleri ve aşamaları bilinen daha fazla olgu üzerinde immünohistokimyasal ve genetik analiz birlikte yapılarak planlanacak gelecek çalışmalara gerek duyulmaktadır.

8.SUMMARY

Glioblastoma is the most common and the most malignant primary tumor of the brain. O⁶-methylguanine-DNA-methyltransferase (MGMT) gene has been shown to be associated with improved outcome in glioblastoma and may be a predictive marker of sensitivity to alkylating agents. The aim of this study was to evaluate the correlation and prognostic significance of MGMT and p53 protein expression in patients with glioblastoma.

Seventy-one patients, who were diagnosed with glioblastoma between the years 1995-2015 in the Pathology Department of Başkent University Faculty of Medicine were selected for the study. Paraffin embedded tumor tissues were immunohistochemically evaluated with monoclonal antibodies for MGMT and p53 protein. The correlation between the expression of MGMT and p53 protein and the survival was also examined.

Only nuclear staining was considered positive for both antibodies. Immunoreactivity was quantified by counting the stained nuclei expressed as a percentage of the positive cells. The immunoreactivity of the MGMT and the p53 protein was evaluated by estimating the fraction of positive cells, and a level of less than 10 % was regarded as negative, between % 10 and % 50 as 1(+) and more than % 50 as 2(+).

In this study, the expression of MGMT and p53 was examined to elucidate the relationship between their immunostaining intensity. MGMT immunohistochemistry was negative in 15 (%62,5) patients of p53 immunohistochemistry negative group and in 30 (%63,8) p53 immunohistochemistry positive group. There is no statistically significant correlation between MGMT and p53 expression. (p=1.00)

We analysed the overall survival according to MGMT and p53 expression levels with Kaplan-Meier analysis. Mean survival time of group with p53 immunohistochemical expression level 1(+) is 24.26 months and group with 2(+) expression is 19.10 months. The mean survival time of p53 negative group is 8.00 months and this group has the lowest survival time among the other ones. There is no statistically significant relation between p53 expression levels and survival (p=0.16)

Mean survival time of group with MGMT immunohistochemical expression level 1(+) is 9.29 months and group with 2(+) expression is 11.59 months. The mean survival

time of MGMT negative group is 21.03 months and this group has the highest survival time among the other ones. There is no statistically significant relation between MGMT expression levels and survival ($p=0.40$).

Since MGMT promoter methylation is a strong predictive marker for the response to alkylating chemotherapy agents, MGMT protein expression level is important for determining the patient who will get the temozolamide therapy that promotes the overall survival of the glioblastoma patients with poor prognosis. The mutation of p53 tumor suppressor gene has an important role in the regulation of MGMT protein synthesis. The findings of our study support this relationship. However, because of the limited number of the cases, no statistically significant correlation between MGMT and p53 expression and the survival ratio was observed in our study. More cases with well known treatment protocols should be enrolled to further studies which will be designed by immunohistochemical and genetic analysis.

9.KAYNAKLAR

1. P.Kleihues, H Oghaki. Primary and secondary glioblastomas: From concept to clinical diagnosis. *Neuro Oncology*. 1:44-51, 1999.
2. David N. Louis, Hiroko Ohgaki, Otmar D, Wiestler, Webster K. Cavenee. World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System, 2007.
3. Wirching HG, Galanis E, Weller B. Glioblastoma. *Handb. Clin. Neurol*. 134: 381-97, 2016.
4. V.Marcel, F Catez, JJ Diaz. p53 a translational regulator: contribution to its tumour-suppressor activity. *Oncogene*. 34: 5513-5523, 2015.
5. Pfeifer GP: p53 mutational spectra and role of methylated CpG sequences. *Mutat Res*. 450: 155-16, 2000.
6. Rolhion C, Penault Liorca F, Kemeny JL, Kwiatkowski F, Lamaire JJ, Chollet P, Finat-Duclos F, Verrelle P: O(6) methylguanine-DNA methyltransferase gene (MGMT) expression in human glioblastomas in relation to patient characteristics and p53 accumulation. *Int J Cancer* . 84 : 416-420, 1999.
7. Goth R, Rajewsky MF. Persistence of O6-methylguanine in rat brain DNA: Correlation with nervous system-specific carcinogenesis by ethylnitrosurea. *ProcNatl Acad, SCI USA*. 71: 639-643, 1974.
8. Blough MD, Zlatescu MC, Cairncross JG. O6-methylguanine-DNA methyltransferase regulation by p53 in astrocytic cells. *Cancer Res*, 67:580-584, 2007.
9. Harris LC, Remack JS, Houghton PJ, Brent TP. Wild-type p53 suppresses transcription of the human O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene. *Cancer Res*, 56:2029-2032- 1996.
10. Wiewrodt D, Nagel G, Dreimuller N, Hundsberger T, Pernecky A, Kaina B. MGMT in primary and recurrent human glioblastomas after radiation and chemotherapy and comparison with p53 status and clinical outcome. *Int J Cancer*.75: 1339-1334, 1995.
11. T.W. Sadler. Langmans's Medical Embryology.7. Edition, Williams&Wilkins, Baltimore, USA, 1995.
12. W.K. Ovalle. Netter Temel Histoloji, Güneş Tıp Kitapevi, Ankara, 2009.
13. K.Arıncı, A. Elhan. Anatomi, 2. Cilt, Güneş Kitabevi, Ankara, 1995.
14. R.S. Snell, Uygulamalı Anatomi, 1. Baskı, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, 1993.
15. R.W.Dudek. BRS Embriyoloji, Güneş tıp Kitapevi, Ankara, 2015.
16. S.E. Mills, Histology for Pathologists, 3. Edition, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, USA, 2007
17. Daumas-Duport C, Scheithauer BW, O'Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer* 1988;62:2152-2165.
18. David N. Louis, Arie Perry, Guido Reifenberger, Andreas von Deimling, Dominique Figarella-Branger, Webster K. Cavenee, Hiroko Ohgaki, Otmar D, Wiestler, Paul Kleihues, David W. Ellison. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*, 2016.
19. Bailey P, Cushing H. A Classification of Tumors of the Glioma group on a Histogenetic Basis with a Correlation Study of Prognosis. Philadelphia: JB Lippincott, 1926; pp 146-167.

20. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu IM, Gallia GL et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 321: 1807-1812, 2008.
21. Kleinschmidt-DeMasters BK, Aisner DL, Birks DK, Foreman NK. Epitheloid GBMs show a high percentage of BRAF V600E mutation. *Am J Surg Pathol* 37:685-698, 2013.
22. Joseph NM, Phillips J, Dahiya S, M Felicella M, Tihan T, Brat DJ, Perry A. Diagnostic implications of IDH1-R132H and OLIG2 expression patterns in rare and challenging glioblastoma variants. *Mod.Pathol.* 26: 315-326, 2013.
23. David N. Louis, Hiroko Ohgaki, Otmar D, Wiestler, Webster K. Cavenee. D.W.Ellison, D.F. Branger, A. Perry, G. Reifenberger, A.V.Deimling. *World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System*, 2016.
24. Parker M, Mohankumar KM, Punchihewa C, Weinlich R, Dalton JD, Li Y, Lee R, Tatevossian RG, Phoenix TN, Thiruvengatam R. C11orf95-RELA fusions drive oncogenic NF-kappa B signalling in ependymoma. *Nature* 506:451–455, 2014
25. Virchow R. *Die Krankhaften Geschwulste*. Hirschwald: Berlin, 1863.
26. Globus JH, Strauss I. Spongioblastoma multiforme. *Arch Neurol Psychiatry* 1925;14:139-151.
27. Kernohan JW, Mabon RF, Svien HJ. A simplified classification of gliomas. *PROC Staff Meetings, Mayo Clinic*; 24:71-74, 1949.
28. Lantos PL, Louis DN, Rosenblum MK, Kleihues P. *Tumours of the Nervous System*. Oxford University Press : London, 2002.
29. Ohgaki H, Kleihues P. Population based studies on incidence, survival rates and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 64:479-489, 2005
30. Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol.* 109:93-108, 2005.
31. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, Burkhard C, Schuler D, Probst-Hensch NM, Maiorka PC, Baeza N, Pisani P, Yonekawa Y, Yasargil MG, Lutolf UM, Kleihues P . Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res.* 64: 6892-6899, 2004.
32. Q.T. Ostrom, H. Gittleman, J. Fulop, M.Liu, R. Blanda, C. Kromer, Y.Wolinsky, C. Kricchko, J.S. Barnholtz-Sloan. *CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012*. *Neurooncol.* 4:1-62, 2015
33. L.M. DeAngelis. *Brain Tumors*. *N Engl J Med.* 344: 114-123, 2001.
34. Mayer-Proschel M, Kaljani AJ, Mujtaba T, Rao MS. Isolation of lineage-restricted neuronal precursors from multipotent neuroepithelial stem cells. *Neuron.* 19: 773-785, 1997.
35. Sanai N, Alvarez-Buylla A, Berger MS, Neural stem cells and the origin of gliomas. *N Eng J Med* 353:811-822, 2005.
36. Burger PC, Heinz ER, Shibata T, Klehues P. Topographic anatomy and CT correlations in the untreated glioblastoma multiforme. *J Neurosurg.* 68: 698-704, 1998.
37. Giordana MT, Cavalla P, Chio A, Marino S, Soffietti R, Vigliani MC, Schiffer. Prognostic factors in adult medulloblastoma. A clinico-pathologic study. *Tumori.* 81: 338-346, 1995.

38. Bernstein JJ, Woodard CA. Glioblastoma cells do not intravasate into blood vessels. *Neurosurgery*. 36: 124-132, 1995.
39. Fecteau AH, Penn I, Hanto DW. Peritoneal metastasis of intracranial glioblastoma via a ventriculoperitoneal shunt preventing organ retrieval: case report and review of the literature. *Clin Transplant*. 12: 348-350, 1998.
40. Pompili A, Calvosa F, Caroli F, Mastrostefano F, Occhipinti E, Raus L, Scieratta F. The transdural extension of gliomas. *J Neurooncol*. 15: 67-74, 1993.
41. Wick W, Naumann U, Weller M. Transforming growth factor-beta: a molecular target for the future therapy of glioblastoma. *Curr Pharm Des*. 12:341-349, 2006.
42. Kaur B, Khwaja FW, Severson EA, Matheny SL, Brat DJ, Van Meir EG. Hypoxia and the hypoxia-inducible-factor pathway in glioma growth and angiogenesis. *Neurooncol*. 7: 134-153, 2005.
43. Knott JC, Mahesparan R, Garcia-Cabrera I, Bolge TB, Edvardsen K, Ness GO, Mork S, Lund Johansen M, Bjerkvig R. Stimulation of extracellular matrix components in the normal brain by invading glioma cells. *Int J Cancer*. 75: 864-872, 1998.
44. Berkman RA, Clark WC, Saxena A, Robertson JT, Oldfield EH, Ali IU. Clonal composition of glioblastoma multiforme. *J Neurosurg*. 77: 432-437, 1992.
45. Scherer HJ. Cerebral astrocytomas and their derivatives. *Am J Cancer*. 40: 159-198, 1940.
46. Dropcho EJ, Soong SJ. The prognostic impact of prior low grade histology in patients with anaplastic gliomas: a case-control study. *Neurology*. 47:684-690, 1996
47. Fujisawa H, Reis RM, Nakamura M, Colella S, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Loss of heterozygosity on chromosome 10 is more extensive in primary (de novo) than in secondary glioblastomas. *Lab invest*. 80: 65-72, 2000.
48. Burger PC, B.W. Scheithauer, F.S. Vogel. *Surgical Pathology Of The Nervous System And Its Coverings*. 4. Edition, Philadelphia, Churchill Livingstone, 2002.
49. Burger PC, Kleihues P. Cytologic composition of the untreated glioblastoma with implications for evaluation of needle biopsies. *Cancer*. 63: 2014-2023, 1989.
50. Burger PC, Shibata T, Kleihues P. The use of monoclonal antibody Ki-67 in the identification of proliferating cells: application to surgical neuropathology . *Am. J Surg Pathol*. 10: 611-617, 1986.
51. Moskowitz SI, Jin T, Prayson RA. Role of MIB1 in predicting survival in patients with glioblastomas. *J Neurooncol*. 76: 193-200, 2006.
52. Fisher I, Gagner JP, Law M, Newcomb EW, Zagzag D. Angiogenesis in gliomas: biology and molecular pathophysiology. *Brain Pathol*.15:297-310, 2005.
53. Acker P, Plate KH. Hypoxia and hypoxia inducible factors (HIF) as important regulators of tumour physiology. *Cancer Treat Res*. 117:219-48, 2004.
54. Machine MR, Plate KH. Role of VEGF in developmental angiogenesis and in tumor angiogenesis in the brain. *Cancer treat Res*. 117:191-218, 2004
55. Haddad SF, Moore SA, Schelper RL, Goekan JA. Vascular smooth muscle hyperplasia underlies the formation of glomeruloid vascular structures of glioblastoma multiforme . *J. Neuropathol Exp Neurol* . 51(5): 488-92, 1992.
56. Rong Y, Durden DL, Van Meir EG, Brat DJ. Pseudopalisading necrosis in glioblastoma: a familiar morphologic feature that links vascular pathology, hypoxia and angiogenesis. *J Neuropathol Exp Neurol*. 65: 529-539, 2006.

57. Homma T, Fukushima T, Vaccarella S, Yonekawa Y, Di Patre PL, Franceshi S, Oghaki H. Correlation among pathology, genotype and patient outcomes in glioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol.* 65: 846-854, 2006.
58. Burger PC, Dubois PC, Schold SC, Jr Smith KR, Jr Odom GL, Crafts DC, Giangaspero. Computerized tomographic and pathologic studies of the untreated, quiescent and recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurosurg.* 58: 159-169, 1983.
59. Lantos PL, VanderBerg SR, Kleihues P. Tumours of Nervous System. In: Greenfield' s Neuropathology. Graham DI, Lantos PL, eds Arnold: London pp. 583-879, 1996.
60. Tohma Y, Gratas C, Van Meir EG, Desbaillets I, Tenan M, Tachibana O, Kleihues P, Ohgaki P. Necrogenesis and Fas/APO -1 (CD95) expression in primary glioblastomas (de novo) and secondary glioblastomas. *J. Neuropath Exp Neurol.* 57: 239-245.48- Brat DJ, Castellano-Sanchez AA, 1998.
61. Hunter SB, Pecot M, Cohen C, Hammond EH, Devi SN, Kaur B, Van Meir EG. Pseudopalisades in glioblastoma are hypoxic, express extracellular matrix proteases and are formed by an actively, migrating cell population. *Cancer Res.* 64: 920-927, 2004.
62. Plate KH. Mechanism of angiogenesis in the brain *J: Neuropathol Exp Neurol.* 58: 313-320, 1999.
63. Kumar V, Abbas K, Aster J.C. Robbins Temel Patoloji. 9.baskı. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul, 2013.
64. Tachibana O, Nakazawa H, Lampe J, Watanabe K, Kleihues P, Ohgaki H. Expression of Fas/APO-1 during the progression of astrocytomas. *Cancer Res.* 55(23): 5528-30, 1995.
65. Schiffer D, Cavalla P, Migheli A, Chiao A, Giordana MT, Marino S, Attanasio A. Apoptosis and cell proliferation in human neuroepithelial tumors. *Neurosci Lett.* 195: 81-84, 1995.
66. Scherer HJ . The forms of growth in gliomas and their practical significance. *Brain.* 63:1-35, 1940.
67. Laws ER, Goldberg WJ, Bernstein JJ. Migration of human malignant astrocytoma cells in the mammalian brain. *Int J Dev Neurosci.* 11: 691-697, 1993.
68. Rosenblum MK, Erlandson RA, Budzilovich GN. The lipid-rich epitheloid glioblastoma. *Am J Surg Pathol.* 15: 925-934, 1997.
69. Broniscer A, Tatevossian RG, Sabin ND, Klimo P, Dalton J, Lee R. Clinical, radiological, histological and molecular characteristics of pediatric epitheloid glioblastoma. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 40(3): 327-36, 2014.
70. Fujisawa H, Kurrer M, Reis RM, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Acquisition of the glioblastoma phenotype during astrocytoma progression is associated with LOH on 10q25-qter. *Am J pathol.* 155: 387-394, 1999.
71. Burger PC, Green SB. Patient age, histologic features and length of survival in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer.* 59: 1617-1625, 1987.
72. Kozak KR, Moody JS. Giant cell glioblastoma: a glioblastoma subtype with distinct epidemiology and superior prognosis. *Neuro Oncol.* 11(6): 833-41, 2009.
73. Watanabe K, Tachibana O, Yonekawa Y, Kleihues P, Oghaki H. Role of gemistocytes in astrocytoma progression. *Lab. Invest.* 76(2): 277-84, 1997.
74. Del Biglio MR, Deck JH. Rosenthal fibers producing a granular cell appearance in a glioblastoma. *Acta Neuropathol.* 86:100-104, 1993.

75. Geddes JF, Thom M, Robinson SFD, Revesz T. Granular cell change in astrocytic tumors. *Am J Surg Pathol.* 20:55-63, 1996.
76. Schittenhelm J, Psaras T. Glioblastoma with granular cell astrocytoma features : a case report and literature review. *Clin. Neuropathol.* 29(5): 323-29, 2010.
77. Kepes JJ. Astrocytomas: old and newly recognized variants, their spectrum of morphology and antigen expression. *Can J Neurol Sci.* 14: 109-121, 1987.
78. Rossi ML, Jones NR, Candy E, Nicoll JA, Compton JS, Hughes JT, Esiri MM, Moss TH, Cruz S, Coakham HB. The mononuclear clear cell infiltrate compared with survival in high-grade astrocytomas. *Acta Neuropathol.* 78: 189-193, 1989.
79. Yang I, Tihan T, Han SJ, Wrench MR, Wiencke J, Sughrue ME. CD8 + T cell infiltrate in newly diagnosed glioblastoma is associated with long term survival. *J Clin Neurosci* 17(11): 1381-85, 2010.
80. Mork SJ, Rubinstein LJ, Kepes JJ, Parentes E, Uphoff DF. Patterns of epithelial metaplasia in malign gliomas II. Squamous differentiation of epithelial like formations in gliosarcomas and glioblastomas. *J Neuropath Exp Neurol.* 47:101-118, 1988.
81. Perry A, Aldape KH, George DH, Burger PC. Small cell astrocytoma: an aggressive variant that is clinicopathologically and genetically distinct from anaplastic oligodendroglioma. *Cancer,* 101: 2318-2326, 2004.
82. He J, Mokhtari K, Sanson M, Marie Y, Kujas M, Hugué S. Glioblastomas with an oligodendroglial component: a pathological and molecular study. *J Neuropathol Exp Neurol.* 60(9): 863-71, 2001.
83. Lang FF, Miller DC, Koslow M, Newcomb EW. Pathways leading to glioblastoma multiforme: a molecular analysis of genetic alterations in 65 astrocytic tumors. *J Neurosurg.* 81: 427-436, 1994.
84. Fuller GN, Bigner SH. Amplified cellular oncogenesis in neoplasms of the human central nervous system. *Mutat Res.* 276: 299-306, 1992.
85. Biernat W, Huang H, Yokoo H, Kleihues P, Oghaki H. Predominant expression of mutant EGFR (EGFR vIII) is rare in primary glioblastomas. *Brain Pathol.* 14: 131-136, 2004.
86. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliaras C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovenalla BC, Iltmann M, Tycko B, Hibshoos H, Wigler MH, Parsons R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast and prostate cancer. *Science.* 275: 1943-1947, 1997.
87. Bogler O, Huang HJ, Kleihues P, Cavenee WK. The p53 gene its role in human brain tumors. *Glia,* 15: 308-327, 1995
88. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev.* 13: 1501-1502, 1999.
89. Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS, George DL, Vogelstein B. Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature.* 358: 80-83, 1992.
90. Komijó T, Weber JD, Zambetti G, Zindy F, Roussel MF, Sherr CJ. Functional and physical interactions of the ARF tumor suppressor with p53 and MDM2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 96: 8292-8297, 1998.
91. Barak Y, Gottlieb E, Juven G, Oren M. Regulation of MDM2 expression by p53: alternative promoters produce transcripts with nonidentical translation potential. *Genes Dev.* 8: 1739-1749, 1994.
92. Watanabe K, Sato K, Biernat W, Tachibana O, von Ammon K, Ogata N, Yonekawa Y, Kleihues P, Oghaki H. Incidence and timing of p53 mutations

- during astrocytoma progression in patients with multiple biopsies. *Clin Cancer Res.* 3: 523-530, 1997.
93. Reifenberger G, Syzmas J, Wechsler W. Differential expression of glial and neuronal associated antigens in human tumors of the central and peripheral nervous system. *Acta Neuropathol.* 74: 105-123, 1997.
 94. Biernat W, Kleihues P, Yonekawa Y, Ohgaki H. Amplification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol*, 56: 180-185, 1997.
 95. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature.* 336: 704-707, 1993.
 96. Biernat W, Tohma Y, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Alterations of cell cycle regulatory genes in primary (de novo) and secondary glioblastomas. *Acta Neuropathol.* 94: 303-309, 1997.
 97. Karlbom AE, James Cd, Boethius J, Cavenee WK, Collins VP, Nordenskjöld M, Larsson C. Loss of heterozygosity in malignant gliomas involves at least three distinct regions on chromosome 10. *Hum. Genet Cytogenet.* 59:12-19, 1997.
 98. Fults D, Pedone C. Deletion on mapping of the long arm chromosome 10 in glioblastoma multiforme. *Genes Chromosomes cancer.* 7: 173-177, 1993.
 99. Lotfi M, Afsharnejhad S, Raziiee H.R, Ghaffarzagdegan K, Sharif S, Shamsara J, Lary S, Behravan J. Immunohistochemical assessment of MGMT expression and p53 mutation in glioblastoma multiforme. *Tumori*, 97:104-108, 2011.
 100. Wick W, Weller M, Bent M, Sanson M, Weiler A, Deimling C, Plass M, Hegi M, Palatten G, Reifenberger G. MGMT testing-the challenges for biomarker-based glioma treatment. *Nat.Rev.Neurol.* 10: 372-385, 2014.
 101. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Wellwe M, Kros JM, Hainfellner JA, Mason W, Mariani L, Bromberg JE, Hau P, Mirimanoff MO, Cairncross JG, Janzer RC, Stupp R, MGMT gene silencing and benefit from temozolamide in glioblastoma. *N Engl J Med.* 352: 997-1003, 2005
 102. Nakamura M, Watanabe T, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Promoter methylation of the DNA repair gene MGMT in astrocytomas is frequently associated with G:C-A:T mutations of the TP53 tumor suppressor gene. *Carcinogenesis.* 22: 1715-171, 2006.
 103. L.C. Harris, J.S. Remack, P.J.Houghton, T.P. Brent. Wild-type p53 suppresses transcription of the human O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene. *Cancer Res.* 56: 2029-2032, 1996.
 104. F. Pistalato. Intratumoral hypoxic gradient drives stem cells distribution and MGMT expression. *Cell Death Dis.* 3:412, 2012.
 105. Aldape K, Zadeh K, Mansouri S, Reifenberger G, Deimling A.V. Glioblastoma : pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol* 129: 829-48, 2015.
 106. Chen J.R, Yao Y, Xu H. Z, Qin Z.Y. Isocitrate Dehydrogenase (IDH)1/2 mutations as prognostic markers in patients with glioblastomas. *Medicine.* 95(9):2583, 2016.
 107. Guo C, Pirozzi C.J, Lopez G. Y, Yan H. Isocitrate dehydrogenase mutations in gliomas: mechanisms, biomarkers and therapeutic target. *Curr Opin Neurol.* 24(6): 648-52, 2011.
 108. Ogura R, Tsukamoto Y, Natsumeda M, Isogawa M, Aoki H, Kobayashi T, Yoshida S, Okomato K, Takahashi H, Fujii Y, Kakita A. Immunohistochemical

- profiles of IDH1, MGMT and p53: Practical significance for prognostication of patients with diffuse gliomas. *Neuropathology*. 35: 324-335, 2015.
109. Dang Y, Yen K, Attar E. C. IDH mutations in cancer and progress toward development of targeted therapeutics. *Ann Oncol*. 27(4): 588-608, 2016.
 110. Tso CI, Freije WA, Day A, Chen Z, Merriman B, Perlina A, Lee Y, Dia EQ, Yoshimoto K, Mishcell PC, Liao MB, Cloughesy TF, Nelson SF. Distict traanscription profiles of primay and secondary glioblastoma subgroups. *Cancer Res*. 66: 159-167, 2006.
 111. Pelloski CE, Mahajan A, Maor M, Chang EL, WOO S, Gilbert M, Colman H, Yang H, Ledoux A, Blair M, Passe S, Jenkins RB, Aidape KH. YKL-40 ekspression associated with poorer response to radiation and shorter overall survival in glioblastoma. *Clin Cancer Res*. 11:3326-34.58-Oblinger JL, 2005.
 112. Pearl DK, Bordman CL, Saqr H, Prior TW, Scheithauer BW, Jenkins RB, Burger PC, Yates AJ. Diagnostic and prognostic value of glycosyltransferase mRNA in glioblastoma multiforme patients. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 32: 410-418, 2006.
 113. Elmlinger MW, Deininger MH, Schuett BS, Mayermann R, Duffner F, Grote EH, Ranke MB. In vivo expression of insülin-like growth factor-binding protein-2 in human gliomas increases with the tumor grade. *Endocrinology*. 142: 1652-1658, 2001.
 114. Stupp R, Hegi M.E, Van Den Bent M.J, Masom W.P, Weller M, Mirimanoff R.O, Cairncross J.G, Changing paradigms: an update on the multidisciplinary management of malignat gliom. 11: 165-180, 2006.
 115. Esteller M, Hamilton S.R. Burger P.C, Baylin S.B, Herman J.G. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA metyl transferase by promoter hypermetilation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer* 59: 793-797, 1999.
 116. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Wellwe M, Kros JM, Hainfellner JA, Mason W, Mariani L, Bromberg JE, Hau P, Mirimanoff MO, Cairncross JG, Janzer RC, Stupp R, MGMT gene silecing and benefit from temozolamide in glioblastom. *N Engl J Med*. 352: 997-1003, 2005.
 117. Hengstler J.C, Tanner B, Moller L, Meiner R, Kaina B. Activity of O6-methylguanine-DNA metyl transferase in relation to p53 status and therapeutic response in ovarian cancer. *Int J Cancer*. 84: 388-395, 1999.
 118. Esteller M, Risques R.A, Toyota M, Capella G, Moreno V, Peidano M.A, Baylin S.B, Herman J.G, Promoter hyper methyllation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA metyl transferase is associated with the presence of G:C to A:T transition mutations in p53 human colorectal tumorigenesis. *Cancer Res*. 61: 4689-4692, 2001.
 119. Zhang Y.J., Chen Y, Ahsan H, Lunn R.M, Lee P.H.,. Inactivation of DNA repair gene O6-methylguanine-DNA metyl transferase by promoter hypermethylation and its relationship to aflatoxin B1-DNA adducts and p53 mutation hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*. 103: 440-444, 2003.
 120. Happasalo H, Isola J, Sallinen P, Kalimo H, Helin H, Rantala I. Aberrant p53 expression in astrocytic neoplasms of the brain: association with proliferation. *Am. J. Pathol*, 142(5): 1347-51, 1993.
 121. Hirose Y, Berger MS, Pieper RO: p53 effects bot the duration of G2/M arrest and the fate of temozolomide-treated human glioblastoma cells. *Cancer Res*, 61: 1957-1963, 2001.

122. Broccio A, Bufalo DD, Ricca a, D'Angelo C, D'Orazi G, Sacchi A, Soddu S, Zupi G: Increase of BCNU sensitivity by wt-p53 gene therapy in glioblastoma lines depends on the administration schedule. *Gene Ther*, 6:1064-1072, 1999.
123. Grombacher T, Eichorn H, Kaina B: p53 is involved in regulation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyl transferase (MGMT) by DNA damaging agents. *Oncogene*. 17: 845-851, 1998.
124. Nutt CL, Loktionova NA, Pegg AE, Chambers AF, Cairncross JG: O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase activity, p53 gene status and BCNU resistance in mouse astrocytes. *Carcinogenesis*, 20:2361-65, 1999.
125. Esteller M, Risques RA, Toyota M, Capella G, Moreno V, Peidano MA, Baylin SB, Herman JG. Promoter hypermethylation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyl transferase is associated with the presence of G:C to A:T transition mutations in p53 in human colorectal tumorigenesis. *Cancer Res*. 61: 4689-4692, 2001.
126. Srivenugopal KS, Shou J, Mullanpudi SR, Lang FF Jr, Rao JS, Ali-Osman F. Enforced expression of wild-type p53 curtails the transcription of the O6-methylguanine-DNA methyl transferase in human tumor cells and enhances their sensitivity to alkylating agents. *Clin cancer Res*, 7:1398-1409, 2001.
127. Taylor S.M. p53 and deregulation of DNA methylation in cancer. *Cellsci Rev*, 2.(3), 2006.
128. Shamsara J, Sharif S, Afsharnezhad S, Lotfi M, Raziee HR, Ghaffarzaghan K, Morad A, Rahighi S, Behravan J. Association between MGMT promoter hypermethylation and p53 mutation in glioblastoma. *Cancer Invest*, 27: 825-829, 2009.
129. M. Preusser, R.C. Janzer, J Felsberg, G.Reifenberger, M.F. Hamou, A.C. Diserens, R. Stupp, T. Gorlia, C. Marosi, H. Heinzl, J.A. Heilfeller, M.Hegl. Anti-O6-Methylguanine-Methyltransferase (MGMT) Immunohistochemistry in Glioblastoma Multiforme: Observer Variability and Lack of Association with Patient Survival Impede Its Use as Clinical Biomarker. *Brain Pathology* 4:520-32, 2008.

Ek 1. Olguların Klinikopatolojik Tanımlayıcı Verileri

Olgu	Cinsiyet (kadın/erkek)	Yaş (yıl)	Sağ kalım(ay)	Canlı/ Eksitus	Lokalizasyon	p53*	MGMT**	Histopatolojik tanı	Tedavi şekli
1	K	70	4.06	E	sağ parietal	1+	1+	GBM	yok
2	K	69	1.03	E	sağ frontal	2+	-	GBM	yok
3	E	43	7.83	E	sol temporal	1+	-	GBM	yok
4	K	58	10.8	E	sağ oksipital	1+	-	GBM	yok
5	E	72	2.2	E	sol parietal	1+	-	GBM	yok
6	K	69	60.03	E	sağ temporal	2+	-	GBM	yok
7	E	77	9.76	E	sol temporal	2+	1+	GBM	yok
8	E	40	14.33	E	sağ parietal	-	-	GBM	yok
9	K	40	28.06	E	sağ temporal	2+	-	GBM	yok
10	E	63	12.76	E	sol oksipital	1+	-	GBM	yok
11	E	58	12.2	E	sağ temporal	1+	-	Dev hücreli GBM	kt
12	E	66	2.76	E	sol temporal	-	-	GBM	yok
13	K	21	30.83	E	frontal	2+	-	GBM	yok
14	E	54	6.6	E	sağ frontal	1+	2+	GBM	yok
15	K	82	2.13	E	sağ temporal	-	-	GBM	yok
16	K	25	-	-	sol talamus	-	-	GBM	yok
17	K	61	4.16	E	sağ parietal	1+	1+	GBM	yok
18	K	72	7.93	E	sağ parietal	1+	1+	GBM	yok
19	E	51	26.06	E	sağ temporal	1+	-	GBM	yok
20	K	29	2.00	E	sol parietal	-	1+	GBM	yok
21	K	57	3.03	E	sol frontal	1+	-	GBM	yok
22	E	1	-	-	sol parietal	-	2+	GBM	yok
23	E	61	1.53	E	sol temporal	-	-	GBM	yok

Ek 1. Olguların Klinikopatolojik Tanımlayıcı Verileri

24	E	42	-	C	sol frontal	1+	1+	GBM-O	yok
25	K	48	19.1	E	sol temporal	-	1+	GBM	yok
26	E	38	16.6	E	sağ parietal	1+	-	GBM	yok
27	E	62	0.56	E	beyin	-	1+	GBM	yok
28	E	51	11.26	E	sol frontal	-	-	GBM	kt
29	E	60	-	-	sol frontal	1+	1+	GBM	yok
30	K	67	0.56	E	sağ parietal	-	-	GBM	yok
31	E	73	7.16	E	sol parietal	1+	1+	GBM	yok
32	E	53	-	C	sol temporal	-	-	GBM	yok
33	E	69	-	-	sol oksipital	1+	1+	GBM	yok
34	E	59	9.9	E	sağ temporal	1+	-	GBM	yok
35	E	62	2.33	E	Sağ temporal	1+	-	GBM	yok
36	K	92	0.86	E	sağ ventrikül	-	-	GBM	yok
37	E	69	0.6	E	sol frontal	-	1+	GBM	yok
38	E	38	18.2	E	oksipital	-	-	GBM	yok
39	E	49	10.9	E	sağ parietal	-	1+	GBM	yok
40	K	55	14.76	E	parietal	-	-	GBM	kt
41	E	58	1.76	E	sağ parietal	-	-	GBM	yok
42	E	35	-	-	sol temporal	2+	-	GBM	yok
43	E	36	9.9	E	sağ temporal	-	-	GBM	yok
44	E	71	0.4	E	sağ parietal	-	-	GBM	yok
45	E	62	10.33	E	Sol parietal	1+	1+	GBM	yok
46	K	78	10.13	E	sağ parietal	-	2+	GBM	yok
47	E	45	11.00	E	sağ frontal	2+	-	GBM	yok
48	E	54	13.96	E	sağ parietal	-	1+	GBM	yok

Ek 1. Olguların Klinikopatolojik Tanımlayıcı Verileri

49	E	63	0.96	E	temporal	1+	-	GBM	yok
50	E	54	39.00	E	sol frontal	2+	-	GBM	yok
51	K	56	16.93	E	sağ frontal	-	-	GBM	yok
52	E	57	1.86	E	sol frontal	1+	-	GBM	yok
53	E	65	33.13	E	sağ temporal	1+	1+	GBM	yok
54	E	59	8.56	E	sağ temporal	1+	-	GBM	kt
55	K	77	5.93	E	sağ frontal	2+	1+	GBM	yok
56	E	66	-	-	sağ parietal	1+	-	GBM	yok
57	K	53	3.4	E	sol temporal	1+	1+	GBM	yok
58	K	55	18.06	E	sol oksipital	1+	2+	GBM-O	yok
59	E	34	7.43	E	sağ temporal	1+	1+	GBM	yok
60	E	53	-	C	sol parietal	1+	-	GBM	kt
61	E	61	3.23	E	korpus kallozum	-	1+	GBM	yok
62	E	60	1.7	E	sol parietal	1+	-	GBM	yok
63	K	73	6.1	E	sol temporal	2+	1+	GBM	yok
64	E	48	-	C	sağ frontal	1+	-	GBM-O	yok
65	E	65	12.46	E	sağ temporal	1+	1+	GBM	yok
66	E	41	15.2	E	sağ frontal	1+	1+	GBM	kt
67	E	43	3.1	E	3.ventrikül içi	2+	-	GBM	yok
68	K	50	-	C	sol parietal	2+	-	GBM	temo
69	E	75	1.3	E	serebellum	2+	-	GBM-O	kt
70	E	64	-	C	sağ temporal	1+	-	GBM	yok
71	E	69	14.13	E	sol parietal	2+	-	GBM	temo

*p53ekspresyon derecelendirmesi : (-) negatif ; %0-10 oranında ekspresyon, 1+; %10-50, 2+; %51-100, **MGMT: (-) negatif ; %0-10, 1+; %10-50, 2+; %51-100, GBM: Glioblastoma, GBM-O; Oligodendrogial komponent içeren glioblastom