

T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

PROGRESE GLİAL TÜMÖRLERDE MGMT (METİL GUANİN-DNA METİL TRANSFERAZ)
METİLASYONU VE IDH (İZOSİTRAT DEHİDROJENAZ) MUTASYONUNDA DEĞİŞİMİN
İNCELENMESİ VE PROGNOZA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mehmet Akif ÖZTÜRK

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Başak OYAN ULUÇ

İSTANBUL

2014

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	1
ÖZET	3
ABSTRACT	4
SİMGELER ve KISALTMALAR	5
ŞEKİLLER	7
TABLolar	8
GİRİŞ ve AMAÇ	9
GENEL BİLGİLER	9
2.1. Sınıflama ve insidans	9
2.2. Hücre kökeni	10
2.3. Patoloji	11
2.4. Moleküler Biyoloji ve Genetik	12
2.5. Klinik bulgular	14
2.6. Görüntüleme ve Tanı	14
2.7. Tedavi	15
2.8. Prognoz	18
2.9. MGMT	18
2.10. İDH (izositrat dehidrojenaz)	20
GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Hasta seçimi ve Protokol	22
3.2. Verilerin toplanması	23
3.3. Patolojik değerlendirme	23
3.4. İstatistiksel Analiz	23
BULGULAR	25
4.1. Hastalara ait temel bulgular	25
4.2. MGMT ve İDH durumları ve değişimleri	28
4.3. Sağkalım analizleri	29

TARTIŞMA	37
SONUÇ ve ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	44
EKLER	50
EK1. ECOG Performans skalası	



ÖZET

GİRİŞ ve AMAÇ: Glial tümörlerde sentezlenebilen 06-metilguanin DNA metiltransferaz (MGMT) enzimi nitrozoüre bileşikleri tarafından oluşturulan DNA hasarını tamir eder. İzositrat dehidrogenaz (IDH) ise hücrede Krebs döngüsünde kullanılan bir enzimdir. Gerek MGMT metilasyon durumu, gerekse IDH gen mutasyonunun gliomlarda prognoza etki ettiği bilinmektedir. Bu tezin amacı progrese olan glial tümörlerde MGMT metilasyonunda ve IDH mutasyonunda olası değişimin gösterilmesi ve bunun sağkalım ile olan ilişkisinin tespit edilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM: Retrospektif kesitsel olarak planlanmış bu çalışmaya Ocak 2007 ile Haziran 2014 tarihleri arasında başvurmuş 52 glial tümör tanılı hastadan, her iki patoloji preparatı da inceleme açısından uygun olan 44 hasta dahil edildi. MGMT metilasyon durumu ve İDH mutasyon durumu immunohistokimyasal yöntemle uzman bir patoloğ tarafından değerlendirildi.

BULGULAR: İlk tanıda 44 hastanın 14 (%31,8)'ünde MGMT metile olarak tespit edildi. İlk patolojide MGMT metilasyonu pozitif olan 14 hastanın 6 (%42,9)'sında nükste/progresyonda negatifleşme gözlenirken, MGMT negatif olan 30 hastanın 6 (%20)'sında pozitif yöne değişim görüldü. Tanı anında MGMT metile olan hastaların medyan genel sağkalımları 23 ayken, metile olmayanların 45 aydı. 44 hastanın 12 (%27,3)'sinde İDH1 mutasyonu pozitif olarak tespit edildi. İlk patolojide İDH1 pozitif saptanan 12 hastanın 1 (%8,3)'inde nükste/progresyonda negatifleşme görülürken, negatif saptanan 32 hastadan 5 (%15,6)'inin pozitifleştiği tespit edildi. Tanı anında İDH mutant olan hastaların medyan genel sağkalımı 52ay, IDH mutant olmayanların ise 31 aydı.

SONUÇ: Progrese glial tümörlerde MGMT metilasyonunda ve İDH1 mutasyonunda ilk tanıya göre anlamlı bir değişim saptanmamıştır. İlk tanı anında MGMT metile olan glial tümör hastalarının, metile olmayan hastalara göre medyan genel sağkalımlarında anlamlı fark yok iken, İDH1 mutant olan hastaların mutant olmayan hastalara göre medyan genel sağkalımları daha uzundur.

ABSTRACT

INTRODUCTION and PURPOSE: O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) enzyme which is synthesized in glial tumors, repairs DNA damage that is generated by nitrosourea compounds. Isocitrate dehydrogenase (IDH) is an enzyme of Krebs cycle in the cell. Both MGMT methylation status and IDH gene mutation is known to affect the prognosis in gliomas. The aims of this thesis are to determine whether MGMT methylation status and IDH mutation status changes during progression and to demonstrate any possible effect of this change on survival in progressed glial tumors.

MATERIALS and METHODS: 52 patients with relapsed/progressed glial tumors who admitted to Yeditepe University Hospital between January 2007 and June 2014 were screened in this retrospective cross-sectional study and 44 of them were included as they had pathology slides appropriate for pathological evaluation. MGMT methylation status and IDH mutation status was evaluated by an expert pathologist with immunohistochemical methods.

RESULTS: MGMT were found to be methylated in 14 of 44 patients (31.8%) at first diagnosis. In 6 of 14 (42.9%) patients with methylated MGMT at first diagnosis, conversion to unmethylated status was observed and in 6 of 30 (20%) patients with unmethylated MGMT, conversion to methylated status was observed at relapse/progression. Median overall survival times were 23 vs. 45 months in patients with MGMT methylated and unmethylated at diagnosis, respectively. IDH1 was found to be mutated in 12 of 44 patients (27.3%) at first diagnosis. One of these patients (8.3%) converted to IDH1-unmutated state, while 5 of 32 (15.6%) IDH non-mutant patients were found to be IDH mutant at relapse/progression. Median overall survival were 52 vs. 31 months in patients with IDH1 mutated and non-mutated at diagnosis, respectively.

CONCLUSIONS: MGMT methylation and IDH1 mutation status did not appear to change significantly at progression in glial tumors. There was no statistically significant difference in median overall survival between MGMT methylated and unmethylated patients at the diagnosis, while IDH mutated patients at diagnosis had longer survival than non-mutated patients.

SİMGELER ve KISALTMALAR

MGMT	06- metilguanin DNA metil transferaz
IDH	İzositrat dehidrogenaz
OD	Oligodendrogliom
WHO	World Health Organization
AOD	Anaplastik Oligodendrogliom
GB	Glioblastom
EGF	Epithelial growth factor
EGFR	Epithelial growth factor receptor
AKT	Protein kinaz B
PI3	Fosfoinositol-3
PDGF	Platelet-derived growth factor
bFGF/FGF2	Basic fibroblast growth factor
FGFR1, FGFR3	Fibroblast growth factor receptor
TGF	Transforming growth factor
IGF1	Insulin-like growth factor 1
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
mTOR	Mammalian target of rapamycin
FISH	Fluorescence in situ hybridization
ATRX	X'e bağlı Alfa talasemi/mental retardasyon geni
CDK4	Cyclin-dependent kinase 4
pRB	Retinoblastoma proteini
PET	Pozitron emisyon tomografisi
MR	Manyetik Rezonans
CCNU	Lomustine
NCCN	National comprehensive cancer network
KPS	Karnofsky Performans Skoru
PVC	Prokarbazin Lomustin Vinkristin
BCNU	Biskloroetilnitrozüre

PCR

Polimeraz zincir reaksiyonu

ECOG

Eastern Cooperative Oncology Group



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Normal guanin bazı

Şekil 2.2. Metile guanin bazı

Şekil 4.1. Tüm hastalar için ilk patolojideki MGMT durumuna göre genel sağkalım analizi

Şekil 4.2. GB tanılı hastalar için İlk patolojideki MGMT durumuna göre genel sağkalım analizi

Şekil 4.3. Tüm hastalar için ilk patolojideki İDH1 mutasyon durumuna göre genel sağkalım analizi

Şekil 4.4. GB tanılı hastalar için İlk patolojideki İDH1 mutasyon durumuna göre genel sağkalım analizi

Şekil 4.5. GB tanılı hastalarda MGMT değişim senaryo B için gruplardaki genel sağkalım analizi

Şekil 4.6. Düşük gradlı hastalarda MGMT değişim senaryo B için gruplardaki genel sağkalım analizi

TABLÖLAR

Tablo 2.1. Primer santral sinir sistemi tümörlerinin WHO tarafından yayınlanan (2007) sınıflamasından bir bölüm

Tablo 4.1. İlk tanı sırasında hasta özellikleri

Tablo 4.2. İlk ve ikinci patolojide özellikler

Tablo 4.3. İlk ve ikinci patolojide MGMT ve IDH durumunda görülen değişim

Tablo 4.4. Tüm hastalarda genel sağkalım analizi

Tablo 4.5. GB'li hastalarda genel sağkalım analizi

Tablo 4.6. GB ve düşük gradlı glial tümörlü hastalarda MGMT değişim durumuna göre hastaların gruplandırılması sonrası yapılan genel sağkalım analizi

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Beyin tümörleri primer veya sekonder (metastaz) olabilirler. Gliomlar, meningiomlar, sinir kılıfı tümörleri, kraniofarinjomalar, germ hücreli tümörler, pineal tümörler ve santral sinir sistemi lenfomaları primer beyin tümörleridir. Gliomlar primer beyin tümörleri içinde en sık görülen tümör grubudur. Glial hücrelerden, yani beynin destek dokusundan köken almaktadırlar. O6-metilguanin DNA metil transferaz (MGMT) enzimi glial tümörlerde sentezlenir ve bu tümörlerin tedavisinde kullanılan nitrozoüre bileşikleri tarafından oluşturulan DNA hasarını tamir eder (1). İzositrat dehidrogenaz (IDH) ise hücrede Krebs döngüsünde kullanılan bir enzimdir. Bir çok beyin tümöründe bu enzimi kodlayan gende spesifik mutasyonlar tespit edilmiştir (2). Gerek MGMT metilasyon durumu, gerekse IDH mutasyonunun gliomlarda prognoza etki ettiği bilinmektedir. Ancak bu iki belirtecin progrese veya nüks eden glial tümörlerde değişiklik gösterip göstermediği ve varsa bu değişikliğin prognoza olan etkisi henüz bilinmemektedir.

Bu tezin amacı progrese olan glial tümörlerde MGMT metilasyonunda ve IDH mutasyonunda olası değişimin gösterilmesi ve varsa bu değişimin hastaların sağkalımı ile olan ilişkisinin tespit edilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sınıflama ve insidans

Gliomlar en sık görülen primer beyin tümörleridir ve primer beyin tümörlerinin %40'ını oluştururlar. Astrositom, oligodendrogliom (OD) ve ependimomlar bu grubu oluşturan başlıca tümörlerdir. Amerika Birleşik devletlerinde tüm primer beyin tümörleri insidansı 16,5 olgu/100 000 kişi /yıl olarak tespit edilirken, prevalansı 130,8 /100 000 olarak bildirilmiştir (3). Bu tümörler Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından hücresel farklılaşma esas alınarak histolojik

özelliklerine göre sınıflandırılmıştır Tablo 2.1.'de primer santral sinir sistemi tümörlerinin WHO tarafından yayınlanan (2007) sınıflamasının bir kısmı gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Primer santral sinir sistemi tümörlerinin WHO tarafından yayınlanan (2007) sınıflamasından bir bölüm

Astrositomalar	grad	Oligoastrositomlar	grad
Pilositik astrositom	I	Oligoastrositom	II
Diffüz astrositom	II	Anaplastik oligoastrositom	III
Anaplastik astrositom	III	Ependimomalar	
Glioblastom	IV	Subependimoma	I
Büyük hücreli glioblastom	IV	Ependimoma	II
Gliosarkom	IV	Anaplastik ependimoma	III
Oligodendrogliomlar			
Oligodendrogliom	II	Pineoblastom	IV
Anaplastik oligodendrogliom	III	Medulloblastom	IV

2.2. Hücre kökeni

Malign gliomların kökeni ile ilgili yapılan araştırmalar bu tümörlerin nöral projenitör hücrelerden farklılaştığını göstermektedir, fakat farklılaşma aşamasının kök hücre mi, yoksa projenitör hücreler düzeyinde mi olduğu netlik kazanmış değildir. Malign gliomlarda tümoral

çoğalmadan sorumlu multipotent tümör kök hücreleri tespit edilmiş olup (4,5) muhtemeldir ki bu hücreler normal progenitör hücrelerden transforme olmuşlardır.

2.3. Patoloji

Düşük gradlı kabul edilen diffüz astrositomlar iyi diferansiye astrositler ve orta düzeyde artmış selülaritede olup irregüler bir yapı gösterirler. Ancak yüksek gradlıların (grad 3,4) aksine nekroz ve mikrovasküler proliferasyon görülmez.

Bir diğer düşük gradlı tümör olan OD'de ise daha yuvarlak bir nukleus ve beraberinde bir halo olması sahanda yumurta görünümüne benzetilir. Klasik OD morfolojisinde olan tümörlerin %80'inde 1p/19q delesyonu tespit edilmiştir (6). Nükleer atipi ve artmış derecede mitotik aktivite yoktur.

Astrositik ve oligodendroglial paternin her ikisini de gösteren grup oligoastrositomalar olarak adlandırılmaktadır.

Anaplastik astrositom olarak adlandırılan yüksek gradlı (grad 3) tümörlerde artmış selülariteye sahip astrositler, belirgin nükleer atipi ve mitotik aktivite mevcuttur. Nükleer inklüzyonlar, multinükleer hücreler ve anormal mitozdan bahsedilebilir. Bu grupta henüz mikrovasküler proliferasyon yoktur. Mikrovasküler proliferasyonun da bulunması, glioblastom (GB) olarak adlandırılır.

Bir diğer yüksek gradlı tümör olan anaplastik oligodendrogliom (AOD) artmış selülaritede oligodendroglialar, artmış mitotik aktivite ve nükleer atipi ile karakterizedir. İğsi hücreler ve multinükleer hücre formasyonları görülebilir. Mikrovasküler proliferasyon ve nekroz gvarlığında grad 4 AOD olarak adlandırılırlarsa da GB olarak nitelendirilmezler.

Glioblastoma multiforme olarak adlandırılan grad 4 anaplastik astrositomalar, WHO 2007 sınıflandırmasında glioblastom olarak değiştirilerek 'multiforme' eki kaldırılmıştır. Bu gruptaki tümörlerde belirgin nükleer atipi, mikrovasküler proliferasyon ve nekroz eşlik eder. Ayrıca

multinükleer dev hücreler, lipidize hücreler, granüler hücreler ve perivasküler lenfositler de görülebilir.

Yüksek gradlı (grad 3,4) glial tümörler primer (de novo) veya sekonder olarak ortaya çıkabilirler. Primer malign gliomlar yaşlı popülasyonda daha sıktır. Düşük gradlı tümörlerin yüksek gradlı tümörlere transformasyonu şeklinde prezente olan sekonder yüksek gradlı glial tümörler isegenç popülasyonda görülür.

Biyolojik ve klinik davranışları açısından glioblastomlara benzeyen nadir oranda görülen bir grup olan gliosarkomlar hem glial hem de mezenkimal patern gösteren bir histolojiye sahiptir.

2.4. Moleküler Biyoloji ve Genetik

Kanser türlerinin ve biyolojilerinin iyi anlaşılması, onların gelişim safhalarında hücresele düzeyde sinyal yolaklarının daha iyi tanımlanması tedavi modalitelerinde çığır açan yeniliklerin yaşanmasını da sağlamaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan yeni ilaçlar artık hücresele sinyal yolaklarını doğrudan veya dolaylı olarak hedef almaktadır.

Glial tümörlerin fenotipik farklılıkları beraberinde bulunan genetik veya moleküler değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu tümörlerde oluşan kritik yolaklarda yer alan mutasyonların hücre döngüsü regülasyonu, proliferasyon, hücresele metabolizma ya da hücre ölümünü etkiledikleri bilinmektedir.

Glioma gelişimine neden olabilen birçok büyüme faktörü tanımlanmıştır. Bunlardan epidermal büyüme faktörü (EGF) GB tarafından büyük oranda eksprese edilirken (7), bu faktörün reseptörü (EGFR) GB' de %30-50 pozitif olarak saptanmaktadır (8,9). Hücrede AKT (protein kinaz B) gibi bir çok hücre sağkalım yolağını tetikleyen fosfoinositol-3 kinaz (PI3k) yolağı da gliomlarda mutant olan EGFR tarafından aktive edilmektedir. Nitekim PI3k aktivasyonunun gliomlarda düşük sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (10). Yüksek gradlı gliomlarda aşırı salgılanan diğer büyüme faktörleri platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), temel fibroblast

büyüme faktörü (bFGF/FGF2) ve fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR1, FGFR3), transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF α), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF1)'dir.

GB'de fosfataz tensin homolog tümör süpresör gen (PTEN) inaktivasyonuna sebep olabilecek mutasyonlar da PI3k yolağı ile AKT aktivasyonuna sebep olarak malign glioblastoma farklılaşmada önemli rol oynar. AKT sinyal yolağının yardımcısı olan mTOR (memeli hücrelerde rapamisin hedef bölgesi) inhibitörleri GB'de klinik çalışmalarda araştırılmaktadır.

Gliomlarda p53 geni sıklıkla mutasyona uğramıştır. Hücre siklusunda önemli bir kontrol mekanizması görevi üstlenen p53, DNA hasarı ile aktive olmakta ve DNA tamir mekanizmalarını başlatmaktadır. Bu gende veya yolda meydana gelebilecek herhangi bir hasar aktivite inhibisyonuna yol açacak ve sonuç olarak DNA hasar tamirinin olmaması ve bunu takip eden proliferasyon, mutasyon artışı tümörjenezise yol açacaktır.

Gliomlarda prognozu belirleyebilen bir diğer belirteç 1p/19q kromozomal delesyonlarının varlığıdır. Özellikle OD'lerde kromozom 1p/19q allelik delesyonlarının kemoterapi duyarlılığını gösterdiği daha uzun genel ve hastalısız sağkalımla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (11).Tedavi stratejilerini etkilemesi bakımından günümüzde OD'lerde floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle 1p ve 19q durumunun tespiti yapılabilmektedir.

İzositrat dehidrojenaz (IDH) ve p53 gen mutasyonları ile sıklıkla birlikte gelirler. İzositrat dehidrojenaz (IDH) gen mutasyonları ayrıca geniş olarak anlatılacaktır.

Hücre bölünmesi G₀, G₁, S, G₂, M gibi hücre siklusu evreleri sonucunda olmaktadır. Bu siklusta her bir fazdan diğerine geçerken geçiş-kontrol noktaları bulunmaktadır. G₁-S geçiş kontrol noktasının regülatörleri siklin bağımlı kinaz D (CDK4), siklin D ve retinoblastoma proteinleridir (pRB). Birçok anaplastik astrositom ve GB'de bu hücre siklus geçiş kontrol noktasında veya bu noktaya etki eden yollarda meydana gelen bozukluklar tespit edilmiştir. Örneğin pRb proteini, RB geni fosforile olduğu zaman inaktif olarak çeşitli transkripsiyon faktörleri sentezlenerek hücre siklusunun G₁-S fazını işleterek hücre

proliferasyonunu sağlar. Bu yolda üzerinde moleküler çalışmalar yürütölmekte olan bir çok siklin bağımlı kinaz D (CDK4), siklin D ve siklin bağımlı kinaz inhibitörü (p16) rol almaktadır. Bu genin ya da proteinin artmış ekspresyonuna engel olabilecek durumlarda gliomda hücre siklusunda önemli bir duraklama meydana gelir. Malign gliomların yaklaşık %10-15'inde CDK4 geninde amplifikasyonu mevcuttur.

2.5. Klinik bulgular

Glial tümörler diğere beyin tümörleri gibi baş ağrısı, kuvvet kaybı, baş dönmesi, nöbet geçirme gibi semptomlarla prezente olurlar. Özellikle yüksek gradlı malign gliomalarda baş ağrısı sık görülürken düşük gradlı tümörlerde nöbet daha siktir (12). Ayrıca kişilik değışiklikleri, algılama bozuklukları, hafıza kaybı, görsel semptomlar da tutulan beyin bölgesi ile ilişkili olarak görölebilmektedir. Çok nadir olarak meningeal yayılıma bağılı olarak sırt ağrısı, radikülopati, kraniyal sinir tutulumlarına bağılı kraniyal sinir palsileri, kauda equina sendromu gibi bulgularla kendini gösterebilirler. Ancak meningeal yayılım hastalığın çok ileri dönemlerinde ya da otopsi serilerinde tespit edilebilmektedir (13,14,15). Bazı beyin tümörleri hastalarda hiçbir semptomla yol açmadan başka bir nedenle çekilen görüntöleme yöntemleri sonucu rastlantısal olarak da tespit edilebilir.

2.6. Görüntöleme ve Tanı

Klinik semptomların varlığı durumunda beyinde şüpheli kitle ön tanılar arasında ise kullanılacak en iyi görüntöleme yöntemi kontrastlı beyin manyetik rezonans (MR) görüntölemesidir (1). Beyin MR beyin tümörlerini gösterme açısından bilgisayarlı tomografi (BT)'ye göre daha üstündür (1). Kontrastlı BT yüksek gradlı lezyonları tanımlayabilirken düşük gradlı lezyonlarda uygun değildir. Beyin MR görüntölemesinde uygun sekanslar kullanarak doku ve ödem değışiklikleri tespit edilebilmektedir. Malign gliomlar T1 ağırlıklı görüntülerde

hipointens görülürken, kontrast verildikten sonra homojen kontrast tutulumu ve çevresinde daha hipointens bir ödem alanı tespit edilir. FLAIR görüntülerde kontrast tutmayan artmış sinyal görünümü düşük grad astrositomu düşündürür. Daha ileri ek görüntüleme tetkikleri gerektiğinde MR spektroskopi, MR perfüzyon ya da pozitron emisyon tomografisi (PET) gibi görüntüleme yöntemlerine baş vurulabilir (1).

Tüm görüntüleme yöntemleri tanı için yardımcı olmakla birlikte patolojik tanı anahtar bir rol oynamaktadır. Yüksek veya düşük grad ayrımı ve dolayısıyla tedavi seçenekleri patolojik değerlendirme sonrasında yapılabilmektedir. Beyin MR'da saptanan kitleler beyin cerrahları tarafından değerlendirilerek mevcut kitlenin lokasyonu, rezektabilitesi ve hasta performansı dikkate alınarak hastaya en uygun cerrahiye karar verilir. Mümkün olduğunca total rezeksiyon tercih edilir (1). Mümkün olmayan hastalarda biyopsi ile yetinilir. Stereotaktik biyopsi son yıllarda geliştirilen, bilgisayar kullanılarak görüntüleme eşliğinde beyin cerrahlarına 1 mm hassasiyetle (16,17) beynin derin bölgelerinden biyopsi yapma imkanı veren önemli bir metoddur. Biyopsiler yeterli düzeyde doku içermeli ve primer beyin tümörleri düşünülen vakarda mümkün olduğunca tümörün en malign kısmından alınmalıdır. Çünkü bu tümörler en malign kısımdaki özelliklere göre değerlendirilir.

2.7. Tedavi

Patolojik tanısı kesinleşmiş düşük gradlı gliyal tümörlerin cerrahi tedavisinde total rezeksiyon önerilir. Bunun sebebi total rezeksiyon yapılmış tümörlerde malign transformasyon riskinin azalmasıdır (18). Total rezeksiyonun uygun olmadığı düşük gradlı gliyal tümörlerde takip ya da fokal beyin radyoterapi uygulaması düşünülebilir. Radyoterapinin bu tümörlerde 5 yıllık sağkalım oranlarını sadece takip edilen tümörlere göre anlamlı oranda artırdığı (%49-68'e karşı %32) tespit edilmiştir (19). Düşük gradlı bu tümörlerde erken dönemde radyoterapiyi progresyon sonrası radyoterapi ile karşılaştıran bir çalışmada progresyonsuz sağkalım oranları erken dönem radyoterapi verilen grupta 5,3 yıl olurken, kontrol grubunda 3,4 yıl

olarak tespit edilmiştir. Genel sağkalımlar açısından ise anlamlı fark tespit edilmemiştir (20). Standart tedavi haline gelen radyoterapi için radyasyon verilme dozu 54 Gy'dir. Radyasyon dozları açısından bakıldığında yapılan radyasyon doz artışının ek yarar sağlamadığı (21), hatta yüksek dozda sağkalımın azaldığı ile ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur (22). Düşük gradlı tümörlerde kemoterapi konusu henüz netlik kazanmış bir konu değildir. İnkomplet cerrahi almış düşük gradlı glial tümörlerle yapılan bir çalışmada hastalara tek başına radyoterapi ve radyoterapi ile birlikte CCNU (lomustin) kemoterapisi verilmiş, her iki grupta da median 4,5 yıllık takip sonunda anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (23). Rezidüel tümörü olup radyoterapinin uygun olmadığı kognitif yan etkileri açısından riskli olabilecek hastalar için kemoterapi düşünülebilir, ancak bu stratejiyi önerebilecek prospektif randomize çalışma yoktur. Kemoterapiye daha duyarlı olduğu bilinen oligodendrogliyal paternin hakim olduğu tümörler ve 1p/19q delesyonu bulunan hastalarda bu stratejinin saf astrositik paterne sahip hastalara göre daha fazla yarar sağlayabileceği akılda bulundurulmalıdır (1).

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kapsamlı Kanseri Ağ (NCCN) 2014 kılavuzuna göre MR'da düşük grad gliom şüpheli olguda izlenecek yol şu şekilde özetlenebilir (24). Eğer maksimal güvenli rezeksiyon yapılabiliyorsa, bu yol tercih edilmelidir. Ardından hastanın düşük veya yüksek riskli gruptan hangisinde olduğu belirlenmelidir. Düşük risk grubu özellikleri şunlardır: OD veya mikst oligoastrocitom patolojisi, 40 yaş altı, Karnofsky Performans Skoru (KPS) 70'in üstü, tümör çapı 6 cm'den küçük, nörolojik defisit az olması veya hiç olmaması, 1p/19q delesyonu varlığı, IDH1 ya da 2 mutasyonunun varlığıdır. Bu hastalarda ön planda izlem tavsiye edilirken, fraksiyone eksternal radyoterapi ya da kemoterapi (kanıt 2B) de önerilmektedir. Yüksek riskli grup özellikleri şunlardır: Astrocitom patolojisi, 40 yaş üstü, KPS 70'in altı, tümör çapı 6'dan büyük, nörolojik defisit varlığı, 1p/19q delesyonları yokluğu, IDH 1 veya 2 mutasyon yokluğu gibi özelliklerden 3 ve daha fazlası olan hastalar. Hasta yüksek riskli grupta ise ön planda, fraksiyone eksternal radyoterapi ya da kemoterapi (kanıt 2B) tavsiye edilirken, izlem de önerilmektedir. Eğer hasta maksimal güvenli rezeksiyona uygun değilse, subtotal rezeksiyon ya da açık biyopsi ya da stereotaktik biyopsi yapıldıysa

kontROLSÜZ ve progresif semptomları olan hastada fraksiyone eksternal radyoterapi ya da kemoterapi (kanıt 2B) tavsiye edilirken stabil olgularda radyoterapi ya da kemoterapi ya da sadece gözlem yapılabilir. Takip ilk 5 yıl 3-6 ay aralıklı sonra yıllık olarak MR görüntülemesiyle yapılır.

Yüksek gradlı tümörlerin tedavisi gross total rezeksiyon sonrası radyoterapi ve adjuvan kemoterapi şeklindedir. Radyoterapi cerrahi sonrası genellikle radyoterapinin etkinliğini artırmak için kemoterapi ile eş zamanlı olarak yapılır. Kemoterapi için temozolomid, PCV (Prokarbazin, CCNU, Vinkristin), karmustin, irinotekan, 6-tiyoguanin, hidroksiüre, biskloroetilnitrozüre (BCNU) gibi ajanlar kullanılabilir (1). Çok sık kullanılan kemoterapi rejimlerinden PCV rejiminin toksisitesi temozolomide göre daha fazladır (1). Bir alkilleyici ajan olan temozolomid anaplastik astrositom ve GB'de etkindir (25-27) bu yüzden bu tümörlerde çok yaygın kullanılmaktadır. Oligodendroglial komponente sahip olan yüksek gradlı tümörler kemoterapiye daha iyi yanıt gösterirler.

NCCN 2014 kılavuzuna göre yüksek gradlı glial tümörlerden 1p/19q kodelesyonu olan AOD, AOA gibi tümörlerde fraksiyone eksternal RT sonrası PCV (kategori 1) ya da temozolomid (kategori 2A) kemoterapisi veya sadece kemoterapi (PCV ya da temozolomid) (kategori 2B) önerilmektedir. AA, AOD, AOA olup 1p/19q unidelesyonu olan ya da delesyonu hiç olmayan tümörlerde ise sadece fraksiyone eksternal RT (kategori 1), RT ve sonrası temozolomid ya da sadece kemoterapi (PCV ya da temozolomid) önerilmektedir (kategori 2A). Performans durumu düşük olan (KPS <70) hastalarda hipofraksiyone ya da standart RT veya palyatif destek tedavisi (kategori 2A) ya da kemoterapi (kategori 2B) önerilmektedir. Kılavuz GB tedavisinde performansı iyi olan gruplarda 70 yaş altı hastalarda fraksiyone eksternal RT ile eş zamanlı temozolomid ve sonrasında adjuvan temozolomid kemoterapisini kategori 1 düzeyinde önermekteyken, 70 yaş üstü hasta popülasyonunda sadece radyoterapiyi kategori 1 düzeyinde, RT ve eş zamanlı temozolomid ve ardından adjuvan temozolomid tedavisini kategori 2A düzeyinde önermektedir. Ayrıca 70 yaş üstü popülasyonda bir diğer seçenek de MGMT metilasyonu pozitif olgularda RT olmaksızın sadece kemoterapi verilmesidir (kategori

2A). Performans durumu kötü olan GB hastalarında adjuvan tedavide ise RT veya kemoterapi ya da palyatif destek tedavisi önerilmektedir (kategori 2A). Takipte RT sonrası 2-6 hafta sonra MR değerlendirmesi ve her 2-4 ayda bir MR değerlendirilmesi ile hasta 2-3 yıl kadar takip edilir sonrasında MR aralıkları açılabilir. Rekürrens görülen hastalarda hastanın performans durumu uygun ise ve kitle rezektabl ise rezeksiyon ve sonrasında palyatif bakım, kemoterapi (kategori 2A) ya da radyoterapi (kategori 2B) yapılabilir (24).

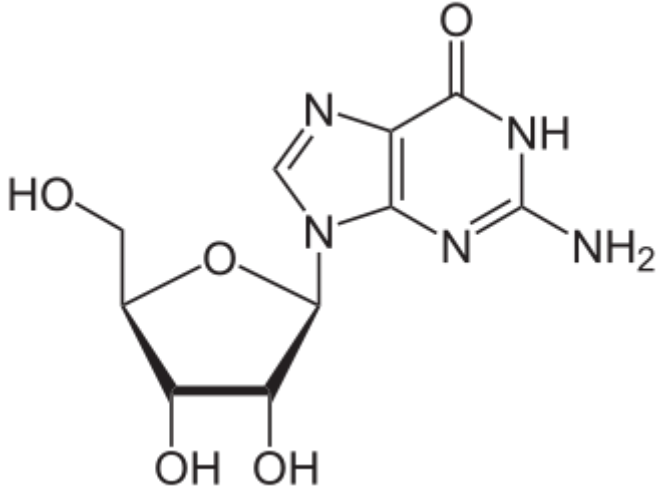
2.8. Prognoz

Tüm gliyal tümörlerin %4'ünü oluşturan düşük gradlı tümörlerden diffüz astrositomların ortanca sağkalımı 5-8 yıldır. OD ise tüm gliyal tümörlerin %7'sini oluştururlar. Bu tümör tipi kemoterapiye ve radyoterapiye daha duyarlı olduğu için ortanca sağ kalımı 4-12 yıldır (1,19). AOD ve AA gibi yüksek gradlı tümörler 40-50 yaşlar arası sık görülmekte olup, bu tümör tiplerinde ortanca sağ kalım 3-5 yıl kadardır (29). Beynin en sık rastlanan tümörü olan GB tüm gliyal tümörlerin %50' sini oluşturur. Ortanca sağ kalımı 9-14 ay olup, 5 yıllık sağ kalım oranı %3 kadardır (30). Yaş ve KPS (Karnofski Performans Skalası) gibi faktörler prognostiktir (1).

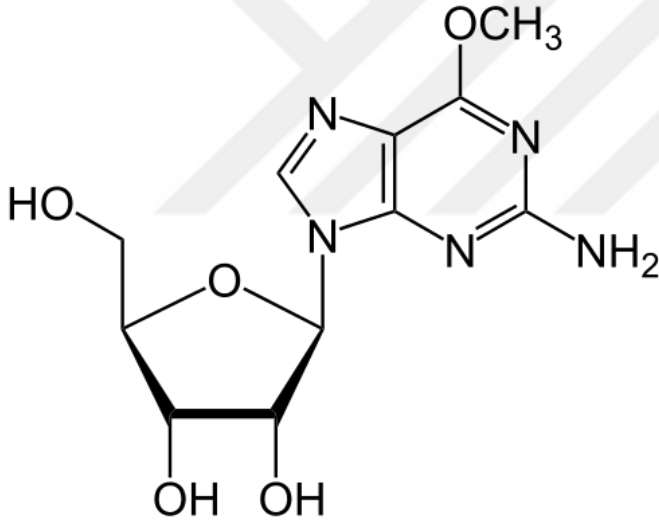
2.9. MGMT

MGMT enzimi bir DNA tamir enzimi olup özellikle alkilleyici ajanlarla meydana gelen DNA hasarının tamirinde rol almaktadır. Yine aynı isimli MGMT geni tarafından kodlanmaktadır (25,26). Alkilleyici ajanlar N7 pozisyonundaki guanin bazını etkilerler. Oluşan O6-metil-guanin DNA için majör bir karsinojendir. MGMT enzimi guanin yerine oluşan mutant O6-metil-guanini tekrar guanin nükleotidine çevirerek uyumsuzluğu giderir ve DNA replikasyonu ile transkripsiyonun doğru bir biçimde işlenmesini sağlar. O6-metil-guanin ve guanin bazlarının yapısı şekil 2.1 ve şekil 2.2' de gösterilmektedir.

Şekil 2.1. Normal guanin bazı



Şekil 2.2. Metile guanin bazı



Bu enzimin klinik önemi GB hastalarında bu enzimi kodlayan MGMT geninde mevcut metilasyon durumunun ilaca yanıt üzerine etkili olmasının tespit edilmesi ile daha fazla artmıştır. GB hastalarında MGMT geni metile olduğunda ilgili DNA tamir enzimi transkripsiyonu baskılanıp bir alkilleyici ajan olan temozolomid daha etkin olmaktadır. Bir çok klinik çalışma ve kohort göstermiştir ki, MGMT promoter metilasyonu alkilleyici ajan alan glioblastom hastalarında progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımda uzama ile ilişkilidir (28-32). MGMT metile ve metile olmayan olgularda primer tümör yeri, MR kontrast tutulum

paterni, kontrast yayılım katsayısı ve yalancı progresyon insidansında anlamlı farklılık olduğunu tespit eden çalışmalar bulunmaktadır (33-36). Tezimizin de araştırmak istediği bir konu olan MGMT promoter metilasyon durumunun hastalığın seyri sırasında ya da tedavi sırasında değişip değişmediği ile ilgili literatür verileri kısıtlıdır. Primer ve progrese olmuş glioblastom tümör örnekleri ile yapılan bir çalışmada MGMT promoter metilasyon durumunun hastalığın seyri sırasında değişmediği bildirilmiştir (37). MGMT promoter metilasyonunun tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ya da immunhistokimyasal boyama yöntemleri kullanılabilir. Metilasyon spesifik eş zamanlı PCR ya da pirosekans modifiye bisülfid DNA yöntemleri immunhistokimya yöntemine göre metilasyon durumunu tespit etmede daha güvenilir yöntemlerdir (38). Bu yöntemler içerisinde en kullanışlı ve uygun yöntemin hangisi olduğu üzerinde konsensus sağlanabilmiş değildir.

2.10. İDH (izositrat dehidrojenaz)

İzositrat dehidrojenaz enzimi izositrattan alfa keto glutarat ve CO₂ oluşmasına neden olan yani izositratın oksidatif dekarboksilasyonunu katalize eden bir enzimdir. İnsanlarda bu enzimin 3 izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlar sitrik asit siklusunda görev alırlar. Hücrede sitozol, mitokondri ve peroksisomda bulunurlar (39). Hücrede IDH basamağı sitrik asit siklusunda önemli bir basamaktır. Bu basamakta yüksek miktarda serbest negatif enerji değişimi olmaktadır. Ayrıca bu basamak sitrik asit siklusunda geri dönüşümsüz bir basamaktır. İlk olarak 2008 yılında 148 insan glioma tümör örneği genomik yönden analiz edilmiştir. 18 örneğin (%12) 132. kodondaki IDH1 geninde değişiklik olduğu ortaya çıkmıştır (40). Aynı şekilde kodon 172'deki IDH2 için de benzer çalışmalarla değişiklikler tespit edilmiştir. Bu değişiklikler glioma oluşumunda erken dönemde görülen değişiklikler olarak bilinmektedir (2). IDH1 veya IDH2 mutasyonu grad 2 ve 3 tümörlerde ya da bu tümörlerden sekonder oluşan glioblastomlarda sık görülürken primer GB'de çok daha az oranda görülmektedir (41). Moleküler mekanizma alfa ketoglutaratın yerine oluşan ve onkogenik aktiviteden sorumlu

tutulan D2-hidroksiglutarat oluşmasıdır (41). Klinik açıdan IDH mutasyonlarının önemi ise IDH mutant tip gliom tanılı hastalarda genel ve progresyonsuz sağkalım oranlarının IDH mutant olmayan tip gliomlara göre daha uzun olmasıdır (32,42,43). IDH1 mutasyonunun tespitinde IDH1 R132H için immunhistokimyasal yöntem kullanılmaktadır. IDH mutasyonları aynı zamanda diffüz gliom ve gliosis ayırıcı tanısında da kullanılabilir (33).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta seçimi ve Protokol

Retrospektif kesitsel olarak planlanmış bu çalışmaya Ocak 2007 ile Haziran 2014 tarihleri arasında Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesinde en az iki kez beyin cerrahi departmanı tarafından cerrahi tedavi uygulanan 52 gliyal tümör tanılı hastadan her iki patoloji preparatı da inceleme açısından uygun olan 44 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. 18 yaşında büyük olmak
2. Gliyal tümör tanısıyla en az iki kere cerrahi operasyon yapılmış olmak
3. Her iki patoloji preparatının incelenebilir ve ulaşılabilir olması
4. Dosya kayıtlarının ulaşılabilir olması

Hariç tutulma kriterleri:

1. 18 yaşından küçük olma,
2. Patolojik olarak gliyal tümör dışı herhangi başka bir tür tümör tanısı olması
3. Herhangi bir nedenden dolayı patolojik preparata ulaşılamaması ya da patolojik preparatların uygun ve yeteri miktarda doku içermiyor olması.

Çalışma protokolü Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Çalışma için gerekli maddi destek Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Kuruluna yapılan başvuru sonucunda Yeditepe Üniversitesi tarafından karşılandı.

3.2. Verilerin toplanması

Hastalara ait dosya ve bilgisayar kayıtları geçmişe yönelik olarak tarandı. Dosyalardaki hasta anamnezi bölümünden ve fizik muayene bölümünden hastaların temel özellikleri not edildi. Hastalar yaş, cinsiyet, tanı tarihi, tanı yaşı, tümör lokalizasyonu, başvuru semptomları, tümör patolojisi, ki67 proliferasyon indeksi, yaşam süreleri, nüks tarihine kadar geçen yaşam süreleri, ECOG performans durumu (ek 1) kayıt altına alındı. Uygun hastalar toplanarak MGMT metilasyon durumu ve İDH mutasyon durumu açısından uzman patoloğ tarafından patolojik değerlendirmeye tabi tutularak sonuçlar kaydedildi.

3.3 Patolojik değerlendirme

Hastaların patoloji preparatları %10'luk formalin ile tespit edildi. Tam otomatik doku takip cihazı ile işleme alındı. Daha sonra parafin bloklara gömüldü. 5 mikronluk kesitler alınarak H&E (Hematoksilen Eozin) ve diğer immun markırlardan MGMT ve IDH çalışıldı. MGMT boyaması için # J1113 lot numaralı Santa Cruz Biotechnology marka MGMT kitleri kullanıldı. IDH boyaması için 13715#17 lot numaralı Dianova marka IDH kitleri kullanıldı. Ki 67 proliferasyon indeksi değerlendirmesi için #082613 lot numaralı Biocare marka kitler kullanıldı. Boyamalar Leica Bond marka otomatik immunohistokimya makinası tarafından yapıldı. Preparatlar boyandıktan sonra mikroskopik incelemeye alındı. Patolojik inceleme alanında uzman bir patoloğ tarafından yapıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Veriler bilgisayarda SPSS 21.0 (Statistical Packages of Social Sciences) programı kullanılarak analiz edildi. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama \pm standart sapma şeklinde, kategorik değişkenler için frekans ve yüzde şeklinde gösterildi. Başlangıç ile ilk nüks MGMT ve İDH arasındaki değişim McNemar testi kullanılarak karşılaştırıldı. MGMT

ve İDH gruplarının sağkalım üzerine etkileri Breslow testi ile değerlendirildi. Sağkalım hızları Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılarak hesaplandı. $p < 0.05$ olması durumunda aradaki fark anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Hastalara ait temel bulgular

Çalışmaya dahil edilen 44 hastadan 13'ü (%29,5) kadın, 31'i ise (%70,5) erkekti. Tanı yaşı 18 ile 75 arasında değişmekte olup ortalama 45 şeklindeydi. Hastaların 4'ünde (%9,1) tip 2 diabetes mellitus tanısı mevcut iken, 38'inde (%86) ise diyabet teşhisi yoktu.

Hastaların tümör lokalizasyonları sırasıyla sağ temporal 6 (%13), sol temporal 11 (%25), sağ parietal 2 (%4,5), sol parietal 5 (%11,4), frontal 8 (%18), oksipital 1 (%2,3) ve bunlar dışında yer alan diğer lokalizasyonlar 11 (%25) şeklinde tespit edildi.

Hastaların başlangıçta klinik prezentasyonları incelendiğinde, 17 (%38,6) hastada nöbet, 6 (%13,6) hastada ekstremitelerde kuvvet kaybı, 7 (%15,9) hastada baş ağrısı, 1 (%2,3) hastada kötü koku alma, 12 (%27,3) hastada bunlar dışında kalan diğer şikayetler ile prezente oldukları görülmüştür. 1 hastanın geçmiş dosya kayıtlarından klinik prezentasyon şekline ulaşılamamıştır.

Hastaların başvuru anındaki genel performans durumları ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans skora (PS) sistemine göre değerlendirildiğinde 29 (%65,9) hasta ECOG 0, 10 (%22,7) hasta ECOG 1, 1 (%2,3) hasta ECOG 2 şeklinde sınıflandırılmış olup 4 hastanın performans bilgilerine ulaşılamamıştır. İlk tanı sırasında hasta özellikleri tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. İlk tanı sırasında hasta özellikleri

Hasta özellikleri	n (%)
Cinsiyet	
Erkek	31 (%70.5)
Kadın	13 (%29.5)
Tümör lokalizasyonu	
Temporal lob	17 (%38)
Parietal lob	7(%15.9)
Frontal lob	8 (%18)
Oksipital lob	1 (%2.3)
Diğer	11 (%25)
ECOG performans durumu	
0	29 (%65.9)
1	10 (%22.7)
2	1 (%2.3)

Hastaların ilk patolojileri değerlendirildiğinde 16 (%36,4) hasta düşük gradlı (grad 1 veya 2) gliyal tümör, 5 (%11,4) hasta grad 3 anaplastik astrositom, 1 (%2,3) hasta grad 3 anaplastik oligodendrogliom, 22 (%50) hasta glioblastom (grad 4) olarak tespit edilmiştir. Hastaların ikinci patolojileri değerlendirildiğinde 6 (%13,6) hasta düşük gradlı (grad 1 veya 2) gliyal tümör, 2 (%4,5) hasta grad 3 anaplastik astrositom, 2 (%4,5) hasta grad 3 anaplastik oligodendrogliom, 3 (%6,8) hasta grad 3 mikst oligoastrositom, 30 (%68,2) hasta ise glioblastom (grad4) olarak tespit edilmiştir. İlk ve ikinci patolojilerdeki özellikler tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. İlk ve ikinci patolojide özellikler

	İlk patoloji n (%)	İkinci patoloji n (%)
Patolojik tanı		
Düşük grad (grad 1-2)	16 (%36.4)	6 (%13.6)
Anaplastik astrositom	5 (%11.4)	2 (%4.5)
Anaplastik oligodendrogliom	1 (%2.3)	2 (%4.5)
GB	22 (%50)	30 (%68.5)
Mikst oligoastrositom	0	3 (%6.8)
Tüm hastalarda Ki67 proliferasyon indeksi (n=42)		
≥%20	17 (%40)	
<%20	25 (%60)	
GB'li hastalarda Ki67 proliferasyon indeksi (n=21)		
≥%20	14 (%66.7)	
<%20	7 (%33.3)	
Tüm hastalarda MGMT durumu (n=44)		
Metile değil	30 (%68.2)	30 (%68.2)
Metile	14 (%31.8)	14 (%31.8)
GB'li hastalarda MGMT durumu	n=22	n=30
Metile değil	13 (%59.1)	19 (%63.3)
Metile	9 (%40.9)	11 (%36.7)
Tüm hastalarda IDH1 durumu (n=44)		
Negatif	32 (%72.7)	28 (%63.6)
Pozitif	12 (%27.3)	16 (%36.4)

Hastaların ki67 proliferasyon indeksi dikkate alındığında bilgisine ulaşılabilen 42 hastanın 17 (%40)'sinin ki67 proliferasyon indeksi %20 ve üzerinde iken, hastaların 25'inde (%60) ki67 %20'nin altında tespit edilmiştir.

GB tanılı hastaların ki67 proliferasyon indeksi açısından değerlendirilmesinde kayıtlarına ulaşılabilen 21 hastanın 14'ünün (%66,7) ki67 proliferasyon indeksi %20 üzerinde iken, hastaların 7'sinde (%33,3) ki67 %20'nin altında tespit edilmiştir.

4.2. MGMT ve İDH durumları ve değişimleri

Tüm gliyal tümörlerde patolojik tanıları ayırt edilmeksizin ilk patolojideki MGMT metilasyon durumu değerlendirildiğinde 44 hastanın 30 (%68,2)'unda MGMT metile değilken, hastaların 14 (%31,8)'ünde metile olarak tespit edilmiştir. İkinci patolojilerdeki metilasyon durumuna bakıldığında ise yine 44 hastanın 30 (%68,2)'unda MGMT metile değilken, hastaların 14 (%31,8)'ünde metile olarak tespit edilmiştir. İlk patolojide MGMT metilasyonu pozitif olan 14 hastanın 6 (%42,9)'sında negatife değişim gözlenirken MGMT negatif olan 30 hastanın 6 (%20)'sında pozitif yöne değişim görölmektedir. Total 44 hastanın 12 (%27,3)'sinde değişim saptanmıştır. Mc Nemar testine göre bu değişim anlamlı olarak tespit edilmemiştir (p:1,00). Bağımsız değişkenlere kendi içinde Fisher exact testi uygulandığında da değişkenler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır (2-sided Fisher's Exact Test p: 0,152). İlk ve ikinci patolojilerde MGMT metilasyon durumları değişimleri tablo 4.2.'de gösterilmektedir.

Glioblastom tanılı hastalardaki MGMT durumu ayrı olarak değerlendirildiğinde toplam 22 glioblastom hastasının 13 (%59,1)'ünde metilasyon yokken, 9 (%40,9) hastada metilasyon olduğu tespit edilmiştir. Glioblastom tanılı hastaların ikinci patolojilerindeki metilasyon durumuna bakıldığında ise 30 hastanın 19 (%63,3) unda MGMT metile değilken, hastaların 11 (%36,7) inde metile olarak tespit edilmiştir. GB tanılı hastalardaki MGMT değişimleri de istatistiksel olarak anlamlı değildir. (2-sided Fisher's Exact Test p: 0,662)

Tüm gliyal tümörlerde patolojik tanıları yine ayırt edilmeksizin ilk patolojideki İDH1 mutasyon durumu değerlendirildiğinde 44 hastanın 32 (%72,7)'sinde İDH1 mutasyonu negatif iken, hastaların 12 (%27,3)'sinde İDH1 mutasyonu pozitif olarak tespit edilmiştir. İkinci patolojilerdeki mutasyon durumuna bakıldığında ise 44 hastanın 28 (%63,6) inde İDH1 mutasyonu negatif iken, hastaların 16 (%36,4)'sında İDH1 mutasyonu pozitif olarak tespit edilmiştir. Total 44 hastanın 6 (%13,6)'sinde değişim saptanmıştır. İlk patolojide pozitif

saptanan 12 hastanın 1'inde ikinci patolojide negatifleşme görülürken 11'inin değişmediği, negatif saptanan 32 hastadan 5'inin pozitifleştiği 27'sinin değişmediği tespit edilmiştir (Tablo 4.3.). İDH'daki değişim Mc Nemar testine göre istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0,219). Yine değişimlere Fisher testi uygulandığında değişimin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (2-sided Fisher's Exact Test p: 1,000).

Tablo 4.3. İlk ve ikinci patolojide MGMT ve IDH durumunda görülen değişim

Değişim	n	Değişim olan hasta oranı	P
Tüm hastalarda MGMT değişimi (n=44)			
Metile değil →Metile	30→6	%20	0.152
Metile→Metile değil	14→6	%42.9	
GB'li hastalarda MGMT değişimi (n=22)			
Metile değil →Metile	13→5	%38.4	0.662
Metile→Metile değil	9→4	%44.4	
Tüm hastalarda IDH1 değişimi (n=44)			
Pozitif →Negatif	12→1	%8.3	1.000
Negatif→Pozitif	32→5	%15.6	

4.3. Sağkalım analizleri

Çalışmaya dahil edilen 44 hastadan çalışma sonunda 16'sı (%36) hayatta iken, 28 (%64)'i hayatta değildi. GB tanılı 22 hastanın ise 14'ü (%64) hayatta değilken 8'i (%36) hayattaydı. Hastaların medyan genel sağkalım süresi 45 aydı. GB tanılı hastaların medyan genel sağkalımları 31 ay (27-34,8), medyan progresyonsuz sağkalımları ise 15 aydı.

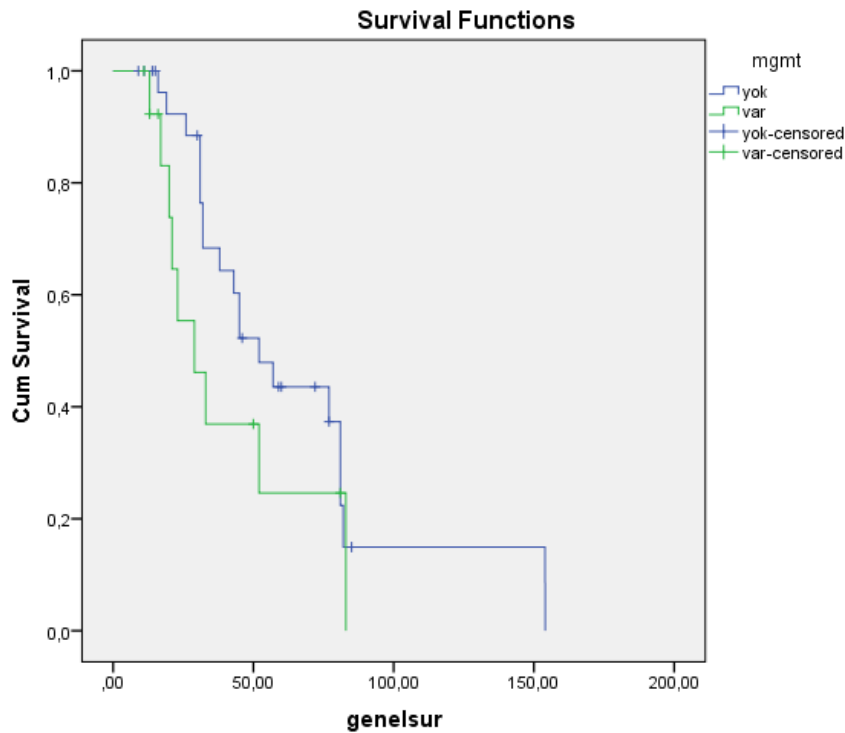
İlk patolojideki MGMT durumuna göre tüm hastalar için sağkalım analizi yapıldığında MGMT metilasyonu olan 14 hastanın medyan sağkalım süresi 29 ay iken, negatif olan 30 hastanın

medyan sağkalım süresi 52 ay olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4.). Metile olmayanların lehine gibi görünen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0,64).

Tablo 4.4. Tüm hastalarda genel sağkalım analizi

Değişim	Medyan genel sağkalım (%95 güven aralığı)	P
Tüm hastalar	45 ay (29.5-60.4)	-
İlk patolojideki MGMT durumuna göre Metile olanlar (n=14) Metile olmayanlar (n=30)	29 ay (13.01-44.98) 52 ay (35.52-68.47)	0.64
İlk patolojideki IDH1 durumuna göre Pozitif (n=12) Negatif (n=32)	77 ay (21.43-132.56) 33 ay (19.10-46.89)	0.033
Ki67 proliferasyon indeksine göre ≥%20 <%20	45 ay 52 ay	0.192

Şekil 4.1. Tüm hastalar için ilk patolojideki MGMT durumuna göre genel sağkalım analizi

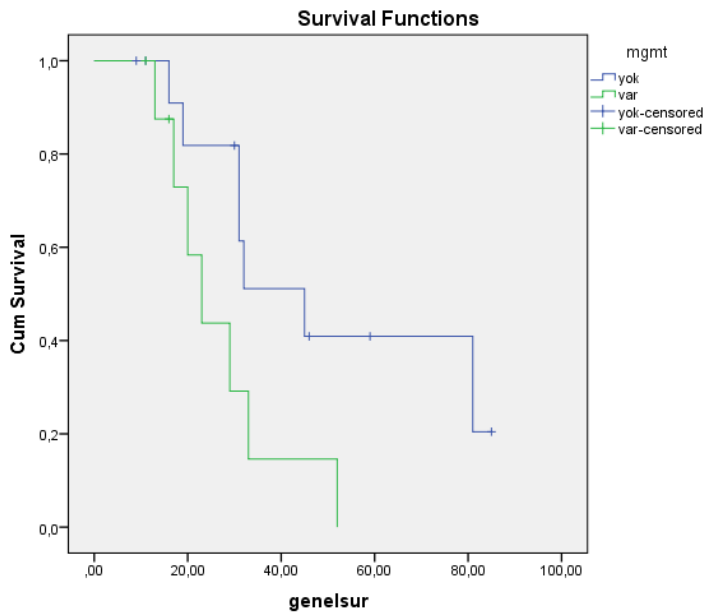


İlk patolojideki MGMT durumuna göre GB tanılı hastalar için sağkalım analizi yapıldığında MGMT metilasyonu saptanan 9 hastanın medyan sağkalım süresi 23 ay iken, metilasyon olmayan 13 hastanın medyan sağkalım süresi 45 ay olarak tespit edilmiştir (tablo 4.5.). Yine metile olmayanların lehine gibi görünen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0,78).

Tablo 4.5. GB'li hastalarda genel sağkalım analizi

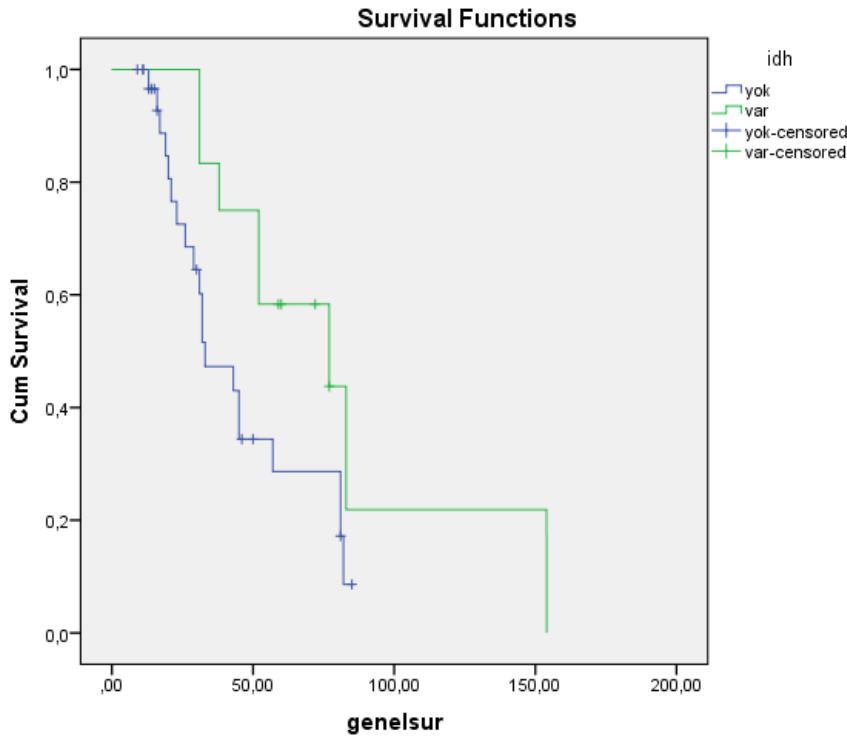
Değişim	Medyan genel sağkalım (%95 güven aralığı)	P
Tüm hastalar	31 ay (27.17-34.82)	-
İlk patolojideki MGMT durumuna göre Metile olanlar (n=9) Metile olmayanlar (n=13)	23 ay (15.42-30.57) 45 ay (24.08-65.91)	0.78
İlk patolojideki IDH1 durumuna göre Pozitif (n=3) Negatif (n=19)	52 ay (18.39-85.60) 31 ay (0.53-41.46)	0.247
Ki67 proliferasyon indeksine göre ≥%20 <%20	31 ay 32 ay	0.917

Şekil 4.2. GB tanılı hastalar için İlk patolojideki MGMT durumuna göre genel sağkalım analizi



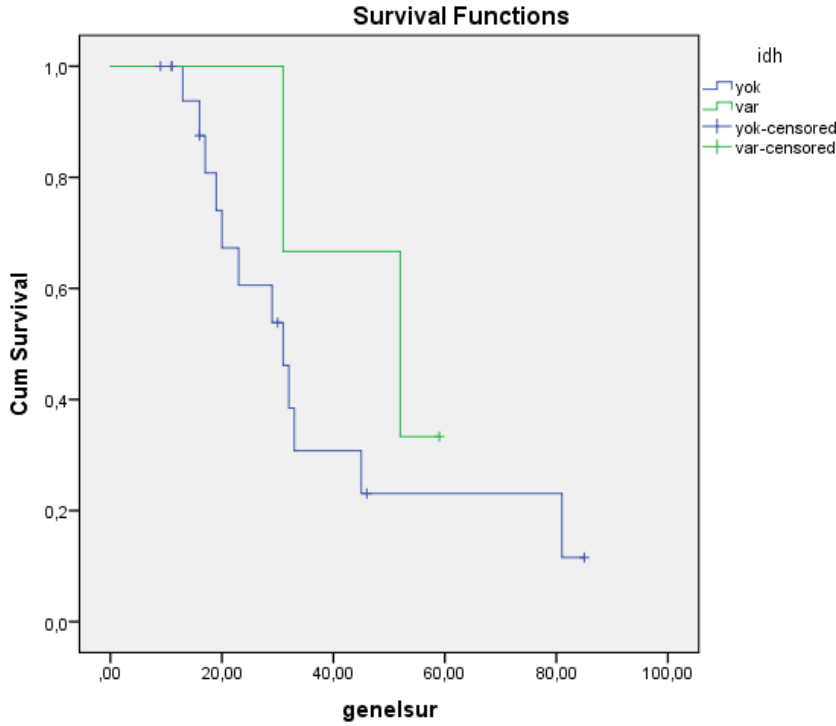
İlk patolojideki İDH durumuna göre tüm hastalar için sağkalım analizi yapıldığında İDH1 mutasyonu saptanan 12 hastanın medyan sağkalım süresi 77 ay iken, negatif olan 32 hastanın medyan sağkalım süresi 33 ay olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.4.). İDH1 mutasyonu olanların lehine gibi görünen bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p:0,033).

Şekil 4.3. Tüm hastalar için ilk patolojideki İDH1 mutasyon durumuna göre genel sağkalım analizi



İlk patolojideki İDH durumuna göre GB tanılı hastalar için genel sağkalım analizi yapıldığında, İDH1 mutasyonu saptanan 3 hastanın medyan sağkalım süresi 52 ay iken, negatif olan 19 hastanın medyan sağkalım süresi 31 ay olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5.). Ancak İDH1 mutasyonu olanların lehine gibi görünen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0,247).

Şekil 4.4. GB tanılı hastalar için İlk patolojideki İDH1 mutasyon durumuna göre genel sağkalım analizi



Ki67 proliferasyon indeksine göre genel sağkalım analizi yapıldığında ki67 \geq %20 olan grupta medyan sağkalım süresi 45 ay iken, ki67 <%20 olan grupta 52 ay olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.4.). Bu fark istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır (p 0,192).

GB hastalarında ki67 proliferasyon indeksine göre sağkalım analizi yapıldığında ki67 \geq %20 olan grupta medyan sağkalım süresi 31 ay iken, %20'den küçük olan grupta 32 ay olarak hesaplanmıştır (tablo 4.6.) (p 0,917).

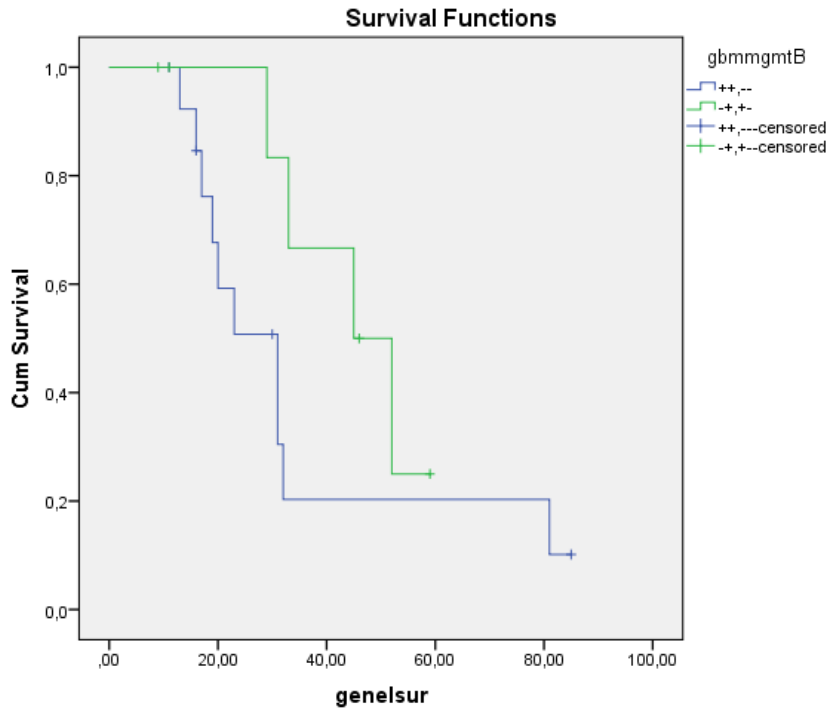
Çalışmamızda ayrıca hem GB hastalarında hem de düşük grad gliyal tümör hastalarında MGMT metilasyon değişim durumuna göre çeşitli senaryolar için hastalar gruplanarak sağkalım analizleri yapılmıştır.

Senaryo A'da nükste daha iyi prognostik özellik kazanan veya iyi prognostik özelliğini kaybetmeyen grup ile; nüks sırasında daha kötü prognozu olabilecek özellik kazanan

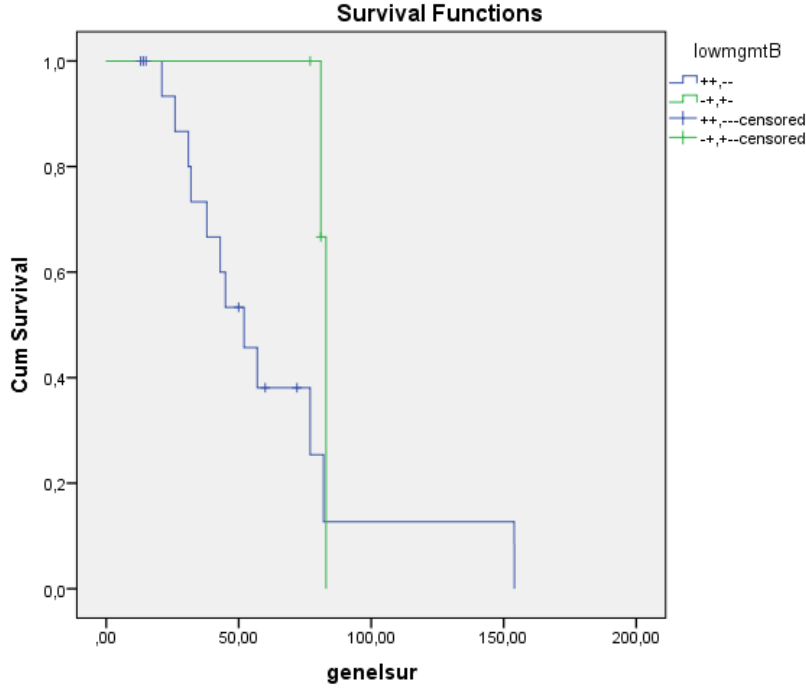
hastalar karşılaştırılmıştır. Bu amaçla MGMT metilasyonu olan ve nükste bu durum değişmeyen hastalar (++) ve metilasyon olmayıp nükste metile halen dönen hastalar (-+) gruplanmıştır. Diğer gruba tanı ve nükste MGMT metilasyonu olmayan (--) veya başlangıçta metile iken nükste metile olmayan hastalar (+-) alınmıştır. Hem GB'li hastalar hem de düşük gradlı glial tümörlerde gruplar arasında sağkalım açısından anlamlı fark görülmemiştir (Tablo 4.6.).

Senaryo B'de ilk tanı ve nükste MGMT metilasyon durumu değişmeyen hastalar (grup 1) ile değişim oluşan hastalar (grup 2) karşılaştırılmıştır (Tablo 4.6.). İlk grupta medyan sağkalım süresi 31 ay iken, ikinci grupta 45 ay olarak tespit edilmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p 0,072). Düşük grad hastalar için değerlendirildiğinde de ilk grubun (n:18) medyan genel sağkalım süresi 52 ay iken, ikinci grubun (n:4) medyan genel sağkalım süresi 83 ay şeklindedir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye çok yaklaşırsa da, anlamlı değildir (p:0,060).

Şekil 4.5. GB tanılı hastalarda MGMT değişim senaryo B için gruplardaki genel sağkalım analizi



Şekil 4.6. Düşük gradlı hastalarda MGMT değişim senaryo B için gruptaki genel sağkalım analizi



Senaryo C'de ilk tanı veya nüksün en az birinde MGMT metilasyonu olan hastalar (grup 1) ile hiçbir zaman MGMT metilasyonu saptanmayan hastalar (grup 2) karşılaştırılmıştır. Hem GB, hem de düşük gradlı tümörlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.6.GB ve düşük gradlı gliyal tümörlü hastalarda MGMT değişim durumuna göre hastaların gruplandırılması sonrası yapılan genel sağkalım analizi

MGMT değişimine göre hasta grupları	GB			Düşük gradlı gliyal tümörler		
	n	Med. GS	P	n	Med. GS	P
Senaryo A						
Grup 1 (++, -+)	9	23 ay	0.514	5	81 ay	0.784
Grup 2 (- -, +-)	13	32 ay		17	57 ay	
Senaryo B						
Grup 1 (++, - -)	14	31 ay	0.072	18	52 ay	0.060
Grup 2 (-+, +-)	8	45 ay		4	83 ay	
Senaryo C						
Grup 1 (++, -+, +-)	13	33 ay	0.787	7	83 ay	0.211
Grup 2 (- -)	9	31 ay		15	52 ay	

5. TARTIŞMA

Gliyal tümörlerde MGMT promoter metilasyonu ve İDH mutasyonunun prognostik önemi bilinmektedir. Özellikle GB tanılı hastalarda MGMT metilasyonunun pozitifliğinin artmış genel sağkalım avantajı ve temozolamid (alkilleyici) duyarlılığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (28-32). Oligodendrogliyal tümörlerin %47-80'inde MGMT promoter metilasyonu pozitif olarak saptanmakta olup, iyi prognoz ve kemoterapi (örneğin temozolamid) duyarlılığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. (38,44). İDH mutasyonunun ise tüm gliyal tümörlerde artmış genel sağkalımla ilişkili bir prognostik bir belirteç olduğu bilinmektedir. Grad 2-3 astrositik ve oligodendrogliyal tümörler ile sekonder GB'lerin %50-80'inde İDH mutasyonu görülebilmektedir (40) . Primer glioblastomlarda ise İDH mutasyonunun daha nadir olduğu (yaklaşık %5) bilinmektedir.

Çalışmamızda tüm gliyal tümörlere baktığımızda ilk cerrahide 44 hastadan 14'ünde (%32) MGMT promoter bölgesi metile iken 30 hastada metile değildi (%68). Metile olan 14 hastanın 6'sında (% 42) ikinci cerrahide metilasyonu kaybettikleri, başta metile olmayan 30 hastadan 6'sının ise (%20) MGMT metile hale geldiği görülmüştür. Ancak bu değişiklikler çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır.

GB tanılı 22 hastayı ayrı olarak incelediğimizde ilk cerrahide MGMT promoter bölgesi metile olan 9 hastanın 4'ünde (%40) değişim olup, ikinci cerrahide negatifleştikleri görülmüş iken, başta negatif olan 13 hastanın 4'ünün değişime uğrayıp pozitifleştiği tespit edilmiştir (%30). Ancak bu değişiklikler çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Bu oran mevcut literatür verileri ile uyumludur. Ancak hasta sayısının sınırlı olması da bu sonucu doğurmuş olabilir.

Brandez AA ve ark. tarafından 38 rekürrent GB tanılı hasta ile yapılan çalışmalarında 38 hastanın 13 (%34)'ünde ilk cerrahide MGMT promoter metile iken, 25 (%66) hastada metile olmadığı; ikinci cerrahide ise metile olan 13 hastanın 8'inde değişim olup metile olmadıkları görülürken başta metile olmayan 25 hastanın ise 6'sında değişim olup metile oldukları

görülmüştür. Başta metile olan gruptaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu tespit etmişlerdir (43).

Chul-Kee Park ve ark. tarafından yapılan ilk cerrahi sonrası temozolomid bazlı tedavi verilmiş olan 24 rekürren GB hastası üzerinde yapılan bir araştırmada, 9 (%37) hastada immunohistokimyasal olarak MGMT protein ekspresyonu tespit edilirken, 15 (%63) hastada protein ekspresyonu tespit edilememiştir. Hastaların 19 (79%)'unda rekürrens sonrası yapılan cerrahide MGMT protein ekspresyonunda değişim olmazken, 4 (17%) hastada pozitifleşmiş, 1 hastada negatifleşmiştir. MGMT protein ekspresyonundaki bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,38$). Fakat aynı çalışmada farklı bir yöntem olan Metilasyon-spesifik Multipleks Ligasyon Probe Amplifikasyon yöntemi ile değerlendirilme yapıldığında rekürren tümörlerde metilasyon oranında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,04$) oranda azalma tespit edilmiştir (45).

Melguizo ve ark. tarafından radyoterapi ile konkomitan ve adjuvan temozolomid tedavisi verilmiş 78 rekürren GB tanılı hastada yapılan bir çalışmada PCR ile bakılan MGMT promoter metilasyonu ile immunohistokimyasal olarak değerlendirilen MGMT protein ekspresyonu arasında korelasyon olmadığı tespit edilmiştir (46).

Felsber ve ark. tarafından 80 rekürren GB tanılı hasta ile yapılan çalışmada 31 (%38) hastada MGMT promoter metilasyonunu pozitif saptamışlardır. Araştırmacılar çalışmada MGMT promoter metilasyonunun rekürren tümörlerde değişmediğini tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada MGMT promoter metilasyonu pozitifliğinin uzamış genel sağkalım, progresyonsuz sağkalım ve rekürrens sonrası sağkalımlarla ilişkili olduğu ancak MGMT protein ekspresyon durumuyla sağkalım arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir (37).

Jung ve ark. ise 16 GB tanılı hastada adjuvan tedavi sonrası nüks gelişiminde MGMT promoter metilasyonu ve MGMT protein ekspresyonunu değişimini incelemişlerdir. 5 spesimende MGMT metilasyonunun değiştiği tespit edilmiştir. 4 hastada MGMT

promoter metilasyonu nükste pozitiften negatife dönmüştür (47). İncelenen 15 örnekte ise MGMT protein ekspresyonunun arttığı, 3 örnekte ise değişmediği tespit edilmiştir.

Görüldüğü gibi MGMT promoter metilasyon durumu ve buradaki değişiklikler ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle GB tanılı hasta populasyonu üzerinde yapılmaktadır. İlk cerrahide özellikle GB tanılı hastalardaki metilasyon oranı çalışmamızda %40 olarak tespit edildi. Bu oran literatürdeki diğer çalışmalardakine benzerdir. Literatürdeki benzer çalışmalarda Brandez ve ark'larının çalışması dışındakilerde MGMT promoter metilasyon durumunun çalışmamızdakine benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı şekilde değişmediği tespit edilmiştir. Yine Chul-Kee Park ve ark. tarafından yapılan çalışmada da immunhistokimyasal olarak bakılan MGMT metilasyon durumunun bizim çalışmamızdakine benzer şekilde değişmediği görülmüş, ancak farklı bir metodla bakıldığında rekürren tümörlerde metilasyon oranında azalma tespit edilmiştir.

MGMT promoter metilasyon durumu farklı yöntemlerle çalışılabilir. Bu tetkiklerden non kantitatif metilasyon–spesifik polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin (MSP) klinik kullanımda daha uygun olduğu düşünülmektedir. Bu yöntemin de kusursuz olmadığı, özellikle sekans analizi yöntemiyle tekrar değerlendirildiğinde metillenmemiş olarak sınıflanan tümörlerde, kısmi ya da total metillenme olduğu saptanabilmektedir. Biz çalışmamızda MGMT promoter metilasyonunu immunhistokimya yöntemiyle çalıştık. Bu yöntemin de standardizasyonu olmamakla birlikte maliyeti ve uygulanmasının kolaylığı tercih sebebi olmuştur. Çalışmada MGMT promoter metilasyonunu farklı bir yöntemle çalışmış olsak farklı sonuçlara ulaşma ihtimalimizin olduğunu göz ardı edemeyiz. Çalışmamızdaki hasta sayısının sınırlı olması da istatistiksel analiz sonuçlarını etkilemiş olabilir. MGMT enzimatik aktivitesinin artışı kemoterapi direnci ile ilişkili olması nedeniyle nüks tümörlerde rezeksiyon materyalinde tekrar çalışılması mantıklı olabilir.

Literatürde rekürren tümörlerde IDH mutasyon durumunu ilk tanı anındaki tümördeki mutasyon durumuyla karşılaştıran bir çalışmaya rastlamadık. Bizim hasta grubumuzda tüm

gliyal tümörlerde patolojik tanıları ayırt edilmeksizin ilk İDH1 mutasyon durumu değerlendirildiğinde 44 hastanın 32 (%72,7)'sinde İDH1 mutasyonu negatif iken, hastaların 12 (%27,3)'sinde İDH1 mutasyonu pozitif olarak tespit edilmiştir. Nüks eden tümörlerde mutasyon durumuna bakıldığında ise 44 hastanın 28 (%63,6)'inde İDH1 mutasyonu negatif iken, hastaların 16'sında (%36,4) İDH1 mutasyonu pozitif olarak tespit edilmiştir. Total 44 hastanın 6'sında (%13,6) değişim saptanmıştır. İlk patolojide pozitif saptanan 12 hastanın 1'inde ikinci patolojide negatifleşme görülürken 11'inin değişmediği, negatif saptanan 32 hastadan 5'inin pozitifleştiği 27'sinin değişmediği tespit edilmiştir. İDH'daki değişim Mc Nemar testine göre istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0,219). Yine değişimlere Fisher testi uygulandığında değişimin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. (2-sided Fisher's Exact Test p: 1,000). İDH daha çok prognostik önemi olan bir belirteçtir. 2014 yılında yayınlanan bir çalışmada oligodendrogliyal tümörlerde İDH mutasyonu varlığının radyoterapiye kemoterapinin eklenmesinin yararını predikte ettirebileceği bildirilmiştir (48). Bununla birlikte günümüzde gliom tedavisinde mutlak prediktif olarak kabul edilmiş rolü bulunmamaktadır. NCCN 2014 kılavuzunda İDH 1 ya da 2 mutasyonunun olmaması olumsuz bir faktör olarak gösterilmiş olup, diğer bazı olumsuz faktörlerin de var olması halinde kemoterapi ya da radyoterapi verilmesi için gerekçe oluşturabilmektedir. Bu nedenle İDH mutasyonunda değişiminin hastaların sağkalım ve progresyonsuz sağkalım parametrelerine nasıl yansıtacağını yorumlamak güç olabilir. Bu konuda daha fazla hasta içeren çalışmalar yol gösterici olabilir. Bu noktada İDH mutasyon analizinin nüks tümörde çalışılmasının da mutlaka gerekli olup olmadığı belirlenmiş değildir.

Çalışmamızda GB tanılı hastaların medyan genel sağkalımları 31 ay olarak tespit edilirken, medyan progresyonsuz sağkalımları 15 ay olarak tespit edildi. GB'de medyan sağkalım literatür verilerine göre 12-14 ay civarındadır. Bizim hasta grubumuzun medyan sağkalım süresi belirgin olarak daha uzundur. Burada cerrahi ekibinin deneyimi (cerrahi rezeksiyonun genişliği), ameliyat sonrası bakımın kalitesi, radyoterapi ve kemoterapinin güncel veriler ve gelişmeler ışığında planlanması, radyolojik takibin uygun olarak yapılması gibi faktörler rol

oynamış olabilir. Ancak hastaların hepsinin en az iki cerrahiolabilmiş olması sebebiyle hasta grubu zaten prognostik olarak daha iyi bir grubu da temsil ediyor olabilir. Bu hastaların daha yavaş progrese olmaları, mükerrer cerrahi ve sonrasında medikal tedavi alabilme şanslarını arttırmış olabilir. Hastalık biyolojisinin daha agresif olması durumunda progresyon paterni (yaygınlık, nüks tümör çapı gibi faktörler) tekrar cerrahi rezeksiyon imkanı vermeyebilir.

İlk patolojideki MGMT durumuna göre GB tanılı hastalar için sağkalım analizi yapıldığında MGMT pozitifliği saptanan 9 hastanın medyan sağkalım süresi 23 ay iken, negatif olan 13 hastanın medyan sağkalım süresi 45 ay olarak tespit edilmiştir. Metile olmayanların lehine gibi görünen bu fark anlamlı bulunmamıştır.

Yine ilk tanı anında ve nükste MGMT metilasyon durumlarına göre farklı senaryolar için bakılan gruplarda hem GB hastalarında hem de düşük grad tümörlerde genel sağkalımda gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Bu sonuçlar tamamen rastlantısal olabilir. Prognozu belirleyen hastaya yaşı, performans durumu, tümörün yerleşimi, yapılan cerrahinin genişliği, radyoterapi ve kemoterapinin optimal olup olmaması gibi faktörlerin de göz önünde bulundurulması gerekir. Literatürde MGMT promoter metilasyonunun prognostik önemi olmayabileceğine dair veriler de bulunmaktadır.

Tang ve ark.'nın 79 GB'li hastayı incelediği bir çalışmada MGMT promoter metilasyon durumu ile progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım arasında istatistikel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (49). Daha fazla hasta içeren ve MGMT promoter metilasyonun farklı yöntemlerle de (örneğin MSP) çalışıldığı araştırmalar bu konuda daha aydınlatıcı olabilir.

İlk patolojideki İDH durumuna göre tüm hastalar için sağkalım analizi yapıldığında İDH1 mutasyonu saptanan 12 hastanın medyan sağkalım süresi 77 ay iken, negatif olan 32 hastanın medyan sağkalım süresi 33 ay olarak tespit edilmiştir. İDH1 mutasyonu olanların lehine görünen bu fark anlamlıdır. Bu bulgu literatür verileri ile de uyumlu görünmektedir.

Sanson ve arkadaşlarının 400 gliomlu hastayı incelediği bir çalışmada (100 grad 2, 121 grad 3, ve 183 grad 4 gliomlu hasta) tüm alt gruplarda İDH 1 mutasyonu bağımsız iyi prognozla

ilişkili bir faktör olarak tespit edilmiştir (43). Beiko ve arkadaşlarının yaptığı ve 300'e yakın hastanın yer aldığı bir çalışmada İDH mutant tümörlerin cerrahi olarak tam rezeksiyona daha uygun oldukları ve bu hasta grubunun tam rezeksiyondan daha fazla fayda gördüğü bildirilmiştir (50).

Çalışmamızda MGMT metilasyon durumu tayini için daha ucuz, kolay uygulanabilir ve ulaşılabilir bir yöntem olan immunhistokimya yönteminin kullanılmış olması çalışmamızın kısıtlılıklarında biridir. Bir diğer kısıtlılık ise hasta sayımızın azlığı olarak gösterilebilir.

Literatürde nüks eden veya progrese olan glial tümörlerde İDH1 mutasyonunda değişimle ilgili yapılmış başka bir çalışmanın olmaması aynı zamanda çalışma dizaynı veri toplanması verilerin analizi bakımından gelişmiş bir üniversite hastanesi olmamız çalışmamızın kuvvetli taraflarındandır.

6. SONUÇ

Progrese gliyal tümörlerde MGMT metilasyonunda ve İDH1 mutasyonunda ilk tanıya göre anlamlı bir değişim saptanmamıştır. İlk tanı anında MGMT metile olan tüm gliyal tümör hastalarının metile olmayan hastalara göre medyan genel sağkalımlarında anlamlı fark yoktur. GB tanılı hastaların yine ilk tanı anında MGMT metile olanları ile metile olmayanları arasında sağkalımda anlamlı fark yoktur. İlk tanı anında İDH1 mutant olan hastaların mutant olmayan hastalara göre medyan genel sağkalımları daha uzundur. Ancak bu konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.



7.KAYNAKÇA

1. Shonka NA, Hsu HS, Alfred Yung WK Santral sinir sistemi tümörleri "MD Anderson Tıbbi Onkoloji" (Ed. Kantarjian HM, Wolff RA, Koller CA, çev ed.İçli F,Taçyıldız N,Kılıç D)'de Nobel yayınevi, 2013, s.1005-10037
2. Dunn GP, Rinne ML, Wykosky J, et al. Emerging insights into the molecular and cellular basis of glioblastoma. *Genes Dev* 2012; 26:756.
3. CBTRUS. Statistical Report: Primary Brain Tumors in the United States 2000-2004. Central Brain Tumor Registry of the United States,2008.
4. Galli R, Binda E, Orfanelli U, et al. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer Res* 2004; 64:7011.
5. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432:396.
6. Giannini C, Burger PC, Berkey BA, et al. Anaplastic oligodendroglial tumors: Refining the correlation among histopathology,1p 19q deletion and clinical outcome in Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *Brain Pathol* 2008;18(3):360-369
7. Libermann TA, Nusbaum HR, Razon N, et al. Amplification enhanced expression and possible rearrangement of EGF receptor gene in primary human brain tumours of glial origin. *Nature* 1985;13(5998):144-147
8. Louis DN,Gusella JF, A tiger behind many doors: Multiple genetic pathways to malignant glioma. *Trends Genet* 1995;11(10):412-415.
9. Wong AJ, Bigner SH, Bigner DD, et al. Increased expression of the epidermal growth factor receptor gene in malignant gliomas is invariably associated with gene amplification. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84(19):6899-6903.

10. Chakravarti A, Zhai G, Suzuki Y, et al. The prognostic significance of phosphatidylinositol 3-kinase pathway activation in human gliomas. *J Clin Oncol* 2004;22(10):1926-1933.
11. Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, et al. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:1473.
12. Chang SM, Parney IF, Huang W, et al. Patterns of care for adults with newly diagnosed malignant glioma. *JAMA* 2005; 293:557.
13. Wheen LC, Anderson NE, Baker PC, et al. Leptomeningeal infiltration as the presenting manifestation of a malignant glioma. *J Clin Neurosci* 2006; 13:298.
14. Narin O, Drappatz J, Doherty LM, et al. Cerebrospinal fluid spread of anaplastic glioma. *J Clin Oncol* 2007; 25:596.
15. Wagner S, Benesch M, Berthold F, et al. Secondary dissemination in children with high-grade malignant gliomas and diffuse intrinsic pontine gliomas. *Br J Cancer* 2006; 95:991.
16. Patel N, Sandeman D. A simple trajectory guidance device that assists freehand and interactive image guided biopsy of small deep intracranial targets. *Comput Aided Surg* 1997; 2:186.
17. Greenberg HS, Chandler WF, Sandler HS. *Brain Tumors (Contemporary Neurology Series 54)*, Oxford University Press, New York 1999
18. Shaw E. Management of low grade gliomas in adults. In prados M (ed): *Brain Cancer*. Hamilton, Ontario: BC Decker; 2002:279-302
19. Shaw EG, Dumas-Duport C, Scheithauer BW, et al. Radiation therapy in the management of low grade supratentorial astrocytomas. *J Neurosurg* 1989;70(6):853-861
20. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma *N Eng J Med* 2005;352(10):987-996

21. Karim AB, Maat B, Hatlevol R, et al. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low grade cerebral glioma: EORTC study 22844 *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;36(3):549-556
22. Shaw E, Arusell R, Scheithauer B, et al. Prospective randomized trial of low versus high dose radiation therapy in adults with supratentorial low grade glioma: Initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group /Eastern Cooperative Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2002;20(9):2267-2276
23. Eyre HJ, Crowley JJ, Townsend JJ, et al. A randomized trial of radiotherapy versus radiotherapy plus CCNU for incompletely resected low grade gliomas : A southwest Oncology Group study. *J Neurosurg* 1993;78(6):909-914
24. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Central Nervous System Neoplasms. 2013. (Accessed August 5, 2014)
25. Tano K, Shiota S, Collier J, Foote RS, Mitra S (January 1990). "Isolation and structural characterization of a cDNA clone encoding the human DNA repair protein for O6-alkylguanine". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87 (2): 686–90
26. Brada M, Hoang-Xuan K, Rampling R, et al. Multicenter phase II trial of temozolomide in patients with glioblastoma multiforme at first relapse. *Ann Oncol.* 2001 Feb;12(2):259-66.
27. Yung WK1, Prados MD, Yaya-Tur R, et al. Multicenter phase II trial of temozolomide in patients with anaplastic astrocytoma or anaplastic oligoastrocytoma at first relapse. Temodal Brain Tumor Group. *J Clin Oncol.* 1999 Sep;17(9):2762-71.
28. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. (2005). "MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma". *N. Engl. J. Med.* 352 (10): 997–1003.
29. Brandes AA, Tosoni A, Cavallo G, et al. Correlations between O6-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation status, 1p and 19q deletions, and response to

temozolomide in anaplastic and recurrent oligodendroglioma: a prospective GICNO study. *J Clin Oncol* 2006; 24:4746.

30. U Herrlinger, J Rieger, D Koch et al. UKT-03 phase II trial of CCNU plus temozolomide chemotherapy in addition to radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma *J Clin Oncol*, 24 (2006), pp. 4412–4417

31. M Esteller, J Garcia-Foncillas, E Andion et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents *N Engl J Med*, 343 (2000), pp. 1350–1354

32. M Weller, J Felsberg, C Hartmann et al. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German Glioma Network *J Clin Oncol*, 27 (2009), pp. 5743–5750

33. Ellingson BM, Cloughesy TF, Pope WB, et al. Anatomic localization of O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylated and unmethylated tumors: a radiographic study in 358 de novo human glioblastomas. *Neuroimage*. 2012;59(2):908–916

34. Levner I, Drabycz S, Roldan G, de Robles P, Cairncross JG, Mitchell R. Predicting MGMT methylation status of glioblastomas from MRI texture. *Med Image Comput Comput Assist Interv*. 2009;12(Pt 2):522–530

35. Romano A, Calabria LF, Tavanti F, et al. Apparent diffusion coefficient obtained by magnetic resonance imaging as a prognostic marker in glioblastomas: correlation with MGMT promoter methylation status. *Eur Radiol*. 2013;23(2):513–520

36. Park CK, Kim J, Yim SY, et al. Usefulness of MS-MLPA for detection of MGMT promoter methylation in the evaluation of pseudoprogression in glioblastoma patients. *Neuro Oncol*. 2011;13(2):195–202

37. Felsberg J, Thon N, Eigenbrod S, et al. Promoter methylation and expression of MGMT and the DNA mismatch repair genes MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 in paired primary and recurrent glioblastomas. *Int J Cancer*. 2011;129(3):659–670.
38. Weller M, Pfister SM, Wick W, Hegi ME, et al. Molecular neuro-oncology in clinical practice: a new horizon *Lancet Oncol* Vol 14 August 2013
39. Corpas FJ, Barroso JB, Sandalio LM, Palma JM, Lupiáñez JA, del Río LA (1999). "Peroxisomal NADP-Dependent Isocitrate Dehydrogenase. Characterization and Activity Regulation during Natural Senescence". *Plant Physiol*. 121 (3): 921–928.
40. Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008; 321:1807.
41. Kloosterhof NK, Bralten LB, Dubbink HJ, et al. Isocitrate dehydrogenase-1 mutations: a fundamentally new understanding of diffuse glioma? *Lancet Oncol* 2011; 12:83.
42. van den Bent MJ, Dubbink HJ, Marie Y, et al. IDH1 and IDH2 mutations are prognostic but not predictive for outcome in anaplastic oligodendroglial tumors: a report of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor Group. *Clin Cancer Res* 2010; 16:1597.
43. Sanson M, Marie Y, Paris S, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol* 2009; 27:4150.
44. Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, et al. O(6)-methylguanine DNA-methyltransferase methylation status can change between first surgery for newly diagnosed glioblastoma and second surgery for recurrence: clinical implications. *Neuro Oncol*. 2010 Mar;12(3):283-8
45. Watanabe T, Nakamura M, Kros JM et al. Phenotype versus genotype correlation in oligodendrogliomas and low-grade diffuse astrocytomas. *Acta Neuropathol*. 2002;103(3):267.

46. van den Bent MJ, Dubbink HJ, Sanson M et al. MGMT promoter methylation is prognostic but not predictive for outcome to adjuvant PCV chemotherapy in anaplastic oligodendroglial tumors: a report from EORTC Brain Tumor Group Study 26951. *J Clin Oncol.* 2009;27(35):5881.
47. Jung TY, Jung S, Moon KS et al. Changes of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation and MGMT protein expression after adjuvant treatment in glioblastoma. *Oncol Rep.* 2010 May;23(5):1269-76.
48. Cairncross JG, Wang M, Jenkins RB et al. Benefit from procarbazine, lomustine, and vincristine in oligodendroglial tumors is associated with mutation of IDH. *J Clin Oncol.* 2014 Mar 10;32(8):783-90. doi: 10.1200/JCO.2013.49.3726.
49. Tang K, Jin Q, Yan W, et al. Clinical correlation of MGMT protein expression and promoter methylation in Chinese glioblastoma patients. *Med Oncol.* 2012 Jun;29(2):1292-6. doi: 10.1007/s12032-011-9901-4
50. Beiko J, Suki D, Hess KR, et al. IDH1 mutant malignant astrocytomas are more amenable to surgical resection and have a survival benefit associated with maximal surgical resection. *Neuro Oncol.* 2014 Jan;16(1):81-91. doi: 10.1093/neuonc/not159

EK 1.

ECOG Performans skalası

0 - Asemptomatik (Tam aktif, tüm hastalık öncesi aktivitelerini kısıtlama olmaksızın yapabilir)

1 - Semptomatik fakat tamamen ayakta (Zorlu fizik aktivitede kısıtlama var, ancak ayakta ve hafif işleri yapabilir. Örneğin hafif ev ve ofis işleri)

2 - Semptomatik, %50'den daha az yatakta (Ayakta ve kendi bakımını yapabilir, ancak herhangi bir işte çalışamaz ve gündüz saatlerinin %50'sinden fazlasını ayakta geçirebilir)

3 - Semptomatik, %50'den daha fazla yatakta (Kendi bakımını yapmakta zorlanıyor, gündüz saatlerinin %50'sinden fazlasında yatakta)

4 - Yatalak (Kendi bakımını yapamıyor, tam olarak sandalye veya yatağa bağımlı)

5 - Ölüm