

**SINEM DEMİRBAĞ**

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL.  
ENST.**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İSTANBUL-  
2017**



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**T HÜCRE İMMÜNİTESİNDE FONKSİYON  
GÖSTEREN CTLA-4 GEN VARYANTLARININ  
BEYİN KANSERİYLE OLASI İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**SİNEM DEMİRBAĞ**

**DANIŞMAN  
PROF.DR.İLHAN YAYLIM**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI  
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

**İSTANBUL-2017**

**TEZ ONAYI****YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü**, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Programında Yüksek Lisans öğrencisi **Sinem DEMİRBAĞ** tarafından Prof. Dr. İlhan YAYLIM'ın danışmanlığında hazırlanan "**T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren CTLA-4 Gen Varyantlarının Beyin Kanseriyle Olası İlişkinin Araştırılması**" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından. 02 / 06/2017 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı / Danışman**

**Prof. Dr. İlhan YAYLIM**

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE Moleküler Tıp  
Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Ümit ZEYBEK**

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE  
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Ali Osman GÜROĞ**

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE  
İmmünoloji Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN**

İ.Ü. Aziz Sancar DETAE Moleküler  
Tıp Anabilim Dalı

**Yardı. Doç. Dr. Yemilha YILDIZ**

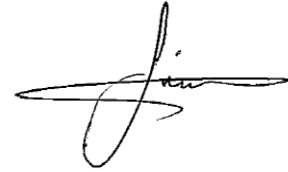
İstinye Üni. Sağlık Hizm. Y.O  
Tıbbi Hizm. ve Tek. Bölümü



**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

SİNEM DEMİRBAĞ



## İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenen ve ihtiyaç duyduğum her konuda desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof Dr. İlhan YAYLIM'a, bu çalışmanın uygulama aşamasında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım İÜ Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nden Saime TURAN ve Ar.Gör.Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN'e, örneklerin toplanmasında yardımcı olan İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. M.Ali Kafadar'a, tez aşamasında teorik ve pratik bilgilerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Hani Alsadoni, Faruk Çelik, Sibel Şabançelebi, Roya Mashediyeva'ya teşekkür ederim

Ayrıca bu zorlu süreçte her durumda yanımda olan başta Tanju Sarıkaya olmak üzere, anne babama, kardeşlerim Karahan Demirbağ, Didem Demirbağ ve İrem Demirbağ'a diğer akraba ve dostlarıma da teşekkürü bir borç biliyorum

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 57288

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN .....	<b>HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.</b>
İTHAF .....	İV
TEŞEKKÜR .....	Vİ
İÇİNDEKİLER.....	Vİİ
TABLolar LİSTESİ .....	İXİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	Xİ
ÖZET .....	Xİİİİ
ABSTRACT .....	XİVİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Beyin.....	4
2.1.1.Beynin Bölümleri.....	5
2.1.2.Bağlantı Oluşturma.....	5
2.1.3.Nöronal devre parçalarının Örüntüsü.....	6
2.1.4.Kan-Beyin Bariyeri.....	7
2.1.5.Beyin Hücreleri.....	8
2.1. Beyin ve İmmün sistem.....	10
2.2.1. Sinir Sistemi ve İmmün Sistem İletişimi.....	12
2.2.1.1. Endokrin ve Otonom Sistem Yolakları.....	12
2.2.1.2. Nöroadrenerjik yolak: Katekolaminler (NE, E).....	12
2.2.1.3. Dopaminerjik yolak: Dopamin (DA).....	12
2.2.1.4. Peptiderjik yolak: nöropeptidler.....	12
2.2.1.5. İmmün modülasyonda yer alan beyin bölgeleri.....	13
2.2.2. Beyin tümörleri immün sistem ilişkisi.....	13
2.2.2.1. İmmün sistem ve kanser.....	13
2.2.3. Merkezi Sinir Sistemi Ve Kanser Arasındaki İlişkili.....	16
2.2.3.1. MSS immün çevresinin düzenlenmesi.....	16
2.2.3.2. Tümör Antijen Sunumu: MSS.....	17
2.3. Beyin Tümörleri.....	17



2.3.1. Beyin tümörlerinde kan beyin bariyeri.....	19
2.3.2. Beyin tümörlerinin sınıflandırılması.....	20
2.3.2.1. Primer beyin tümörleri.....	20
2.3.2.2. Metastatik tümörler.....	21
2.4. CTLA-4'ün yapısı ve fonksiyonu.....	21
2.4.1. CTLA-4.....	21
2.4.2. CTLA-4 Aksiyon mekanizması.....	23
2.4.3. Regülatör T hücrelerinde CTLA-4.....	24
2.4.4. CTLA-4 İntrinsik ve ekstrinsik fonksiyon modelleri.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Örneklerin toplanması.....	29
3.2. Periferik kandan DNA izolasyonu.....	29
3.3. PCR analizi.....	30
3.4. Restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	31
3.5. Agaroz Jel elektroforezi.....	31
3.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	31
4. BULGULAR .....	32
5. TARTIŞMA .....	39
KAYNAKLAR.....	43
HAM VERİLER .....	62
FORMLAR.....	73
ETİK KURUL KARARI .....	79
PATENT HAKKI İZİNİ .....	81
TELİF HAKKI İZİNİ .....	82
ÖZGEÇMİŞ.....	83

**TABLolar LİSTESİ**

Tablo 1: Kullanılan PCR bileşenleri.....	30
Tablo 2: Kullanılan RFLP bileşenleri.....	31
Tablo 3: Hastaların risk parametrelerine göre dağılımı.....	34
Tablo 4: Primer beyin tümörlü hasta grupları ve sağlıklı kontrollerde CTLA-4 49A>G genotiplerin dağılımı.....	35
Tablo 5: Primer beyin tümörlü hasta grupları ve sağlıklı kontrollerde CTLA-4 49A>G genotipleri ve allel frekansı dağılımı.....	36
Tablo 6: Diffuz astrositoma, oligodendrogial tümörlü hastalar ve kontrollerde CTLA-4 49A>G genotipleri ve allel frekansı dağılımı.....	36
Tablo 7: Meningiom ve kontrollerde CTLA-4 49A>G genotipleri ve allel frekansı dağılımı.....	37
Tablo 8: Diffuz astrositoma ve oligodendrogial tümörlü hastaların alt grup ve klinik özelliklere göre CTLA- 4 49A > G gen polimorfizmlerine ait genotip dağılımları.....	37

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Beynin Bölgeleri [15].....	4
Şekil 2: Beynin Bölümleri: Temporal Lob, Oksipital Lob, Pariyetal Lob, Duyu Korteksi ve Motor Korteks [14].....	5
Şekil 3: Kan beyin bariyerinin şematik gösterimi [33].....	7
Şekil 4: Nöron hücrenin şematik gösterimi [32].....	8
Şekil 5: Nöroimmün intereaksiyonların şematik gösterimi [33] .....	10
Şekil 6: İmmünoregülasyonda Yer alan Beyin Bölgelerinin Lokasyon Şeması [64,65].....	14
Şekil 7: Beyin tümörlerinin lokasyon şeması [117]. .....	17
Şekil 8: Kan beyin bariyeri ve Kan tümör bariyeri'nin şemataik gösterimi [115]. .....	19
Şekil 9: DSÖ beyin tümörleri sınıflandırılması [196] <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	
Şekil 10: CTLA-4 gen lokusu [125].....	22
Şekil 11: CTLA-4 splay varyantları [121] ..... <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	
Şekil 12: CTLA-4 yüzey ekspresyonu ve internalizasyonu [135]. <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	
Şekil 13: CTLA-4 fonksiyonunun T hücre intrinsik modeli. <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	
Şekil 14: B7/CD28/CTLA-4 yolağı aksiyon mekanizması [154] <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	
Şekil 15: CTLA-4 49 PZR agaroz jel görüntüsü <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	
Şekil 16: CTLA-4 49 RFLP agaroz jel görüntüsü <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

- CTLA-4: sitotoksik T lenfosit antien 4
- MSS: merkezi Sinir sistemi
- RFLP: restriksiyon Fragmenti Uzunluk Polimorfizmi
- PD-L1: programlanmış hücre ölüm ligandı 1
- KBB: kan-beyin bariyeri
- BKEH: beyin kılcal endotel hücreleri
- Ag: antijen
- SSS: sempatik sinir sistemi
- NK: natural Killer
- NE: nörepinefrin
- E: epinefrin
- DA: dopamin
- AMPA:  $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepripiyonik asit reseptör
- GluR3: glutamat reseptör-3
- DsDNA: double strand DNA
- DNA: deoksiribonükleik asit
- TIM-3: t-hücre immoglobulin ve müsin protein-3
- GITR: glukokortikoid uyarılmış TNFR ailesiyle ilişkili reseptör
- TNFR: tumor nekroz faktör reseptörü
- KIR: killer hücre immünoglobülin benzeri reseptör
- PDL-1: programlanmış hücre ölümü ligand-1
- IFN-  $\gamma$ : interferon gama
- APC: antijen sunan hücre
- FICTLA-4: full length CTLA-4
- sCTLA-4: solübl CTLA-4
- liCTLA-4: ligand bağımsız CTLA-4
- TGN: trans golgi ağı
- TCR: t hücre reseptörü
- TRIM:t hücre reseptörü interakt molekül.

ARF-1: adenzin difosfat ribozilasyon faktör

GTPaz: guanozin trifosfataz

PI3K: fosfotidil inositol 3 kinaz

AP-1: adaptör protein-1

AP-2: adaptör protein 2

WT: wild tip

KO: knock out

IDO: indolamin 2-3-dioksijenaz

LFA1: lenfosit fonksiyon ilişkili antijen 1



## ÖZET

DEMİRBAĞ S. T hücre immünesinde fonksiyon gösteren CTLA-4 gen varyantlarının beyin kanseriyle olası ilişkisinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2006.

Beyin tümörleri, beyinden veya metastaz yapmış sistemik tümörlerden gelişen yüksek morbiditeye sahip farklı bir kanser spektrumunu temsil eder. 0-19 yaş arasında lösemiden sonraki ikinci önemli kanser türüdür ve bu yaşlarda çocuk ölümlerinin en önemli nedenidir. Günümüzde yapılan araştırmalar immün sistem ve antienflamatuar yanıtta meydana gelen aksaklıkların ve bu yollarda oluşan hasarların kanser gelişiminde etkili olabileceği kanısını uyandırmaktadır. Kanserde risk belirleme parametrelerinden biri olabileceği düşünülen gen polimorfizm çalışmaları pek çok yaygın kanser türlerinde enflamasyon ve immün sistem ile ilgili pek çok gen üzerinde yürütülmektedir.

Çalışmamız beyin kanseri tanısı konmuş 73 hasta birey ve ailesel olarak herhangi bir kanser tanısı konulmamış olan 116 sağlıklı gönüllü bireyi kapsamaktadır. Çalışmamızda RFLP Methodu kullanılarak CTLA-4 genotipleri tayin edilmiştir. Elde edilen verilerle istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir.

Çalışmamızda CTLA4, A49G fonksiyonel polimorfizmi ve beyin tümörleri arasındaki ilişki araştırıldı. Analiz sonucunda CTLA4 A49G genotipi ve allel frekansları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Ancak homozigot AA ve GG taşıyan hasta grubu frekansı (%70.2) kontrol grubuna göre (%53.4) istatistiksel olarak anlamlı, yüksek frekansta saptanmıştır. Bu çalışma CTLA4 49A>G SNP'si ve beyin tümörleri arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışma niteliği taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler : Beyin Tümörleri, CTLA-4, Polimorfizm, MSS, İmmünite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 57288

## ABSTRACT

DEMİRBAĞ, S. The investigation of a possible relation between CTLA-4 gene variants that functions in T cell immunity and brain cancer. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine. Master's Thesis. İstanbul. 2006.

Brain tumors represent a different cancer spectrum with high morbidity derived from the brain or systemic tumors that have metastasized. These tumors are the second most important cancer type after leukemia in the 0-19 age group and the most important cause of child mortality in these ages. Current research has led to the belief that disruptions in the immune system and the anti-inflammatory response and the damages in these pathways may have an impact on cancer development. Gene polymorphism studies, which are thought to be some of the risk-determining parameters in cancer, are carried out in many genes related to inflammation and the immune system in many common types of cancer.

This study included 73 patients who were diagnosed with brain cancer and 116 healthy volunteers who were not diagnosed with any cancer. Individuals with a negative family history of cancer and have no symptoms of brain cancer were selected for the control group. In the study, CTLA-4 genotypes were determined using the RFLP Method. The obtained data were analyzed using statistical methods.

In our study, the relationship between CTLA4 49A>G functional polymorphism and brain tumors was investigated. As a result of analysis, CTLA4 A49G genotype and allele frequencies were not significantly different between patient and control groups. However, the frequency of homozygous AA and GG patients (70.2%) was statistically significantly higher than the control group (53.4%). This study is the first study to investigate the relationship between CTLA4 49A>G SNP and brain tumors.

**Key Words:** Brain Tumors, CTLA-4, CNS, Polymorphism, Immunity

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 57288

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beyin tümörleri beynin kendisinden köken alan (Primer beyin tümörleri) veya metastatik olarak beyinde yer alan tümörleri (Sekonder beyin tümörleri)'ni kapsamaktadır [1]. Orjini beyinde olan tümörler primer beyin tümörü olarak adlandırılırken vücudun başka bir bölümünde başlayıp beyine yayılan tümörler ise metastatik beyin tümörü olarak adlandırılır [2]. Primer beyin tümörleri, beyin parenkiması tümörleri, meninksler, kraniyal sınırlar ve diğer intrakraniyal yapı tümörlerinden oluşmaktadır (hipofiz ve pineal bezler). Beyin tümörleri tüm kanser türlerinin %2'sini oluştursa da beyin tümörlerinin 5'te 1'lik kısmında bu oran daha fazla olup meme ve akciğer kanseri kadar yaygındır [1] Gliomalar 100.000'de 5 insidansa sahip en yaygın primer malign beyin tümörleridir ve bu tümörlerin çoğunun nedeni tam olarak bilinmemektedir [3,4]. Günümüzde, cerrahideki, radyoterapideki ve kemoterapideki gelişmelere rağmen, glioma hastalarının sağ kalım süreleri sadece 12 ila 15 ay arasındadır [5]. Gliomaların immünoterapisi ise yeni gelişen bir alan olarak yüksek spesifiklikte ve daha az toksik tedavi özelliğinde umut vadeden bir alandır [2]. İmmünoterapideki temel engel tümör uyarılmış immün baskılamadır ve bu baskılanmanın temel mekanizması bilinmemekle birlikte regülatör T hücreleri, tümör ilişkili PD-L1 ekspresyonu ve CTLA-4 sinyalinden oluşan oluşan bir kombinasyonun neden olduğu düşünülmektedir [2]. Erken aşama T-lenfosit aktivasyonunu modüle eden Sitotoksik T-lenfosit antijen 4 (CTLA-4)'ün hedeflenmesinin ise gliomalarda immünoresistansın geriye çevrilmesinde etkili olduğu kanıtlanmıştır [6]. Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen T-4 (CTLA4) tümör ilişkili antijenler dahil çeşitli antijenlere karşı adaptif immün cevabın oluşmasına karşı kısıtlayıcı rol oynar [7]. Bugüne kadar yapılan araştırmaların sonuçları CTLA-4'nin T hücrelerinin aktivasyonunun ve proliferasyonunun negatif yönde düzenlenmesinde önemli rol oynadığı görüşünü desteklemektedir. Daha önce yapılan araştırmalarda çeşitli CTLA-4 gen polimorfizmlerinin; Graves hastalığı patogenezi [8], meme kanseri riski [9], artmış kolorektal kanser riski [10], kemik iliği karsinomaları [11], servikal kanser [12] ve çocuklarda akut lenfoblastik lösemi [13] ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Kanserde risk belirleme parametrelerinden biri olabileceği düşünülen gen polimorfizim çalışmaları pek çok yaygın kanser



türlerinde enflamasyon ve immün sistem ile ilgili pek çok gen üzerinde yürütülmektedir.

Bu çalışmada CTLA-4 geninin genotip ve allelik dağılımlarının gösterilmesi ve bu dağılımların beyin kanseri gelişimindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamız beyin kanseri tanısı konmuş 73 hasta birey ve ailesel olarak herhangi bir kanser tanısı konulmamış olan 116 sağlıklı gönüllü bireyi kapsamaktadır. Çalışmamızda RFLP Methodu kullanılarak CTLA-4 genotipleri tayin edilmiştir.



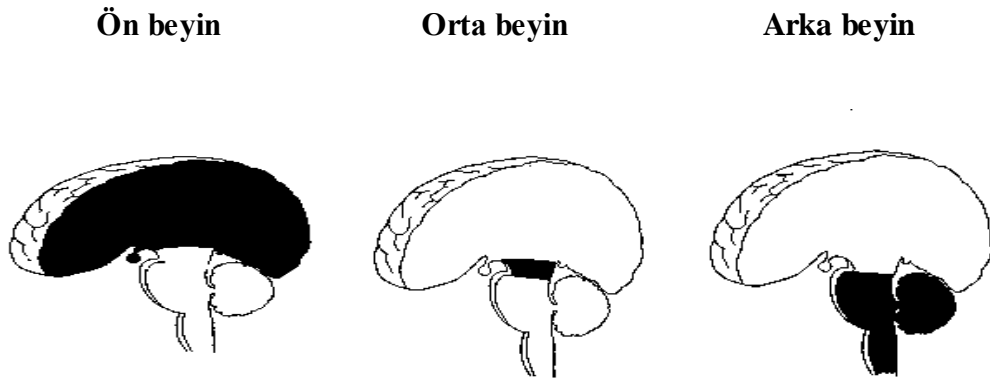


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Beyin

Beyin ektodermden gelişen ve mezodermden gelen uyarılara yanıt oluşturan en kompleks organdır [14]. Bu üç yumruğu kompleks yapı zekanın, duyarıları yorumlamanın, vücut hareketlerini başlatmanın ve davranışları kontrol etmenin merkezidir [15]. Beyin canlılar arasında farklılık gösteren birbirlerine bağlı  $10^{11}$  nörondan meydana gelmiştir[14]. Beynin tüm kısımları birlikte çalışır fakat her biri kendine has özelliklerine göre fonksiyon görürler [15]. Beyin üç temel birim olarak sınıflandırılabilir: ön beyin (forebrain), ortabeyin (midbrain) ve arkabeyin (hind brain) [15].

Arka beyin, omiriliğin üst kısmı, beyin sapı ve beyincik olarak da bilinen kıvrımlı bir dokudan oluşmaktadır [15]. Bu kısım vücudun solunum ve kalp atımı gibi hayati fonksiyonlarını kontrol eder. Beyincik hareketi koordine eder ve buna bağlı olarak öğrenilen rotalarda hareket etmede görev alır. Beynin en üst kısmında ortabeyin bulunur. Bu kısım bazı refleksleri kontrol etme ve göz hareketleri gibi istemli hareketleri kontrol etmede görev alır [15]. Ön beyin insan beyninin en gelişmiş ve en geniş kısmıdır. Temel olarak serebrum ve onun alt kısmındaki kuytu yapılardan oluşur. Serebrum derin bir yarığın ile iki yarım küreye ayrılmıştır. Bu ayırma rağmen iki serebral yarımküre yarığın alt kısmında uzanan kalın bir sinir ağı sayesinde birbirleriyle iletişim halindedir. Bu iki yarımküre birbirinin ayna görüntüsü gibi görülse de gerçekte durum farklıdır. Örneğin sol yarımkürenin kelimeleri oluşturma da primer yeteneğe sahip olduğu görülürken sağ yarımkürenin soyut akıl yürütmeyi kontrol ettiği görülmektedir [15]. Her bir serebral yarımküre farklı fonksiyonlara sahip bölümlere veya loblara ayrılabilir [15];



Şekil 1: Beynin Bölgeleri [15]

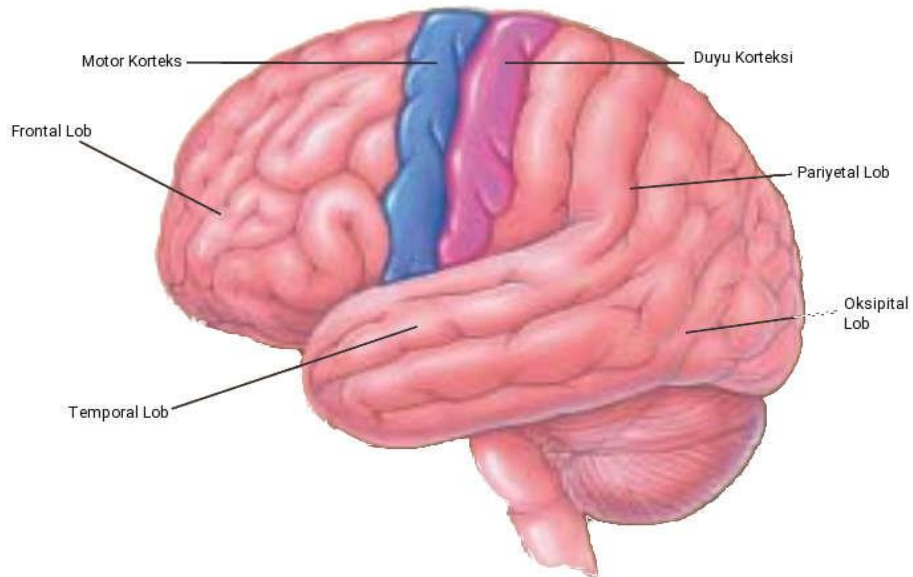
### 2.1.1. Beynin Bölümleri

**Frontal Lob:** Beynin ön kısmını içine alan bölgedir ve kasları aktifleştiren motor nöronlara kadar uzanabilen aksonlara sahiptir[14]. Düşünme, planlama, organizasyon, problem çözme, kısa süreli hafıza ve hareketi kontrol eder [16].

**Pariyetal Lob:** Beynin dorsal kısmından posterior kısmına kadar uzanan bölgedir ve oksipital lob ile arasındaki sınır tam olarak belirgin değildir [17]. Dokunma, sıcaklık ve tat alma gibi duyuusal bilgileri yorumlamada görev alır [16].

**Oksipital Lob:** Pariyetal lob ile sınırı tam olarak bilinmemekle birlikte posterior bölgenin uç kısımlarına kadar giden bölgedir [17]. Gözden alınan görüntüleri işler ve bu bilgilerle hafızada depolanan görüntüler arasında bağlantı kurmada görev alır.[16]

**Temporal Lob:** Dilin yapısına benzer bir görünümü olan bu bölge pariyetal ve oksipital loblar arasından anterior bölgeye kadar uzanır [17]. Koku, tat alma ve işitme duyularından gelen bilgiyi işler. Bu lob ayrıca hafıza depolamada rol almaktadır [16].



**Şekil 2:** Beynin Bölümleri: Temporal Lob, Oksipital Lob, Pariyetal Lob, Duyu Korteksi ve Motor Korteks [14].

**2.1.2. Bağlantı Oluşturma:** Beyin ve sinir sisteminin kalan kısımları birçok farklı türde hücreden oluşmuştur fakat primer fonksiyonel hücreler 'nöron' olarak bilinmektedir [15]. İnsan beyni yaklaşık olarak 86 milyar nörondan meydana gelmektedir [18]. Tüm duyular, hareketler, düşünceler, hafıza ve hisler nöronlar boyunca iletilen sinyallerin birer

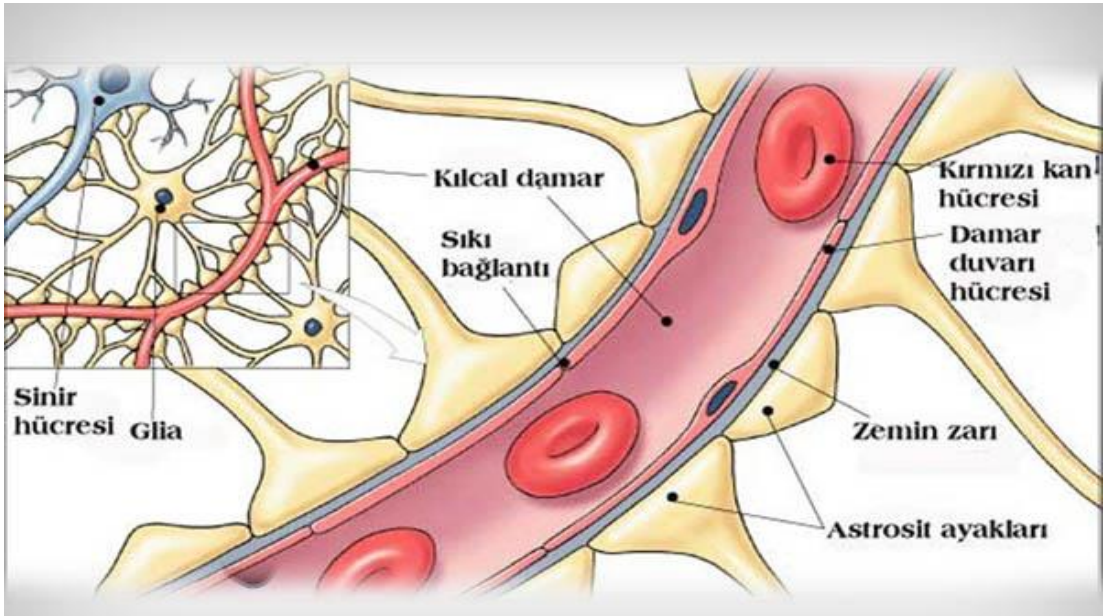
sonucudur. Bir nöron üç kısımdan oluşmaktadır: hücre gövdesi, dentritler ve aksonlar. Hücre gövdesi, nöronların survisi ve fonksiyonu için gerek duyduğu moleküllerin çoğunun üretildiği yer olan nükleusu içerir [19]. Dentritler hücre gövdesinden dışarı doğru uzanan yapılardır ve sinir hücrelerinden gelen mesajları almakla görevlidirler. Dentritlerden alınan sinyaller daha sonra hücre gövdesinden aksona doğru diğer bir nörona, kas hücresine veya diğer bir organdaki hücreye gönderilmek üzere hareket eder [15]. Nöronlar genel olarak bir çok destekleyici hücre tarafından çevrelenmiştir. Bazı hücre türleri yalıtkan bir kılıf oluşturmak için aksonu sarmalamıştır. Bu kılıf bir yağ molekülü olan myelin içerebilir ve myelin sayesinde akson üzerinde yalıtım sağlanarak sinir hücrelerinin daha hızlı ve daha uzak mesafelere seyahat etmesine olanak sağlar [15]. Aksonlar bir hücrenin korteksindeki sinyali saç kalınlığından daha kısa mesafedeki başka bir hücreye taşıyabilecek kadar kısa olabilir. Veya bir mesajı beyinden omiriliğin kısımlarına iletecek kadar uzun olabilmektedir. Sinapslar nöron boyunca iletilen sinyallerin başka bir sinir hücresine geçiş yaptıkları bölgelerdir. Nöronlar hakkında elde edilen bir çok bilgi sinapsların incelenmesiyle ortaya çıkmıştır [15]. Bir sinyal aksonun uç kısmına ulaştığında ufak keseciklerin salınımını uyarır. Bu kesecikler sinapslarda nörotransmitter olarak bilinen kimyasal salınımı yaparlar. Nörotransmitterler daha sonra sinapslardan geçerek komşu hücredeki reseptörlere tutunurlar. Bu reseptörler sinyal alan hücrenin özelliklerini değiştirebilmektedir. Eğer alıcı hücre bir nöronsa böylelikle sinyal bir sonraki hücreye iletebilir [15].

**2.1.3. Nöronal Devre Parçalarının Örüntüsü:** Merkezi sinir sistemindeki hücresel organizasyon günümüz anlayışına göre nöronal bağlantının üç temel örüntüsüne göre sınıflandırılır. Bunlardan ilki *Uzun hiyerarşik nöronal bağlantılar*'dır [20]. Bu tip bağlantılar primer sensör ve motor yolaklarda görülür. Bilginin transferi sıralı bir şekilde yapılır ve bağlantılı nöronlar hiyerarşik anlamda birbiriyle iletişim içindedir. Primer reseptörler (retina, iç kulak, olfaktor epitel, dil veya derideki) bilgiyi ilk olarak primer yedek hücrelere iletirler sonra ikincil yedek hücrelere ve son olarak serebral korteksin sensor alanlarına iletirler [20]. Bu hiyerarşik organizasyon şeması kesin bir bilgi akışını sağlar fakat bağlantıların herhangi birindeki aksama tüm sistemi çalışamaz hale getirir. İkinci bir nöronal bağlantı örüntüsü ise *Lokal devre nöronları*'dır. Nöronlar bağlantılarını temel olarak hemen yakınlarındaki kısımlarda kurarlar. Bu tip lokal nöron devreleri sıklıkla küçük boyuttadır ve diğer nöronlara göre daha az fonksiyona sahiptir [20]. İnternöronlar bilgi akışını uzaysal alanları içinde engelleyip kolaylaştırabilirler ve

böylece kısa aksonlarında aksiyon potansiyeli üretmeye gerek duymayabilirler. *Tek kaynaklı iraksak devre parçaları* üçüncü bir nöronal bağlantı örüntüsüdür ve hipotalamus, pons ve medulla nöronları gibi belirli nöronlar tarafından kullanılır [20]. Bu nöronlar kümелendikleri anatomik lokasyonlarından bir çok hedef hücreye çoklu branslaşmış ve uzak bağlantılar yaparlar. Bu hedef bölgeler çoğunlukla nöron kökenlerinin yer aldığı beyin bölgeleridir [20].

#### 2.1.4. Kan-Beyin Bariyeri

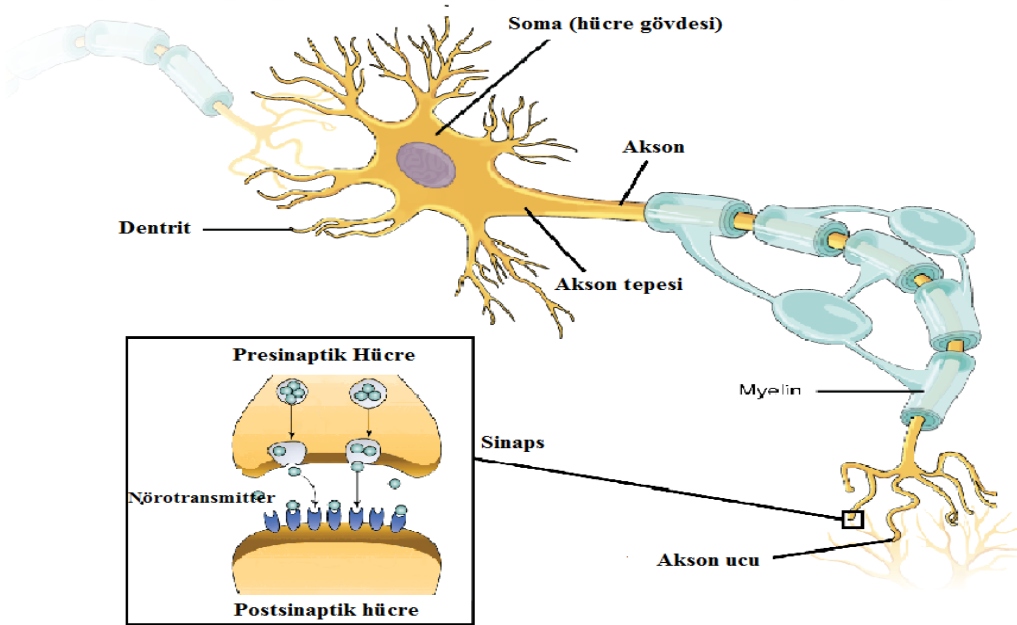
Kan beyin bariyeri (KBB) kan dolaşımı ve Merkezi sinir sistemi arasında belirli maddelerin geçişine izin veren 'geçirgen' bir bariyerdir. Bu bariyerin varlığına kanıt olarak plazma ve beyindeki lipofobik kimyasalların oranının büyük farklılığa sahip olması gösterilir. Burada spesifik enerji bağımlı transport sistemleri seçici bir erişime izin vermektedir. Difüzyon bariyerler maddelerin beyinden kana ya da kandan beyine taşınmasını geciktirir [20]. Kan Beyin Bariyeri kanın içerisindeki bileşenlerin beyne geçişini kontrol ederek beyin homeostazını kurar [21,22]. Bu bariyer perisitler, astrositler ve bariyer fonksiyonunda görev alan nöronal hücrelerin yanısıra temel olarak beyin kılcal endotel hücrelerinden (BKEH) oluşturulmaktadır [22]. Beyin Kılcal Endotel Hücreleri'nin sıkı bağlantısı küçük ve büyük suda çözünebilir moleküllerin kandaki sirkülasyondan beyne paraselüler transportunu engellemektedir. Yalnızca su ve karbondioksit gibi bazı çok küçük moleküller ya da gazlar KBB'den geçebilmektedir [Fig 3, 21,22,23]. Fiziksel bariyerin yanısıra çok sayıda fonksiyonel bariyer beyne



Şekil 3: Kan beyin bariyerinin şematik gösterimi [33].

efektif ilaç dağılımı noktasında engeller yaratarak KBB'nin restriktif doğasına katkıda bulunmaktadır [24-21]. Ayrıca sıkı bağlantılara ek olarak bir grup geçiş transportu (örneğin: P-glukoprotein (Pgp), meme kanseri direnç proteini ve multi-ilaç direnci ilişkili proteinler) beyin dokusunda eksprese edilir ve geniş çaptaki lipofilik ilaç gruplarının MSS'den hızlı geçişine neden olmaktadır [25,26]. Ayrıca KBB'deki çok sayıda degradatif enzim farklı bir fonksiyonel bariyer yaratmaktadır [22,24,25]. Beyin, koroid pleksustaki asit transport sistemi aracılığıyla serebrospinal sıvıdaki transmitterlerin metabolitlerini temizler. Kan beyin bariyeri hipotalamus ve diğer küçük özelleşmiş organlarda çok daha az belirgin olarak görülür. Periferal sinir sisteminde herhangi bir difüzyonel bariyer bulunmamaktadır [20].

**2.1.5. Beyin Hücreleri:** Beyinde bulunan yapılar 100 milyar nöronun yanısıra 'glia' olarak adlandırılan trilyonlarca destekçi hücreden oluşmuştur. Nöronal olmayan hücreler; makroglia, mikroglia, beyin kan damarları hücreleri ve koroid pleksus hücrelerinden oluşmaktadır. Koroid pleksus hücreleri ventrikül adı verilen karıncıklarda bulunur ve serebrospinal sıvının büyük bölümünü salgılar. Bu hücreler



**Şekil 4:** Nöron hücresinin şematik gösterimi [32]

aynı zamanda kafatasını koruyan ve serebrospinal sıvıyı içeren kılıfı da oluşturur [29].

**Makroglia:** En çok bulunan destekleyici hücre tipidir [29]. Makroglialar astrositler, oligodentrositler, Schwann hücreleri ve ependymal hücreleri içermektedir [30]. Bazıları astrositler (vasküler yapılar ve nöronlar arasında yer alan nöral olmayan hücreler, sıklıkla bireysel sinaptik kompleksleri çevrelerler.) olarak sınıflandırılırlar [29]. Astrositler nöronları bir yerde tutan, besin sağlayan ve ölü nöronları parçalayan yıldız şeklindeki glialardır [29]. Bu hücreler ayrıca enerji-araürünleri sağlanması ve aşırı miktardaki ekstraselüler nörotransmitter salgısının giderilmesi gibi çok farklı metabolik destek rollerine sahiptir. [20]. Astrositler nöronlarla iletişim kurar ve böylelikle onların aldığı veya gönderdiği sinyalleri modifiye ederler. Bu durum astrositlerin bilgi işlenmesinde ve sinapslardaki sinyallemelede düşünülenenden daha fazla rol aldığı anlamına gelmektedir [29].

Diğer bir öne çıkan makroglia türü ise miyelin-üreten hücreler, oligodentrogliya (veya oligodentrosit)'lardır [20]. Oligodentrositler özelleşmiş hücrelerdir ve miyelin kılıf oluşturmak üzere aksonları sıkı bir şekilde sararlar. Bu hücreler aksone doğru hareket eden elektriksel sinyalleri hızlandırır. Oligodentrositler olmadan bir aksiyon potansiyel aksone doğru 30 kat daha yavaş hareket eder [29].

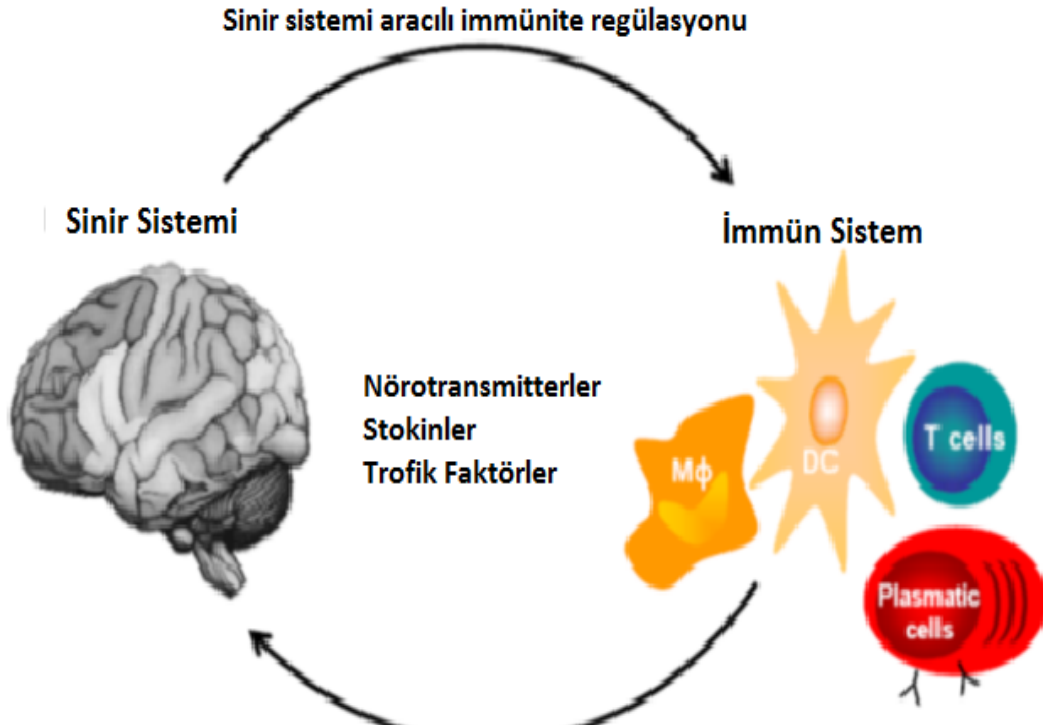
**Mikroglia:** Mikroglialar, sadece beyinde bulunan ve hasarlı veya sağlıklı nöronları tespit eden özelleşmiş immün hücreleridir [29]. Diğer hücrelere kıyasla daha az karakterize edilmiş destekleyici hücre türleridir. Mezodermal kökenli oldukları ve makrofaj/monosit soylarıyla ilgili oldukları düşünülmektedir. Bazı mikroglialar beyinde pasif bir şekilde kalırlar. İntraserebral enflamasyon süresince (örn: enfeksiyon, belirli dejeneratif hastalıklar veya travmatik yaralanma) sirküle makrofajlar ve diğer beyaz kan hücreleri endotel sinyaller tarafından nekrotik dokuyu ayıklamak ve mikrobiyal enfeksiyona savunma oluşturmak üzere beyine çağırılırlar [29]. Mikroglialar, Merkezi sinir sisteminin (MSS) farklı türdeki virüslere karşı korunmasından sorumlu olan endojen beyin savunması ve immün sistemi temsil ederler. Mikroglial hücreler periferden ve mezodermal/ mezenkimal orjinden göç etmiş olan projenitörlerden köken alır [31].



## 2.2. BEYİN VE İMMÜN SİSTEM

Patojen ve malign hücelere karşı bir sürveyans ve koruma sisteminin evrimi doğal ve edinilmiş bağışıklığı içeren daha kompleks bir immün sisteme dönüşene kadar devam etmiştir [33]. Doğal bağışıklık yabancı organizmalara karşı birinci derece savunma bariyerini yapılandırır fakat daha az (Ag)-spesifik tanıma elementi çeşitliliğine sahiptir. Doğal bağışıklığa kıyasla edinilmiş bağışıklık sistemi daha gecikmiş bir yanıt gösterir fakat çok çeşitli Ag-spesifik tanıma elementine sahiptir. Bunun yanı sıra yabancı patojenleri ve tümör hücrelerini elimine etmek ve kendi yapılarına karşı tolerans oluşturmak için oldukça etkili mekanizmalara sahiptir [33].

Beyin ve immün sistem arasındaki ilişkiye dair yapılan gözlemler ve araştırmalar, geleneksel olmayan bir immün sistem görüşünden elde edilmiştir. Bu ilişkinin altında yatan karmaşık mekanizmalar ve bu mekanizmaların hasta ve sağlıklı olma durumuyla bağlantısı doğru bir şekilde anlaşılamamıştır. Belki de en yanlış anlaşılan ilişki beyin, davranış ve immün prosesler arasındaki karşılıklı ilişkilerdir. İmmün yanıtın regülasyonu ile ilgili yapılan araştırmaların çoğu, immün yanıt bileşenlerinin birbirleriyle etkileşime girerek kendisini düzenlediği kanısına dayandırılmıştır. Bu interaksiyonlar helper ve supresör T lenfositler, B hücreleri ve antikor ve efektör T hücrelerinin üretimiyle sonuçlanan yardımcı (accessory) hücreler arasında meydana gelmektedir [34]



*Şekil 5: Nöroimmün intereksiyonların şematik gösterimi [33]*

Nöroimmünoloji ve son olarak da psikonöroimmünoloji alanındaki ileri gelişmeler Merkezi Sinir Sistemi (MSS) ve immün sisteminin birbirlerine derinlemesine bağlı olduğunu ve ayrı sistemler olarak işlev görmediklerini göstermiştir. [36,37,38,39, 40]. Merkezi sinir sistemi, sempatik sinir sistemi (SSS) [41,38, 42] ve hipotalamik-hipofiz-adrenal eksen aktivasyonunu takiben immün sistem üzerinde yaygın bir etkiye sahip olabilmektedir [41]. Nöroimmünoloji sinir sistemi ve immün sistem arasındaki interaksyonu iki farklı yolla analiz etmektedir: sinir sistemi aracılı immünite regülasyonu ve immün sistem aracılı sinir sistemi regülasyonu. Bu iki tür interaksiyon da Şekil 5'te gösterilen bazı tür moleküllerin ve hücrelerin katılımıyla kompleks mekanizmalar tarafından gerçekleştirilir [33].

Adrenal korteksten salgılanan glukokortikoidler metabolizmada birçok önemli etkiye sahiptir fakat aynı zamanda anti-enflamatuar ve immünoşüpresif potansiyel taşımaktadır. [43,44,45,46,47,48]. Sempatik Sinir Sistemi'nin aktivasyonu klasik '*savaş ya da kaç*' yanıtı süresince meydana gelebilir ve sempatik sinir uçlarından ve adrenal medulladan katekolaminlerin salınmasıyla sonuçlanır. Katekolaminlerin gösterdiği etkiler adenoreseptörler aracılığıyla gerçekleştirilir ve geniş çapta fizyolojik değişikliklere neden olur. Fakat aynı zamanda lenfositler ve diğer immün sistem hücreleri de ayrıca adenoreseptör ekspres ettiğinden [49,38, 50, 51, 52] katekolaminlerin sirkülasyonundan etkilenebilirler. Lenfoid dokular nöroadrenerjik postgangliyonik sempatik sinirlerle donatıldığından sempatik sinir sistemi immün sistemi daha spesifik yönlerden de etkileyebilmektedir. Bu sempatik sinirler lenfoid hücrelerle çok yakın etkileşim içerisindedir ve hatta bireysel lenfositlerle sinaptik bağlantılar oluşturabilirler. [53,54,55]. Sempatik sinir ağları ve immün sistem hücreleri arasındaki bu kadar yakın etkileşim, MSS'nin immün yanıtı belli spesifik yönlerden düzenlemesi için doğrudan bir mekanizma oluşturabilir [56]. Son zamanlarda yapılan araştırmalar '*Parasempatik Kolinerjik Yolağın*' beyin ve immün sistem arasındaki çift yönlü ilişkide önemli bir rolü olduğunu göstermiştir [57,58,59,60]. İmmün sistem sırasıyla ilk önce primer olarak doğrudan MSS aktivasyonuna [61,62] ya da MSS-kökenli sitokinlerin salınımına neden olan sitokinler gibi immün ürünler aracılığıyla MSS ile iletişim kurabilir. Son bulgular MSS'nin sistemik bakteriyel enfeksiyon durumunda patojenin doğrudan beyne erişimi olmaksızın doğal bağışıklık sistemiyle yanıt verdiğini belirtmiştir [63]. Bunlara ek olarak immünoşitler, MSS'ye benzer şekilde hormonları, nörotransmitterleri ve nöropeptidleri sentezler ve salgılarlar [64,65].

## **2.2.1. Sinir Sistemi ve İmmün sistem iletişimi**

### **2.2.1.1. Endokrin ve Otonom Sistem Yolakları**

Endokrin ve otonom sistem yolakları (primer olarak SSS); hormonlar, nörotransmitterler, nöropeptidler ve sitokinler gibi en geniş kimyasal mesajcı grubunu oluşturan biyolojik olarak aktif moleküllerin lenfositler ve onların ilişkisi olan moleküllerle (makrofajlar, epitel hücreler, dentritik hücreler) interaksyonuna izin verir. Bu interaksyon immünokompetan hücrelerdeki spesifik reseptörler aracılığıyla gerçekleşir. T ve B lenfositler, monositler/makrofajlar, NK hücreleri ve granülositler hormonlar, nörotransmitterler ve nöropeptitler için adreno reseptörlere sahiptir. [66, 67,38,52]. Alternatif olarak nöroendokrin faktörler lenfokin ve monokinleri etkileyerek dolaylı yoldan immün yanıtı yönetebilirler [88].

### **2.2.1.2. Nöroadrenerjik yolak: Katekolaminler (NE, E)**

Sempatik stimülasyona yanıtta nörepinefrin (NE), parakrin etkilere izin vererek dalaktaki nöroadrenerjik sempatik sinir uçlarından salınır [42,56]. Nörepinefrin veya diğer katekolaminlerin uyarılması ya da denervasyonla katekolamin seviyesinin değişmesi immün fonksiyonun değişmesiyle sonuçlanmıştır [68]. Katekolaminler NE ve E stresörlere maruz kalınmasını takip eden önemli eferent immün modülatörler olarak belirtilmiştir. Katekolaminler, hücre proliferasyonu, sitokin, ve antikorların üretimi, litik aktivitesi ve migrasyonu gibi çok sayıda immün hücre aktivitesini artırabilirler [69,70, 71, 72, 73] veya baskırlarlar [74,75,76].

### **2.2.1.3. Dopaminerjik yolak: Dopamin (DA)**

Yeni çalışmalarda, beyin ile periferal dopamin (DA), katekolamin bir nörotransmitter ve immün yanıt arasında korelasyon önerilmiştir [77,78,79,80] Ayrıca artan fizyolojik DA konsantrasyonunun in vitro'da CD4+ ve CD8+ hücrelerinin sitotoksitesi ve proliferasyonunu belirgin şekilde inhibe ettiği bulunmuştur [81].

### **2.2.1.4. Peptiderjik yolak: nöropeptidler**

İmmün sistem hücreleriyle gerçekleşen nöradrenerjik nörotransmisyonla dair çok sayıda kanıt olmasının yanısıra ayrıca bu hücrelerle nöropeptiderjik bağlantılar olduğuna dair de belirgin kanıtlar vardır [82,83]. Araştırmacılara göre normal hücreler, kanser hücreleri ve otoimmün T hücreler nöronlara benzer şekilde yüksek seviyede AMPA alttip-3 (GluR3) iyon kanalı glutamat reseptörü ekspres ederler (beyindeki GluR3 ile aynı

şekilde). İnsan T hücreleri dış membranlarında D3 ve D2 alttip fonksiyonel dopamin reseptörleri ekspres ederler [78]. Bu reseptörler aracılığıyla gerçekleşen sinyalizasyonun proliferasyon, integrin aracılı adezyon ve sitokin sekresyonu gibi T hücre fonksiyonlarını modüle ettiği ve bu nedenle normal ve patofizyolojik beyin-immün sistem interaksyonlarıyla potansiyel olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir [84,85]. Bunlara ek olarak anti-GluR3 ve anti-dsDNA antikoru kan-beyin bariyerinin her iki yanında bulunur. Anti-GluR3 antikoru homomerik ve heteromerik GluR3'ü aktive edebilir ve glutamat agonistleriyle benzer şekilde hareket ederek ion akışını sağlayabilir böylelikle nöronları öldürebilir [86,87].

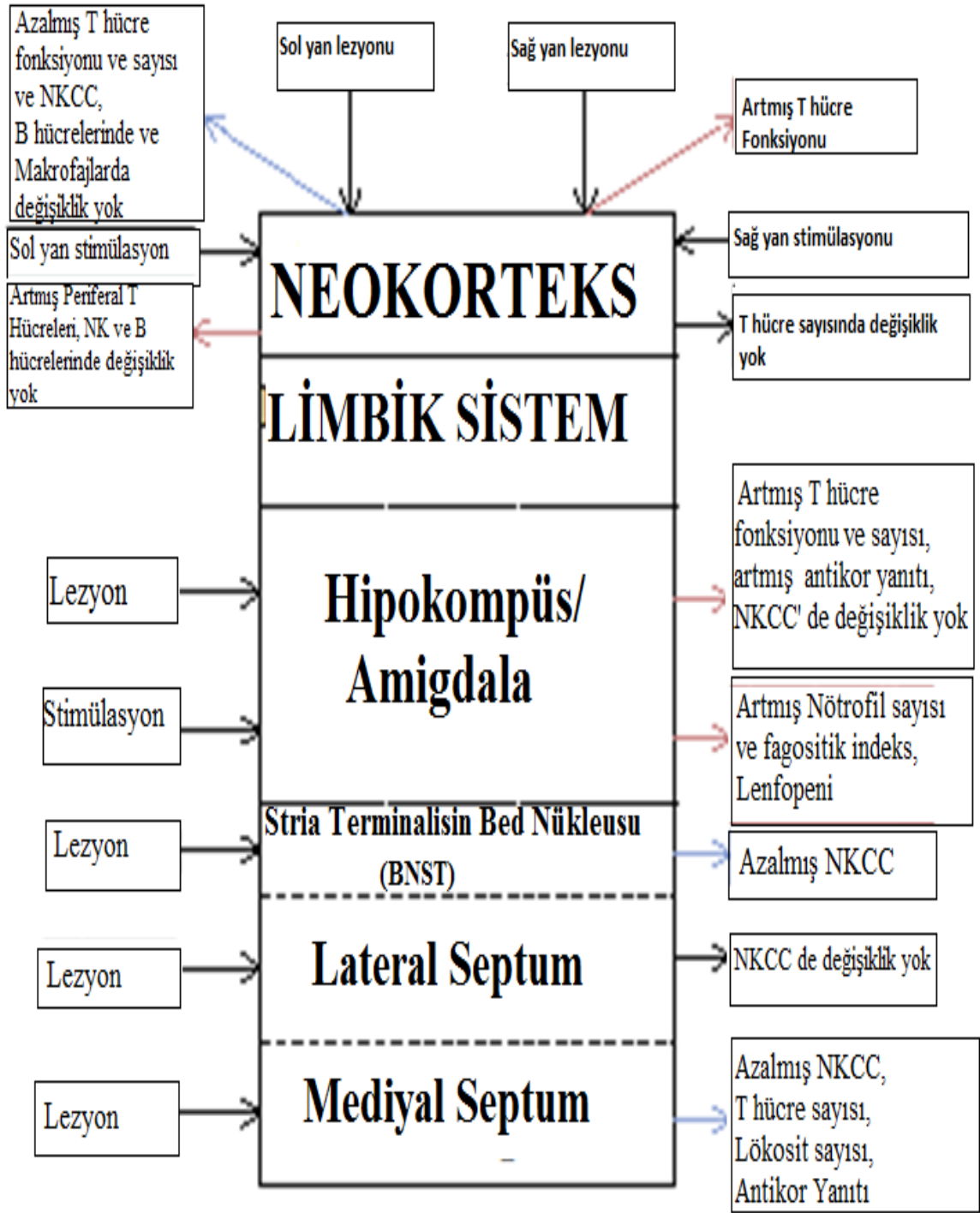
#### **2.2.1.5. İmmün modülasyonda yer alan beyin bölgeleri**

Bazı araştırmacılar immün reaktivitenin modülasyonunda MSS'nin rolünü değerlendirmek için nöroanatomik bir yaklaşım ele almışlardır (Şekil 6) [64,65]. Nöral-immün interaksyonlar konseptini destekleyen çalışmalarda özellikle hipotalamus ve limbik sistemdeki elektrolitik lezyonlar tarafından MSS'de oluşan hasarın çeşitli immün değişimleri indüklediği belirtilmiştir. [89,90]. Merkezi Sinir Sistemi lezyonlarını kullanan ya da bu lezyonları uyaran çalışmalar, beynin spesifik bölgelerinin immün aktiviteyi yönetebileceğini önermiştir [65].

#### **2.2.2. Beyin tümörleri immün sistem ilişkisi**

##### **2.2.2.1. İmmün sistem ve kanser**

Kanser ilişkili hastalıkların toplamına verilen bir isimdir. Bütün kanser türlerinde vücut hücrelerinin bazıları sonlanmaksızın bölünmeye ve çevre dokulara yayılmaya başlar. Kanser çoğunlukla vücudun herhangi bir bölgesinde trilyonlarca hücre içerecek şekilde başlar. Kanser gelişimine katkıda bulunan genetik değişiklikler üç ana türdeki geni etkilemeye eğilimlidirler: protoonkogenler, tümör supresör genler ve DNA tamir genleri. Bu değişiklikler bazen kanser sürücülerini olarak adlandırılır. Protoonkogenler normal hücre büyümesi ve bölünmesinde görev almaktadır. Fakat bu genler belli yollarla değişikliğe uğradıklarında veya normalden daha aktif fonksiyon gösterdiklerinde kansere neden olan genler (onkogenler) olmaya başlarlar ve gerek kanıt



**Şekil 6:** İmmünoregülasyonda Yer alan Beyin Bölgelerinin Lokasyon Şeması [64, 65]

olmadığı halde hücrelerin büyümesi ve survi göstermesine izin verirler. Tümör supresör genler hücre büyümesi ve bölünmesinin kontrolünde görev alırlar. Tümör supresör genlerinde belli değişimler içeren hücreler kontrolsüz olarak bölünme gösterirler [92].

Tümör hücreleri çok aşamalı gelişimleri süresince altı farklı biyolojik karakter sergiler. Kanser hücrelerine özgü bu nitelikler: proliferatif sinyalleri sürdürme, büyüme baskılanmasından kaçış, hücre ölümüne direnç, replikatif ölümsüzlüğü sağlama, anjiyogenezi uyarma, invazyon ve metastazı aktive etme'dir [92].

İmmün sistem, kanseri kontrol etme ve ortadan kaldırma noktasında merkezi bir role sahiptir. Fakat malignite durumunda, efektif anti-tümör yanıtını durduran çeşitli immün baskılama mekanizmaları var olabilmektedir. Agresif tümör gelişiminin immün regülasyonu, çoğunlukla immün kontrol noktalarının aktivasyonu yoluyla efektör immün yanıtlarını engelleyen ligandların tümör upregülasyonu tarafından dikkate alınmamıştır. [93]. İmmün kontrol noktaları, normal koşullarda enflamatuar yanıt süresince periferik otoimmüniteyi önlemede görevli çeşitli bağışıklık hücreleri üzerinde eksprese edilen hücre yüzey molekülleridir [94]. Bu kontrol noktalarının bir kaçı Programlı hücre ölümü-1 (PD-1), Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4), T-hücre immünoglobülin ve müsin protein-3 (TIM-3), Lenfosit aktivasyon gen-3 (LAG-3), Glukokortikoid uyarılmış TNFR ailesiyle ilişkili reseptör (GITR) ve killer hücre immünoglobülin benzeri reseptör (KIR) içermektedir. Glukokortikoid-uyarılmış TNFR (Tümör nekroz faktör reseptör) ailesi ilişkili reseptörün çıkarılmasıyla, bu kontrol noktaları kendi ligandlarına bağlandıktan sonra otoimmüniteyi engellemek için immün yanıtların negatif modülasyonunu uyarır. Bu immün mekanizma ise tümör hücreleri tarafından işletilerek tümör hücrelerinin hızlı bir şekilde proliferasyonuna izin verir.

T hücreleri, insanlardaki bağışıklık sisteminin karmaşık ağında efektör gibi kritik bir role sahiptir. T hücreleri tümör büyümesini inhibe eder [96,97] fakat tümör hücreleri; CTLA-4, PD-1 ve PDL-1 gibi kontrol noktaları aracılığıyla T hücrelerinin devam eden yanıtlarından kaçabilirler [98]. Agresif tümörler sıkı konakçı çevrelerde yaşamak için moleküler mekanizmalar geliştirirler ve kronik enflamasyon bölgelerinde çoğalırlar [99]. İmmün sistemin temel görevi, anormal hücre büyümesi sonucu ekspres edilen yabancı antijenleri ortadan kaldırmaktır [100]. Proliferatif kanser hücreleri immün efektör hücrelerini engelleyen moleküllerin tümör hücrelerindeki ekspresyonu veya immün hücre survisi için anahtar faktörlerin tümör mikroçevresinde azalması nedeniyle sistemik immün yanıt tarafından gözlemlenmeyebilmektedir [101,102].

Birincil tümör büyümesi doğal ve edinilmiş bağışıklık sistemi tarafından belirlenip yok edilirken adaptif immün yanıtın efektör hücreleriyle dengede olan

uykudaki tümör hücreleri arka planda kalırlar [102,103]. Tümör hücreleri sitotoksik T-lenfosit aktivitesini engelleyecek, tümör hücrelerinin çoğalmasına neden olacak ya da bu moleküllerin tümör hücrelerinde ekspresyonunu önleyecek çözünür faktörleri deşarj etmesi ve ligandlarını upregüle etmesi nedeniyle immün yanıtta kaçır ve çoğalırlar [101,102].

### **2.2.3. Merkezi Sinir Sistemi ve Kansere Arasındaki İlişki**

Merkezi sinir sistemi (MSS), sinir dokusundaki istenmeyen enflamatuvar reaksiyonları modüle eden güçlü lokal ve global immün-baskılayıcı kapasiteye sahiptir. Bu immün-modülatör mekanizma habis beyin tümörleri tarafından da seçilmiştir ve bu durum beyin tümörü immünoterapisi için zorlu bir süreç ortaya çıkarmıştır. Habis gliomaların immün baskılamayı koordine ettiği yollar MSS'nin mekanik ve fonksiyonel bariyerlerini içermektedir; immün baskılayıcı sitokinler ve katabolitler, immün kontrol noktası molekülleri, tümör geçirgen immün hücreler ve baskılayıcı immün hücreler. Tümör aracılı immün baskılamının üstesinden gelmek için karşılaşılan zorluklar sadece beyine özgü değildir. Bazı analog immunosüpresif mekanizmalar MSS'nin dışındaki primer beyin tümörlerinde de var olmaktadır. MSS'deki immün yanıtlar periferdeki immün proseslerle komplementer ve bağlantılıdır. Periferdeki immün terapide ya da tam tersi durumda meydana gelen ilerlemeler gelecekte beyin tümörü immünoterapisine yeni yaklaşımlar için ışık tutabilecektir [104].

#### **2.2.3.1. MSS immün çevresinin düzenlenmesi**

Son yıllarda MSS immün çerçevesi hakkındaki genel kabul kan beyin bariyerinin hücrelerin ve çözünür moleküllerin değişimi karşısında statik bir bariyer olduğu görüşü diğer organ sistemlerinde olduğu gibi çıkış ve girişlerin dinamik olarak düzenlendiği görüşüyle yer değiştirmiştir. Enflamasyon süresince immün hücreler kemotaksik işaretlerin dinamik gradyentini takip ederek MSS parenkimasına göç ederler. Kemotaksik işaretler; interferon gama (IFN-  $\gamma$ ) uyarıcı sitokinler [105,106],  $\alpha$  ve  $\beta$  integrinler [107] ve matris metaloproteinazlardan oluşmaktadır [108]. Benzer şekilde immünoglobülinler [109] gibi çözünür immün efektörlerin ayrıca KBB'yi geçebildiği kabul edilmiştir. T hücrelerini MSS tümör antijenlerine karşı tetikleme prosesi hakkında ise daha az şey bilinmektedir [110]. Özellikle anti-tümör yanıtın beyin veya periferde ilk olarak nasıl başlatıldığı açık değildir. Bu proseslerin asıl kökeni, tümör immünitesini artırmak için

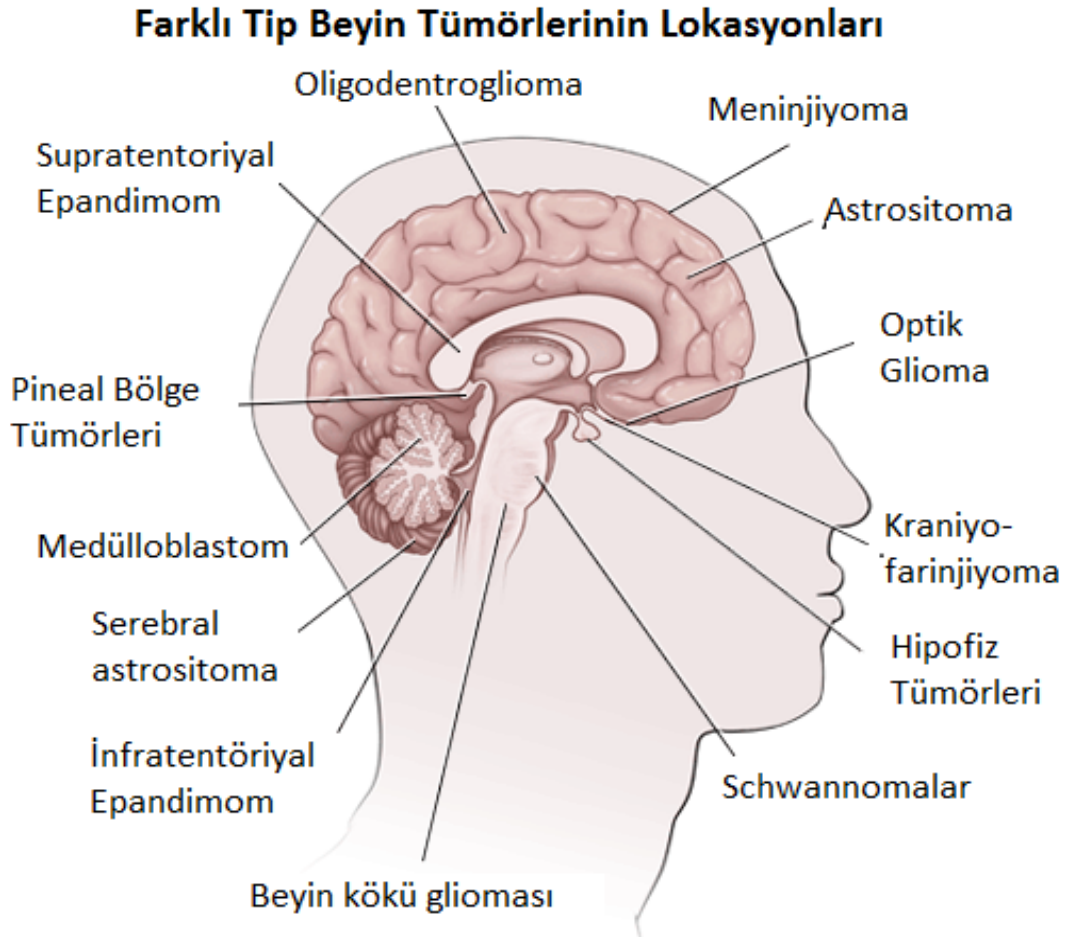
tümör antijen sunumunu işgal etmeyi amaçlayan dentritik bazlı aşılardan gibi beyin tümörü immünoterapilerinde net sonuçlar vermektedir [104]

### 2.2.3.2. Tümör Antijen Sunumu: MSS

Antijen sunan hücrelerin (APC) beyindeki varlığı antijen sunumunun lokal olarak gerçekleştiği hipotezini desteklemesine rağmen tümör antijen sunumunun beyinde veya beyin dışı dokularda ne şekilde meydana geldiği henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. APC'lerin KBB'nin arkasındaki stratejik pozisyonundan dolayı ve MSS doğal immünitelerindeki önemli rolünden dolayı mikroglia intrakraniyal antijen sunumu için primer APC'lerle birlikte görevlendirilmiştir [104].

## 2.3. BEYİN TÜMÖRLERİ

Tümör (neoplazma veya lezyon) kontrolsüz hücre bölünmesi sonucu büyüyen anormal bir dokudur. Normal hücre büyümesi, yaşlanan veya hasarlı hücreleri yenileriyle değiştirmek amacıyla gerçekleşir ve bu nedenle sıkı kontrolden geçmektedir. Tam olarak



*Şekil 7: Beyin tümörlerinin lokasyon şeması [117].*



anlaşıl原因 nedenlerden dolayı tümör hücreleri kontrolsüz bir şekilde çoğalırlar [111]. Beyinde meydana gelen tümörler ise ‘Beyin tümörü’ veya ‘Beyin kanseri’ olarak adlandırılan merkezi sinir sisteminde (beyin ve omurilik) lokalize olan tümörlerdir. Beyin tümörleri ele alınırken kanseröz olmayan bir büyümeyi açıklamak için genel olarak ‘benign’ ifadesinden ziyade ‘malign olmayan’ tümör olarak ifade edilir. Bunun nedeni invazif ya da metastatik olmayan, yavaş büyüyen tümörlerde bile cerrahi yöntemlerle tümörün güvenli olarak çıkarılması hasta için kesin olarak ‘benign’ olmayan semptomlara sebebiyet verebilmesidir. Yetişkinlerde beyni etkileyen tümörler omuriliği etkileyen tümörlerden daha yaygındır ve sonuç olarak ‘beyin tümörü’ ifadesi beynin yanısıra çeşitli MSS tümörlerinin hepsini içermektedir [112].

Beyin tümörleri genellikle tümörün büyüme hızı, tedaviden sonra tekrar büyümesi olasılığı gibi tümör davranışlarını baz alarak 1’den 4’e kadar dört farklı kademede sınıflandırılırlar. 1. Derece beyin tümörleri agresifliği en az olan tümörleri, 4. Derece tümörler ise en zararlı ve kanseröz tümörleri kapsamaktadır. Bu kanseröz tümörler ayrıca ‘malign’ veya habis tümörler olarak adlandırılmaktadır. İkinci ve 3. Derece beyin tümörleri yavaş büyüme eğilimi gösteren ve yayılma şekilleri önceden tam olarak tahmin edilemeyen diffüz veya solid karakterde beyin tümörleridir. Bu tümörler genel olarak ‘selim’ veya iyi huylu tümörler olarak adlandırılmaktadır. Selim beyin tümörleri (kanseröz olmayan) beyinde yavaşça büyüyen hücre kütleleridir. Genellikle bir bölgede kalır ve yayılmazlar ve sıklıkla başarılı bir şekilde tedavi edilirler. Fakat yine de ciddiye alınması gereken ve hayatı tehdit eden tümörlerdir [113].

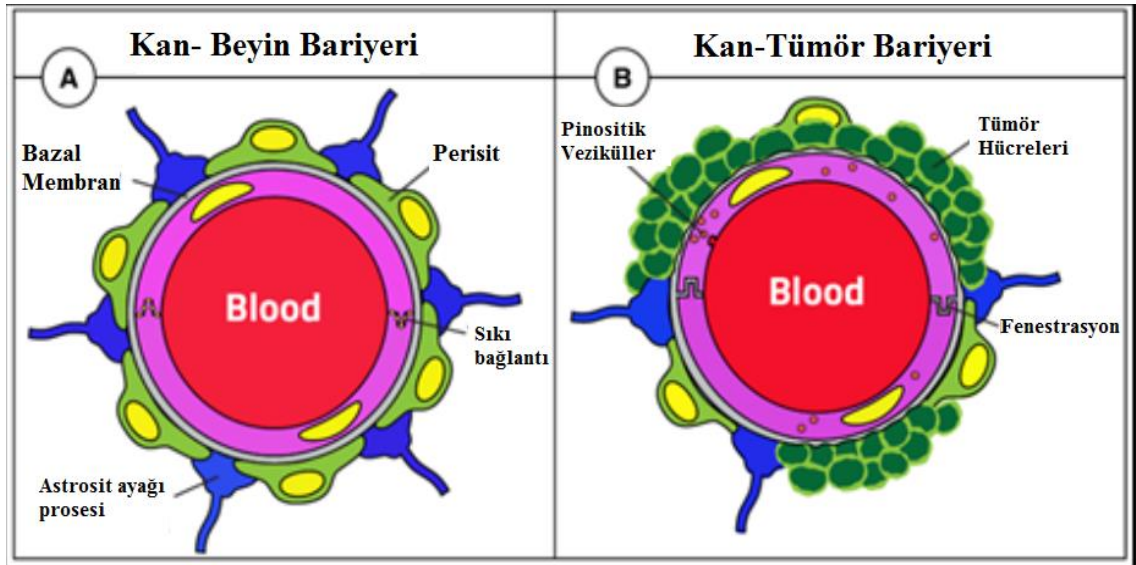
Düşük dereceli (low-grade) veya selim beyin tümörlerinin gösterdiği semptomlar tümörün ne kadar büyük olduğu beynin neresinde bulunduğuyla yakından ilişkilidir. Bazı yavaş büyüyen tümörler başlangıçta herhangi bir belirti vermeden de büyüyebilirler. Genel olarak beyin tümörlerinde karşılaşılan yaygın semptomlar şöyledir: ciddi ve ısrarlı baş ağrısı, nöbet geçirme, bulantı ve kusma, sersemlik, mental veya davranışsal değişimler (hafıza problemleri veya kişilik bozuklukları), vücudun bir bölümünde ileri derece halsizlik veya felç, görme problemleri veya konuşma problemleri. [113]

Beyin tümörlerinde tedavi hastanın yaşı ve genel sağlık durumunun yanısıra tümör büyüklüğüne, lokasyonuna ve tipine bağlıdır. Temel tedavi yöntemleri, ameliyat, radyasyon terapisi ve kemoterapiden oluşmaktadır. Beyin tümörlerinde cerrahi ve

radasyon terapisinin kombinasyonu sıklıkla kullanılmaktadır. Mükün olduğu durumlarda primer beyin tümörleri için ameliyat önerilmektedir [114].

### 2.3.1. Beyin tümörlerinde kan beyin bariyeri

Kan beyin bariyerinde görev alan astrositlerin hücre yapısı daha fazla moleküler maddelere ve ileri organizmalara efektif koruma inşa edebilmek üzere oluşmuştur. Fakat normal koşullar altında bu durum tamamen kapalı haldedir bu nedenle bazı partiküller membrandan sızabilmektedir. Enfeksiyon, travma, enflamasyon, zehirlenme, hipoksi, ateş ve tümör varlığı durumunda endotel hücreler arasındaki sıkı bağlantı astrositlerdeki şişmeye bağlı olarak esner ve bu durum da KBB'ni diğer maddelere karşı geçirgen hale getirir. Sıkı bağlantı açıklığında meydana gelen değişimler endotel hücrelerin şişmesi ve tekrar eski haline dönmelerinden kaynaklanır. Kılcal damar membranları da kapalı bir tabaka değildir. Membranlar porlara sahip olsun veya olmasın sinir ağı yoğunluğuna bağlı olarak maddelerin geçişinde aktif rol alırlar. Patolojik tümörlerin vasküler sistemleri herhangi bir kan beyin bariyeri geliştirmezler. Bu durum ortaya çıktığından bu yana tanı prosedürlerinde kullanılmıştır. Tanı koymada kontrast bir madde vasküler sisteme gönderilir ve bu maddenin vasküler sistemde kalması ya da tümörün içine girmesine bağlı olarak tanı konulur [115].



Şekil 8: Kan beyin bariyeri ve Kan tümör bariyeri'nin şemataik gösterimi [115].

### 2.3.2. Beyin tümörlerinin sınıflandırılması

Beyin ve omurga tümörlerinin geniş bir grubu primer ve metastatik tümörler olarak sınıflandırılmaktadır.

MSS tümörleri DSÖ sınıflandırması	
<b>Diffüz astrositik ve oligodentrogial tümörler</b>	
Diffüz astrositoma, IDH-mutant	II
Anaplastik Astrositoma, IDH-mutant	III
Glioblastoma, IDH-wild tip	IV
Glioblastoma, IDH-mutant	IV
Diffüz midline glioma, H3K27M-mutant	IV
Oligodentroglioma, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyon	II
Anaplastik oligodentroglioma, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyon	III
<b>Diğer astrositik tümörler</b>	
Pilositik astrositoma	I
Subependimal dev hücreli astrositom	I
Pleomorfik ksantostrositom	II
Anaplastik pleomorfik ksantostrositom	III
<b>Ependimal Tümörler</b>	
Subependimoma	I
Miksoepitel ependimom	I
Ependimoma	II
Ependimoma, <i>RELA</i> füzyon-pozitif	II or III
Anaplastik ependimoma	III
<b>Diğer gliomalar</b>	
Anjiyosentrik glioma	I
Üçüncü ventrikül koroid glioması	II
<b>Koroid pleksus tümörleri</b>	
Koroid pleksus papiloma	I
Atipik koroid pleksus papiloma	II
Koroid pleksus karsinoma	III
<b>Nöronal ve karışık nörona-gliyal tümörler</b>	
Disembriyoplastik nöroepitel tümör	I
Gangliositoma	I
Ganglioglioma	II
Anaplastik ganglioglioma	III
Serebellum displazik gangliositoma	I
Dezmozplastik infantil astrositom ve ganglioma	I
Papiller gliyöral tümör	I
Rosette oluşturan gliyönöronal tümör	I
Merkezi nörositoma	II
Ekstraventriküler nörositoma	II
Serebral liponörositoma	II
<b>Pineal bölge tümörleri</b>	
Pineositoma	I
Orta derece farklılaşmanın pineal parenkimal tümörü	II or III
Pinealblastoma	IV
Pineal bölge papiller tümör	II or III
<b>Embriyonal tümörler</b>	
Meduloblastoma (Tüm alttipler)	IV
Çok tabakalı rosette içeren tümör, C19MC-değiştirilmiş	IV
Meduloepiteliyoma	IV
MSS embriyonal tümör, NOS	IV
Atipik teratoid/rabdoid tümör	IV
Rabdoid özellikli MSS embriyonal tümör	IV
<b>Kraniyal ve paraspinal sinir tümörleri</b>	
Schwanoma	I
Nörofibroma	I
Perinöriyoma	I
Malign periferik sinir kılıfı tümörü (MPNST)	II or IV
<b>Meninjiyomalar</b>	
Meninjiyoma	I
Atipik meninjiyoma	II
Anaplastik (Malign) meninjiyoma	III
<b>Mezenkimal, meninjiyotelyal olmayan tümörler</b>	
Hemanjiyopenisitoma/soliter fibröz tümör	I, II or III
Hemanjiyoblastoma	I
<b>Sellar bölge tümörleri</b>	
Kraniyofarınjioma	I
Granüler hücre tümörü	I
Pituisitoma	I
İğsi hücre onkositoma	I

Şekil 9: DSÖ beyin tümörleri sınıflandırılması [196].

### 2.3.2.1. Primer beyin tümörleri

Primer beyin tümörleri beyin veya omurilikte başlayan tümörlerdir [112]. Beyindeki tümörler genellikle kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterize edilirler fakat ayrıca lenfatik dokudan, kan damarlarından, bezlerden ve beyni saran meninkslardan da kaynaklanabilmektedir. Beyinde meydana gelen tümörler beyindeki (ependimal hücreler, astrositler, ve oligodentrositler) destekleyici glial hücrelerden kaynaklanmaktadır. Ya da sıklıkla primer olarak diğer organlarda başlayan tümörlerin metastatik yayılımı sonucunda meydana gelmektedir [116]. Primer tümörler hızlı büyüme göstermelerine rağmen, genel olarak yayılmaz ve metastaz göstermezler. Sadece birkaç beyin ve omurilik tümörü beyin ve omurilik içerisindeki boşluklara yayılan bir metastaz gösterir fakat vücudun diğer kısımlarına geçmezler. Yüzden fazla primer beyin tümörü türü mevcuttur ve bu tümörlerin arasında çok nadir görülen örnekler de mevcuttur. Her bir tip kendine özgü davranış ve tedaviye sahiptir. Son yıllarda tümörün tedaviye yanıtını ve agresifliğini tahmin etmede kullanılan çok sayıda önemli markerlar ortaya çıkmıştır. [112]

### 2.3.2.2. Metastatik tümörler

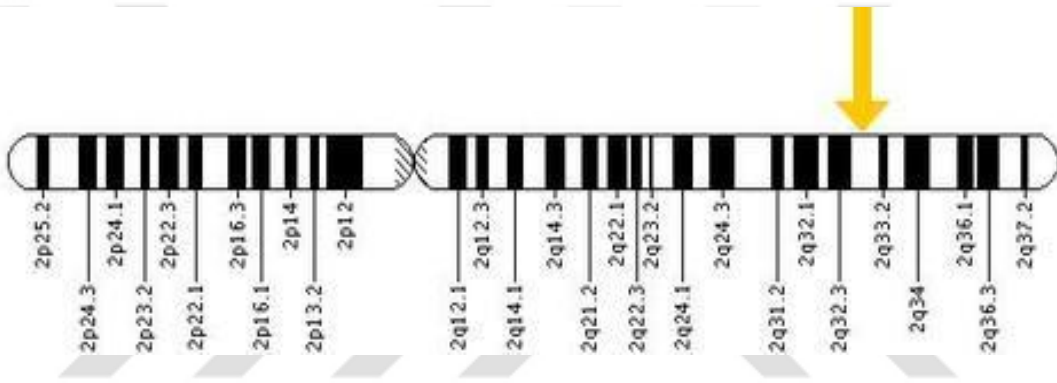
Beyin ve omuriliğin metastatik tümörleri primer tümörlerden çok daha yaygın olarak görülmektedir. Bu kanserler vücudun diğer kısımlarına yayılabilen ve o bölgelerde büyümeye başlayan tümör hücre yığınlarını açıklamaktadır [112].

## 2.4. CTLA-4'ÜN YAPISI VE FONKSİYONU

### 2.4.1. CTLA-4

T hücreleri tam aktivasyonu kostimülatör sinyaller gerektiren ve inhibitör sinyaller tarafından engellenebilen karmaşık bir süreçtir [119]. T hücre reseptörünün (TCR) antijen sunan hücrelerdeki (APC) peptit-Majör histokompatibilite kompleksine bağlanması T hücresi aktivasyonunu başlatır ve kostimülatör sinyaller T hücrelerinin tam olarak aktivasyonunu sağlar. Temel kostimültör sinyaller APC'lerdeki B7-1(CD80) veya B7-2(CD86) 'nin T hücrelerindeki CD28'e bağlanmasıyla sağlanır. Sonuçlanan TCR sinyalleri CD28/B7 etkileşiminden yayılan sinyallerle birlikte stimülatör sitokin üretimini, metabolizmayı ve hücre döngüsü ilerlemesini artırarak T hücre proliferasyonu ve farklılaşmasına neden olur [120]. CD28-B7 etkileşiminde CTLA-4 inhibitör reseptör olarak görev görür [121]. CTLA-4 (CD152) inhibitör moleküllerin en önemli örneğidir

ve T hücre aktivasyonunu takiben hücre yüzeyinde upregüle edilir [122]. CTLA-4 geni inhibitör bir sinyali T hücrelerine ileten reseptörü kodlayan immünoglobülin süper ailesi üyesidir. İnsan CTLA-4 gen bölgesi 2'inci kromozomun q (2q33) kolunda yer alan, dört ekzon içeren 6.175 bazı kapsamaktadır. Birinci ekzon bölgesi lider bir sekansı, ikinci ekzon bölgesi immünoglobulin V-benzeri domaini, üçüncü ekzon bölgesi hidrofobik bir trans-membran bölgeyi ve dördüncüsü ise stoplazmik domaini kapsamaktadır [123]. Alternatif transkripsiyonel splaysonucu farklı izoformlar oluşturmaktadır. Membran bağlı CTLA-4 izoformu bir disülfit bağıyla birbirine bağlı olan bir homodimer fonksiyonu gösterirken solubl izoformu ise monomer olarak fonksiyon görmektedir [124].



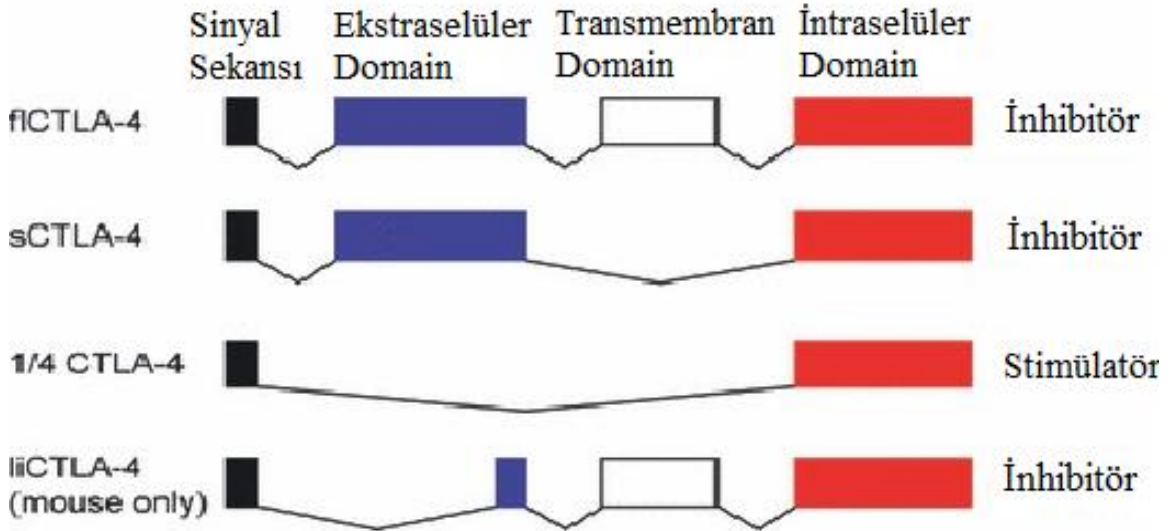
**Şekil 10:** CTLA-4 gen lokusu [125]

Full-length sitotoksik T lenfosit antijen-4, sinyal sekansı, ekstraselüler domain, transmembran domain ve intraselüler domaini temsil eden dört ekzon bölgesi içermektedir. CTLA-4 geninin splaysonları bu ekzonların alternatif splayson yapılması ile oluşturulmuştur. Şekil 11'de full-length CTLA-4 (flCTLA-4) ve 3 farklı splayson varyantı gösterilmektedir. Transmembran bölgesinden yoksun olan CTLA-4'ün solubl formu sCTLA-4 ekzon 3'ün splayson edilmesi sonucu oluşturulmuştur [126]. flCTLA-4'e benzer şekilde, sCTLA-4 de inhibitör bir moleküldür ve regülatör T hücre fonksiyonundan önemli bir rol aldığı görülmüştür [127,128]. ¼ CTLA4 ligand bağlanması ve transmembran domain için kodlama yapan ekzon 2 ve ekzon 3'ten yoksundur. ¼ CTLA-4'ün overekspresyonu diğer üç splayson varyantının aksine bu CTLA-4 izoformunun inhibitör olmadığını fakat T hücre aktivasyonu ve otoimmünite gelişimini başlattığını önermektedir [129]. Diğer bir izoform ise ligand bağımsız CTLA-4 (liCTLA-4)'tür. liCTLA-4, Immünoglobülin domaininin büyük kısmından yoksundur ve böylece

B7 ligandlarıyla etkileşime girer [130,131]. Farelerde bu izoformun güçlü bir inhibitör fonksiyona sahip olduğu görülmektedir fakat insanlarda ekspres edilmemektedir [130,132]. Farede otoimmünite liCTLA-4'ün üretimiyle ilişkilendirilir [133] fakat insanlarda otoimmünite iki farklı tek nükleotit polimorfizmiyle (SNP) ilişkilendirilmektedir: CT60 ve +49G>A. Her iki SNP'de de koruyucu A alleli full-length protein yerine sCTLA-4'ün üretimini desteklemektedir [133].

#### 2.4.2. CTLA-4 Aksiyon mekanizması

Yeni sentezlenen CTLA-4, CTLA-4 içeren veziküllerin oluşumunu ve onların hücre yüzeyine transportunu başlatan TGN'deki transmembran adaptör molekülü olan T hücre reseptör-interakt moleküle (TRIM) bağlanır. Hücre yüzeyinde TRIM'in T hücre reseptör (TCR) kompleksi olma ihtimali yüksek olan diğer reseptörlerle etkileşime



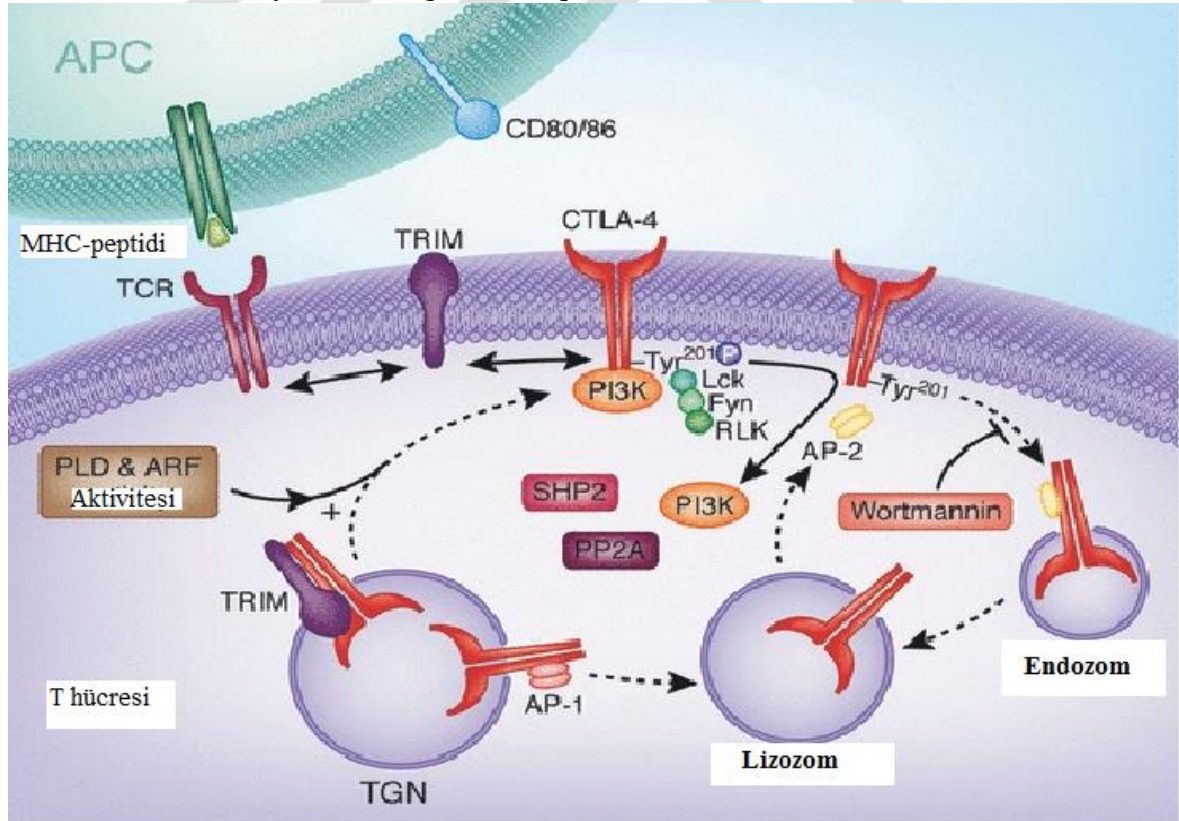
Şekil 11: CTLA-4 splays varyantları [121]

girebilmesine izin vermek için TRIM ve CTLA-4 etkileşimi fazla uzun sürmez. CTLA-4 eksternalizasyonu ARF-1 (Adenozin difosfat ribozilasyon faktör) GTPaz'ı ve PLD (Fosfolipaz D) gibi genel faktörlere bağlı olarak gerçekleşir. Trans golgi ağından (TGN) lizozomal kompartmana gidiş-gelişler adaptör Adaptör Protein-1 (AP-1)'in CTLA-4 motifi G<sup>V</sup>Y<sup>201</sup>VKM motifine bağlanmasından kaynaklı gerçekleşir. Hücre yüzeyinde CTLA-4, PI3K (Fosfotidil inositol 3 kinaz) ve diğer olası proteinlerin asosiasyonuna neden olan Y<sup>201</sup>VKM bölgesinden Lck, Fyn ve Rlk kinazlar tarafından fosforlanır. Daha sonra bu fosforilasyon internalizasyonu geciktirir. Defosforilasyon ise klatriin adaptörü AP-2'nin G<sup>V</sup>Y<sup>201</sup>VKM motifine bağlanmasına ve lizozom artı endozoma hızlı olarak

internalizasyonuna izin verir. T hücre aktivasyonu ile birlikte, CTLA-4 yönünden zengin olan lizozomlar (endozom) hücre yüzeyine tekrar geri döndürülür. Bu proses wortmannin duyarlı lipid kinazları içerir [134,135].

### 2.4.3. Regülatör T hücrelerinde CTLA-4

CTLA-4'ün efektör T hücre-ekstrinsik fonksiyonlarına sahip olabileceğine ait ilk işaret wild tip (WT) ve CTLA-4 noksan hücrelerin karışımını barındıran kimerik farelerde yapılan deney serilerinden gelmektedir. Kimerik fareler, CTLA-4 noksan farelerde görülen ölümcül bir lenfoproliferatif hastalık geliştirmede başarısız olmuştur. Bu sonuç CTLA-4'ün sadece efektör T hücre-intrinsik fonksiyonuna değil aynı zamanda immün yanıtların düzenlenmesinde ekstrinsik fonksiyonlara sahip olduğunu belirtmiştir [136,137]. CTLA-4 esas olarak regülatör T hücrelerinde (Treg) ekspres edilir ve Treg'lerin süpresif fonksiyonunda yer aldığı önerilen Foxp3'ün hedef genidir [138,139]. CTLA-4'ün regülatör T hücrelerini baskılamadaki rolünü araştırmak üzere anti-CTLA-4 kullanılan ilk çalışmalar birbirleriyle uyumsuzluk göstermiştir. Bu uyumsuzluk spesifik olarak CTLA-4'ten yoksun Treg'lere sahip fakat efektör T hücrelerinde tam CTLA-4

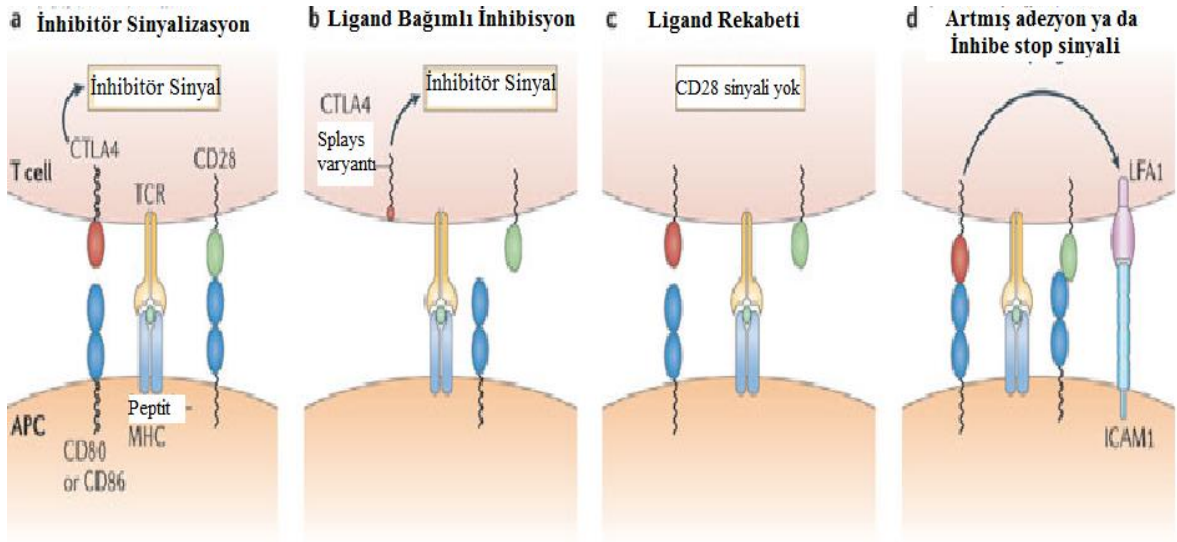


**Şekil 11:** CTLA-4 yüzey ekspresyonu ve internalizasyonu [135]

ekspresyonu gösteren bir farede yapılan çalışmayla açıklığa kavuşturulmuştur [140]. Çalışmada kullanılan koşullu CTLA-4 knock out fare, global CTLA-4 knock out farede gözlenen duruma benzer şekilde fatal lenfoproliferatif hastalık ve multi-organ otoimmünitesi göstermektedir. Fakat koşullu konock out fare başlangıçtan daha sonra ve uzun süreli survi göstermektedir bu durum CTLA-4'ün regülatör ve efektör T hücrelerinin her ikisinde de önemli olduğunun altını çizmiştir

CTLA-4'ün Treg'lerdeki rolü enine boyuna keşfedilmiştir ve günümüzde CTLA-4'ün çok sayıda mekanizma vasıtasıyla Treg aracılı baskılamaya katkıda bulunabileceği net bir konudur. Regülatör T hücrelerinde yüksek seviyede CTLA-4 ekspresyonu CD80/CD86 sinyalleri için rekabet edebilmektedir [141]. Ayrıca Treg'ler tarafından koşullandırılan APC'lerdeki CD80/CD86 seviyesinde gözlemlenen azalma CTLA-4 bloklayıcı antikor varlığında veya CTLA-4 KO Treg'ler kullanıldığı durumda ortadan kaldırıldığı için CTLA-4, antijen sunan hücrelerdeki (APCs) kostimülasyon B7 moleküllerinin seviyesini azaltmada etkili bir yardımcıdır [140,142,143]. MHC sınıf II veya CD40 Treg'ler tarafından etkilenmediği için bu regülasyonun kontak-bağımlı olduğu ve B7 moleküllerine spesifik olduğu görülmektedir [144,145]. Son dönemdeki çalışmalarda CTLA-4 ekspres eden Treg'lerin APC'lerden B7 ligandlarını fiziksel olarak ayırmaya bile yeteneği olabileceği gösterilmiştir [146]. Trans endositoz olarak adlandırılan bu süreçte ligand engajmanı, B7 moleküllerinin APC'den T hücrelerindeki CTLA-4 içeren veziküllere transferiyle sonuçlanır. APC'lerin kostimülasyon potansiyelini





Nature Reviews | Immunology

**Şekil 12:** CTLA-4 fonksiyonunun T hücre intrinsik modeli.

regüle etmenin yanı sıra CTLA4, geri sinyalizasyonla APC'yi şartlandırabilir veIDO (İndolamin 2-3-dioksigenaz) üretimini indükleyebilir [147,148].IDO, T hücre proliferasyonu için gerekli olan triptofanı katabolize eder [149].IDO tarafından indüklenen lokal triptofan deplesyonu T hücre proliferasyonunu limitleyerek T hücre yanıtını inhibe eder [125].Çok sayıda çalışma CTLA-4'ün wild tip hücrelerde Treg baskılanmasına katkıda bulunduğunu onaylamıştır.Fakat belli koşullar altında, CTLA-4 KO Treg'ler fonksiyonel durumdadır ve alternatif süpresif mekanizmalar kullanarak CTLA-4 eksikliğini kompanse edebilmektedir [140, 150,151].Treg'lerdeki CTLA-4'ün rolü ayrıca aynı T hücre reseptörü ekspres eden wild tip Treg'ler ve CTLA-4'ten yoksun Treg'ler karşılaştırılarak keşfedilmiştir [151,152].Sonuç olarak CTLA-4'ün regülatör T hücre fonksiyonunda önemli rol oynadığı kesinleşmiştir.Fakat dokudaki yerine, T hücre başlatmasına ve hastalığın doğasına bağlı olarak diğer baskılayıcı mekanizmalar CTLA-4'ün yerini alabilmektedir.Buna rağmen şartlandırılmış CTLA-4 KO farede gözlemlenen fulminan otoimmün fenotip CTLA-4'ün Treg baskılanmasının merkezi komponenti olduğunu önermektedir [125].

#### 2.4.4. CTLA-4 Intrinsik ve ekstrinsik fonksiyon modelleri

Sitotoksik T lenfosit Antijen 4 (CTLA-4)'ün olası fonksiyonları T hücre ekstrinsik ve T hücre intrinsik fonksiyonlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. CTLA-4'ün önerilen

intrinsik fonksiyonları CTLA-4'ün kendisini ekspres eden hücre üzerindeki doğrudan inhibitör etkisinden oluşmaktadır [153]. Genel olarak bu etkiler inhibitör sinyaller olarak görünmektedir fakat farklı bir çok yolak da ayrıca önerilmektedir [153]. Şekil 13a'daki ilk modelde CTLA-4, T hücre reseptörü (TCR) veya CD28 tarafından yapılan proksimal sinyalizasyonla etkileşime giren inhibitör sinyaller üretir.

<b>CTLA-4 tarafından immün aktivasyonun ekstrinsik kontrolü</b>		
<b>Mekanizma</b>	<b>Sonuç</b>	<b>Referanslar</b>
<b>APC'lerdeki CD80 ve CD86 aracılı ters sinyalizasyon</b>	Triptofan-degrede edici enzim IDO'nun aktivasyonu triptofan seviyelerini azaltarak veya naif T hücrelerinin Treg hücrelere dönüşümünü başlatarak T hücre baskılanmasına neden olur.	Grohmann U, <i>et al.</i> (17) Fallarino F, <i>et al.</i> (18) Munn DH, <i>et al.</i> (19) Mellor AL, <i>et al.</i> (20) Orabona C, <i>et al.</i> (21)
CTLA-4 sinyali TGF-B gibi regülatör sitokinlerin üretimini uyarır	TGF-B sekresyonu T hücre fonksiyonu ve APC tarafından antijen sunumu inhibisyonuyla sonuçlanır	Chen W, <i>et al.</i> (22)
CTLA-4'ün CD80 veya CD86 ya bağlanması bu ligandların CD28'e ulaşılabilirliğini azaltır.	Fonksiyonel T hücre yanıtını uyararak için gerekli olan APC'lerin azalan ulaşılabilirliği daha büyük treshold aktivasyonuna neden olur.	Linsley PS, <i>et al.</i> (23) Walunas TL, <i>et al.</i> (24) Oaks MK, Hallet KM (25)
CTLA-4'ün CD80 veya CD86'ya bağlanması bu ligandların transendositozuna neden olur	Kostimülör ligandların degradasyonu azalan APC fonksiyonuyla sonuçlanır.	Qureshi OS, <i>et al.</i> (26)
<b>CTLA-4 tarafından immün aktivasyonun intrinsik kontrolü</b>		
<b>T hücre sinapsına inhibitör proteinlerin rekrutmanı</b>	PP2A ve PTPN11'in T hücre sinapsına rekrutmanı, TCR ve CD28 proksimal sinyallerinin inhibisyonuyla sonuçlanan TCR veya CD28 tarafından proksimal sinyallemeye etkileşime girer	Chuang E, <i>et al.</i> (27) Parry RV, <i>et al.</i> (28) Marengere LE, <i>et al.</i> (29)
<b>Ligand rekabeti CD28 sinyalizasyonunu önler</b>	CTLA-4, ligandlar için yüksek afiniteli bir rekabetçi olarak hareket ederek CD28'in pozitif sinyaller üretmesini engeller.	Thompson CB, Allison JP (30)
<b>CTLA-4 sprints varyantının non-ligand bağlanması</b>	CTLA-4'ün ligandlara bağlanamayan bir sprints varyantı inhibitör sinyalleme yolağı ile full-length moleküle benzer şekilde T hücre aktivasyonunu inhibe edebilir	Vijayakrishnan L, <i>et al.</i> (31) Araki M, <i>et al.</i> (32) Chikuma S, <i>et al.</i> (33) Choi JM, <i>et al.</i> (34) Choi JM, <i>et al.</i> (35)
<b>T hücre inhibisyonu sinyali durdurur.</b>	Artmış T hücre hareketi ve TCR indüklenmiş stop sinyalinin inhibisyonu, T hücreleri ve APC'ler arasındaki stabil konjugat oluşumu için gereklidir. Bu olay T hücreleri ve APC'ler arasında sitoki üretimini ve proliferasyonu azaltan kısalmış bağlantı periyoduna neden olur.	Schneider H, <i>et al.</i> (36) Schneider H, <i>et al.</i> (37)

**Şekil 13:** B7/CD28/CTLA-4 yolağı aksiyon mekanizması [154]

Bu tür yollar fosfataz rekrütmanı veya lipid birikimi lokasyonunda değişimlerini içerebilmektedir. Şekil 13b’de ikinci modelde ligandlara bağlanamayan bir CTLA-4 splay varyantı full-length moleküldekine benzer şekilde bir inhibitör sinyalizasyon yoluyla T hücre aktivasyonunu inhibe eder. Üçüncü modelde ise (Şekil 13c) CTLA-4’ün kendisi sinyalleme yapmaz fakat CD28 ile aynı ligand için yüksek afiniteyle yarışarak CD28’in pozitif sinyal üretmesini önler. [153]. Şekil 13d’deki son modelde ise CTLA-4 sinyali T hücrelerinin APC’lere adezyonunu engeller. CTLA-4, lenfosit fonksiyonu ilişkili antijen 1 (LFA1) aracılı bir yolak sayesinde adezyonu artırabilir ya da TCR-aracılı ‘dur’ sinyalini inhibe ederek APC’de bulunma süresini azaltabilir. APC üzerindeki azalan stabilite daha sonra T hücre aktivasyonunu azaltabilmektedir [153].



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada herhangi bir patolojik bulgusu, benign ya da selim tümörü ve tercihen ailesinde tümör hikayesi olmayan **116** sağlıklı birey kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hasta grubu olarak da İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı tarafından radyolojik ve histopatolojik tanı ile beyin kanseri tanısı konmuş **73** hasta bireyden alınan örnekler kullanılmıştır. Nöroşirürji bölümü tarafından diğer klinik parametrelere ait ayrımlar yapılmış olup kan örnekleri bu birim tarafından sınıflandırılarak İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim dalımıza gönderilmiştir. Çalışma kapsamında sağlıklı ve hasta bireylere ait EDTA'lı kanlardan elde edilen DNA'ların saflık tayinleri yapıp ardından DNA konsantrasyonları hesaplandı. Daha sonra tayin edilen DNA örneklerinde CTLA-4 polimorfizmi Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi ve agaroz jel elektroforezi yöntemleriyle analiz edildi.

#### 3.2. Periferik kandan DNA İzolasyonu

Kanser tanısı konmuş hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden alınan EDTA'lı tüplerdeki 5-10ml.lik kan örnekleri çalışma için falkon tüplerine aktarıldı. Üzerilerine 1:3 oranında eritrositleri patlatmak için hazırlanan, eritrosit parçalama tamponu (Lysis Buffer) eklenerek +4°C'de 15 dakika bekletildi. Daha sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir ve süpernatant kısımları atılarak pelletler tamamen süspansiyon durumuna getirildi ve üzerlerine tekrar 15-20ml. Lysis Buffer eklendi. Örnekler +4°C'de 15 dakika bekledikten sonra 10 dakika 1500 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant kısımları atıldı ve süspansiyon olan pellet üzerine 500 ml %10'luk SDS, 75ml proteinaz K ve Lökosit parçalama tamponu (WBL) eklenerek 65°C'deki su banyosunda bir saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 1ml. örnek başına 0.37ml. 9.5M'lık amonyum asetat çözeltisi eklendikten sonra karıştırıldı ve 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilerek proteinler çöktürüldü. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı temiz bir falkona aktarıldı ve üzerine 1:2 oranında %99'luk etanol eklendi ve böylece DNA'nın presipitasyonu sağlandı. Yoğunlaşan DNA'nın alkol yüzeyine çıkması beklenildi ve DNA mikropipet ucuyla alındı. DNA %70'lik alkolde yıkandı ardından Tris-EDTA (TE) çözeltisinde çözündürüldü. Elde edilen DNA'nın miktarının ve saflığının belirlenmesi için spektrofotometrede OD ölçümü yapıldı ve DNA daha sonra +4°C'de saklandı.

DNA örnekleri Tris-EDTA içerisinde 1/100 oranında sulandırıldı. 260 nm'de DNA'nın ve 280 nm'de RNA ve proteinin verdiği absorptans Tris-EDTA ile spektrofotometre sıfırlanarak ölçüldü. 260 nm'de okunan absorptans/280nm'de okunan absorptans oranından DNA saflığı saptandı. O.D.260/ O.D.280 oranı 1,7-1,8 olarak okunan DNA'lar saf olarak kabul edildi.

### 3.3. PCR Analizi

Uygulanan PCR yöntemi dizi analizi yapılacak gen bölgesine uygun primerlerin, uygun erime sıcaklık derecelerine göre yapıldı. rs231775 CTLA- 4 49A > G (exon 1) gen polimorfizmlerinin saptanması için spesifik 10pmol'lük primer çiftleri; F: 5'-CCA CGG CTT CCT TTC TCG TA-3', R: 5'-AGT CTC ACT CAC CTT CCG TGC AG - 3', dNTP karışımı; 10 x Reaksiyon çözeltisi, mM MgCl<sub>2</sub> içeren, toplam 24 µl PCR karışımı **Tablo.1**'ya göre hazırlandı.

**Tablo 1:** Kullanılan PCR bileşenleri

Malzemeler	Miktar (µl)
Su	17,5 µl
dNTP	1,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	1,75 µl
MgFree	2,5 µl
Primer	1 µl
İ-star Taq Polimeraz (Fermantas)	0,3 µl

1'er µl DNA örnekleri uygun derişimde hazırlanan PCR karışımına eklenerek optimum koşullarda PCR reaksiyonu gerçekleştirildi. PCR reaksiyonu 95°C'de 5 dakika denatürasyonu takiben 35 döngü 94°C de 45 saniye 59.2°C de 45 saniye 72°C de 45 saniye ve 72°C'de 5 dakika uzama şeklinde gerçekleştirildi.

### 3.4. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

CTLA- 4 49A > G gen polimorfizmlerinin saptanması için ise PCR ürünleri BbvI-BseXI restriksiyon enzimi ile uygun tamponu içeren karışım hazırlandıktan sonra 37°C'de 2 saat süreyle inkübe edildi. Reaksiyon için gerekli olan karışım Tablo.1'ya göre hazırlandı.

**Tablo 2: Kullanılan RFLP bileşenleri**

Malzemeler	Miktar (µl)
Su	4,5
Buffer	0,5
Enzim (BbvI-BseXI)	0,25

### 3.5. Agaroz Jel Elektroforezi

54 gram Tris base (Sigma, T-8524) ve 27.5 gr Borik asit (Sigma, B-6768) tartılarak 800 mililitre distile suda çözüldü. Üzerine 20 ml 0,5 M EDTA (pH :8.0) ilave edildikten sonra 1000 ml'ye tamamlandı. Elektrofrezde stok 5X TBE tamponundan hazırlanan 1 X TBE kullanıldı.

#### **%3'lük Agaroz Jel Hazırlanması:**

6 gram agaroz (Sigma) tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 200 ml olacak şekilde 1X TBE tamponu eklenerek, mikrodalga fırında kaynatma yolu ile çözüldürüldü. Erlenin sıcaklığı elle tutulabilecek sıcaklığa düştüğünde (50-55°C) çözünmüş agaroz jel içine 4.5 µl etidyum bromür (10mg/ml) ilave edildi. Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirilerek donmaya bırakıldı. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi. Kesim ürünleri % 3'lük agaroz jelde 100 volt, 30 dakika yürütüldükten sonra UV altında incelendi ve genotipler tespit edildi.

### 3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri için SSPS paket programı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı  $p < 0.05$  olarak alındı. Genotip ve allelerin görülme sıklığının, gruplar arası farklılıkların, genotipler ile klinik parametreler arasındaki olası ilişkinin belirlenmesinde Ki kare testi kullanıldı.

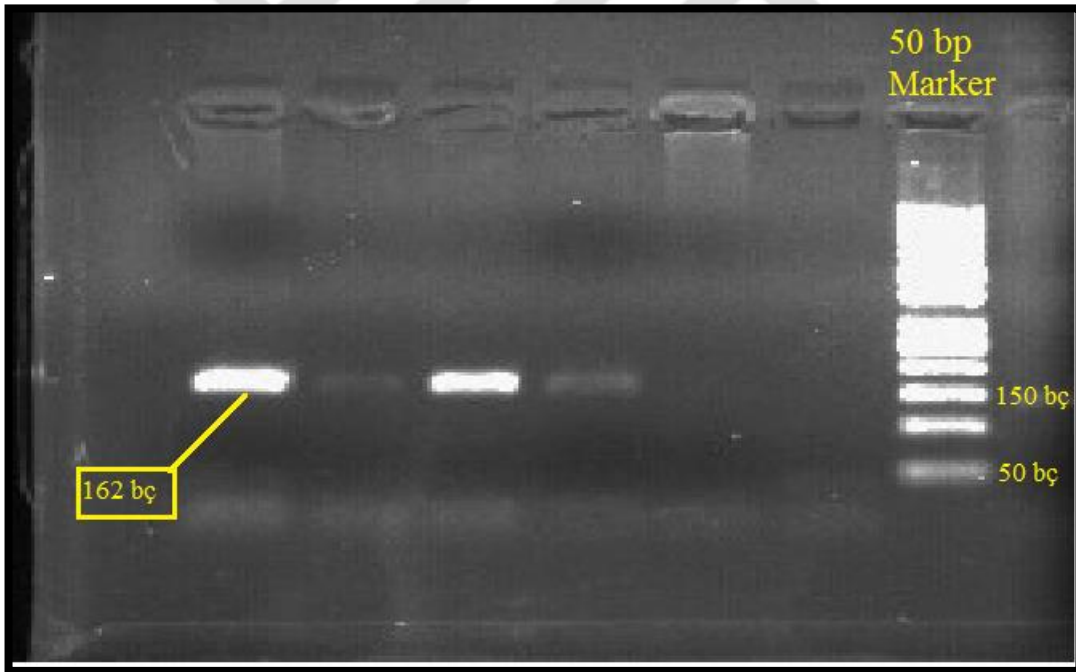
## 4. BULGULAR

Çalışmamıza İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından primer beyin tümörü tanısı konulan hastalar ile tercihen yaş ortalaması 50'nin üzerinde olan, ailede kanser hikayesi bulunmayan, sigara ve alkol kullanmayan sağlıklı bireyler dahil edilmiştir. Gönüllüler önce yapılacak araştırma ile ilgili bilgilendirilmiş ve gönüllü onam formu okutularak imzalatılmıştır.

### 4.1.PCR ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR

#### 4.1.1. CTLA- 4 49A > G PCR Ürünlerine Ait Bulgular

CTLA- 4 gen bölgesinin 49A > G polimorfizmine ait pcr ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde ilgili gen varyasyonunun tespiti için 162 bç'lik özgül PCR ürününe ait bantlar elde edildiği gözlemlendi (Şekil 15).



Şekil 14: CTLA-4 49 A>G PCR agaroz jel görüntüsü

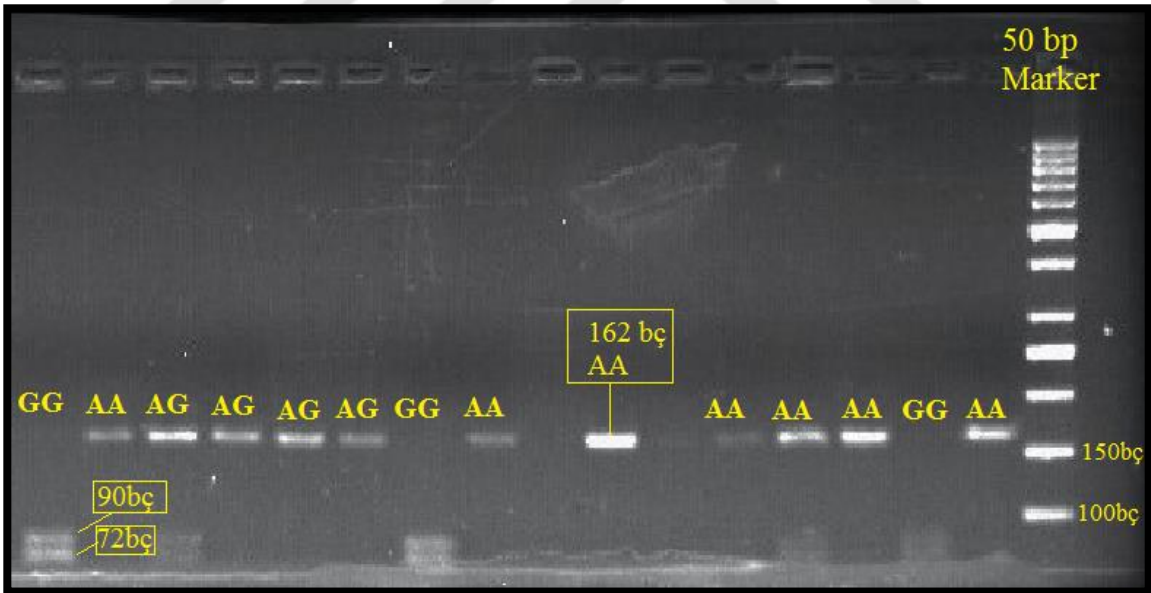
#### 4.1.2. CTLA- 4 49A > G PCR-RFLP Ürünlerine Ait Bulgular

CTLA- 4 49A > G gen bölgesinin polimorfizmine ait pcr ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edildi. Agaroz jelde ilgili gen varyasyonunun tespiti için 162bç'lik özgül PCR ürününe ait bantlar elde edildiği gözlemlendikten sonra bu pcr ürünlerinin Bbv1 enzimi kullanılarak kesimi gerçekleştirildi.(Şekil 16).

#### 4.2.KESİM ÜRÜNLERİNİN KONTROLÜNE AİT BULGULAR

##### 4.2.1. CTLA- 4 49A > G Kesim Ürünlerine Ait Bulgular

CTLA- 4 49A > G PCR ürünleri %2'lik agaroz jelle yüklenip kontrol edildikten sonra pcr ürünlerine Bbv1 enzimiyle kesim uygulandı. Kesim sonrası elde edilen ürünler %2'lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle yürütüldü. CTLA- 4 49A > G polimorfizminde Bbv1 enzim kesimi uygulandıktan sonra gözlenen 162, 90 ve 72 bç'lik bantlar heterozigot AG genotip olarak değerlendirilirken 162 bç tek bant veren örnekler homozigot AA genotipi olarak saptanmıştır. Homozigot GG genotipinde ise 90 ve 72 bç büyüklüğündeki bantlar izlenmiştir (Şekil 4-3).



Şekil 15: CTLA-4 49 A>G PCR-RRFLP ürünleri



### 4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ SONRASINDA ELDE EDİLEN BULGULAR

Çalışma grubumuza dahil edilen primer beyin tümörlü hastaların (36 kadın, 37 erkek) yaş ortalaması  $45 \pm 14.7$ , sağlıklı kontrol bireylerin (70 kadın, 46 erkek)  $47.7 \pm 14.4$  olup, aralarında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Hastaların %64.4'ü gliom, %35.6 sı meningiomlardan oluşmaktadır. Hastaların %64.4'lük kısmı diffüz astrositoma ve oligodendroglioma grubunda yer almıştır. %33.3'lük kısım ise glioblastoma multiforme hastalarından oluşmaktadır. Hastaların tümörlerinin yerleşimi %1.8 limbik, %9.1 parietal, %16.4 temporal, %23.6 frontal, %5.5 oksipital, %1.8 posterior fossa veya beyin sapı, %3.6 cerebello pontin açığı, %7.3 anterior fossa kafa tabanı, %7.3 parasagittal, %7.3 sfenoidal, %1.8 glomus, %7.3 konveksite, %3.6 ventrikül, %1.8 insüler, %1.8 serebellar şeklinde görülmüştür. Gruplandığında %68.6 kişide frontal, oksipital ve parietal yerleşimli, %31.4 ü insüler temporal, ventrikül ve beyin sapı yerleşimli olarak belirlenmiştir. Hastaların %54.1 inde nekroz yok, %45.9 unda nekroz vardır. Hastaların %91.9 unda vasküloendotelyal proliferasyon (VEP) mevcuttur. Meningiomların %30.8 i parasagittal ve konveksite falks grubundan oluşmaktadır.

**Tablo 3:** Hastaların risk parametrelerine göre dağılımı.

Risk Parametreleri	KONTROL n= 116	PRİMER BEYİN TÜMÖRLÜ HASTALAR n= 73
<b>Cins</b>		
Kadın, n (%)	70(60.3)	36(49.3)
Erkek, n(%)	46(39.7)	37(50.7)
<b>Yaş Ortalamaları (yıl)</b>	47.7±14.4	45.0 ±14.7
<b>Primer Beyin Tümörleri</b>		
Diffüz astrositoma ve oligodendriogial tümörler, sayı(%)		47(64.4)
meningiomlar, sayı (%)		26 (35.6)
<b>Nekroz Varlığı</b>		
Nekroz var		17 (45.9)
Nekroz yok		20 (54.1)
<b>Vasküloendotelyal proliferasyon (VEP)</b>		
VEP var		34(91.9)
VEP yok		3 (8.1)

**Tablo 3:** Hastaların risk parametrelerine göre dağılımı

<b>Diffüz astrositoma ve oligodendriogial tümörlerin Yerleşim Yeri</b>		
Limbik		1 (2,8)
Parietal		5 (13,9)
Temporal		9 (25)
Frontal		12 (33,3)
Oksipital		3 (8,3)
Posterior fossa ve beyin sapı		1 (2,8)
Glomus		1 (2,8)
Ventrikül		2 (5,6)
İnsüler		1 (2,8)
serebellar		1 (2,8)
<b>Meningiom tümörlerin Yerleşim Yeri</b>		
Frontal		1 (5,3)
Cerebellopontin açığı		2 (10,5)
Anterior fossa kafa tabanı		4 (21,1)
Parasagittal		4 (21,1)
Sfenoidal		4 (21,1)
konveksite		4 (21,1)

CTLA- 4 49A > G gen polimorfizmi sonuçları değerlendirildiğinde, kontrol grubu ve primer beyin tümörlü hastalar arasında genotip dağılımı ve allel frekansları Tablo 4’de verilmiştir.

**Tablo 4:** Primer beyin tümörlü hasta grupları ve sağlıklı kontrollerde CTLA-4 49A>G genotiplerin dağılımı

Primer Beyin Tümörlü Hasta Grupları ve Sağlıklı Kontrollerde CTLA- 4 49A > G Genotiplerin Dağılım Yüzdeleri						
Primer Beyin Tümörlü ve Sağlıklı			CTLA- 4 49A > G			Toplam sayı
Bireyler			AA	AG	GG	
Çalışma Grupları	diffüz astrositoma ve oligodendroglial tümörler	N	27	14	6	47
		%	57,4%	29,8%	12,8%	100,0%
	meningiom	N	17	7	2	26
		%	65,4%	26,9%	7,7%	100,0%
	Kontrol	N	52	54	10	116
		%	44,8%	46,6%	8,6%	100,0%

Gruplar arasında genotip dağılımları açısından istatistiksel anlamlılığa çok yakın fark gözlenmiştir (p=0.051). Buna göre primer beyin tümörlü tüm hastalar ile sağlıklı

kontroller CTLA4 49A>G genotipi taşıma açısından değerlendirildiklerinde homozigot AA veya GG taşıyan hastaların (%71.2) sağlıklı kontrol grubuna göre (%53.4) yüksek frekansta olup, aradaki fark istatistiksel anlamlıdır (OR: 1,33;%95CI: 1,065- 1,667) (p=0,015).

**Tablo 5:** Primer beyin tümörlü hasta grupları ve sağlıklı kontrollerde CTLA-4 49A>G genotipleri ve allel frekansı dağılımı

Genotipler ve Alleller	Primer beyin tümörlü hastalar n(%)	Kontroller n(%)	P
CTLA- 4 49A>G			
AA	44 (60.3)	52 (44.8)	p = 0.051
AG	21 (28.8)	54 (46.6)	
GG	8 (11)	10 (8.6)	
A Alleli	109(74.7)	158(68.1)	p = 0.173
G alleli	37(25.3)	74 (31.9)	

CTLA- 4 49A>G gen polimorfizminde diffuz astrositoma ve oligodendroglial tümörlü hastalar ve kontrol grubuna ait genotip ve allel frekansının arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır (p=0.139 ve p=0.452). Ancak homozigot AA ve GG taşıyan hasta grubu frekansı (%70.2) kontrol grubuna göre (%53.4) istatistiksel olarak anlamlı fark yüksek frekansta saptanmıştır. (OR: 1,314;%95CI: 1,021- 1,690) (p=0,049).

**Tablo 6:** Diffuz astrositoma, oligodendroglial tümörlü hastalar ve kontrollerde CTLA-4 49A>G genotipleri ve allel frekansı dağılımı

Genotipler ve Alleller	Diffuz astrositoma ve oligodendroglial tümörlü hastalar n(%)	Kontroller n(%)	P
CTLA- 4 49A>G			
AA	27 (57.4)	52 (44.8)	p = 0.139
AG	14 (29.8)	54 (46.6)	
GG	6 (12.8)	10 (8.6)	
A Alleli	109(74.7)	158(68.1)	p = 0.452
G alleli	37(25.3)	74 (31.9)	

Meningiom ve sağlıklı bireyler arasında genotip dağılımları açısından istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir (p=0.152). AA genotipinin meningiomlarda (65.4%) sağlıklı

bireylere göre (44.8%) yüksek frekansta olması olup istatistiksel anlamlılığa yakın bulunmuştur (p=0.058)

**Tablo 7:** Meningiom ve kontrollerde CTLA-4 49A>G genotipleri ve allel frekansı dağılımı

Genotipler ve Alleller	Meningiomlu hastalar n(%)	Kontroller n(%)	P
CTLA- 4 49A>G			
<b>AA</b>	17 (65.4)	52 (44.8)	p = 0.152
<b>AG</b>	7 (26.9)	54 (46.6)	
<b>GG</b>	2 (7.7)	10 (8.6)	
<b>A Alleli</b>	41(78.8)	158(68.1 )	p = 0.126
<b>G alleli</b>	11(21.1)	74 (31.9)	

**Tablo 8:** Diffuz astrositoma ve oligodendroglial tümörlü hastaların alt grup ve klinik özelliklere göre CTLA- 4 49A > G gen polimorfizmlerine ait genotip dağılımları

Genotipler ve Alleller	AA n(%)	AG n(%)	GG n(%)
diffuz astrositoma ve oligodendroglial tümörlü hastalar			
<b>GBM olan</b>	7 (58.3))	3 (25)	2 (16.7)
<b>Diğer</b>	12 (50)	8(33.3)	4 (16.7)
<b>Tümör frontal /okspital/parietel yerleşimli</b>	11(45.8)	7(29.2 )	6(25)
<b>Tümör insüler/temporal/ventrikül/beyin sapı yerleşimli</b>	8( 72.7)	3 (27.3)	0(0)
<b>Vasküoendotelyal proliferasyon yok</b>	1 (50)	1 (50)	0(0)
<b>Vasküoendotelyal proliferasyon var</b>	18 (52.9)	10 (29.4)	6 (17.6)
<b>Nekroz yok</b>	12 (60)	5(25)	3 (15)
<b>Nekroz var</b>	7(43.8)	6 (37.5)	3 (18..8)
Meningiomlu hastalar			
<b>Parasagittal ve konveksi te falks</b>	4 (50)	3 (37.5)	1 (12.5)
<b>Diğer yerleşimliler</b>	12 (70.6)	4 (23.5)	1 (5.9)

İncelenen hastaların klinik ve patolojik parametreleriyle CTLA- 4 49A>G genotip dağılımları değerlendirildiğinde glioblastome multiforme olma durumu, gerek gliom gerek meningiomda tümör yerleşim yerleri, nekroz varlığı, VEP varlığı gibi parametreler açısından bu polimorfizmin genotip dağılımları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. (Tablo 4.4)



## 5. TARTIŞMA

Beyin tümörleri, merkezi sinir sistemindeki primer ve metastatik neoplazmların heterojen bir grubunu oluşturmaktadır ve düşük sürvisi nedeniyle hayatı tehdit eden hastalıklardır [155]. Primer beyin tümörleri histopatolojik özelliklerine göre aşağıdaki ana histolojik gruplara ayrılmıştır: nöroepitel doku tümörleri; astrositoma, glioblastoma, oligodendroglioma, ependimoma, meninksleri içeren beyin tümörleri; meninjiom, hemanjiyoblastoma, hipofiz bezinin bulunduğu bölgedeki tümörler ve kraniyofarinjioma [157]. Primer habis beyin tümörlerinin yıllık insidansı yaklaşık 24.000 vakadır [155,156]. Primer habis beyin tümörlerinin neredeyse %80'inde gliomalar, diğer beyin tümörlerine göre genellikle kötü sağkalıma neden olur [158]. Yetişkinlerde malign gliomlar ve meningiomlar en sık görülen primer beyin tümörleridir. Meninjiyom genellikle yavaş ilerleyen iyi huylu tümörlerdir ve tüm primer beyin tümörlerinin yaklaşık% 13-26'sından sorumlu olup meninkslerden kaynaklanmaktadır [159]. Malign gliomlar ise glial kökenli primer tümörlerdir ve yeni primer beyin kanseri tanısının yaklaşık% 70'inden sorumludur [156,160]. Medyan sağkalım anaplastik astrositomalarda yaklaşık üç yıl ve GBM hastaları için yaklaşık 14.6 aydır [161,162]. Beyin metastazları, başta akciğer, göğüs ve deri olmak üzere sistemik kanserlerden kaynaklanan, merkezi sinir sistemindeki tümörlerin önemli bir sınıfıdır [163]. Metastatik beyin tümörleri, ABD'de yıllık olarak 100.000-170.000 vakanın tahmin edildiği sıklıktadır [164].

Beyin tümörlerinin etiyolojisi henüz iyi anlaşılammıştır [165,166] Bazı çalışmalar, çevresel maruziyetlerin ve genetik değişikliklerin birincil beyin tümörleri gelişimine neden olabileceğini bildirmiştir [165,166]. Beyin ve merkezi sinir sistemi tümörlerinin etiyolojisi büyük oranda bilinmemekle birlikte, birkaç kanıt antitümör T hücre yanıtlarını değiştiren olayların önemli olabileceğini göstermektedir [167,168,169,170,171]. Tümör immünesinde SNP'leri de içine alan protein fonksiyonu ya da ekspresyonundaki değişiklikler malign hücrelerin sürvisini etkileyebilmektedir [172]. Antitümör T lenfositler malign hücrelerin immün sürveyansında büyük bir öneme sahiptir [173].

Kanser etiyolojisini araştırma yollarından biri genetik polimorfizmlerin belirlenmesidir. Bu nedenle, kanser riskinin değerlendirilmesi için olası parametreler olarak bilinen gen polimorfizmleri araştırmacılar tarafından sıklıkla incelenmiştir [174,175]. Kostimülatör faktörler B7-1 ve B7-2 'nin ikinci reseptörü olan CTLA-4, T hücre aktivasyonunun negatif düzenleyicisidir [176,177,178,179]. CTLA-4'ün Ekzon 1'inde görülen 49A>G

SNP'si CTLA-4 geninin lider peptit sekansında bir aminoasit değişimine (Treonin'den Alanin'e) neden olan tek polimorfizmdir. Bu değişim sinyal peptidinin yetersiz glikozilasyonu ve endoplazmik retikulumda farklılaşan işleyişiyle ilişkilendirilmiştir ve gen ekspresyonunu etkilemiştir. Tüm bu değişimler T hücre aktivasyonunun CTLA-4 odaklı down-regülasyonunu ve otoimmün hastalıkların patojenezini etkilemektedir [180,181,182,183,184].

CTLA-4 geninin bazı önemli polimorfik bölgeleri (Ekzon1'deki +49 A>G; rs231775, promoter bölgesindeki -318 C>T; rs5742909, -1722 T>C; rs733618, -1661 A>G; rs4553808 ve 3'-untranslated bölgesindeki +6230 G>A; rs3087243 [25-185,26-186] çeşitli hastalıklarda çalışılmıştır ayrıca bu genin farklı allel ve genotiplerinin bazı kanser türlerindeki duyarlılığa katkıda bulunduğu rapor edilmiştir [187]. Daha önce yapılan çalışmalar kolorektal kanser ve CTLA 4 A>G polimorfizmi arasında ilişki olduğunu açıklamıştır. Örneğin Çin populasyonunda CTLA 4 A>G polimorfizmi kolorektal kanser riski ile ilişkili bulunmuştur. Fakat Türk populasyonunda bir ilişki bulunamamıştır [193]. Cui ve ark. CTLA-4 +49 AA genotipinin azalmış kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğunu bildirirken [189] Cozar ve ark. CTLA-4 AA genotipiyle böbrek kanserine duyarlılık arasındaki ilişkiyi rapor etmiş CTLA-4 geni ve kolon kanseri arasında ise ilişki olmadığını göstermiştir. Cozar ve Ark diğer bir çalışmada CTLA 4 AA genotipiyle böbrek kanseri arasındaki ilişkiyi rapor etmiştir. [190]

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda CTLA4 proteinindeki fonksiyonel değişikliklerin bu gendeki genetik varyasyonlar tarafından uyarılabileceği belirtilmiştir [191]. CTLA-4 gen varyantları arasında bir amino asit değişimine (alanin alanına treonin) neden olan +49 A> G, en kapsamlı şekilde incelenen polimorfizmdir [174,192]. Fakat beyin tümörleri ve CTLA-4 49A>G polimorfizmi arasındaki ilişki ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmamızda CTLA-4 49>G rs231775 ve beyin tümörleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Daha önce yaptığımız bir çalışmada CTLA 49 A>G polimorfizmi kolorektal kanserli hastalarda klinik parametreler ve genotipler açısından değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir [193]. Bunun yanısıra A alleleline sahip olanların G alleleline sahip olanlardan daha yüksek oranda CTLA-4 ekspresyonu gösterdiği görülmüştür ve buna bağlı olarak A allelinin T hücre proliferasyonunun ve aktivasyonunun inhibisyonuyla ilişkili olduğu önerilmiştir [193]. Bu çalışmamızda hastaların klinik ve patolojik parametreleriyle CTLA- 4 49A>G genotip dağılımları

değerlendirildiğinde glioblastome multiforme olma durumu, gerek gliom gerek meningiomda tümör yerleşim yerleri, nekroz varlığı, VEP varlığı gibi parametreler açısından bu polimorfizmin genotip dağılımları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu bakımdan çalışmamız diğer çalışmamızdaki bulgularla uygunluk göstermektedir.

Meme kanserinde yapılan bir diğer çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Fakat meme kanseri hastalarında CTLA 4 49 A>G homozigot (GG+AA) varyantların frekansı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur [OR=1.323; %95 (CI)=1.022-1.713] [194]. Ghaderi ve ark. tarafından İran'lı kadın hastalar üzerinde yapılan başka bir çalışma GG genotip frekansında kontrollere oranla dikkate değer bir azalma olduğunu göstermiştir. Yine aynı çalışmada AA genotipli hastalarla tümör büyüklüğü veya lenf nodu içerilmesi bakımından pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu nedenle AA genotipinin tümör progresyonuna katkıda bulunabileceği düşünülmüştür [195]. Bu çalışmada ise primer beyin tümörleri ve kontrol grupları arasında CTLA 4 49 A>G genotip dağılımı açısından anlamlı bir ilişki bulunmazken CTLA 4 49 A>G homozigot AA ve GG genotipleri primer beyin tümürlü hastalarda (%71.2) sağlıklı kontrol grubuna göre (%53.4) yüksek frekansta saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (OR: 1,33;%95CI: 1,065- 1,667) ( $p=0,015$ ). Benzer şekilde diffuz astrositoma ve oligodendroglial tümürlü hastalar ve kontrol grupları arasında CTLA 4 49 A>G genotip dağılımı açısından anlamlı bir ilişki bulunmazken CTLA 4 49 A>G homozigot AA ve GG genotipleri diffuz astrositoma ve oligodendroglial tümürlü hastalarda (%70.2) kontrol grubuna göre (%53.4) yüksek frekansta olup, aradaki fark istatistiksel anlamlıdır. Bu sonuçlar yukarıda belirtilen çalışmalarla da uygunluk göstermektedir.

Biyokimyasal analizler CTLA-4-Treonin'in T hücre aktivasyonunu daha güçlü bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir: AA genotipli T hücreleri belirgin şekilde daha düşük aktivasyon seviyesi ve uyarılara bağlı olarak daha düşük proliferasyon hızına sahiptir [180]. Sun ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada bu varyantın A alleli anlamlı olarak çeşitli kanser türleri için artmış riskle ilişkilendirilmiştir [180]. Yapılan diğer çalışmaların sonuçları bu bulgularla uygunluk göstermese de Ghaderi ve arkadaşları [195] GG genotipinin İranlı meme kanseri hastalarında anlamlı şekilde daha az görüldüğünü, Wang ve arkadaşları ise 49A allelinin anlamlı şekilde artan tümör büyüklüğü ile ilişkili



olduğu fakat Çinli hastalarda beyin kanserine yatkınlık artışıyla ilgili olmadığı rapor edilmiştir [173]. Bu çalışmada meningiom ve sağlıklı bireyler arasında genotip dağılımları açısından istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir ( $p=0.152$ ). Fakat burada ilgi çekici bulgu AA genotipinin meningiomlu bireylerde (65.4) sağlıklı bireylere göre (44.8) yüksek frekansta olması olup istatistiksel anlamlılığa yakın bulunmuştur ( $p=0.058$ ). Yukarıda belirtilen kanser türlerinde belirtildiği gibi bu çalışmada da AA genotipli bireylerde meningiom oluşma riski diğer genotiplere oranla daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak, CTLA4, A49G fonksiyonel polimorfizmi ve beyin tümörleri arasındaki ilişki araştırıldı. Bu çalışma CTLA4 SNP'si ve beyin tümörleri arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışma niteliği taşımaktadır. Araştırma sonucunda CTLA4 A49G genotipi ve allel frekansları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bununla birlikte, CTLA-4, A49G homozigot varyant taşımanın gerek risk gerek hastalığın progresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Araştırmanın sınırlı boyutu göz önüne alındığında, sonuçlar dikkatle alınmalı ve gözlemlerin daha büyük örneklem gruplarında veya diğer etnik gruplarda teyit edilmesi için daha fazla analiz gereklidir. CTLA-4, çeşitli insan kanserlerinde rol oynadığından ve malign transformasyon, invazyon ve metastaz sırasında anahtar işlevsel rollere sahip olduğu gösterildiğinden, bu protein tanısal ve terapötik uygulamalarda potansiyel kullanımlara sahiptir. Bu çalışma, CTLA4 A49G alelinin beyin tümörü gelişme riski yüksek kişileri tanımlamak için potansiyel bir klinik biyolojik belirteç olabileceğini önermektedir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Neurocritical Care Society Review Course.(2011). Brain tumor and metastases, Henderson G.
2. Bloch OI. Immunotherapy for malignant gliomas. *Cancer Treat Res.* 2015;163:143-58. doi: 10.1007/978-3-319-12048-5\_9.
3. Wen,P.Y.,andKesari,S.(2008). Malignantgliomasinadults. *N. Engl.J.Med.* 359, 492–507. doi:10.1056/NEJMra0708126
4. Chintagumpala M1, Gajjar A2. Brain tumors. *Pediatr Clin North Am.* 2015 Feb;62(1):167-78. doi: 10.1016/j.pcl.2014.09.011.
5. Rakheja D., Medeiros L.J., Bevan S. and Chen W. The Emerging role of D-2-hydroxyglutarate as an oncometabolite in hematolymphoid and central nervous system neoplasms. doi: 10.3389/fonc.2013.00169
6. Perng, P., & Lim, M. Immunosuppressive Mechanisms of Malignant Gliomas: Parallels at Non-CNS Sites. *Frontiers in Oncology*, 5, 153. <http://doi.org/10.3389/fonc.2015.00153>
7. Hu L, Liu J, Chen X, Zhang Y, Liu L, Zhu J, Chen J, Shen H, Qiang F, Hu Z. CTLA-4 gene polymorphism +49 A/G contributes to genetic susceptibility to two infection-related cancers-hepatocellular carcinoma and cervical cancer. *Hum Immunol.* 2010;71(9):888-91.
8. Kouki T, Sawai Y, Gardine CA, Fisfalen ME, Alegre ML, DeGroot LJ (2000) CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. *J Immunol* 165: 6606–6611
9. Wang L1, Li D, Fu Z, Li H, Jiang W, Li D. Association of CTLA-4 gene polymorphisms with sporadic breast cancer in Chinese Han population. *BMC Cancer.* 2007 Sep 10;7:173.
10. Qi P1, Ruan CP, Wang H, Zhou FG, Xu XY, Gu X, Zhao YP, Dou TH, Gao CF. CTLA-4 +49A>G polymorphism is associated with the risk but not with the progression of colorectal cancer in Chinese. *Int J Colorectal Dis.* 2010 Jan;25(1):39-45. doi: 10.1007/s00384-009-0806-z. Epub 2009 Sep 29.

11. Fan C1, Zhao X, Xu Z. Associations between the cytotoxic T lymphocyte antigen 4 polymorphisms and risk of bone sarcomas. *Tumour Biol.* 2015 Jan;36(1):227-31. doi: 10.1007/s13277-014-2621-6. Epub 2014 Sep 18.
12. Lee YH, Song GG. A meta-analysis of the association between CTLA-4 +49 A/G, -318 C/T, and IL-1 polymorphisms and susceptibility to cervical cancer. *Neoplasma.* 2014;61(4):481-90. doi: 10.4149/neo\_2014\_060.
13. Hui L1, Lei Z1, Peng Z1, Ruobing S1, Fenghua Z1. Polymorphism analysis of CTLA-4 in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pak J Pharm Sci.* 2014 Jul;27(4 Suppl):1005-13.
14. Carey J. Brain facts:A Primer On The Brain And Nervous Sysyem. *Soc Neurosci.* 2003;1–58.
15. Brain Basics: Know Your Brain. Retrieved from <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/Patient-Caregiver-Education/Know-Your-Brain>
16. How your brain works. [2016, April 20]. Retrieved from <http://www.mayoclinic.org/brain/sls-20077047?s=5>
17. Inside The Brain [Internet]. 2011 [cited 2016 Apr 2]. Available from:[https://bigpictureeducation.com/sites/default/files/bp\\_files/inside the brain /wts041077~1.pdf](https://bigpictureeducation.com/sites/default/files/bp_files/inside_the_brain/wts041077~1.pdf)
18. Longstaff A. Bios Instant Notes: Neuroscience. second. Hames BD, editor. *Journal of Biological Education.* Taylor & Francis Group; 2005.
19. Killer, M. (2012). Brain Facts. Washington. Society for neuroscience. Retrieved from <http://www.sandiegobrainbee.com/files/BrainFacts2012Edition.pdf>
20. Squire LR, Bloom FE, Spitzer NC, Lac S, Ghosh A and Berg D. (2008), *Fundamental Neuroscience.* London, Elsevier.
21. Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis* 2004;16:1-13
22. Dauchy S, Miller F, Couraud PO, Weaver RJ, Weksler B, Romero IA, Scherrmann JM, De Waziers I, Decleves X. Expression and transcriptional regulation of ABC transporters and cytochromes P450 in hCMEC/D3 human cerebral microvascular endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 2009;77:897-909

23. Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev* 2005;57:173-85.
24. Deeken JF, Loscher W. The blood-brain barrier and cancer: transporters, treatment, and Trojan horses. *Clin Cancer Res* 2007;13:1663-74.
25. Barthomeuf C, Chollet P, Bayet-Robert M. Curcuminoids in Combination Docetaxel for the Treatment of Cancer and Tumour Metastasis. In: Institut National De La Sante Et De La Recherche Medicale (Inserm); 2014. (ISBN No. US20140128337 A1)
26. Loscher W, Potschka H. Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family. *NeuroRx* 2005;2:86-98.
27. Ghosh C, Gonzalez-Martinez J, Hossain M, Cucullo L, Fazio V, Janigro D, Marchi N. Pattern of P450 expression at the human blood-brain barrier: Roles of epileptic condition and laminar flow. *Epilepsia* 2010;51:1408-17
28. Minn A, Ghersi-Egea JF, Perrin R, Leininger B, Siest G. Drug metabolizing enzymes in the brain and cerebral microvessels. *Brain Res Brain Res Rev* 1991;16:65-82
29. The Other Brain Cells.(ND). Retrieved from <http://learn.genetics.utah.edu/content/neuroscience/braincells/>
30. Agamanolis, DP. (2010, February). Lymphocytes, Monocytes-Macrophages, And Microglia. Retrieved from <http://neuropathology-web.org/chapter1/chapter1dMicroglia.html>
31. Kettenmann H.; Verkhratsky A. (2011) Neuroglia - Living Nerve Glue, *Fortschritte der Neurologie und Psychiatrie* 79: 588-597, Retrieved from <http://www.networkglia.eu/en/microglia>
32. OpenStax College, Biology. (2015, September 29). Neurons and glia. In OpenStax CNX. Retrieved from [http://cnx.org/contents/GFy\\_h8cu@9.87:c9j4p0aj@3/Neurons-and-Glial-Cells](http://cnx.org/contents/GFy_h8cu@9.87:c9j4p0aj@3/Neurons-and-Glial-Cells).
33. Pacheco, R., Contreras, f. and Prado, C.(2012). Cells, Molecules and Mechanisms Involved in the Neuro-Immune Interaction. Santiago, Intech.
34. Ader, R., Felten, D., and Cohen, N. (1990). Interactions between the brain and the immune system. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30, 561–602. doi: 10.1146/annurev.pa.30.040190.003021

35. Özdoğan, M.(2016, August). Beyin kanserli hastalarda tümörün, kan beyin bariyerini nasıl aktifleştirdiği bulundu. Retrieved from <http://www.drozdogan.com/beyin-kanserli-hastalarda-tumorun-kan-beyin-bariyerini-nasil-aktiflestirdigi-bulundu/>
36. Felten, D.L., Felten, S.Y., Bellinger, D.L., Carlson, S.L., Ackerman, K.D., Madden, K.S., Olschowka, J.A., Livnat, S., 1987. Noradrenergic sympathetic neural interactions with the immune system: Structure and function. *Immunol. Rev.* 100, 225 – 260.
37. Blalock, J.E., 1989. A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. *Physiol. Rev.* 69, 1 – 27.
38. Madden, K.S., Felten, D.L., 1995. Experimental basis for neural –immune interactions. *Physiol. Rev.* 75, 77 – 106.
39. Jiang, C.L., Lu, C.L., Liu, X.Y., 1998. The molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. *Domest. Anim. Endocrinol.* 15, 363 – 369.
40. Dantzer, R., 2004. Innate immunity at the forefront of psychoneuroimmunology. *Brain Behav. Immun.* 18, 1 – 6.
41. Hori, T., Katafuchi, T., Take, S., Shimizu, N., Nijima, A., 1995. The autonomic nervous system as a communication channel between the brain and the immune system. *Neuroimmunomodulation* 4, 203 – 215.
42. Madden, K.S., 2003. Catecholamines, sympathetic innervation, and immunity. *Brain Behav. Immun.* 17, S5 – S10.
43. Munck, A., Guyre, P.M., 1991. Glucocorticoids and immune function. In: Ader, R., Felten, D.L., Cohen, N. (EdsR), *Psychoneuroimmunology*, vol. 2, 2nd ed. Academic Press, San Diego, pp. 447 – 474.
44. Auphan, N., DiDonato, J.A., Rosette, C., Helmberg, A., Karin, M., 1995. Immunosuppression by glucocorticoids. Inhibition of NF- $\kappa$ B synthesis. *Science* 270, 286 – 290.
45. Meier, C.A., 1996. Mechanisms of immunosuppression by glucocorticoids. *Eur. J. Endocrinol.* 134, 50 – 65.

46. Barnes, P.J., 1998. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids. Molecular mechanisms. *Clin. Sci.* 94, 557 – 572.
47. Sternberg, E.M., 2001. Neuroendocrine regulation of autoimmune/inflammatory disease. *J. Endocrinol.* 169 (3), 429 – 435.
48. Webster, J.I., Tonelli, L., Sternberg, E.M., 2002. Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 20, 125 – 163.
49. Fuchs, B.A., Albright, J.W., Albright, J.F., 1986. h-adrenergic receptors on murine lymphocytes: density varies with cell maturity and lymphocyte subtype and is decreased after antigen administration. *Cell. Immunol.* 243, 495 – 508
50. Sanders, V.M., 1998. The role of norepinephrine and h-2-adrenergic receptor stimulation in the modulation of Th1, Th2, and B lymphocyte function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 437, 269 – 278.
51. Tayebati, S.K., Bronzetti, E., Morra Di Cella, S., Mulatero, P., Ricci, A., Rossodivita, I., 2000. In situ hybridization and immunocytochemistry of  $\alpha$ 1-adrenoceptors in human peripheral blood lymphocytes. *J. Auton. Pharmacol., Suppl.* 20, 305 – 312
52. Dong, J., Mrabet, O., Moze, E., Li, K., Neveu, P.J., 2003. Lateralization and catecholaminergic neuroimmunomodulation: prazosin, an  $\alpha$ 1/ $\alpha$ 2-adrenergic receptor antagonist, suppresses interleukin-1 and increases interleukin-10 production induced by lipopolysaccharides. *Neuroimmunomodulation* 10, 163 – 168.
53. Felten, S.Y., Olschowka, J.A., 1987. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen: II. Tyrosine hydroxylase (TH)-positive nerve terminal form synaptic-like contact on lymphocytes in the splenic white pulp. *J. Neurosci. Res.* 18, 37 – 48.
54. Stevens-Felten, S.Y., Bellinger, D.L., 1997. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid organs. *Chem. Immunol.* 69, 99 – 131.
55. Elenkov, I.J., Wilder, R.L., Chrousos, G.P., Vizi, E.S., 2000. The sympathetic nerve: an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol. Rev.* 52, 595 – 638

56. Shimizu, N., Hori, T., Nakame, H., 1994. An interleukin-1 beta-induced noradrenaline release in the spleen is mediated by brain corticotropinreleasing factor: an in vivo microdialysis study in conscious rats. *Brain Behav. Immun.* 8, 14 – 23
57. Tracey, K.J., 2002. The inflammatory reflex. *Nature* 420, 853 – 859
58. Pavlov, V.A., Wang, H., Czura, C.J., Friedman, S.G., Tracey, K.J., 2003. The cholinergic anti-inflammatory pathway: a missing link in neuroimmunomodulation. *Mol. Med.* 9 (5 – 8), 125 – 134.
59. Saeed, R.W., Varma, S., Peng-Nemeroff, T., Sherry, B., Balakhaneh, D., Huston, J., Tracey, K.J., Al-Abed, Y., Metz, C.N., 2005. Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation. *J. Exp. Med.* 201 (7), 1113 – 1123.
60. Zimring, J.C., Kapp, L.M., Yamada, M., Wess, J., Kapp, J.A., 2005. Regulation of CD8+ cytolytic T lymphocyte differentiation by a cholinergic pathway. *J. Neuroimmunol.* 164, 66 – 75.
61. Berkenbosch, F., Oers, J., van Del Rey, A., Tilders, F., Besedovsky, H., 1987. Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. *Science* 238, 524 – 526.
62. Sapolsky, R., Rivier, C., Yamamoto, G., Plotsky, P., Vale, W., 1987. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropinreleasing factor. *Science* 238, 522 – 524.
63. Rivest, S., 2003. Molecular insights on the cerebral innate immune system. *Brain Behav. Immun.* 17, 13 – 19.
64. Wrona, D., Jurkowski, M.K., Trojnar, W., Staszewska, M., Tokarski, J., 1994. Electrolytic lesions of the lateral hypothalamus influence peripheral blood NK cytotoxicity in rats. *J. Neuroimmunol.* 55, 45 – 54.
65. Wrona, D., 2006. Neural-immune interactions: an integrative view of the bidirectional relationship between the brain and immune systems. *Journal of Neuroimmunology* 172, 38 – 58

66. Fuchs, B.A., Albright, J.W., Albright, J.F., 1986. h-adrenergic receptors on murine lymphocytes: density varies with cell maturity and lymphocyte subtype and is decreased after antigen administration. *Cell. Immunol.* 243, 495 – 508.
67. Felten, D.L., Felten, S.Y., Bellinger, D.L., Carlson, S.L., Ackerman, K.D., Madden, K.S., Olschowka, J.A., Livnat, S., 1987. Noradrenergic sympathetic neural interactions with the immune system: Structure and function. *Immunol. Rev.* 100, 225 – 260.
68. Ackerman, K.D., Bellinger, D.L., Felten, S.Y., Felten, D.L., 1991. Ontogeny and senescence of noradrenergic innervation of the rodent thymus and spleen. In: Ader, R., Felten, D., Cohen, N. (Eds.), *Psychoneuroimmunology*, vol. 1, 2nd ed. Academic Press, New York, pp. 71 – 125.
69. Madden, K.S., Livnat, S., 1991. Catecholamine action and immunologic reactivity. In: Ader, R., Felten, D., Cohen, N. (Eds.), *Psychoneuroimmunology*, vol. 1, 2nd ed. Academic Press, San Diego, pp. 283 – 310.
70. Schedlowski, M., Falk, A., Rohne, A., Wagner, T.O.F., Jacobs, R., Tewes, U., Schmidt, R.E., 1993. Catecholamines induce alterations of distribution and activity of human natural killer (NK) cells. *J. Clin. Immunol.* 13, 344 – 351.
71. Benschop, R.J., Rodriguez-Feuerhahn, M., Schedlowski, M., 1996. Catecholamine-induced leukocytosis: Early observations, current research, and future directions. *Brain Behav. Immun.* 10, 77 – 91.
72. Dhabhar, F.S., Mc Ewen, B.S., 1999. Enhancing versus suppressive effects of stress hormones on skin immune function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 1059 – 1064.
73. Kohm, A., Sanders, V.M., 1999. Suppression of antigen-specific Th2 cell-dependent IgM and IgG1 production following norepinephrine depletion in vivo. *J. Immunol.* 162, 5299 – 5308
74. Koff, W.C., Dunnegan, M.A., 1986. Neuroendocrine hormones suppress macrophage-mediated lysis of herpes simplex virus-infected cells. *J. Immunol.* 136, 705 – 709.



75. Cunnick, J.E., Lysle, D.T., Kucinski, B.J., Rabin, B.S., 1990. Evidence that shock-induced immune suppression is mediated by adrenal hormones and peripheral h-adrenergic receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 36, 645 – 651.
76. Dobbs, C.M., Vasquez, M., Glaser, R., Sheridan, J.F., 1993. Mechanisms of stress-induced modulation of viral pathogenesis and immunity. *J. Neuroimmunol.* 48, 151 – 160.
77. Basu, S., Dasgupta, P.S., 2000. Dopamine, a neurotransmitter, influences the immune system. *J. Neuroimmunol.* 102, 113 – 124.
78. Levite, M., Chowers, Y., Ganor, Y., Besser, M., HersHKovits, R., Cahalon, L., 2001. Dopamine interacts directly with its D3 and D2 receptors on normal human T cells, and activates beta1 integrin function. *Eur. J. Immunol.* 12, 3504 – 3512.
79. McKenna, F., McLaughlin, P.J., Lewis, B.J., Sibbring, G.C., Cummerson, J.A., Browen-Jones, D., Moots, R.J., 2002. Dopamine receptor expression on human T- and B-lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and NK cells: a flow cytometric study. *J. Neuroimmunol.* 132, 34 – 40.
80. Carr, L., Tucker, A., Fernandez-Botran, R., 2003. In vivo administration of L-DOPA or dopamine decreases the number of splenic IFN-g producing cells. *J. Neuroimmunol.* 137, 87 – 93.
81. Saha, B., Mondal, A.C., Majumder, J., Basu, S., Dasgupta, P.S., 2001. Physiological concentrations of dopamine inhibit the proliferation and cytotoxicity of human CD4+ and CD8+ T cells in vitro: a receptor-mediated mechanism. *Neuroimmunomodulation* 9, 23 – 33.
82. Felten, D.L., Felten, S.Y., Carlson, S.L., Olschowka, J.A., Livnat, S., 1985. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *J. Immunol.* 135, 755 – 765.
83. Bellinger, D.L., Lorton, D., Romano, T., Olschowka, J.A., Felten, S.Y., Felten, D.L., 1990. Neuropeptide innervation of lymphoid organs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 594, 17 – 33.
84. Levite, M., 2000. Nerve driven immunity: the direct effects of neurotransmitters on T-cell function. *New York Acad. Sci.* 917, 307 – 321.

85. Levite, M., 2002. Autoimmune epilepsy. *Nat. Immunol.* 3, 500.
86. Levite, M., Fleidervish, I.A., Schwarz, A., Pelled, D., Futerman, A.H., 1999. Autoantibodies to the glutamate receptor kill neurons via activation of the receptor ion channel. *J. Autoimmun.* 13, 61 – 72.
87. Ganor, Y., Gottlieb, M., Eilam, R., Otmy, H., Teichberg, V.I., Levite, M., 2005. Immunization with the glutamate receptor-derived peptide GluR3B induces neuronal death and reactive gliosis, but confers partial protection from pentylenetetrazole-induced seizures. *Exp. Neurol.* 195 (1), 92 – 102.
88. DeRijk, R., Berkenbosch, F., 1991. The immune – hypothalamo – pituitary – adrenal axis and autoimmunity. *Int. J. Neurosci.* 59, 91 – 100.
89. Carlson, S.L., Felten, D.L., 1989. Involvement of hypothalamic and limbic structures in neural-immune communication. In: Goetzl, E.J., Spector, N.H. (Eds.), *Neuroimmune Networks: Physiology and Diseases*. Alan R. Liss, Inc., NY, pp. 219 – 226.
90. Hass, H.S., Schauenstein, K., 1997. Neuromodulation via limbic structures: The neuroanatomy of psychoimmunology. *Progr. Neurobiol.* 51, 195 – 222.
91. What Is Cancer?.(2015, February). Retrieved from <http://www.cancer.gov/cancertopics/what-is-cancer>
92. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144:646-674
93. Mira A P, Jennifer E K, Jacob R.(2015). Present and future of immune checkpoint blockade: Monotherapy to adjuvant approaches. Michael Lim *World J Immunol*, 5(1): 1-15. ISSN 2219-2824 (online).
94. Nirschl CJ, Drake CG.(2013). Molecular pathways: coexpression of immune checkpoint molecules: signaling pathways and implications for cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res*, 19:4917-4924
95. Drew M. P. (2012). The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer* 12, 252-264.doi:10.1038/nrc3239.
96. Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R.(1986). A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*, 233:1318–1321.

97. Matsushita H, Vesely MD, Koboldt DC, Rickert CG, Uppaluri R, Magrini VJ, et al.(2012). Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature*, 482:400–404.
98. Intlekofer AM, Thompson CB.(2013). At the bench: preclinical rationale for CTLA-4 and PD-1 blockade as cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol*, 94:25–39.
99. Coussens LM, Zitvogel L, Palucka AK.(2013). Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: a magic bullet?. *Science*, 339:286-291
100. Tesniere A, Apetoh L, Ghiringhelli F, Joza N, Panaretakis T, Kepp O, Schlemmer F, Zitvogel L, Kroemer G.(2008). Immunogenic cancer cell death: a key-lock paradigm. *Curr Opin Immunol*, 20:504-511.
101. Pardoll DM.(2012). The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 12:252-264.
102. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ.(2011). Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*, 331:1565-1570.
103. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD.(2004). The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol*, 22:329-360.
104. Perng, P., & Lim, M. (2015). Immunosuppressive Mechanisms of Malignant Gliomas: Parallels at Non-CNS Sites. *Frontiers in Oncology*, 5, 153. <http://doi.org/10.3389/fonc.2015.00153>
105. Gorbachev AV, Kobayashi H, Kudo D, Tannenbaum CS, Finke JH, Shu S, et al. CXC chemokine ligand 9/monokine induced by IFN-gamma production by tumor cells is critical for T cell-mediated suppression of cutaneous tumors. *J Immunol* (2007) 178(4):2278–86. doi:10.4049/jimmunol.178.4.2278
106. Klein RS, Izikson L, Means T, Gibson HD, Lin E, Sobel RA, et al. IFN-inducible protein 10/CXC chemokine ligand 10-independent induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* (2004) 172(1):550–9. doi:10.4049/jimmunol.172.1.550
107. Calzascia T, Masson F, Di Bernardino-Besson W, Contassot E, Wilmotte R, Aurrand-Lions M, et al. Homing phenotypes of tumor-specific CD8 T cells are

predetermined at the tumor site by crosspresenting APCs. *Immunity* (2005) 22(2):175–84. doi:10.1016/j.immuni.2004.12.008

108. Konnecke H, Bechmann I. The role of microglia and matrix metalloproteinases involvement in neuroinflammation and gliomas. *Clin Dev Immunol* (2013) 2013:914104. doi:10.1155/2013/914104

109. Reid DM, Perry VH, Andersson PB, Gordon S. Mitosis and apoptosis of microglia in vivo induced by an anti-CR3 antibody which crosses the blood-brain barrier. *Neuroscience* (1993) 56(3):529–33. doi:10.1016/0306-4522(93)90353-H

110. McDonnell AM, Robinson BWS, Currie AJ. Tumor antigen cross-presentation and the dendritic cell: where it all begins? *Clin Dev Immunol* (2010) 2010(3):1–9. doi:10.1155/2010/539519

111. Warnick, R.(2016). Brain Tumors: an introduction. Retrieved from <http://www.mayfieldclinic.com/PDF/PE-TumorIntro.pdf>

112. Brain Cancer Overview.(2016). Retrieved from <http://www.kucancercenter.org/cancer-information/specialties-and-treatment/brain-cancer>

113. Benign brain tumour (non-cancerous).(2015, March). Retrieved from <http://www.nhs.uk/Conditions/Brain-tumour/Pages/Introduction.aspx>

114. Brain Tumor Overview.(2013). Retrieved from <http://www.health.harvard.edu/cancer/brain-tumor-overview>

115. ELAmrawy F, Othman A, Adkins C, Helmy A, Nounou M. Tailored nanocarriers and bioconjugates for combating glioblastoma and other brain tumors. *J Cancer Metastasis Treat* 2016;2:112-22.

116. An Overview of Brain Tumours.(2014). Retrieved from <http://www.kgjebsen-btrc.no/about-brain-tumours/>

117. How Brain Tumor Is Caused?. (2017). Retrieved from <https://indianmedtrip.com/articles/how-brain-tumor-is-caused/>

118. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro Oncol* 2012;14 Suppl 5:v1-49.

119. Sharpe AH, Abbas AK (2006) T-cell costimulation—biology, therapeutic potential, and challenges. *N Engl J Med* 355:973–975
120. Fife BT, Bluestone JA (2008) Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol Rev* 224:166–182
121. Park J, Kwon M, Shin EC.(2016). Immune checkpoint inhibitors for cancer treatment, *Arch. Pharm. Res.* (2016) 39:1577–1587.DOI 10.1007/s12272-016-0850-5
122. Joller, N., Peters, A., Anderson, A. C., & Kuchroo, V. K. (2012). Immune Checkpoints in CNS Autoimmunity. *Immunological Reviews*, 248(1), 122–139. <http://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2012.01136.x>Chistiakov
123. Valk E, Rudd C, Schneider H. 2008. CTLA-4 trafficking and surface expression. *Trends in Immunology*, 29, 272-279. doi:10.1016/j.it.2008.02.011
124. Christensen K.(2003). Grave's Disease CTLA-4. Retrieved from <http://kchristensengen677s13.weebly.com/ctla4-gene.html>.
125. Joller, N., Peters, A., Anderson, A. C., & Kuchroo, V. K. (2012). Immune Checkpoints in CNS Autoimmunity. *Immunological Reviews*, 248(1), 122–139. <http://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2012.01136.x>
126. Magistrelli G, et al. A soluble form of CTLA-4 generated by alternative splicing is expressed by nonstimulated human T cells. *Eur J Immunol.* 1999; 29:3596–3602. [PubMed: 10556814]
127. Oaks MK, Hallett KM, Penwell RT, Stauber EC, Warren SJ, Tector AJ. A native soluble form of CTLA-4. *Cell Immunol.* 2000; 201:144–153. [PubMed: 10831323]
128. Gerold KD, Zheng P, Rainbow DB, Zerneck A, Wicker LS, Kissler S. The soluble CTLA-4 splice variant protects from type 1 diabetes and potentiates regulatory T-cell function. *Diabetes.* 2011; 60:1955–1963. [PubMed: 21602513]
129. Liu SM, et al. Overexpression of the Ctl4 isoform lacking exons 2 and 3 causes autoimmunity. *J Immunol.* 2011; 188:155–162. [PubMed: 22124121]
130. Vijaykrishnan L, et al. An autoimmune disease-associated CTLA-4 splice variant lacking the B7 binding domain signals negatively in T cells. *Immunity.* 2004; 20:563–575. [PubMed: 15142525]

131. Ueda H, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature*. 2003; 423:506–511. [PubMed: 12724780]
132. Araki M, et al. Genetic evidence that the differential expression of the ligand-independent isoform of CTLA-4 is the molecular basis of the Idd5. 1 type 1 diabetes region in nonobese diabetic mice. *J Immunol*. 2009; 183:5146–5157. [PubMed: 19783679]
133. Ueda H, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature*. 2003; 423:506–511. [PubMed: 12724780]
134. Oki S, Kohsaka T, Azuma M. Augmentation of CTLA-4 expression by Wortmannin: involvement of lysosomal sorting properties of CTLA-4. *Int Immunol* 1999;11:1563–1571.
135. Rudd, C. E., Taylor, A., & Schneider, H. (2009). CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunological Reviews*, 229(1), 12–26. <http://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2009.00770.x>
136. Bachmann MF, Kohler G, Ecabert B, Mak TW, Kopf M. Cutting edge: lymphoproliferative disease in the absence of CTLA-4 is not T cell autonomous. *J Immunol*. 1999; 163:1128–1131. [PubMed: 10415006]
137. Tivol EA, Gorski J. Re-establishing peripheral tolerance in the absence of CTLA-4: complementation by wild-type T cells points to an indirect role for CTLA-4. *J Immunol*. 2002; 169:1852–1858. [PubMed: 12165509]
138. Wu Y, et al. FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. *Cell*. 2006; 126:375–387. [PubMed: 16873067]
139. Gavin MA, et al. Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature*. 2007; 445:771–775. [PubMed: 17220874]
140. Wing K, et al. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science*. 2008; 322:271–275. [PubMed: 18845758]
141. Bour-Jordan H, Bluestone JA. Regulating the regulators: costimulatory signals control the homeostasis and function of regulatory T cells. *Immunol Rev*. 2009; 229:41–66. [PubMed: 19426214]

142. Oderup C, Cederbom L, Makowska A, Cilio CM, Ivars F. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4- dependent down-modulation of costimulatory molecules on dendritic cells in CD4+ CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression. *Immunology*. 2006; 118:240–249. [PubMed: 16771859]
143. Schildknecht A, et al. FoxP3+ regulatory T cells essentially contribute to peripheral CD8+ T-cell tolerance induced by steady-state dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107:199–203. [PubMed: 20018763]
144. Onishi Y, Fehervari Z, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105:10113–10118. [PubMed: 18635688]
145. Misra N, Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Cutting edge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigen-presenting function of dendritic cells. *J Immunol*. 2004; 172:4676–4680. [PubMed: 15067041]
146. Qureshi OS, et al. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*. 2011; 332:600–603. [PubMed: 21474713]
147. Grohmann U, et al. CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo. *Nat Immunol*. 2002; 3:1097–1101. [PubMed: 12368911]
148. Fallarino F, et al. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol*. 2003; 4:1206–1212. [PubMed: 14578884]
149. Munn DH, Shafizadeh E, Attwood JT, Bondarev I, Pashine A, Mellor AL. Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism. *J Exp Med*. 1999; 189:1363–1372. [PubMed: 10224276]
150. Kataoka H, et al. CD25(+)CD4(+) regulatory T cells exert in vitro suppressive activity independent of CTLA-4. *Int Immunol*. 2005; 17:421–427. [PubMed: 15724061]
151. Schmidt EM, et al. Ctla-4 controls regulatory T cell peripheral homeostasis and is required for suppression of pancreatic islet autoimmunity. *J Immunol*. 2009; 182:274–282. [PubMed: 19109158]

152. Verhagen J, et al. Enhanced selection of FoxP3+ T-regulatory cells protects CTLA-4-deficient mice from CNS autoimmune disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009; 106:3306–3311. [PubMed: 19218450]
153. Walker SK and Sansom DM.(2011). The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses. *Nature Reviews Immunology* 11, 852-863. doi:10.1038/nri3108.
154. Grosso, J. F., & Jure-Kunkel, M. N. (2013). CTLA-4 blockade in tumor models: an overview of preclinical and translational research. *Cancer Immunity*, 13, 5
155. Cheng, Y., Morshed, R., Auffinger, B., Tobias, A. L., & Lesniak, M. S. (2014). Multifunctional Nanoparticles for Brain Tumor Diagnosis and Therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 0, 42–57. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2013.09.006>
156. Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults. *N. Engl. J. Med.* 2008;359:492–507.
157. J. L. Fisher, J. A. Schwartzbaum, M. Wrensch, and J. L. Wiemels, “Epidemiology of brain tumors,” *Neurologic Clinics*, vol. 25, no. 4, pp. 867–890, 2007.
158. Hou WG, Ai WB, Bai XG, et al. (2012) Genetic variation in the EGFR gene and the risk of glioma in a Chinese Han population. *PLoS One* 7 (5):e37531.
159. Marosi C, Hassler M, Roessler K, et al. (2008) Meningioma. *Crit Rev Oncol Hematol* 67 (2):153-71.
160. DeAngelis LM. Brain tumors. *N. Engl. J. Med.* 2001;344:114–123.
161. Krex D, Klink B, Hartmann C, von Deimling A, Pietsch T, Simon M, Sabel M, Steinbach JP, Heese O, Reifenberger G, Weller M, Schackert G, German Glioma Network. *Brain*. 2007 Oct; 130(Pt 10):2596-606.
162. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO, European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups., National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10; 352(10):987-96.



163. Eichler AF, Chung E, Kodack DP, Loeffler JS, Fukumura D, Jain RK, Nat Rev Clin Oncol. 2011 Jun; 8(6):344-56.
164. Gavrilovic IT, Posner JB, J Neurooncol. 2005 Oct; 75(1):5-14.
165. Wrensch M, Fisher JL, Schwartzbaum JA, et al. (2005) The molecular epidemiology of gliomas in adults. Neurosurg Focus 19 (5):E5 Review
166. Fischer U, Meese E (2007) Glioblastoma multiforme: the role of DSB repair between genotype and phenotype. Oncogene 10;26 (56):7809-15 Review.
167. Gomez GG, Kruse CA (2006) Mechanisms of malignant glioma immune resistance and sources of immunosuppression. Gene Ther Mol Biol 10(A):133–146
168. Kulprathipanja NV, Kruse CA (2004) Microglia phagocytose alloreactive CTL-damaged 9L gliosarcoma cells. J Neuroimmunol 153(1–2):76–82
169. Carson MJ, Sutcliffe JG, Campbell IL (1999) Microglia stimulate naive t-cell differentiation without stimulating T-cell proliferation. J Neurosci Res 55(1):127–134
170. Aloisi F, Ria F, Penna G, Adorini L (1998) Microglia are more efficient than astrocytes in antigen processing and in Th1 but not Th2 cell activation. J Immunol 160(10):4671–4680
171. Schartner JM, Hagar AR, Van Handel M, Zhang LY, Nadkarni N, Badie B (2005) Impaired capacity for upregulation of MHC class II in tumor-associated microglia. Glia 51(4):279–285
172. Zhao B, Meng LQ, Huang HN, Pan Y, Xu QQ (2009) A novel functional polymorphism, 16974 A/C, in the interleukin-12–3' untranslated region is associated with risk of glioma. DNA Cell Biol 28(7):335–341
173. Wang LH, Li DL, Fu ZK, Li H, Jiang W, Li DJ (2007) Association of CTLA-4 gene polymorphisms with sporadic breast cancer in Chinese Han population. BMC Cancer 7:173
174. Wang L, Li D, Fu Z, Li H, Jiang W and Li D: Association of CTLA4 gene polymorphism with sporadic breast cancer in Chinese Han population. BMC Cancer 7: 173, 2007.

175. Hebbbar M, Jeannin P, Magistrelli G, Hatron PY, Hachulla E, Devulder B, Bonnefoy JY and Delneste Y: Detection of circulating soluble CD28 in patients with systemic lupus erythematosus, primary Sjögren's syndrome and systemic sclerosis. *Clin Exper Immunol* 136: 388-392, 2004.
176. Alegre ML, Frauwirth KA, Thompson CB (2001) T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nat Rev Immunol* 1(3):220–228
177. Egen JG, Kuhns MS, Allison JP (2002) CTLA-4: new insights into its biological function and use in tumor immunotherapy. *Nat Immunol* 3(7):611–618
178. Sharpe AH, Freeman GJ (2002) The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol* 2(2):116–126
179. Rudd CE, Schneider H (2003) Unifying concepts in CD28, ICOS and CTLA4 co-receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 3(7):544–556
180. Sun T, Zhou YF, Yang M, Hu ZB, Tan W, Han XH, Shi YK, Yao JR, Guo YL, Yu DK, Tian T, Zhou XY, Shen HB, Lin DX (2008) Functional genetic variations in cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and susceptibility to multiple types of cancer. *Cancer Res* 68(17):7025–7034
181. Ligers A, Teleshova N, Masterman T, Huang WX, Hillert J (2001) CTLA-4 gene expression is influenced by promoter and exon 1 polymorphisms. *Genes Immun* 2(3):145–152
182. Kouki T, Sawai P, Gardine CA, Fisfalen ME, Alegre ML, DeGroot LJ (2000) CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of graves' disease. *J Immunol* 165(11):6606–6611
183. Maeurer M, Loserth S, Kolb-Maeurer A, Ponath A, Wiese S, Kruse N, Rieckmann P (2002) A polymorphism in the human cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA4) gene (exon 1 ?49) alters T-cell activation. *Immunogenetics* 54(1):1–8
184. Hunt KA, McGovern DP, Kumar PJ, Ghosh S, Travis SP, Walters JR, Jewell DP, Playford RJ, van Heel DA (2005) A common CTLA4 haplotype associated with coeliac disease. *Eur J Hum Genet* 13(4):440–444

185. Sasada T, Kimura M, Yoshida Y, Kanai M and Takabayashi A: CD4+CD25+ regulatory T-cells in patients with gastrointestinal malignancies. *Cancer* 98: 1089-1099, 2003.
186. Zhang Z, Novak AJ, Stenson MJ, Witzig TE and Ansell SM: Intratumoral CD4+CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression of infiltrating CD4+ T cells in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 107: 3639-3646, 2006.
187. Li D, Zhang Q, Xu F, Fu Z, Yuan W, Li D and Pang D: Association of CTLA4 gene polymorphisms with sporadic breast cancer risk and clinical features in Han women of northeast China. *Mol Cell Biochem* 364: 283-290, 2012.
188. Monne M, Piras G, Palmas A, Arru L, Murineddu M, Latte G, Noli A and Gabbas A: Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA4) gene polymorphism and susceptibility to non-hodgkin's lymphoma. *American J Hematol* 76: 14-18, 2004.
189. Cui JY, Ma H, Cui WL, Ma WH and Qi YQ: Association of cytotoxic T-lymphocyte gene polymorphism and with susceptibility on colorectal cancer. *Chin J Curr Adv Gen Surg* 16: 127-130, 2013.
190. Cozar JM, Romero JM, Aptsiauri N, Vazquez F, Vilchez JR, Tallada M, Garrido F and Ruiz-Cabello F: High incidence of CTLA4 AA (CT60) polymorphism in renal cell cancer. *Hum Immunol* 68: 698-704, 2007.
191. He L, Deng T and Luo HS: Association between cytotoxic Tlymphocyte antigen 4 +49A/G polymorphism and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 8: 3752-3760, 2015.
192. Erfani N, Razmkhah M, Talei AR, Pezeshki AM, Doroudchi M, Monabati A and Ghaderi A: Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 promoter variants in breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 165: 114-120, 2006.
193. Yaylım İ ve ark. Individual and Combined Effects of CTLA4-CD28 Variants and Oxidant-Antioxidant Status on the Development of Colorectal Cancer. *Anticancer Res* October 2015 35 (10)5391-5400
194. Yaylım İ ve ark. Association of CTLA4 and CD28 Gene Variants and Circulating Levels of Their Proteins in Patients with Breast Cancer. *In Vivo* July-August 2016 30 (4) 485-493.

195. Ghaderi A, Yeganeh F, Kalantari T, Talei AR, Pezeshki AM, Doroudchi M, Dehaghani AS (2004) Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 86(1):1–7
196. Louis, D.N., Perry, A., Reifenberger, G. et al. *Acta Neuropathol* (2016) 131: 803. doi:10.1007/s00401-016-1545-1.



## HAM VERİLER

**Crosstab**

		Snyenisiniflama			Total	
		diffuz astrocitoma ve oligodendrogial tümörler	meningiom	kontrol		
Sntümbeyin tümörleri	beyin tümörlü	Count	47	26	0	73
		% within Sntümbeyintümörleri	64,4%	35,6%	0,0%	100,0%
	kontrol	Count	0	0	116	116
		% within Sntümbeyintümörleri	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
Total		Count	47	26	116	189
		% within Sntümbeyintümörleri	24,9%	13,8%	61,4%	100,0%

**Snyenisiniflama \* ctla4 Crosstabulation**

		ctla4			Total	
		AA	AG	GG		
Snyenisiniflama	diffuz astrocitoma ve oligodendrogial tümörler	Count	27	14	6	47
		% within Snyenisiniflama	57,4%	29,8%	12,8%	100,0%
ama	meningiom	Count	17	7	2	26
		% within Snyenisiniflama	65,4%	26,9%	7,7%	100,0%
	kontrol	Count	52	54	10	116
		% within Snyenisiniflama	44,8%	46,6%	8,6%	100,0%
Total		Count	96	75	18	189
		% within Snyenisiniflama	50,8%	39,7%	9,5%	100,0%

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6,628 <sup>a</sup>	4	,157
Likelihood Ratio	6,687	4	,153
Linear-by-Linear Association	,932	1	,334
N of Valid Cases	189		

a. 2 cells (22,2%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,48.

Crosstab

			ctla4			Total
			AA	AG	GG	
Sngliomkontrol	gliom	Count	27	14	6	47
		% within Sngliomkontrol	57,4%	29,8%	12,8%	100,0%
konrol		Count	52	54	10	116
		% within Sngliomkontrol	44,8%	46,6%	8,6%	100,0%
Total		Count	79	68	16	163
		% within Sngliomkontrol	48,5%	41,7%	9,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,938 <sup>a</sup>	2	,140
Likelihood Ratio	4,028	2	,133
Linear-by-Linear Association	,551	1	,458
N of Valid Cases	163		

a. 1 cells (16,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,61.

Crosstab

			ctla4a		Total
			AA AG	GG	
Sngliomkontrol	gliom	Count	41	6	47
		% within Sngliomkontrol	87,2%	12,8%	100,0%
konrol		Count	106	10	116
		% within Sngliomkontrol	91,4%	8,6%	100,0%
Total		Count	147	16	163
		% within Sngliomkontrol	90,2%	9,8%	100,0%

### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,649 <sup>a</sup>	1	,420	,401	,295
Continuity Correction <sup>b</sup>	,265	1	,606		
Likelihood Ratio	,621	1	,431		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	,645	1	,422		
N of Valid Cases	163				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,61.

b. Computed only for a 2x2 table

### Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Sngliomkontrol (gliom / konrol)	,645	,220	1,888
For cohort c1a4a = AA AG	,955	,844	1,079
For cohort c1a4a = GG	1,481	,571	3,843
N of Valid Cases	163		

### Crosstab

			c1a4ag		Total
			AG	AA GG	
Sngliomkontrol	gliom	Count	14	33	47
		% within Sngliomkontrol	29,8%	70,2%	100,0%
konrol		Count	54	62	116
		% within Sngliomkontrol	46,6%	53,4%	100,0%
Total		Count	68	95	163
		% within Sngliomkontrol	41,7%	58,3%	100,0%

## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,866 <sup>a</sup>	1	,049		
Continuity Correction <sup>b</sup>	3,208	1	,073		
Likelihood Ratio	3,964	1	,046		
Fisher's Exact Test				,055	,036
Linear-by-Linear Association	3,843	1	,050		
N of Valid Cases	163				

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 19,61.

b. Computed only for a 2x2 table

## Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Sngliomkontrol (gliom / kontrol)	,487	,236	1,005
For cohort ctla4ag = AG	,640	,396	1,034
For cohort ctla4ag = AA GG	1,314	1,021	1,690
N of Valid Cases	163		

## Crosstab

			ctla4g		Total
			AG GG	AA	
Sngliomkontrol	gliom	Count	20	27	47
		% within Sngliomkontrol	42,6%	57,4%	100,0%
	kontrol	Count	64	52	116
		% within Sngliomkontrol	55,2%	44,8%	100,0%
Total	Count	84	79	163	
	% within Sngliomkontrol	51,5%	48,5%	100,0%	



### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,133 <sup>a</sup>	1	,144		
Continuity Correction <sup>b</sup>	1,657	1	,198		
Likelihood Ratio	2,137	1	,144		
Fisher's Exact Test				,168	,099
Linear-by-Linear Association	2,119	1	,145		
N of Valid Cases	163				

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 22,78.

b. Computed only for a 2x2 table

### Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Sngliomkontrol (gliom / konrol)	,602	,304	1,193
For cohort c1a4g = AG GG	,771	,532	1,117
For cohort c1a4g = AA	1,282	,932	1,762
N of Valid Cases	163		

Crosstab

			ctla4			Total
			AA	AG	GG	
Snmeningiomko ntrol	meningiom	Count	17	7	2	26
		% within Snmeningiomkontrol	65,4%	26,9%	7,7%	100,0%
	kontrol	Count	52	54	10	116
		% within Snmeningiomkontrol	44,8%	46,6%	8,6%	100,0%
Total		Count	69	61	12	142
		% within Snmeningiomkontrol	48,6%	43,0%	8,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,774 <sup>a</sup>	2	,152
Likelihood Ratio	3,866	2	,145
Linear-by-Linear Association	2,379	1	,123
N of Valid Cases	142		

a. 1 cells (16,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,20.

Crosstab

			ctla4a		Total
			AA AG	GG	
Snmeningiomkontrol	meningiom	Count	24	2	26
		% within Snmeningiomkontrol	92,3%	7,7%	100,0%
	kontrol	Count	106	10	116
		% within Snmeningiomkontrol	91,4%	8,6%	100,0%
Total		Count	130	12	142
		% within Snmeningiomkontrol	91,5%	8,5%	100,0%

### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,024 <sup>a</sup>	1	,878		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,024	1	,876		
Fisher's Exact Test				1,000	,619
Linear-by-Linear Association	,023	1	,878		
N of Valid Cases	142				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,20.

b. Computed only for a 2x2 table

### Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Snmeningiomkontrol (meningiom / kontrol)	1,132	,233	5,504
For cohort cta4a = AA AG	1,010	,892	1,144
For cohort cta4a = GG	,892	,208	3,832
N of Valid Cases	142		

## Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
Snmeningiomkontrol	meningiom	Count	7	19	26
		% within Snmeningiomkontrol	26,9%	73,1%	100,0%
	kontrol	Count	54	62	116
		% within Snmeningiomkontrol	46,6%	53,4%	100,0%
Total	Count	61	81	142	
	% within Snmeningiomkontrol	43,0%	57,0%	100,0%	

## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,340 <sup>a</sup>	1	,068		
Continuity Correction <sup>b</sup>	2,587	1	,108		
Likelihood Ratio	3,480	1	,062		
Fisher's Exact Test				,081	,052
Linear-by-Linear Association	3,316	1	,069		
N of Valid Cases	142				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 11,17.

b. Computed only for a 2x2 table

## Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Snmeningiomkontrol (meningiom / kontrol)	,423	,165	1,083
For cohort ctla4ag = AG	,578	,298	1,122
For cohort ctla4ag = AA GG	1,367	1,025	1,825
N of Valid Cases	142		

Crosstab

			ctla4g		Total
			AG GG	AA	
Snmeningiomkontrol	meningiom	Count	9	17	26
		% within Snmeningiomkontrol	34,6%	65,4%	100,0%
	kontrol	Count	64	52	116
		% within Snmeningiomkontrol	55,2%	44,8%	100,0%
Total	Count	73	69	142	
	% within Snmeningiomkontrol	51,4%	48,6%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,593 <sup>a</sup>	1	,058		
Continuity Correction <sup>b</sup>	2,817	1	,093		
Likelihood Ratio	3,633	1	,057		
Fisher's Exact Test				,082	,046
Linear-by-Linear Association	3,568	1	,059		
N of Valid Cases	142				

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12,63.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Snmeningiomkontrol (meningiom / kontrol)	,430	,177	1,044
For cohort ctla4g = AG GG	,627	,361	1,091
For cohort ctla4g = AA	1,459	1,033	2,059
N of Valid Cases	142		









## FORMLAR

### BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(Hasta Gönüllü İçin)

#### I-Araştırmayla İlgili Bilgiler

Bu katıldığımız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı **T hücre immünesinde fonksiyon gösteren CTLA-4 gen varyantlarının beyin kanseriyle olası ilişkisinin araştırılması**'dır.

Çalışmamızda CTLA-4 gen varyantlarının Türk popülasyonundaki beyin kanseri olgularıyla ilişkisinin incelemeyi amaçlamaktayız. Elde edilen sonuçlar beyin kanserinin moleküler mekanizmasının aydınlatılmasına, kanser gelişimine daha elverişli olan kişilerin önceden tespit edilmesine ve bu kişilerin hastalığı önlemede gerekli işlemlere tabi tutulmasının sağlanmasında faydalı olacaktır. Bu çalışmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırma için öngörülen süre 12 ay olup, çalışmada yer alacak gönüllülerin sayısı 73 kişi 'dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak biz araştırmacılara serum ve cerrahi operasyon sırasında tümörlü doku ve tümörlü olmayan dokunun alınmasına izinverip, verdiğiniz serum ve dokularda çalışma yapmamıza yardımcı olmanız ve çalışmanın sonucunda bilgi almanız sizin sorumluluklarınızdır.

Bu çalışmada sizin için herhangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır. Ayrıca sizin için beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin glioma ile ilgili tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yoldan katkıda bulunmuş olacaksınız.

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiç bir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP tarafından desteklenmektedir.

#### II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgiler

Bu çalışmada uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşmanız söz konusu değildir ve yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Çalışmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada çalışmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. Nedenlerle size çalışmadan çıkarılabilir. Bu çalışmada sizin hiç bir hukuki ve mali sorumluluğunuz bulunmayıp tüm sorumluluklar araştırmacı ve destekleyiciye aittir. Arzunuz üzere mali ve hukuki yükümlülüğünüz olmaksızın çalışmadan ayrılabilirsiniz. Elde edilen DNA bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır.

Başka bir çalışmada sizin DNA'nızın kullanılması gerektiğinde sizden izin alınacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz yada araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için yada çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki yada diğer rahatsızlıklarınız için 0212 414 20 00-33300 nolu telefondan Prof. Dr. İlhan YAYLIM'a veya 0530 588 37 49 nolu telefondan Mol.Bio. Sinem DEMİRBAĞ'a ulaşabilirsiniz.

Sayın Doç Dr. Ali Metin KAFADAR İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağını belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Doç. Dr. Ali Metin KAFADAR'ı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı 0212 414 34 27 numaralı (telefondan arayabileceğimi biliyorum).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

## **7. GÖNÜLLÜ ONAY FORMU**

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

### **Gönüllünün;**

**Adı-soyadı:**

**Tarih:**

**Adresi:**

**Telefon no:**

**İmzası:**

**Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;**

**Adı-soyadı: Ali Metin Kafadar**

**Tarih:10.4.2015**

**Adresi: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı**

**Telefon No: 0212 414 34 27**

**İmzası:**

**Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanklık eden kuruluş görevlisinin/  
görüşme tanığının,**

**Adı-Soyadı: Sinem Demirbağ**

**Tarih:10.4.2015**

**Adresi: İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp AD**

**Telefon no: 02124142000/33300**

**İmzası:**

## **BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

### **(Sağlıklı Gönüllü İçin)**

#### **I-Araştırmayla İlgili Bilgiler**

Bu katıldığımız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı **T hücre immünesinde fonksiyon gösteren CTLA-4 gen varyantlarının beyin kanseriyle olası ilişkisinin araştırılması**'dır.

Çalışmamızda CTLA-4 gen varyantlarının Türk popülasyonundaki beyin kanseri olgularıyla ilişkisinin incelemeyi amaçlamaktayız. Elde edilen sonuçlar beyin kanserinin moleküler mekanizmasının aydınlatılmasına, kanser gelişimine daha elverişli olan kişilerin önceden tespit edilmesine ve bu kişilerin hastalığı önlemede gerekli işlemlere tabi tutulmasının sağlanmasında faydalı olacaktır. Bu çalışmada size herhangi bir tedavi süreci uygulanmayacaktır. Bu araştırma için öngörülen süre 12 ay olup, çalışmada yer alacak gönüllülerin sayısı 116 kişi 'dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak biz araştırmacılara serum ve cerrahi operasyon sırasında tümörlü doku ve tümörlü olmayan dokunun alınmasına izinverip, verdiğimiz serum ve dokularda çalışma yapmamıza yardımcı olmanız ve çalışmanın sonucunda bilgi almanız sizin sorumluluklarınızdır.

Bu çalışmada sizin için herhangi bir risk ve rahatsızlık durumu bulunmamaktadır. Ayrıca, beklenen yararlar sizden sonraki bireylerin glioma ile ilgili tedavilerine yarar sağlamak olup bilim dünyasına dolaylı yoldan katkıda bulunmuş olacaksınız.

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiç bir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma BAP tarafından desteklenmektedir.

#### **II-Gönüllünün Haklarıyla İlgili Bilgiler**

Bu çalışmada uygulama sırasında herhangi bir rahatsızlıkla ve riskle karşılaşmanız söz konusu değildir ve yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Çalışmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada çalışmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. Nedenlerle size çalışmadan çıkarılabilir. Bu çalışmada sizin hiç bir hukuki ve mali sorumluluğunuz bulunmayıp tüm sorumluluklar araştırmacı ve destekleyiciye aittir. Arzunuz üzere mali ve hukuki yükümlülüğünüz olmaksızın çalışmadan ayrılabilirsiniz. Elde edilen DNA bu çalışma dışında başka bir işlem için kullanılmayacaktır.

Başka bir çalışmada sizin DNA'nızın kullanılması gerektiğinde sizden izin alınacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz yada araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için yada çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki yada diğer rahatsızlıklarınız için 0212 414 20 00-33300 nolu telefondan Prof. Dr. İlhan YAYLIM'a veya 0537 608 34 49 nolu telefondan Mol.Bio. Sinem DEMİRBAĞ'a ulaşabilirsiniz.

Sayın Doç Dr. Ali Metin KAFADAR İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağını belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Doç. Dr. Ali Metin KAFADAR'ı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı 0212 414 34 27 numaralı (telefondan arayabileceğimi biliyorum).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

## **8. GÖNÜLLÜ ONAY FORMU**

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

### **Gönüllünün;**

**Adı-soyadı:**

**Tarih:**

**Adresi:**

**Telefon no:**

**İmzası:**

**Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının;**

**Adı-soyadı: Ali Metin Kafadar**

**Tarih:10.4.2015**

**Adresi: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı**

**Telefon No: 0212 414 34 27**

**İmzası:**

**Olur alma işlemine başından sonuna kadar tamklık eden kuruluş görevlisinin/  
görüşme tanığının,**

**Adı-Soyadı: Sinem Demirbağ**

**Tarih:10.4.2015**

**Adresi: İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp AD**

**Telefon no: 02124142000/33300**

**İmzası:**

## ETİK KURUL KARARI

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren CTLA-4 Gen Varyantlarının Beyin Kanseriyle Olası İlişkinin Araştırılması"		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. İlhan YAYLIM		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Tıp		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Deneyel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı		
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---		
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>	
FAZ 4		<input type="checkbox"/>		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>		
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz :			
	TEK MERKEZ	ÇOK MERKEZLİ	ULUSAL	ULUSLAR ARASI
	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren CTLA-4 Gen Varyantlarının Beyin Kanseriyle Olası İlişkinin Araştırılması"
-----------------------	---

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	10/04/2015	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	<input type="checkbox"/>	Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:08	Tarih: 24/04/2015		
	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. İlhan YAYLIM'ın sorumluluğunda ve Bio.Sinem DEMİRBAĞ'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU								
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *	Katılım **	İmza	
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyostatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

- \* :Araştırma ile ilişki  
\*\* :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C.Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığında izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığının iznine tabi değildir.



**PATENT HAKKI İZİNİ**



**TELİF HAKKI İZİNİ**



