

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GLİOBLASTOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL
OLARAK IDH-1 VE P53 MUTASYON ANALİZİ;
PI3K/AKT/mTOR YOLAĞININ İMMÜNHİSTOKİMYASAL
OLARAK pAKT VE RPS6 EKSPRESYON DÜZEYLERİNE
GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. PINAR ÇAKMAK**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. İPEK IŞIK GÖNÜL**

**ANKARA
EKİM 2019**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GLİOBLASTOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL
OLARAK IDH-1 VE P53 MUTASYON ANALİZİ;
PI3K/AKT/mTOR YOLAĞININ İMMÜNHİSTOKİMYASAL
OLARAK pAKT VE RPS6 EKSPRESYON DÜZEYLERİNE
GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. PINAR ÇAKMAK**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. İPEK IŞIK GÖNÜL**

**ANKARA
EKİM 2019**



**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı**

Adı ve Soyadı	Pınar Çakmak
Baba Adı	Ali
Doğum Yeri/Tarihi	Malatya / 01.07.1987
Diploma Tarihi / Diploma No	27.06.2012 / 12-392-072
Mezun Olduğu Fakülte	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Tıbbi Patoloji
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay:4
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI:

Glioblastomlarda immünohistokimyasal olarak IDH1 ve p53 mutasyon analizi;
PI3K/AKT/mTOR yolağının immünohistokimyasal olarak pAKT ve RPS6 ekspresyon
düzeylerine göre değerlendirilmesi

JÜRİ KARARI: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Pınar Çakmak'ın
"Glioblastomlarda immünohistokimyasal olarak IDH1 ve p53 mutasyon analizi;
PI3K/AKT/mTOR yolağının immünohistokimyasal olarak pAKT ve RPS6 ekspresyon
düzeylerine göre değerlendirilmesi" konulu tezi, bölümümüz araştırma görevlilerinden Dr.
Pınar Çakmak tarafından sunulmuştur. Tez sınavında başarılı bulunmuştur. Uzmanlık
sınavına girmesi uygundur. Gereğini bilgilerinize saygılarımızla arz ederiz.

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

Prof. Dr. Özlem Erdem

ÜYE

Prof. Dr. İpek Işık Gönül

ÜYE

Prof. Dr. Özlem Özen

İÇİNDEKİLER TABLOSU

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Santral sinir sistemi tümörleri ve güncel sınıflama	8
2.1.1. Glial tümörler	13
2.1.2. Diffüz astrositomlar	15
2.2. Glioblastom ve IDH mutasyonu	23
2.3. Glioblastom ve TP53 mutasyonu	30
2.4. Glioblastom ve mTOR yolağı.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Olguların Seçilmesi	41
3.2. Morfolojik Parametreler	41
3.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri	47
3.3.1. IDH1 boyama yöntemi.....	48
3.3.2. p53 boyama yöntemi.....	48
3.3.3. RPS6 boyama yöntemi.....	49
3.3.4. pAKT boyama yöntemi.....	50
3.4. İmmünohistokimyasal Boyanmaların Değerlendirilmesi	51
3.4.1. IDH1 boyamasının değerlendirilmesi	51
3.4.2. p53 boyamasının değerlendirilmesi	54

3.4.3. RPS6 boyamasının değerlendirilmesi	57
3.4.4. pAKT boyamasının değerlendirilmesi	59
3.5. İstatistiksel Analiz	61
3.6. Etik Kurul Onayı	61
4. BULGULAR	62
4.1. Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri	62
4.2. Olguların Başlıca Histolojik Özellikleri	63
4.3. Olguların İmmünohistokimyasal Boyanma Durumları	65
4.3.1. IDH1 ekspresyon durumları	65
4.3.2. p53 ekspresyon durumları	66
4.3.3. RPS6 ekspresyon durumları	67
4.3.4. pAKT ekspresyon durumları	69
4.4. Olguların IDH1 Ekspresyon Özelliklerine Göre Karşılaştırılması	70
4.4.1. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif grupların demografik özelliklerinin karşılaştırılması	70
4.4.2. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif grupların histolojik özelliklerinin karşılaştırılması	72
4.4.3. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif grupların diğer immünohistokimyasal boyanmalar ile karşılaştırılması	73
4.5. Olguların p53 Ekspresyon Özelliklerine Göre Karşılaştırılması	76

4.5.1.p53 ekspresyonu durumlarına göre olguların demografik özelliklerinin karşılaştırılması	76
4.5.2.p53 ekspresyonu durumlarına göre olguların histolojik özelliklerinin karşılaştırılması	78
4.5.3.p53 ekspresyon grupları ile RPS6 ve pAKT boyanmalarının karşılaştırılması	79
4.6. Olguların RPS6 Ekspresyon Özelliklerine Göre Karşılaştırılması	81
4.6.1.RPS6 ekspresyonu durumlarına göre olguların demografik özelliklerinin karşılaştırılması	81
4.6.2.RPS6 ekspresyonu durumlarına göre olguların histolojik özelliklerinin karşılaştırılması	83
4.6.3.RPS6 ekspresyon grupları ile pAKT boyanmalarının karşılaştırılması	84
4.7. Olguların pAKT Ekspresyon Özelliklerine Göre Karşılaştırılması.....	84
4.7.1.pAKT ekspresyonu durumlarına göre olguların demografik özelliklerinin karşılaştırılması	85
4.7.2.pAKT ekspresyonu durumlarına göre olguların histolojik özelliklerinin karşılaştırılması	85
4.8. Olguların Sağkalım Özelliklerine Göre Karşılaştırılması.....	86
4.8.1.Sağkalım Analizi Değerlendirmesi:	87
4.8.2.Sağ Kalım üzerine etkili olan faktörlerin incelenmesi.....	88
4.8.3.Multivariate Cox regresyon analizi.....	93
5. TARTIŞMA	94

6.	SONUÇLAR.....	104
7.	KAYNAKLAR	106
8.	ÖZET	113
9.	SUMMARY	115
10.	ÖZGEÇMİŞ.....	117

KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
AKT	Protein Kinaz B
AMPK	5' Adenozin Monofosfat-Aktive Protein Kinaz
ARF	Alternatif Okuma Çerçevesi
ATRX	Alfa Talasemi/Mental Retardasyon Sendromu X'e bağlı
BBA	Büyük Büyütme Alanı
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilenediamin Tetraasetik Asit
EGFR	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
GOF	Fonksiyon Kazanımı
GBM	Glioblastoma Multiforme
IDH	İzositrat Dehidrogenaz
LOH	Heterozigosite Kaybı
MDM2	Murine Double Minute 2
MET	Mezenkimal Epithelyal Tranzisyon Faktörü
MGMT	O6-metilguanin-DNA methyltransferaz
MR	Manyetik Rezonans
MTOR	Mammalian Target Of Rapamycin
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfataz
NGS	Yeni Nesil Sekanslama
NOS	Başka Türle Spesifiye Edilemeyen
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDGFR	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktör Reseptörü
PET	Pozitron-Emiyon Tomografi
PI3K	Fosfoinositid 3-Kinaz
PIP3	Fosfatidilinositol 3,4,5-Trifosfataz
PNET	Primitif Neuroektodermal Tümör

PRAS40	Prolin-Zengin Akt Substrat 40
PTEN	Fosfataz ve Tensin Homoloğu
RELA	Retikuloendoteliozis Viral Onkogen Homolog A
RPS6	Ribozomal Protein S6
RTK	Reseptör Tirozin Kinaz
SNP	Tek-Nükleotid-Pleomorfizm
SS	Standart Sapma
SSS	Santral Sinir Sistemi
TCGA	Kanser Genom Atlas
TP53	Tumor Protein P53
TSC	Tuberous Sklerosis Kompleks
VEGFR	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör Reseptörü
VEP	Vasküler Endotelyal Proliferasyon

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. DSÖ tarafından seçilen SSS tümörlerinde derecelendirme (1).....	8
Tablo 2. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasına göre erişkin IDH-wild tip ve IDH-mutant glioblastomları başlıca özellikleri (1).....	25
Tablo 3. Capper ve arkadaşlarının çalışmasındaki immünohistokimyasal sonuçlar (12).....	28
Tablo 4. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasına göre glioblastomun histolojik olarak tanımlanan varyantlarının genetik profilleri (1).....	29
Tablo 5. Glioblastom hastalarının demografik ve klinik özellikleri	63
Tablo 6. Glioblastomların başlıca histolojik özellikleri	65
Tablo 7. Glioblastomların IDH1 ekspresyon durumları.....	65
Tablo 8. Glioblastomların p53 ekspresyon durumları.....	67
Tablo 9. p53 yaygınlığı ile p53 şiddeti arasındaki ilişki	67
Tablo 10. Glioblastomların RPS6 ekspresyon durumları.....	68
Tablo 11. RPS6 yaygınlığı ile RPS6 şiddeti arasındaki ilişki	68
Tablo 12. Glioblastomların pAKT ekspresyon durumları.....	70
Tablo 13. pAKT Yaygınlığı ile pAKT Şiddeti Arasındaki İlişki	70
Tablo 14. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif gruplar arasında demografik özelliklerin karşılaştırılması.....	72
Tablo 15. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif gruplar arasında histolojik özelliklerin karşılaştırılması.....	73
Tablo 16. IDH1 ile p53, RPS6 ve pAKT boyanmalarının yaygınlık ve şiddetlerine göre karşılaştırılması.....	75

Tablo 17. IDH1 ile p53, RPS6 ve pAKT boyanmalarının gruplanmalarına göre karşılaştırılması.....	76
Tablo 18. p53 ekspresyon grupları arasında demografik özelliklerin karşılaştırılması.....	78
Tablo 19. p53 ekspresyon grupları arasında histolojik özelliklerin karşılaştırılması	79
Tablo 20. p53 ekspresyon grupları ile RPS6 ve pAKT boyanmalarının yaygınlık ve şiddetlerine göre karşılaştırılması	80
Tablo 21. p53 ekspresyon grupları ile RPS6 ve pAKT boyanmalarının gruplanmalarına göre karşılaştırılması.....	81
Tablo 22. RPS6 ekspresyon grupları arasında demografik özelliklerin karşılaştırılması.....	82
Tablo 23. RPS6 Ekspresyon Grupları Arasında Histolojik Özelliklerin Karşılaştırılması	83
Tablo 24. RPS6 ekspresyon grupları ile ve pAKT boyanmalarının yaygınlık, şiddet ve gruplarına göre karşılaştırılması	84
Tablo 25. pAKT Ekspresyon Grupları Arasında Bazı Histolojik Özelliklerin Karşılaştırılması	86
Tablo 26 . Exitus durumuna göre hastaların değerlendirilmesi.....	87
Tablo 27. Tanı yaşı ≥ 55 ve < 55 olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları	89
Tablo 28. VEP yoğun ve VEP seyrek olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları.....	90

Tablo 29. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları.....	91
Tablo 30. RPS6 pozitif ve RPS6 negatif olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları.....	92
Tablo 31. Exitus durumu üzerine etkili faktörlerin multivariate Cox regresyon analizi ile değerlendirilmesi.....	93

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Erişkin gliomların histoloji ve IDH mutasyonlarına göre güncel sınıflaması (37).....	15
Şekil 2. Normal ve mutant IDH ürünleri (41)	19
Şekil 3. Üç kritik sinyal yolağındaki sık görülen genetik değişiklikler (14).....	31
Şekil 4. Glioblastomlarda saptanan başlıca anlamlı somatik mutasyon patternleri (14)	32
Şekil 5. 2007 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında glioblastom gelişimindeki genetik değişikliklerin zamanlama ve sıklığı (53)	34
Şekil 6. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında IDH-wild tip ve IDH-mutant glioblastomların genetik yolakları (1).....	36
Şekil 7. mTOR yolağı, ilişkili yolaklar ve düzenleyici faktörler (62).....	38
Şekil 8. Kümülatif sağ kalım oranının aylara göre dağılımı	88
Şekil 9. Kümülatif sağ kalım oranının tanı yaşı 55 ve üzeri ve <55 olan hastalarda aylara göre dağılımı.....	89
Şekil 10. Kümülatif sağ kalım oranının VEP yoğun ve VEP seyrek olan hastalarda aylara göre dağılımı.....	90
Şekil 11. Kümülatif sağ kalım oranının IDH1 pozitif ve IDH1 negatif olan hastalarda aylara göre dağılımı	91
Şekil 12. Kümülatif sağ kalım oranının RPS6 pozitif ve RPS6 negatif olan hastalarda aylara göre dağılımı	92
Şekil 13. IDH ile sağ kalım ilişkisi; DSÖ verileri ile çalışmamızdaki sonuçların grafiksel karşılaştırılması.	94

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Glioblastom makroskopik görüntüleri (1).....	17
Resim 2. Çalışmamızdaki iki hastanın radyolojik görüntüleri	18
Resim 3. Glial tümör progresyonu (1).....	20
Resim 4. Glioblastomlardaki başlıca histolojik özellikler.....	22
Resim 5. Subependimal dev hücreli astrositom (1).....	40
Resim 6. Vakaların revizyonu sırasında saptanan tanısal özelliklerden bazıları	42
Resim 7. “Glioblastoma multiforme”	42
Resim 8. Vasküler endotelyal proliferasyonun yoğun ve seyrek olduğu farklı vakalardan örnekler	43
Resim 9. Mitotik aktivitenin çok yüksek ve daha seyrek olduğu farklı vakalardan örnekler	43
Resim 10. Dev hücreli glioblastom	44
Resim 11. a,b- Gemistositik glioblastom	45
Resim 12. Küçük hücreli glioblastom,	46
Resim 13. Gliosarkom.....	46
Resim 14. Fokal oligodendrogial morfolojideki hücrelerin eşlik ettiği glioblastom	47
Resim 15. IDH1 kontrol	52
Resim 16. IDH1 Pozitif vakalardan örnekler	52
Resim 17. IDH1 negatif vakalardan örnekler.....	53
Resim 18. p53 kontrol	55
Resim 19. p53 boyanma yaygınlıkları.....	56
Resim 20. p53 boyanma şiddetleri	56

Resim 21. RPS6 kontrol	57
Resim 22. RPS6 boyanmalarının yaygınlıkları	58
Resim 23. RPS6 boyanmalarının şiddetleri.....	59
Resim 24. pAKT kontrol	59
Resim 25. pAKT boyanmalarının yaygınlıkları	60
Resim 26. pAKT boyanmalarının şiddetleri.....	60

1. GİRİŞ

Diffüz ya da infiltratif gliomlar santral sinir sistemi (SSS) parankiminin en sık primer neoplazileri olup Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) derece IV glial tümörler olan glioblastomlar erişkinlerde bu grubun yaklaşık %15'ini oluşturmakta ve primer malign beyin neoplazileri grubunun %45-50'si glioblastomlardan oluşmaktadır (1, 2). Glioblastomlar her yaş grubunda görülebilmekle birlikte en sık 55-85 yaş aralığında karşımıza çıkmaktadır (1). Hızlı büyüyen tümörler olan glioblastomlar daha çok kortikal yerleşimlerinden ötürü fokal nörolojik defisit ve eşlik eden intrakranial basınç artışı semptomları ile prezente olurlar (1). Nöbet, davranışsal ve bilişsel değişiklikler, bulantı kusma, şiddetli baş ağrısı diğer sık semptomlardandır (1). Prognozu kötü olan bu tümör grubuna sahip hastaların tanı anından itibaren 15-18 ay içerisinde yaşamlarını yitirdikleri görülmüş olup 5 yıllık sağ kalımın %5'in altında olduğu saptanmıştır (1, 3).

Genç yaş ve komplet makroskopik rezeksiyon, uzun survival ile ilişkili olmakla birlikte moleküler düzeyde de iyi prognozla ilişkili iki durum ortaya konmuştur: “O6-metilguanin-DNA methyltransferaz” (MGMT) promoter metilasyonu (1, 4, 5) ve / veya “izositrat dehidrogenaz” (IDH) mutasyonu (1, 6).

IDH mutasyonları ilk olarak 2008 yılında raporlanmış ve mutant glioblastomların nispeten genç yaşta görülmesi, daha çok sekonder glioblastamlarda olması ve uzun sağ kalım ile ilişkili olması özelliklerine sahip oldukları öne sürülmüştür (7). Sitozolik “Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfataz” NADP⁺bağımlı IDH1 kodlayan gendeki mutasyon daha çok 132.

kodonda izlenmekte ve %93 oranında R132H değişikliği göstermektedir (6). Bunun yanı sıra mitokondrial NADP⁺bağımlı IDH2 kodlayan gendeki mutasyon da DSÖ derece II ve III gliomlarda ve sekonder glioblastomlarda %3 oranında rastlanmıştır (6). IDH mutasyonu gliomagenезin başlangıç aşamalarında görülen ve glioblastom gelişene kadar varlığını sürdüren bir durumdur (1). Bir çalışmada aynı hastadan yapılan multiple biyopsilerin analizinde, hiç bir biyopside IDH1 mutasyonunun p53 mutasyonundan sonra saptanması söz konusu olmamıştır (8). Bunun tek istisnası Li-Fraumeni sendromlu hastalarda var olan “tümör protein p53” (TP53) mutasyonuna sonrada eklenen IDH1 mutasyonudur. TP53 germline mutasyonu olanlarda gelişen diffüz astrositom, anaplastik astrositom ve sekonder glioblastomlarda saptanan IDH1 mutasyonu ise sporadik vakalarda nadiren görülen R132C mutasyonu olarak bulunmuştur (9).

DSÖ derece II ve III astrositomların %80’den fazlası IDH mutanttır (10). Bu oran primer (de novo) glioblastomlarda %5 civarındayken sekonder (DSÖ derece II ve III astrositom zemininde gelişen) glioblastomlarda %70-80’dir (11). IDH1/2 mutant glioblastomlar tüm grubun %10’unu oluşturmaktadır (1). IDH-mutant olmayan sekonder glioblastomların daha çok DSÖ derece III anaplastik astrositomlardan geliştiği buna karşın IDH-mutant sekonder glioblastomların DSÖ derece II diffüz astrositomlardan geliştiği saptanmıştır (1, 11). IDH-mutant glioblastomların başlıca özellikleri ilk saptandığında ortaya konulduğu gibi nisbeten gençlerde görülmesi (ortalama tanı yaşı 45), frontal lob lokalizasyonun daha sık olması ve IDH-wild tip glioblastomlara göre daha iyi prognozlu olmalarıdır (1, 10, 11). IDH-mutant ve IDH-wildtip arasında mutant tipte daha az

nekroz görülmesi dışında belirgin morfolojik farklılık gösterilememiştir (1). R132H-mutant IDH1 gen ürünü protein immünohistokimyasal olarak saptanabilmektedir (1, 12). Bu immünohistokimyasal çalışma için uygun koşullarda hazırlanmış materyallerden elde edilen sonuçlara göre mutant tümörlerde tüm neoplastik hücreler tipik olarak değişen derecelerde de olsa sitoplazmik (nispeten kuvvetli) ve nükleer (nispeten zayıf) boyanma göstermektedir (1).

“Pre-IDH dönemi” denilebilecek sınıflamada morfolojik kriterlerin prognostik farklılığı tam açıklayamadığı görülmüştür. 2016 yılında güncellenen DSÖ SSS Tümörleri Sınıflaması’nda derece IV olarak sınıflandırılan glioblastomlar ise eski sınıflamaya ek olarak IDH mutasyon durumlarına göre ayrılmaktadır. Bu yenilik arşiv vakalarının da bu açıdan tekrar gözden geçirilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Diffüz astrositik tümör patogenezi, alkilleyici kemoterapi ajanlarına ve radyoterapiye cevap, tümörün p53 durumu ile yakın ilişkilidir. p53 proteini 17. kromozomun kısa kolunda lokalize (17p13.1) TP53 gen ürünü olup en önemli tümör supresörlerdendir. (13)

Bir transkripsiyon faktörü olup stres ya da DNA hasarı durumlarında hücrenin G1 fazında kalmasını sağlayan genlerin ekspresyonunu aktive eder (13). “Kanser Genom Atlas” (TCGA) örgütünün raporlarına göre p53 mutasyonu, yeni tanı glioblastomların %37,5’inde, tedavi almış glioblastomların %58’inde saptanmıştır (14).

p53 hücre siklus düzenlenmesi yanı sıra DNA hasarına cevap, apoptoz, hücrel diferansiasyon ve neovaskülarizasyonda da görev almaktadır. Hücre

hemostazına bağılı olarak p53 gen ürünü normal hücrelerde düşükken DNA'sı hasarlanmış hücrelerde artar. Yarı ömrünün kısalması "Murine Double Minute 2" (MDM2) proteini tarafından yıkımının artmasına da bağılıdır. p53'ün kendisindeki mutasyonların yanı sıra fonksiyonunun düzenlenmesinde etkili genlerdeki mutasyonlar da glioblastomlarda yaklaşık%70 oranında saptanmıştır. Bunların başlıcaları "alternatif okuma çer çevesi" (ARF) (55%), MDM2 (11%), ve MDM4 (4%)'tür. MDM2 ve MDM4 proteinleri E-3 ubiquitin ligaz görevi görüp, p53'ün yıkımını sağlarlar. MDM2/MDM4 proteinlerinin amplifikasyonunun p53'ün transkripsiyonel aktivitesini inaktive ettiği ve sonuçta p53'ün antiprolifetatif ve apoptotik etkisinin büyük oranda ortadan kalktığı gösterilmiştir. (13)

Glioblastomlarda %90 oranında p53 mutasyonu bildirilmiş olup (14) bu durum düşük dereceli astrositik tümörden gelişimin bir kanıtı olarak düşünülmekte ve neredeyse her vakada prekürsör düşük dereceli ya da anaplastik astrositomlarda da hali hazırda bulunduğu gösterilmiştir (15). Glial tümörlerdeki en sık TP53 mutasyonu CpG bölgelerindeki G:C-> A:T tranzisyonu şeklindedir (16).

Glioblastomlar için güncel tedavi yaklaşımı maksimum güvenli cerrahi rezeksiyon sonrası standart radyoterapi (haftada 5 gün, günde 2 Gy, 6 hafta boyunca, toplam 60 Gy fraksiyone fokal radyoterapi) ile eş zamanlı temozolamid (haftada 7 gün, günde 75 mg/m², radyoterapinin ilk gününden son gününe kadar) kombinasyonu ve ardından 6 siklus adjuvan Temozolamid (5 gün 150-200mg/m², 28 günlük sikluslar) şeklindedir. Ortalama sağ kalım radyoterapi yalnız

uygulandığında yaklaşık 12,1 ayken yukarıdaki gibi temozolamid ile kombine şekilde uygulandığında 14,6 aya çıkmaktadır. (17)

Çeşitli membran reseptörleri ve sinyal yollarının aktivasyonu, overekspresyonu ya da disregülasyonları glioblastomlarda sık rastlanan durumlardır. Günümüzde bu moleküllerden en önemlileri olan “Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü” (EGFR), “Vasküler Endotelial Büyüme Faktör Reseptörü” (VEGFR), “Platelet Kaynaklı Büyüme Faktör Reseptörü” (PDGFR) ve “Memeli-Rapamisin Hedefi” (mTOR) malign gliomaların hedefe yönelik tedavisinde prelinik ve klinik çalışmaların odak noktasındadır. Monoterapilerin etkinliği nispeten düşük olsa da radyoterapi ve sitotoksik kemoterapi ile kombine edilen yeni “çok hedefli” kinaz inhibitörleri ve “tek-hedefli” kinaz inhibitörleri glioblastom tedavisinde önem kazanmakta ve bu konuda randomize/prospektif çalışmalar devam etmektedir (18).

PI3K/AKT/mTOR yolağı normal hücre proliferasyonu, farklılaşması, metabolizması ve hücre iskeleti reorganizasyonu ile apoptozis ve kanser hücre sağ kalımında etkilidir (19) . Bu sinyal yolağının aktivasyonunun moleküler değişikliklerle düzenlenmesi tümör gelişimi yanı sıra anti-kanser tedavi direncinde de önemlidir (19-21). Ayrıca PI3K/AKT/mTOR yolağındaki germline mutasyonlar kanser insidansının arttığı herediter sendromlara da yol açmaktadır. Bunlara örnekler Cowden’s hastalığı, Tuberous-Skleroz Kompleksi ve Peutz-Jegher Sendromu’dur (19).

Fosfoinositid 3-kinazlar (PI3Ks) lipid kinazlar olup fosfoinositidlerin 3-hidroksil grubunun fosforilasyonunu ve “fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat”a (PIP3)

dönüşümünü sağlarlar. PIP3 hücre membranındaki “Protein Kinaz B” (AKT) ile ilişkili olup fosforillenmesi ve aktivasyonunu sağlar. Bir tümör supresör olan “Fosfataz ve Tensin Homoloğu” (PTEN), PIP3’ı defosforilleyerek negatif regülasyonunda görev alır. AKT hücre metabolizması ve sağ kalımı üzerinde etkili olmakla birlikte mTOR’un indirekt aktivasyonu ile proliferasyon, protein translasyonu ve otofajide de dolaylı olarak görev almış olur. mTOR bir çeşit serin/threonin kinazdır ve PI3K/AKT sinyal yolağında baskılayıcı etki göstermektedir. mTOR bir multiprotein kompleksi olup mTORC1 ve mTORC2’den oluşmaktadır. mTORC1 AKT aktivasyonunu sağlarken, mTORC2 AKT üzerinde baskılayıcı etki göstermektedir. mTORC2’nin bu fonksiyonu “Tuberous Sklerosis Kompleks” 1 ve 2 (TSC1 ve 2) ve “Prolin-Zengin Akt Substrat 40” {PRAS40} moleküllerinin AKT-ilişkili inhibisyonu sonucu aktive olmaktadır. (22)

PI3K/AKT/mTOR yolağı normalden fazla aktivasyonunun gliomagenezde önemli rolü olduğu düşünülmektedir (18, 23) . RAS ve AKT kombine aktivasyonunun farelerde glioblastom gelişimine yol açtığı saptanmıştır (18, 24). İnsanlarda glioblastomlarda yaklaşık %70 oranında AKT aktivasyonu gösterilmiş olup bunun PTEN kaybı ve/veya EGFR ve PDGFR tirozin kinaz aktivasyonuna bağlı olduğu saptanmıştır. PTEN ekspresyonunda değişiklik ise glioblastomlarda %20-40 oranında saptanmış (18, 25, 26) ve kötü prognozla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (18, 26, 27). Son çalışmaların ortaya koyduğu sonuca göre mTOR, PTEN/AKT sinyal yolağında aşağı hücre sinyal yolağı efektörlerindendir (28-31) ve farmakolojik olarak mTOR inaktivasyonunun

PTEN-defekti olan farelerde neoplastik proliferasyonu ve tümör boyutunu azalttığı gösterilmiştir (32).

Rapamycin(sirrolimus)'ın sentetik antagonistleri glioblastomlarda potansiyel hedefe yönelik ilaç olarak test edilmektedirler. Devam etmekte olan bu çalışmalar faz I ve faz II çalışmaları olup monoterapi ya da kombine terapiler denenmektedir. Henüz yüz güldüren sonuçlar elde edilememiş olsa da PTEN/PI3K/AKT yolağı glioblastomlarda hedefe yönelik tedavilerde bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir (18).

Çalışmamızda glioblastom tanısı alan olgular retrospektif olarak gözden geçirildi. Hastaların yaş, cinsiyet, sağkalım süreleri araştırıldı. Histolojik özellikleri yeniden gözden geçirilerek kayıt altına alındı. İmmünohistokimyasal olarak tümör dokularına IDH1, p53, RPS6 (Ribozomal protein S6) ve pAKT antikorları uygulandı. Bu belirteçlerin istatistiksel olarak hastaların sağkalımları ile korelasyonuna bakılarak mevcut tedavi seçeneklerine alternatif fikirler üretebilmek ve glioblastom tanılı hastalarda farklı prognozları öngörebilecek belirteçler bulabilmek amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Santral sinir sistemi tümörleri ve güncel sınıflama

2016 yılında güncellenen DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında toplam 16 kategori yer almaktadır (Tablo 1). Eski sınıflamada olduğu gibi ana kategorilerin büyük kısmı tümöral hücrelerin histolojik kökenini bir kısmı da izlendikleri özel bölgeler baz alınarak oluşturulmuştur. Hücre kökenine göre başlıca gruplar glial, nöronal, mikst nöronal-glial, embriyonel, meningeal, mezenkimal, melanositik, lenfositik, germ hücreli ve histiyositik tümörler şeklindedir. Özel bölge kategorisinde koroid pleksus, pineal bölge ve sellar bölgede gözlenen tümörler yer almaktadır. Tümörlerin diferansiasyonları göre derecelendirilmesi sağ kalım, prognoz ve tedavi yaklaşımı açısından önem arz ettiğinden, DSÖ tarafından bu derecelendirmeler de yapılmaktadır. (1)

Tablo 1. DSÖ tarafından seçilen SSS tümörlerinde derecelendirme (1)

Diffüz astrositik ve oligodendrogliyal tümörler			
Diffüz astrositom, IDH mutant	II	Papiller glionöronal tümör	I
Anaplastik astrositom, IDH mutant	III	Rozet oluşturan glionöronal tümör	I
Glioblastom, IDH wild-tip	IV	Santral nörositom	II
Glioblastom, IDH mutant	IV	Ekstraventriküler nörositom	II
Diffüz orta hat gliomu, H3 K27M mutant	IV	Serebellar liponörositom	II
Oligodendrogliom, IDH mutant, 1p/19q kodasyonu mevcut	III		
Anaplastik Oligodendrogliom, IDH mutant, 1p/19q kodasyonu mevcut	IV	Pineal bölge tümörleri	
		Pineositom	I
		Ara diferansiasyon gösteren pineal parankimal tümör	II veya III
Diğer astrositik ve oligodendrogliyal tümörler		Pineoblastom	IV
Pilositik astrositom	I	Pineal bölgenin pineal tümörü	II veya III
Subependimal dev hücreli astrositom	I		
Pleomorfik ksantoastrositom	II	Embriyonel tümörler	
Anaplastik pleomorfik ksantoastrositom	III	Medulloblastom (tüm subtipleri)	IV
Ependimal tümörler		Çok tabakalı rozet oluşturan embriyonel tümör, C19MC değişikliği içermeyen	IV
Subependimom	I	Medulloepitelyoma	IV
Mikropapiller ependimom	I	SSS embriyonel tümörü, NOS	IV
Ependimom	II	Atipik teratoid/rhabdoid tümör	IV
Ependimom, <i>REL4</i> füzyon pozitif	II veya III	SSS rhabdoid özellikler gösteren embriyonel tümörü	IV
Anaplastik ependimom	III		
Diğer Gliomlar		Kranial ve parasininal sinirlerin tümörleri	
Anjiyosentrik gliom	I	Schwannom	I
Uçucu ventrikülün kordoid gliomu	II	Nörofibrom	I
		Perinöroma	I
Koroid pleksus tümörleri		Malign periferik sinir kılıfı tümörü	II, III veya IV
Koroid pleksus papillomu	I		
Atipik koroid pleksus papillomu	II	Meningiomlar	
Koroid pleksus karsinomu	III	Meningiom	I
		Atipik meningiom	II
Nöronal ve mikst nöronal-glial tümörler		Anaplastik (malign) meningiom	III
Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör	I	Mezenkimal, non-meningotelyal tümörler	I, II veya III
Gangliositom	I	Soliter fibröz tümör/hemanjioperisitom	I
Gangliogliom	I	Hemanjioblastom	I
Anaplastik gangliogliom	III	Sellar bölge tümörleri	
Serebellumun displastik gangliositomu (Lhermitte-Duclos)	I	Kraniofaringiom	I
Desmoplastik infantil astrositom ve gangliogliom	I	Granüler hücreli tümör	I
		Pituisitom	I
		İşçi hücreli tümör	I

Glial tümörler hücre tiplerine göre ayrılırken bu ayrım difüz ya da infiltratif olmalarındaki farklılığı da beraberinde getirmektedir. Astrosit ve oligodendrosit kökenli tümörler diffüz infiltratif pattern oluştururken ependimosit kökenli tümörler nisbeten düzgün sınırlı tümörlerdir. Astrositik tümörler derece I (pilositik astrositom, subependimal dev hücreli astrositom, anjiosentrik gliom), II (diffüz astrositom, pleomorfik ksantoastrositom, kordoid gliom), III (anaplastik astrositom, anaplastik pleomorfik ksantoastrositom) ya da IV (glioblastom) olabilmekteyken oligodendrogial tümörler derece II (oligodendrogliom) ya da III (anaplastik oligodendrogliom); ependimal tümörlerse derece I subependimom, miksopapiller ependimom), II (ependimom) ya da III (anaplastik ependimom) olabilmektedir. Yeni sınıflamada histolojiye ilaveten moleküler özellikleri de bazı tümörlerin kendi içinde alt sınıflara ayrılmalarına ya da yeniden adlandırılmalarına yol açmıştır. Diffüz astrositik ve oligodendrositik tümörler IDH mutasyon durumlarına göre ayrılmıştır. Yeni tanımlanan bir başka grup diffüz, orta hat yerleşimli, çocukluk çağı tümörlerinden olan ve H3 K27M mutasyonu içeren derece IV bir tümör olan “H3 K27M difüz orta hat gliomu” dur. Ependimom sınıflamasındaki yeni moleküler grup “Retikuloendoteliozis Viral Onkogen Homolog A” (RELA) füzyonu içeren ependimomlardır ve bu grubun derece II ya da III olması histopatolojilerine bağlı olarak değişmektedir. (1)

Nöronal ve mikst nöronal-glial tümörler kategorisi disembriyoplastik nöroepitelyal tümör (derece I), gangliositom (derece I), gangliogliom (derece I), anaplastik gangliogliom (derece III), serebellumun displastik gangliositomu (derece I), desmoplastik infantil astrositom ve gangliogliom (derece I), papiller

glionöronal tümör (derece I), rozet oluşturan glionöronal tümör (derece I), santral nörositom (derece II), ektraventriküler nörositom (derece II) ve serebellar liponörositom (derece II) tümör tiplerini içermektedir. Son sınıflamada bu kategoride yeni moleküler alt tip mevcut olmamakla birlikte tümörlerin moleküler özelliklerinin daha net anlaşıldığı söylenebilir. (1)

Embriyonel tümörler kategorisi tümüyle derece IV tümörlerden oluşmaktadır. Bunlar medulloblastom, C19MC mutant, çok tabakalı rozet oluşturan embriyonel tümör, medulloepitelyoma, başka türlü sınıflanamayan SSS embriyonel tümörleri, atipik rabdoid/teratoid tümör ve rabdoid özellikler gösteren SSS embriyonel tümörleridir. Özellikle medulloblastomlar yeni sınıflamada moleküler özelliklerin histolojik sınıflamaya alternatif bir sınıflama yarattığı alt gruptur. (1)

Meningeal tümörler derece I, II ve III olabilmektedir. Derece I meningiomlar hücresel özelliklerine göre meningotelyal, fibröz, tranzisyonel, psammomatöz, anjiomatöz, mikrokistik, sekretuar, lenfoplazmositten zengin ve metaplastik olarak sınıflanabilmektedir. Derece II grubunda atipik özellikler (beyin invazyonu, ≥ 4 mitoz, nekroz, sellülarite artışı, patensiz patern, nükleol belirginliği) içeren meningiomlara ek olarak hücre tiplerinden kordoid ve şeffaf hücreli olanlar da bulunmaktadır. Derece III grubuysa anaplastik (malign histoloji gösteren-karsinom, sarkom, melanom gibi, ya da ≥ 20 mitoz içeren), papiller ve rabdoid meningiimleri içermektedir. (1)

Mezenkimal tümörlerden DSÖ sınıflaması yapılması önerilenler soliter fibröz tümör/hemanjioperisitom (derece I, II, II) ve hemanjioblastomdur (derece I). (1)

Koroid pleksus tümörleri koroid pleksus papillomu (derece I), atipik koroid pleksus papillomu (derece II) ve koroid pleksus karsinomu (derece III) olarak sınıflanmıştır. (1)

Pineal bölge tümörleri kategorisi pineositom (derece I), pineoblastom (derece IV), pineal bölge papiller tümörleri (derece II veya III) ve intermediate diferansiasyon gösteren pineal parankim tümörlerinden (derece III veya IV) oluşmaktadır. (1)

Sellar bölge tümörleri kategorisinde kraniofaringiom, granüler hücreli tümör, pitüisitom ve işçi hücreli onkositom olmak üzere tümü derece I tümörlerden oluşmaktadır. (1)

Histolojik dereceleme tümörün biyolojik davranışı hakkında bir öngörüdür. Derece I lezyonlar genellikle düşük proliferasyon potansiyeline ve rezeksiyon sonrası kür şansına sahiptirler. Derece II lezyonlar sıklıkla infiltratif özellikte olup düşük proliferatif aktiviteleri olsa bile rekürens ihtimaline sahiptirler. Bazı derece II tümörlerin daha yüksek dereceye progrese olma ihtimalleri de vardır. Örneğin derece II- diffüz astrositomlar derece III-anaplastik astrositom ve derece IV-glioblastoma transforme olabilmektedir. Derece III tanımlaması histolojik olarak belirgin malignite özelliklerine -nükleer atipi, artmış mitotik aktivite gibi- sahip olan tümörler için kullanılmakta ve hastaların genellikle rezeksiyon sonrası radyoterapi ve / veya kemoterapi alması gerekmektedir. Derece IV tanımı sitolojik

olarak malign, mitotik aktif, nekroz içeren neoplaziler için kullanılmakta ve çoğu zaman hızlı preoperatif - postoperatif ilerleyişle fatal seyirli hastalıklar olarak karşımıza çıkmaktadır. Glioblastom ve embriyonel tümörlerin büyük çoğunluğu derece IV tümörlerdir. Çevre dokuya yaygın infiltrasyon, kraniospinal yayılım kabiliyetleri derece IV tümörlerin çoğunda karakteristik olmakla birlikte zorunlu bir durum değildir. (1)

Derecelendirme tümörün biyolojik davranışı yanı sıra tedavi cevabı hakkında da öngörü amaçlı kullanılan kriterlerdendir. Diğer kriterlerse klinik özellikler (hastanın yaşı, performans durumu, tümör lokalizasyonu), radyolojik özellikler (kontrast tutulumu), cerrahi rezeksiyonun kapsamı, proliferasyon indeks değerleri ve genetik değişikliklerdir. Genetik profil, özellikle bazılarının prognostik anlamlılıkları nedeniyle, giderek önemi artan bir parametre haline gelmiştir. Her bir tümörde bu kriterlerin kombinasyonu prognoz hakkında geniş bir öngörü sağlamaktadır. Derece II tümörlerin sağ kalımı 5 yılın üzerindeyken, derece III tümörlerde bu 2-3 yıla düşmektedir. Derece IV tümörlerdeyse prognoz etkili tedavi alabilme şansı ile oldukça yakından ilişkilidir. Çoğu glioblastom, özellikle yaşlı hastalarda, 1 yıl içinde ölümlle sonuçlanmaktadır. Fakat diğer derece IV tümörlerde daha iyi bir senaryo ile karşılaşılabilir. Örneğin derece IV serebellar medulloblastomlar ve germinom gibi germ hücreli tümörler tedavisiz bırakıldıklarında fatal seyirliken güncel radyoterapi ve kemoterapi protokolleri sayesinde 5 yıllık sağ kalımları %60 ve %80 oranlarına ulaşabilmektedir. Bazı tümör tipleri için belirli genetik değişikliklerin varlığı,

prognostik tahminleri belirgin şekilde değiştirebilmekte ve bazen derecenin prognostik öneminin önüne geçebilmektedir. (1)

Kombine histolojik-moleküler sınıflama: Neredeyse bir asırdır beyin tümörlerinin sınıflaması histogenez kavramına dayanmaktadır. Bu da tümörlerin, köken aldıkları varsayılan hücrelere ve bu hücrelerin farklı gelişim basamaklarına mikroskopik benzerlikleriyle sınıflandırılmaları fikrine dayanmaktadır. Bu benzerlikler temel olarak H&E boyalı ışık mikroskopik görünümünü, immünohistokimyasal olarak protein ekspresyonlarını ve elektron mikroskopik olarak ultrastrüktürel özelliklerini kapsamaktadır. Tanısal olarak önemli pek çok genetik değişiklik 2007 DSÖ sınıflaması yayınlandığında bilinmekteydi fakat henüz bu verilerin tanısallığı konusunda konsensusa varılmamış, sadece histoloji tabanlı sınıflamanın destekleyici unsurları olabilecekleri düşünülmekteydi. 2016 sınıflaması bu yüz yıllık alışkanlığı bozup moleküler sınıflamayı başlatmıştır. Bu genetik parametrelerin pek çoğu immünohistokimya ya da FISH yöntemleriyle saptanabilirken bazı merkezlerin moleküler analiz gerektiren çalışmalarda teknik yetersizlikleri nedeniyle tanısal çalışmalardan yoksun olduğu sorunsal ortaya çıkmıştır. Bu açıdan 2016 DSÖ sınıflamasına başka türlü spesifiye edilemeyen (NOS) tanımlaması eklenmiş ve daha ileri tekniklerin yetersiz olduğu durumlarda kullanılması gereken terminoloji olarak önerilmiştir. (1)

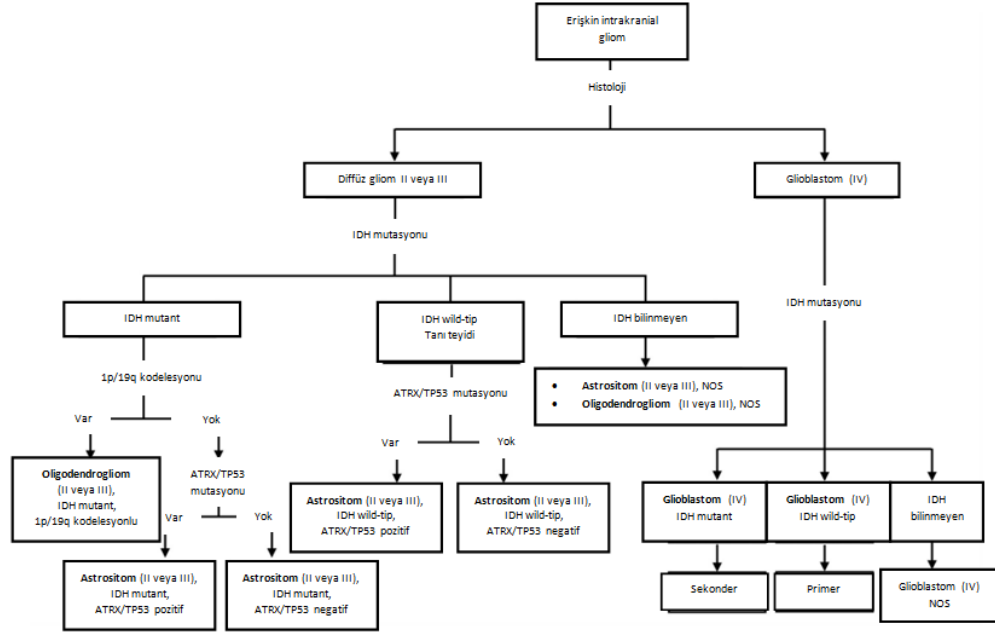
2.1.1. Glial tümörler

İnfiltratif ya da “diffüz” gliom grubu astrositom ve oligodendrogliomları kapsamaktadır. Bu grup SSS parankiminin en sık primer neoplazileridir (3) . İlk

olarak 1926 yılında Bailey ve Cushing bu tümörleri hücrel özelliklerine göre sınıflamış ve uzun yıllar boyunca bu histolojik özellikler sınıflama, derecelendirme ve prognoz tayininde kullanılmıştır (33). Yıllar içinde diffüz gliom sınıflama ve derecelendirmesinde Kernohan, Zülch, Ringertz, Burger ve Saint Anne/Mayo tarafından değişik öneriler sunulmuştur (34). Güncel sınıflama Ringertz sistemi (35), St. Anne-Mayo sistemi (36) ve bir önceki DSÖ sınıflamasının birleşimi şeklindedir (1).

DSÖ sınıflaması uluslar arası standartlarda sürekli olarak güncellenmiştir. Diffüz astrositom (DSÖ derece II), anaplastik astrositom (DSÖ derece III) ve glioblastom (glioblastoma multiforme, GBM; DSÖ derece IV) diffüz infiltratif astrositomlar içinde malignensi devamlılığı olan kategorilerdir. Genotipe ilişkin pek çok buluş ve klinik gidişata dair verilere ışığında erişkinlerdeki diffüz infiltratif astrositomlardaki her alt grup kendi içinde “isocitrate dehydrogenase-1 veya -2 (IDH1/2)” genlerine göre IDH-mutant ya da IDH-wild tip olarak tekrar sınıflandırılmıştır. Diğer bir diffüz yüksek dereceli astrositom grubuysa sıklıkla pediatrik popülasyonda görülen, karakteristik olarak histon H3F3 mutasyonu içeren ve orta hatta (K27 kodon mutasyonlular) veya serebral hemisferlerde (G34 kodon mutasyonlular) izlenen astrositomlardır. Oligodendrogliomlar DSÖ derece II ve III olarak ayrılmakta ve histolojik özellikleri ile birlikte IDH mutasyonları ve 1p ve 19q kromozomal kollarının tamamıyla ve birlikte delesyonlarına dayanılarak tanımlanmaktadırlar. Güncel sınıflamada bu şekilde bir “entegre tanımlama” oluşturulmuş ve diffüz gliomların davranışsal ön görüşü iyileştirilmiştir. Moleküler analiz yapılamadığı durumlarda DSÖ, 2007

şemasındaki sınıflama kriterleri baz alınarak verilen tanıya “NOS” eklenmesi uygun görülmüştür. (34) (Şekil 1)



Şekil 1. Erişkin gliomların histoloji ve IDH mutasyonlarına göre güncel sınıflaması (37)

2.1.2. Diffüz astrositomlar

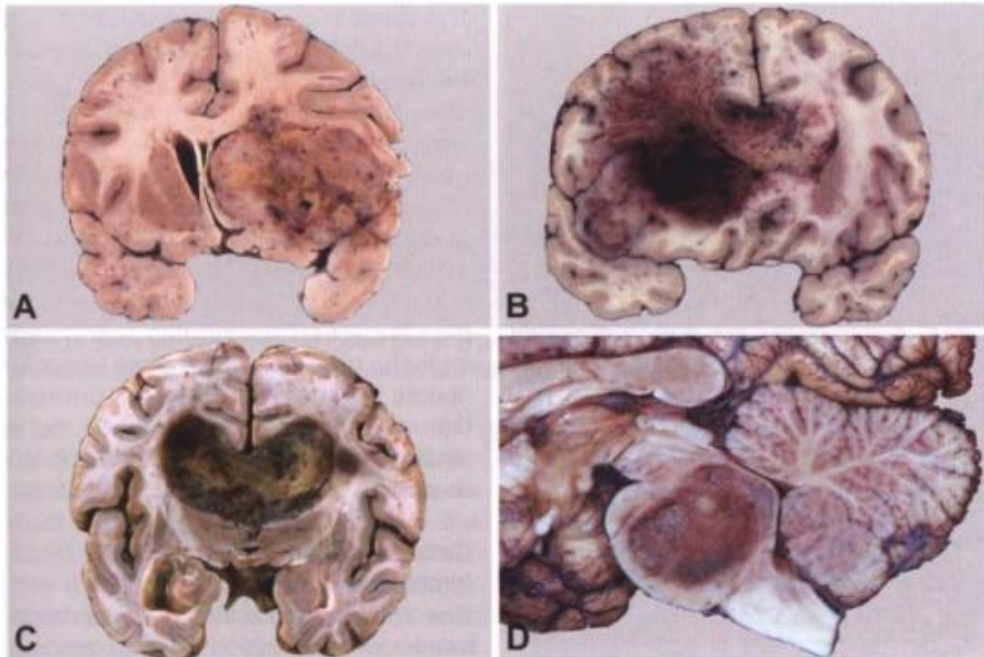
Demografik özellikleri:

Diffüz astrositik tümörler (derece II-III-IV) primer intrakranial tümörlerin yaklaşık %60'ını oluşturmakta ve yıllık ortalama insidansı 5-7 / 100.000 olarak bilinmektedir (34). Erkek / Kadın oranı 1.3 / 1'dir. Çocukluk çağından ileri yaşa kadar her yaş grubunda görülmekle birlikte sıklığı yaşla artmakta ve moleküler subtipi göre değişmektedir. İleri yaşta daha yüksek dereceli, glioblastom gibi, tümör sıklığı da nisbeten fazladır. (34)

IDH-mutant astrositomlar: Derece II ve III astrositomların yaklaşık %80'i IDH-mutanttır (33). Primer (de novo) glioblastomların az bir kısmı (%5) IDH-mutant iken sekonder, derece II ve derece III astrositomlardan progrese olanlarda bu oran %70-80 olmaktadır. (34).

Klinik özellikleri:

Diğer SSS hastalıkları gibi diffüz astrositomların da klinik prezentasyonları lokalizasyonları ve büyüme hızlarına göre değişmektedir. En sık görüldükleri yer serebral hemisferler, sıklıkla frontal ve pariyetal loblarken nadiren oksipital lobdur. Subkortikal beyaz cevherde lokalize iken infiltratif özelliklerinden dolayı serebral korteks, derin gri cevher ya da kontralateral hemisfere uzanımları mümkündür. (Resim 1). Çocuklarda ve nadiren erişkinlerde beyin sapı, talamus ve bazal ganglionlar da rastlandıkları yerlerdendir. Spinal kordda da görülebilirlerken serebellum oldukça nadir rastlandıkları lokalizasyondur. (34)



Resim 1. Glioblastom makroskopik görüntüleri (1)

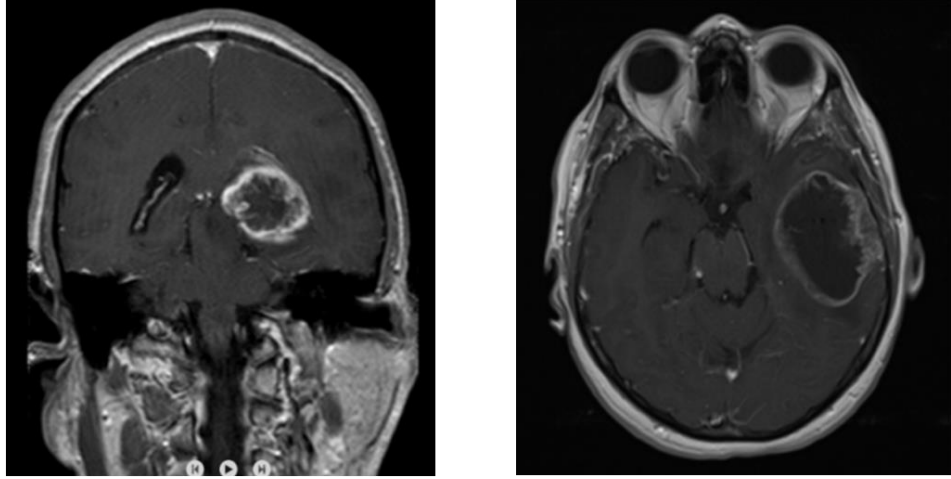
A-Sağ frontal lob yerleşimli glioblastom, bazal ganglia infiltrasyonu, sağ lateral ventrikül basısı ve karşı (sol) serebral hemisfere doğru orta hat şifti B-Sol frontal lob yerleşimli, diffüz infiltratif, oldukça büyük glioblastom, tipik görünümü periferde beyazımsı-gri renkli tümör dokusu, sarı renkli nekrotik alanlar ve yaygın hemoraji. Korpus kallozum yolu ile sağ hemisfere uzanım dikkat çekici C-Simetrik glioblastom, lateral ventriküllere ve çevresindeki beyin yapılarına infiltrasyon göstermekte D-Beyin sapı (pons) yerleşimli glioblastom, 4. Ventriküle bası yapmakta. Bu lokalizasyon H3 K27M-mutant diffüz orta hat gliomları için tipiktir

En sık semptom yeni başlayan nöbet, davranış değişiklikleri, motor defisit, intrakranial basınç artışı bulgularıdır (baş ağrısı, bulantı / kusma, papillödem). Beyin sapından geliştiklerinde kranial sinir paralizi ile prezente olabilirler. (34)

Radyolojik özellikleri:

Derece II - diffüz astrositomlar MR’da düzensiz sınırlı, derin yerleşimli ya da çoğunlukla subkortikal serebral hemisferik kitleler şeklindedirler. Tipik olarak kontrastlanmayan, en iyi T-2 ağırlıklı ya da “Fluid Attenuated Inversion Recovery” (FLAIR) MR görüntülemelerde, vazojenik ödeme sekonder sinyal hiperintensitesi şeklinde izlenirler. Kitleye sekonder görülen orta hat şifti, ventriküler bası, sulkuslarda silinme de izlenebilir. Derece III – anaplastik astrositomlar neredeyse aynı radyolojik özelliklere sahipken bazen noktasal, irregüler, hafif kontrastlanma gösterebilirler. Glioblastomlar santralde nekroza bağlı düşük dansite çevresinde irregüler, değişen kalınlıklarda halkasal kontrast tutan lezyonlar şeklinde izlenirler. (Resim 2) Bu kontrastlanan alan T2-ağırlıklı

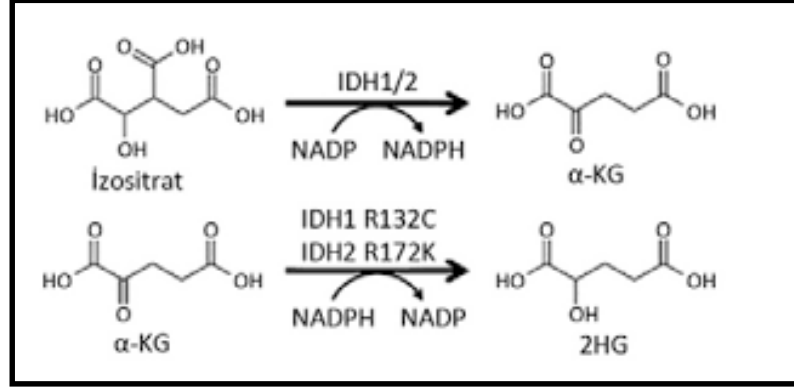
veya FLAIR görüntülemelerde daima sinyal hiperintensitesi olarak karşımıza çıkar ve diffüz infiltratif neoplazi ile ilişkilidir. Korpus kallozumun iki tarafına da uzanım gösterdiğinde “kelebek lezyon” olarak adlandırılırlar. Multiple odaklar şeklinde de izlenebilirler. Bu durum birden fazla farklı tümör odağından çok geniş bir alandaki glioblastomun yüksek dereceye progresyon odakları şeklinde yorumlanır. (34)



Resim 2. Çalışmamızdaki iki hastanın radyolojik görüntüleri

İki farklı hastanın benzer özellikteki glioblastom görüntüleri, santralde nekroza bağlı düşük dansite çevresinde irregüler, değişen kalınlıklarda halkasal kontrast tutan lezyonlar

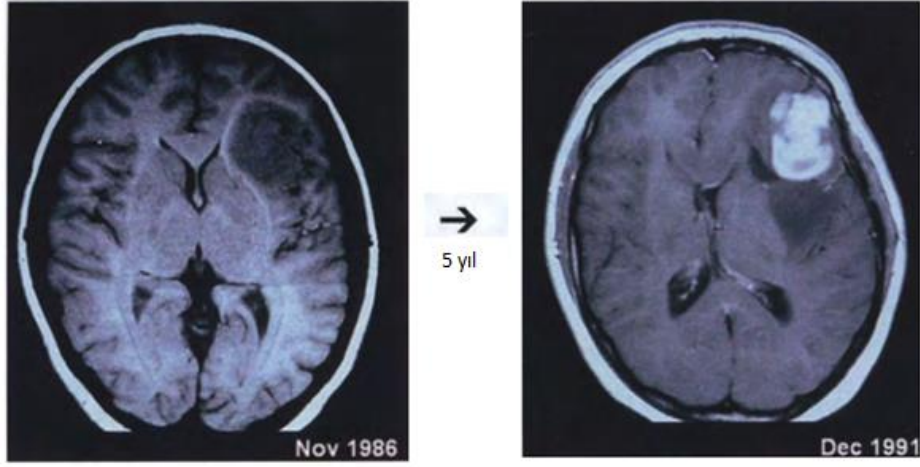
MR spektroskopi, IDH mutant gliomların bir onkometaboliti olan 2-hidroksiglutarat (2-HG)’ı algılayabilmektedir. (34, 38). IDH mutant glioblastomların wild tiple karşılaştırıldığında MR görüntülemelerinde santral nekroz alanının daha az, kontrast tutulumunun daha az, tümör çapının daha büyük, ödem yaygınlığının daha az, kistik ve diffüz komponentlerinse daha sık olduğu saptanmıştır. (1, 39, 40) (Şekil 2 ve Resim 3)



Şekil 2. Normal ve mutant IDH ürünleri (41)

IDH tarafından normal reaksiyonların ve mutasyon sonucunda kazanılan yeni reaksiyonların katalize edilmesi. Normal reaksiyon izositratı α -KG'a, mutasyon sonucunda oluşan reaksiyon ise α -KG'ı 2- HG'a dönüştürmektedir

Tedavi almış gliomlarda radyasyon nekrozu odağı makroskopik ve radyolojik olarak glioblastomla benzerlik göstermekte ve kitle etkisi yaratarak nörolojik progresyone yol açabilir. Bu nedenle radyasyon nekrozu ile tümör rekürensi / progresyonu ayrımı klinik olarak ciddi bir sorundur (34, 42). “Pozitron-Emiyon Tomografi” (PET), “Single Photon Emission Computerized Tomography” (SPECT), “diffüzyon ağırlıklı görüntüleme” (DWI) ve perfüzyon gibi özel teknikler bu ayrımın yapılmasında yardımcı olabilmektedir fakat hala yetersiz olduklarından biyopsi ihtiyacı devam etmektedir (34, 43).



Resim 3. Glial tümör progresyonu (1)

Frontotemporal yerleşimli IDH-1 mutant diffüz astrositomun (sol), IDH-mutant sekonder glioblastoma (sağ) 5 yılda progresyonu, santral nekrozun olmayışı dikkat çekici

Histopatoloji:

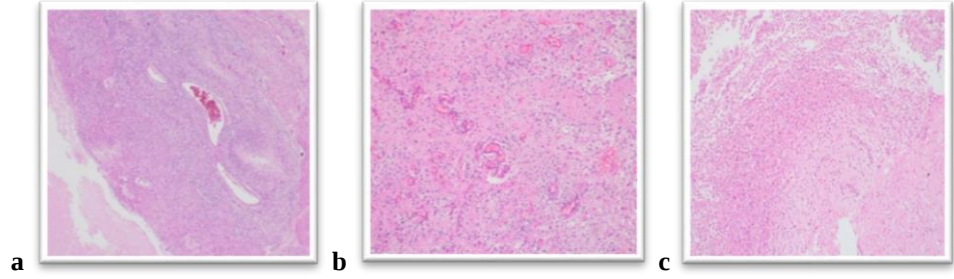
Bu tümörlerde, pür ya da mikst, geniş bir hücresel spektrum mevcuttur. Yoğun bir fibriler matriks içine gömülü, fibriller pattern prototipinde, elonge, irregüler hiperkromatik nükleuslu, sıklıkla belirsiz sitoplazmalı (çıplak nükleuslar) hücrelerden oluşurlar. Bu klasik patternin yanı sıra eozinofilik sitoplazmik uzantıların nöropille çevrenmesi de gözlenebilir. Astrositik morfoloji görüldüğünde diffüz olup olmadığına dikkat edilmelidir. Non-infiltratif (ya da kombine solid ve infiltratif) formdaki pilositik astrositom, subependimal dev hücreli astrositom ve pleomorfik ksantoastositom gibi tipler morfolojik olarak infiltratif tiplerle çok benzer olabilmekteyken makroskopik ve radyolojik olarak nisbeten daha kompakt ve iyi sınırlıdırlar. Astrositik tümörlerin çevre parankime infiltrasyonu sellülaritedeki değişkenlik ve normal kortikal elemanların (nöronal

hücreler ve aksonları) izlenmesiyle ayırt edilebilir. Sadece düşük dereceli astrositik tümör fragmanından oluşan materyaller gibi böyle bir karşılaştırma şansı olmadığı durumlarda gümüş veya nörofilaman boyamaları ile entrape aksonlar ortaya konabilir. (34)

DSÖ Derece II – diffüz astrositomlar artmış sellülarite ile SSS parankimine düzensiz girişler yapan neoplazilerdir. Yayma preparatlar neoplastik hücrelerin glial diferansiasyonunun göstergesi olan yoğun fibriller hücresel uzantıların ortaya konmasında yardımcıdır. Nükleuslar nonneoplastik hücrelere kıyasla iri, hiperkromatik ve düzensiz kontürlüdür. Oligodendrogliomlarla kıyaslandıklarındaysa nükleusları daha köşeli görünümde denilebilir. İnfiltrate edilen SSS parankimi ödemli nöropilin genişlemesi veya mikrokist formasyonu şeklinde izlenebilir. Mikrokalsifikasyonlar da sıklıkla gözlenebilir. Bazen sellülaritedeki nisbi artış çok belirsiz olabilmekte ve destekleyici immünboyamalara (IHD1 R132H ve H3 K27M) ihtiyaç duyulabilmektedir. Scherer'in sekonder yapıları olarak bilinen subpial alanda yoğunlaşma, perinöronal satellitozis ve perivasküler yığılım özellikleri oligodendrogliomlardaki ile neredeyse benzer sıklıkta izlenebilmektedir. (34)

DSÖ Derece III - Anaplastik astrositomlar derece II infiltratif gliomlardan sellülarite artışı, daha yüksek dereceli nükleer pleomorfizm ve atipi yanı sıra mitotik aktivitenin varlığıyla ayrılırlar. Derece II astrositomlar ile glioblastomlar arasındaki bir geçiş basamağı gibidirler. Histopatolojik bulguların radyolojik bulgularla korelasyonu her zaman yapılmalıdır. (34)

Glioblastom en yüksek dereceli infiltratif gliom tipidir. Anaplastik astrositom histopatolojik özelliklerine ek olarak mikrovasküler proliferasyon (mikrovasküler hiperplazi, endotelyal hiperplazi ya da endotelyal proliferasyon) veya nekroz (sıklıkla ikisi birlikte) görülmektedir. Nekroz palizadik, uzun aksları nekroza perpendiküler olacak şekilde dizilerek, ya da infarkt benzeri yaygın olabilir. Mikrovasküler proliferasyon palizatlanan hücrelerin yakınlarında ya da lezyonun infiltratif genarlarında gözlenebilir. Mikrovasküler proliferasyon, vaskülaritenin yoğun olması değil endotelyal ve perivasküler hücrelerin çoğalarak çok tabakalı, böbrek glomerüllerini andırırır şekilde multilümenli yapılar ya da köken aldıkları damara komşu katlantılar oluşturmalarına verilen isim olup sadece damarlanma artışı ile karıştırılmamalıdır. (34) (Resim 4)



Resim 4. Glioblastomlardaki başlıca histolojik özellikler

a-Artmış sellülarite, atipi, nekroz, b- vasküler endotelyal proliferasyon, diffüz c- infiltratif büyüme patterni.

2.2. Glioblastom ve IDH mutasyonu

İlk olarak 2008 yılında D. William Parsons ve arkadaşları tarafından glioblastomlara yönelik yapılan 20,661 protein kodlayan gen sekanslamasıyla saptanan amplifikasyon ve delesyonlar ile yeni nesil sekanslama (NGS) teknolojisi ile 22 insan tümöründe gen ekspresyon analizi sonuçlarından elde edilen veriler ışığında glioblastomlarda en sık (%12) rastlanan mutasyonun IDH-1 geninin aktif bölgesindeki tekrarlayan mutasyonlar olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmaya göre IDH1 mutasyonunun büyük oranda gençlerde ve sekonder glioblastomlarda izlendiği ve genel sağ kalımda artışla ilişkili olduğu kanısına varılmıştır. (7)

2009 yılında S. Nobusawa ve arkadaşları tarafından 407 glioblastom vakasında IDH1 mutasyonu değerlendirmişlerdir. Bu 407 vakadan 377'si primer glioblastom kategorisindeyken, 30 vakanın histolojik olarak düşük dereceli ya da anaplastik gliom öyküsü olduğu bildirilmektedir. Sağkalım karşılaştırmasında 203 adet cerrahi sonrası toplam 60-Gy radyoterapi alan hasta değerlendirilmiştir. IDH mutasyon analizinde SSCP (single strand conformation polymorphism) ve direk DNA sekanslama yöntemleri kullanılmış ve 407 glioblastom vakasından 36 (%8,8)'sında IDH mutasyonu taşıdığı saptanmıştır. Tüm mutasyonların 132 amino asit rezidüsünde olduğu bildirilmiştir. Bu mutasyonların %83'ü G395A (Arg->His), daha az oranda C394G (Arg->Gly; %11,1), C394T (Arg->Cys; %2,8) ve C394A (Arg->Ser; %2,8) şeklindeyken tüm IDH1 mutasyonlarının heterozigot olduğu belirtilmiştir. Vakaların hiç birinde IDH2 mutasyonu saptanmamıştır. IDH1 mutasyonu taşıyan glioblastomlu hastaların ortalama yaşı 47,9 iken

mutasyon saptanmayan hastaların yaş ortalamasının 60,6 olduğu; yine IDH mutant olan vakaların klinik bulgularının başlangıcı ile glioblastom tanısı alması arasındaki süre 15,2 ay iken IDH1 mutant olmayanlarda bu sürenin çok daha kısa (3,9 ay) olduğu; diğer bir önemli farklılığın da sağ kalım sürelerinin IDH1 mutant hastalar için ortalama 27,1 ay iken IDH1 mutant olmayanlarda 11,3 ay olması çalışmadaki dikkat çekici sonuçlar olarak sunulmuştur. Çalışmanın bir başka sonucu ise IDH1 mutasyonunun TP53 mutasyonu ve 19q heterozigosite kaybı ile birlikteliği; IDH1 mutant olmayanlarda ise EGFR amplifikasyonunun sık olduğu şeklindedir. Histolojik özellikler açısından bakıldığında oligodendroglial komponent IDH1 mutant vakalarda sık (%54,1'e karşı %19,5) iken geniş iskemik ve psödoapalizadik nekrozun IDH1 mutant olmayanlarda daha sık (%50'ye karşı %90,3) olduğu bildirilmiştir. Sekonder glioblastomlarda %73,3 oranında IDH1 mutasyonu saptanırken primer glioblastomlarda bu oranın %3,7 olduğuna değinilmektedir. (11)

2009 yılında Hai Yan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 445 tane SSS tümöründe ve 494 tane SSS-dışı tümörde IDH1 ve IDH2 gen sekanslaması ile birlikte gliom hücre kültürlerinden normal ve mutant IDH1 ve IDH2 gen ürünlerinin enzimatik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu vakaların 138 tanesinin primer, 13 tanesinin sekonder glioblastom kategorisinde olduğu belirtilmektedir. Sekonder glioblastom kategorisine dahil edilen vakaların DSÖ kriterlerine göre en az 1 yıl öncesinde histolojik olarak derece II ya da derece III glial tümör tanısı almış olmaları şartı gözetilmiştir. 939 tümör örneğinde IDH1 sekanslaması sonucunda R132 rezidüsünde 161 somatik mutasyon elde edilmiş olup bunlar

R132H (142 tümör), R132C (7 tümör), R132S (4 tümör), R132L (7 tümör), ve R132G (1 tümör) olarak bildirilmiştir. Sekanslama sonuçlarına göre IDH mutant glioblastomlarda yaş ortalaması 32 iken, IDH mutant olmayanlarda bu ortalama 59 olarak saptanmıştır. IDH mutasyonunun daha genç yaşta görülmesine karşın 21 yaş altındaki 15 vakanın hiç birinde IDH mutasyonuna saptanmadığına da dikkat çekilmiştir. IDH mutant glioblastomların genel sağ kalım süresi 31 ay olmasına karşın bu süre IDH mutant olmayanlarda 15 ay kadar kısa olarak bulunmuştur. (Tablo 2) (10)

Tablo 2. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasına göre erişkin IDH-wild tip ve IDH-mutant glioblastomları başlıca özellikleri (1)

	IDH-wild tip glioblastom	IDH-mutant glioblastom
Sinonim	Primer glioblastom, IDH wild tip	Sekonder glioblastom, IDH mutant
Prekürsör lezyon	Belirlenemez; de novo gelişir	Diffüz astrositom Anaplastik astrositom
Glioblastom oranı	~%90	~%10
Ortalama tanı yaşı	~62	~44
Erkek / Kadın oranı	1,42:1	1,05:1
Ortalama klinik öykü süresi	4 ay	15 ay
Ortalama genel sağ kalım		
Cerrahi+radıyoterapi	9,9 ay	24 ay
Cerrahi+radıyoterapi+kemoterapi	15 ay	31 ay
Lokalizasyon	Supratentorial	Sıklıkla frontal
Nekroz	Yaygın	Sınırlı
IERI promotor mutasyonu	%72	%26
TP53 mutasyonu	%27	%81
ATRX mutasyonu	Nadiren	%71
EGFR amplifikasyonu	%35	Nadiren
PTEN mutasyonu	%24	Nadiren

IDH mutasyonu gliomagenезin başlangıç aşamalarında görülen ve glioblastom gelişene kadar varlığını sürdüren bir durumdur (1). Bir çalışmada aynı hastadan yapılan multiple biyopsilerin analizinde, hiç bir biyopside IDH1

mutasyonunun p53 mutasyonundan sonra saptanması söz konusu olmamıştır (8). Bunun tek istisnası Li-Fraumeni sendromlu hastalarda var olan TP53 mutasyonuna sonrada eklenen IDH1 mutasyonudur. TP53 germline mutasyonu olanlarda gelişen diffüz astrositom, anaplastik astrositom ve sekonder glioblastomlarda saptanan IDH1 mutasyonu ise sporadik vakalarda nadiren görülen R132C mutasyonu olarak bulunmuştur (9).

H-J Scherer 1940 yılında yazdığı kitabında şunları söylemektedir: “Biyolojik ve klinik anlamda astrositomlardan gelişen sekonder glioblastomlar primer glioblastomlardan ayrı değerlendirilmelidir. Bunlar büyük olasılıkla literatürde yavaş klinik seyirli glioblastomlar olarak sözü edilen grubu oluşturmaktadır.” Bu yaklaşım çok kez desteklenmiştir. 1980-1994 yılları arasında yapılan nüfusa-dayalı çalışmada sekonder glioblastomların genel sağ kalımı 7,8 ay, primer glioblastomların genel sağ kalımı ise 4,7 ay olarak saptanmıştır. (16)

2007 yılında yayınlanan DSÖ SSS tümörleri sınıflaması sonrasında, yukarıda sözü geçen (7), (11) ve (10) çalışmaları dikkate alınmış ve DSÖ 2016 SSS tümörleri sınıflamasında, IDH mutasyonunun IDH-mutant diffüz ya da anaplastik astrositomdan gelişen “sekonder glioblastom” tanısında klinik ve / veya histolojik kriterlerden daha anlamlı bir moleküler belirteç olabileceği kanısına varmıştır. (1)

Capper ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 345 primer beyin tümöründe sekanslama ve “Western blot” tekniği ile korele edilen 186 IDH1 mutant vakanın 122’sinde mutant IDH1R132H proteini (mIDH1R132H, H09 klonu) ile kuvvetli sitoplazmik ve zayıf nükleer pozitiflik elde etmişlerdir. 15

vakadaysa fibriler tümör matriksinde boyanma diffüz saptanmış ve spesifik boyanma olarak kabul edilmiştir. Aynı ekibin sonraki bir çalışmasında 120 reaktif gliosis ve 19 postterapi gliom vakası (6'sı DSÖ derece II, 13'ü DSÖ derece III), mIDH1R132H immünhistokimyasal boyaması p53 ve WT-1 immünhistokimyasal boyamaları ile birlikte değerlendirilmiştir. Reaktif lezyonlardaki ekspresyonları aşağıdaki şekilde bulunmuştur. (12) (Tablo 3)

Bir başka çalışmada mutant tümörlerde IDH1 immünhistokimyası teknik olarak doğru uygulandığında tüm neoplastik hücrelerde tipik olarak sitoplazmik (kuvvetli) ve nükleer (zayıf) olmak üzere belirli bir derece eksprese olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada bilinen en sık IDH1 mutasyonu, R132H, mutant IDH1'in in vivo translasyonu ile oluşan proteini belirlemede kullanılan antikor mIDH1R132H olarak bildirilmiş (1, 44).

IDH1 R132H negatif olduğu takdirde IDH1 kodon 132 ve IDH2 kodon 172 sekans analizi yapılarak IDH mutasyon durumunun belirlenmesi önerilmektedir (1). 54 yaş üzerine IDH mutasyonu saptanma oranı %1'in altına düştüğünden bu yaş üzerinde, öncül düşük dereceli gliom öyküsü olmayan hastalarda IDH-wild tip demek için immünhistokimyasal negatifliğin yeteceği, sekanslamanın zorunlu olmadığı da Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilmektedir. (1, 45)

Tablo 3. Capper ve arkadaşlarının çalışmasındaki immünohistokimyasal sonuçlar (12)

120 Reaktif Gliosis Vakasında mIDH1R132H, WT1 ve p53 İmmünohistokimyasal sonuçları				
Alta Yatan Lezyon	Vaka Sayısı (n)	mIDH1R132H pozitif	WT-1 pozitif	p53 pozitif
Metastaz konşuluğu	29	0	2	25
Beyin inaziv meningiom	8	0	0	3
Vasküler malformasyon	22	0	2	8
İskemi	13	0	3	7
Hemoraji	7	0	1	4
SSS malformasyonu	2	0	0	1
Hipokampal skleroz	9	0	2	4
Nonspesifik inflamatuvar infiltrat	10	0	3	9
Abse	3	0	2	3
Progresif multifokal lökoensefalopati	6	0	3	6
Multiple skleroz	8	0	1	4
Vaskülit	3	0	1	2
Toplam	120	0 (%0)	20 (%17)	76 (%63)

IDH'ya yönelik küçük molekül inhibisyonu gibi hedefe yönelik tedaviler (46) ya da aşılarda (47) kullanılabilir hale geldiğinde mutant IDH'nın saptanmasının, önemli bir prediktif belirteç olabileceği de savunulmaktadır (1).

IDH wild-tip glioblastomlar en sık ve en malign astrositik tümör grubu olup glioblastomların %90'ını oluşturmaktadır. Tipik olarak erişkinlerde (ortalama tanı yaşı 62) ve nisbeten erkeklerde daha sık (E:K=1,35:1) görülmektedir (1). IDH-wild tip glioblastomların nadir bir histolojik varyantı olan dev hücreli glioblastom, yüksek dereceli anaplaziye rağmen sıklıkla düzgün sınırlı ve sıradan glioblastomlara göre biraz daha iyi prognozludur (48, 49). IDH-wild tip glioblastomlardan genetik olarak en önemli farklılıkları TP53 mutasyonlarının yüksek oranda (50), EGFR amplifikasyonunun ise daha az oranda görülmesidir (1). IDH-wild tip glioblastomların bir başka varyantı olan, glial ve mezenkimal olmak üzere bifazik pattern oluşturan gliosarkomlar prensip olarak erişkinlerde görülmektedir. Bu antite başlangıçta glioblastomdaki proliferasyon olan tümöral damarların malign transformasyonu olarak tanımlanmış (51), fakat sitogenetik analizlerle glial ve mezenkimal komponentin ortak hücre kökeninden geldiği

anlaşılmıştır. De novo ya da glioblastomların tedavisi sonrası gözlenebilmektedir. Kötü prognozlu olup sistemik yayılım ya da kafa kemiklerine invazyon gösterebilmektedir (1). (Tablo 4)

Tablo 4. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasına göre glioblastomun histolojik olarak tanımlanan varyantlarının genetik profilleri (1)

Maviler IDH-wild tip glioblastomlar için tipik; turuncular IDH-mutant glioblastomlar için tipik; dev hücreli glioblastom her iki tipin özelliklerini taşımakta

	Primer GBM (IDH-wild tip)	Gliosarkom	Dev Hücreli Glioblastom	Sekonder glioblastom (IDH-mutant)
GBM tanı yaşı	59	56	44	43
Erkek : Kadın oranı	1,4	1,4	1,6	1,0
Klinik öykünün süresi	3,9 ay	3 ay	1,6 ay	15,2 ay
IDH1/2 mutasyonu	%0	%0	%5	%100
PTEN mutasyonu	%24	%41	%33	%5
ATRX ekspresyon kaybı	%0	%0	%19	%100
TERT mutasyonu	%72	%83	%25	%26
TP53 mutasyonu	%23	%25	%84	%74
19q kaybı	%4	%18	%42	%32
EGFR amplifikasyonu	%42	%5	%6	%4

IDH1 mutasyonu olmayıp sekonder olan glioblastomlara bakıldığında DSÖ derece III anaplastik astrositomdan geliştikleri, IDH1 mutant olanlarınsa genellikle DSÖ derece II diffüz astrositomdan geliştiği görülmüştür (1, 11) .Bu da anaplastik astrositom tanısı alan bazı vakaların yetersiz örnekleme nedeniyle yanlış tanı almış primer glioblastom olabileceğini düşündürmektedir.(1)

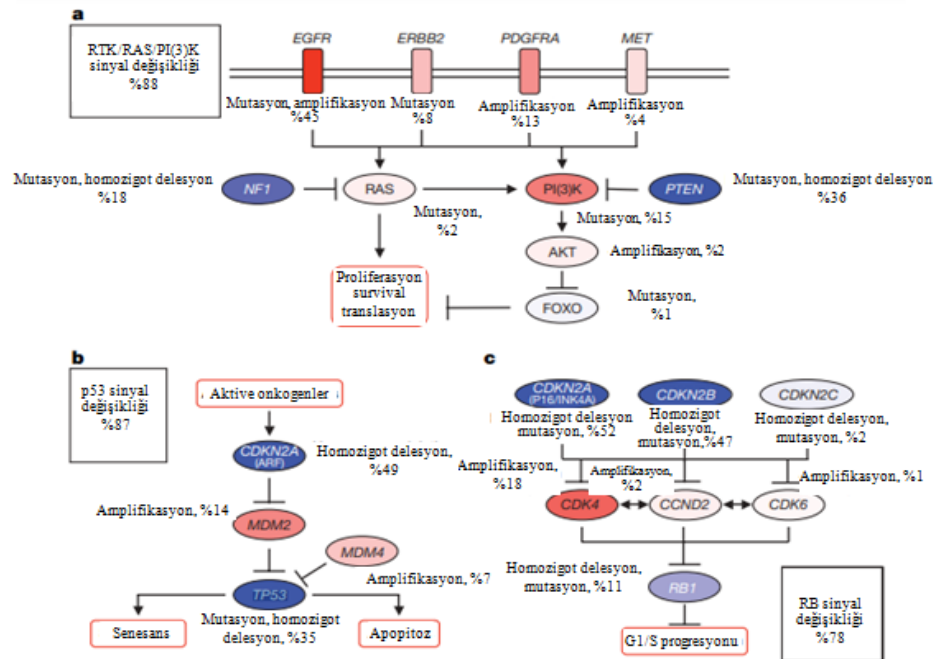
IDH1 mutant olan primer glioblastom vakaları yapılan bir çalışmada %3,4 olarak saptanmıştır. Bu vakaların sekonder glioblastomlara göre 10 yaş kadar daha genç olmalarına karşın sekonder glioblastomlar ile benzer genetik profile (sık TP53 mutasyonu ve EGFR amplifikasyon yokluğu) sahip oldukları görülmüştür. (1, 11) Fakat bu vakalar için glioblastom tanısı almadan önce klinik

olarak sessiz ve hızlı progrese olan, düşük dereceli glial tümör varlığı hala olasılık dahilinde görülmektedir. (1)

2.3. Glioblastom ve TP53 mutasyonu

p53 proteini 17. kromozomun kısa kolunda lokalize (17p13.1) TP53 gen ürünü olup en önemli tümör supressörlerdendir. Bir transkripsiyon faktörü olup stres ya da DNA hasarı durumlarında hücrenin G1 fazında kalmasını sağlayan genlerin ekspresyonunu aktive eder. TCGA örgütünün raporlarına göre p53 mutasyonu, yeni tanı glioblastomların %37,5'inde, tedavi almış glioblastomlarınsa %58'inde saptanmıştır (14). p53 hücre siklus düzenlenmesi yanı sıra DNA hasarına cevap, apoptoz, hücresel diferansiasyon ve neovaskülarizasyonda da görev almaktadır. Hücre hemostazına bağlı olarak p53 gen ürünü normal hücrelerde düşükken DNA'sı hasarlanmış hücrelerde artar. Yarı ömrünün kısalması "MURINE Double Minute 2" (MDM2) proteini tarafından yıkımının artmasına da bağlıdır. p53'ün kendisindeki mutasyonların yanı sıra fonksiyonunun düzenlenmesinde etkili genlerdeki mutasyonlar da glioblastomlarda yaklaşık %70 oranında saptanmıştır. Bunların başlıcaları ARF (55%), MDM2 (11%), ve MDM4 (4%)'tür. MDM2 ve MDM4 proteinleri E-3 ubiquitin ligaz görevi görüp, p53'ün yıkımını sağlarlar. MDM2/MDM4 proteinlerinin amplifikasyonunun p53'ün transkripsiyonel aktivitesini inaktive ettiği ve sonuçta p53'ün antiproliferatif ve apoptotik etkisinin büyük oranda ortadan kalktığı gösterilmiştir. (13)

TCGA tarafından insan tümörlerindeki mutasyonları saptamaya yönelik çalışmalar uzun süredir devam etmektedir. Bu kapsamlı çalışmalardan glioblastomlardaki DNA kopya sayısı, gen ekspresyonu, DNA metilasyonundaki sapmaları ve nükleotid sekanslarındaki sapmaları konu alan araştırma sonuçları 2008 yılında yayımlanmıştır (14). Esasında önceki iki dekat boyunca yapılan moleküler çalışmalar sonucunda insan glioblastomlarında reseptör tirozin kinaz (RTK) genlerindeki amplifikasyon ve mutasyonel aktivasyon yoluyla büyüme faktör sinyallerinin disregülasyonu, fosfatidilinozitol-3-OH kinaz (PI(3)K) yolağı aktivasyonu ile p53 ve retinoblastoma tümör süpresör yolaklarının inaktivasyonu en önemli genetik olaylar olarak saptanmıştır (14, 52). (Şekil 3)



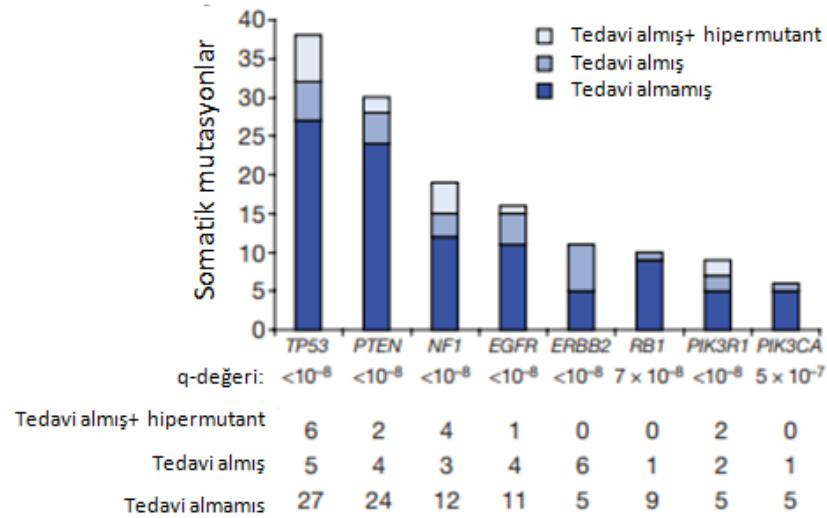
Şekil 3. Üç kritik sinyal yolağındaki sık görülen genetik değişiklikler (14)

a–c, RTK/RAS/PI(3)K (a), p53 (b) ve RB (c) sinyal yolaklarındaki primer sekans değişiklikleri ve belirgin kopya sayısı değişiklikleri görülmektedir. Kırmızılar aktivasyon,

sık olan genlerdeyse daha koyu kırmızı olarak gösterilmiştir. Maviler inaktivasyon, daha yüksek yüzdedeki değişiklikler daha koyu mavi gösterilmiştir.

SNP (Tek-Nükleotid-Pleomorfizm) temelli yöntemlerle saptanan heterozigosite kaybının (LOH) en belirgin olduğu bölgenin TP53 kodlayan genin bulunduğu 17p bölgesinde olduğu belirtilmiştir.

Mutasyon analizlerinde sekiz mutasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve bunların başında TP53 mutasyonu olduğu görülmüştür. İlginç olarak 27 tane TP53 mutasyonu 72 tedavi almamış glioblastomda (%37.5) iken 11 tane mutasyon 19 tedavi almış vakada (%58) saptanmıştır. (Şekil 4) (14).



Şekil 4. Glioblastomlarda saptanan başlıca anlamlı somatik mutasyon patternleri (14)

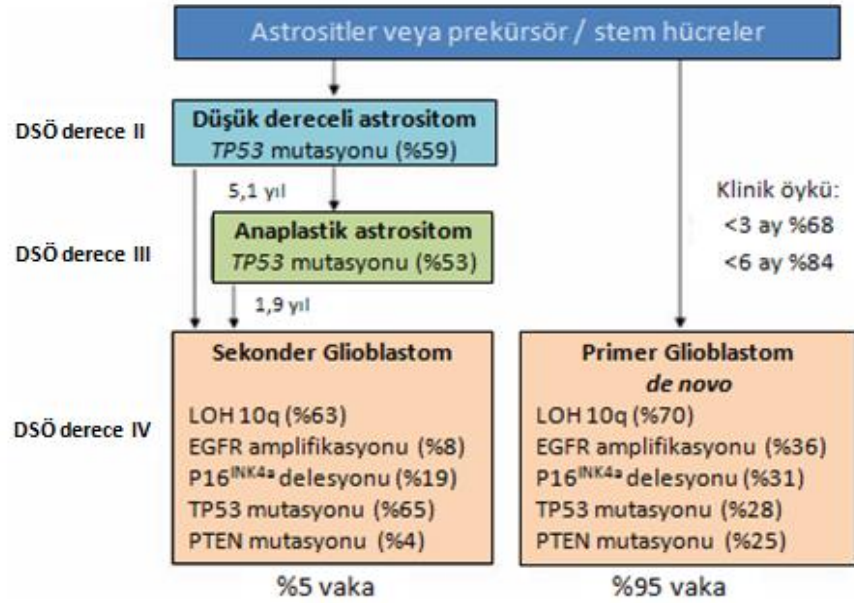
p53'ün kendi mutasyonu dışında ARF delesyonu (%55), MDM2 amplifikasyonu (%11) ve MDM4 amplifikasyonu (%4) ile p53 yolağı inaktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Şekil 3. b) (14).

Kunihiko Watanabe ve arkadaşları tarafından 1996 senesinde yayımlanan çalışmada primer (3 aydan kısa süreli klinik öyküsü bulunan ve ilk biyopside glioblastom tanısı alanlar) ve sekonder (en az iki biyopsisi olup önceden düşük dereceli ya da anaplastik astrositom histolojisi olanlar) glioblastomlarda sekans analizi sonucunda p53 mutasyonunun primer grupta %11 oranında iken sekonder grupta bu oranın %67 olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda sekonder grupta mutasyon saptananlarının %90'ında ilk biyopside de mutasyon varlığı tespit edilmiştir. P53 protein akümüasyonunun yani nükleer immünreaktivitesinin saptanmasına yönelik yapılan çalışma sonucunda da benzer şekilde sekonder glioblastomlarda (%97), primer glioblastomlara göre (%37) çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir. (15)

2007 yılında yayınlanan DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında TP53 mutasyonuna ilişkin gemistositik neoplastik astrositlerde p53 ekspresyonunun arttığı (>%80); gemistositik ve nongemistositik neoplazilerdeki mutasyonların özdeş olduğu; düşük dereceli astrositlerde mutasyon görülme sıklığının %60'ın üzerinde saptandığı; mutasyon oranının düşük dereceli astrositomdan glioblastoma geçişte belirgin artmadığı ve buna dayanılarak erken döneme ait bir mutasyon olduğu kanısına varılabileceği; bazı çalışmalarda düşük dereceli glial tümörlerde TP53 mutasyon varlığının kısa süreli progresyon göstergesi olduğu söylenmesine rağmen klinik gidişata yönelik bir belirteç olarak kullanılamayacağı belirtilmiştir. Anaplastik astrositlerde ise TP53 mutasyonunun %70'ten fazla oranda saptandığı bildirilmiştir. Bu durumun diffüz astrositomdan

progresyonunun bir göstergesi olabileceği yalnızca bir ihtimal olarak kabul edilmiştir (53).

2007 yılı DSÖ SSS tümörleri sınıflaması glioblastom başlığında TP53 mutasyonuna ilişkin sekonder glioblastomların genetik özelliklerinden olduğu (>%65) ve mutant olanların neredeyse tamamında prekürsör düşük dereceli ya da anaplastik astrositomlarda da mevcut olduğu; primer glioblastomlarda ise belirgin olarak daha az saptandığı (yaklaşık %25) bildirilmiştir. (Şekil 5) (53)

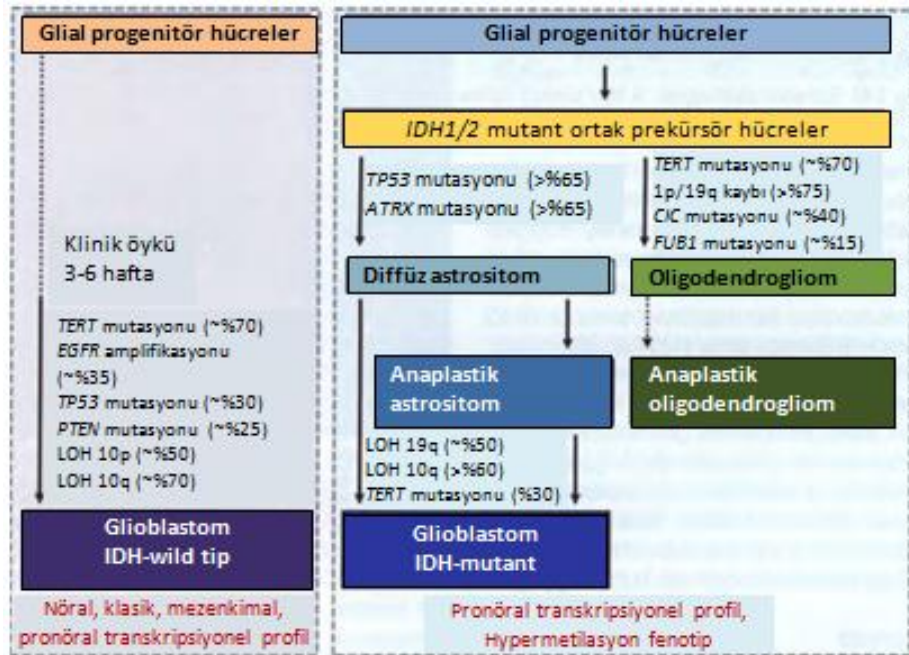


Şekil 5. 2007 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında glioblastom gelişimindeki genetik değişikliklerin zamanlama ve sıklığı (53)

Daha güncel çalışmalar sonucunda ise glioblastomlarda %90 oranında p53 mutasyonu bildirilmiş olup (14) bu durum düşük dereceli astrositik tümörden gelişimin bir kanıtı olarak düşünülmekte ve neredeyse her vakada prekürsör düşük dereceli ya da anaplastik astrositomlarda da hali hazırda bulunduğu gösterilmiştir

(15). Glial tümörlerdeki en sık TP53 mutasyonu CpG bölgelerindeki G:C-> A:T tranzisyonu şeklindedir (16).

2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında ise IDH-mutant diffüz astrositomların büyük kısmının, DSÖ derece III anaplastic astrositomların ve bunlardan gelişen derece IV glioblastomların “sınıf-tanımlayıcı” olarak belirtilen TP53 ve “Alfa Talasemi/Mental Retardasyon Sendromu X’e bağlı ” (ATRX) fonksiyon kaybı mutasyonlarına sahip oldukları sonucuna varılmıştır (1, 54-58). Kapsamlı genotipleme çalışmalarında IDH mutasyon durumu ile diğer moleküler parametreler korelasyon göstermiştir; özellikle IDH mutasyonu olanların % 94’ünde TP53 mutasyonu; % 86’sında ATRX inaktivasyonu saptanmıştır (59). Güncel sınıflamada TP53 ve ATRX mutasyonlarının diffüz astrositik tümörleri oligodendrogial tümörlerden ayırmada tanıyı desteklemek amacıyla kullanılabileceği belirtilmektedir (1). (Şekil 5)



Şekil 6. 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında IDH-wild tip ve IDH-mutant glioblastomların genetik yolakları (1)

Klinik olarak sekonder glioblastom tanılı fakat IDH mutasyonu içermeyen az sayıda vakada nadir TP53 mutasyonu bulunurken bu vakaların daha kısa klinik öyküye ve daha kötü prognoza sahip oldukları bildirilmiştir (1, 11).

Primer olup IDH mutant olan (%3,4) glioblastomlarda genetik profilin sekonder glioblastom ile benzer olduğu ve sıklıkla TP53 mutasyonu içerdikleri gösterilmiştir (1, 11).

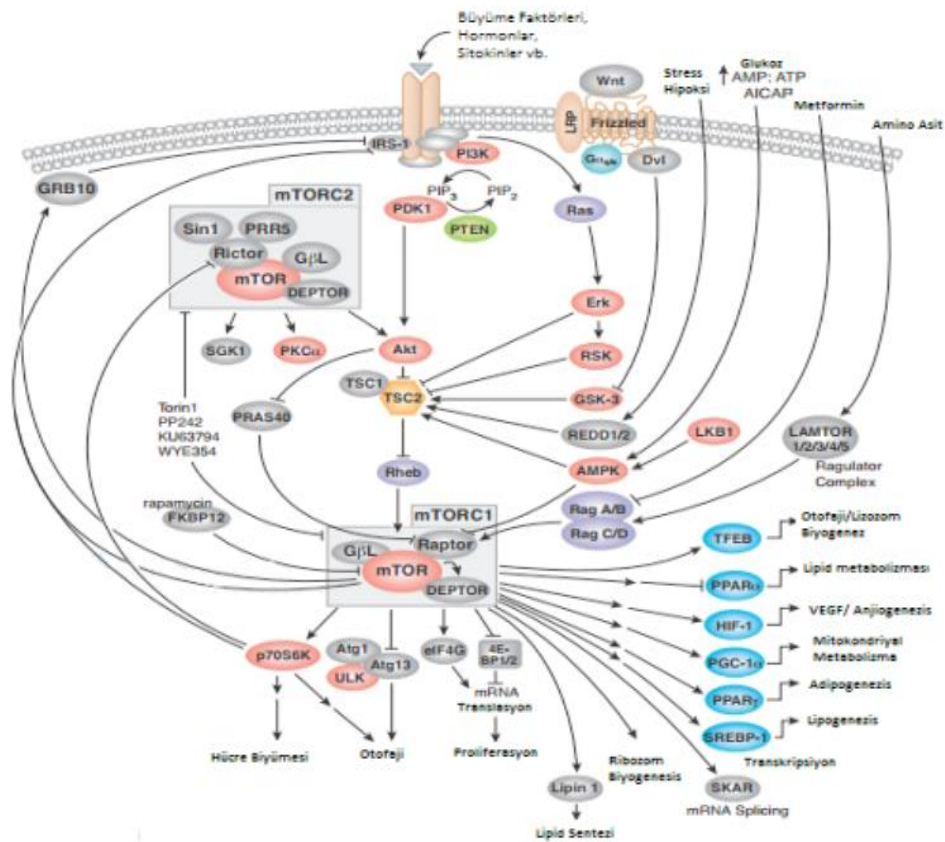
2.4. Glioblastom ve mTOR yolağı

Reseptör tirozin kinaz (RTK)'lar ile yakından ilişkili olan PI3K/AKT sinyal yolu ve mTOR proteinin işlev süreci, kanser gelişimi sırasında, damar endoteli büyüme faktörü reseptörünü (VEGFR), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) reseptör-a, epidermal büyüme faktörü (EGFR), c-Met (Mezenkimal Epithelyal Tranzisyon Faktörü) gibi kanser hücrelerinden salınabilen çeşitli RTK'lar kanser hücrelerinin fonksiyonunu biçimlendirmede sıklıkla kullanılmaktadır (60).

AKT'nin aşağı hücre sinyal yolağı efektörlerinden ("downstream effectors") en önemlisi mTOR'dur (61, 62). AKT, mTOR'u tüberoz skleroz 2 (TSC2)'nin doğrudan fosforilasyonu ile veya "5' Adenozin Monofosfat-Aktive Protein Kinaz" (AMPK)'in inhibisyonu ile aktive etmektedir. Temelde iki farklı çoklu-protein kompleksinden (mTORC1 ve mTORC2) oluşan mTOR'un önemli fonksiyonlarından biri hücre siklusunda yer alan proteinlerin (cyclin-D1, c-myc,

ornitin dekarboksilaz gibi) mRNA translasyonlarını düzenlemesidir (23, 62). Fosforile edilmiş mTORC1, aşağı sinyal iletim efektörleri; 4EBP1 ve p70S6 kinaz (S6K) aracılığıyla hücre büyümesini, hücre siklusu devamlılığını ve hücre metabolizması için gerekli proteinlerin translasyonunu sağlamaktadır (62, 63). Aynı zamanda S6K1'in fosforilasyonu da mRNA translasyonunu sağlamaktadır. S6K1, IRS1 inhibisyonu yoluyla PI3K/AKT/mTOR'u negatif geri bildirim ile de inhibe etmektedir (62, 64). mTOR sinyal iletiminde, S6K1 veya eIF4E aşırı ekspresyonu ve/veya amplifikasyonu da onkogeneze katkıda bulunabilmektedir (62, 65). p70S6K, 40S ribozomal proteini, S6'yı, fosforilleyerek mRNAların translasyonunun aktivasyonuna yol açar (66, 67).

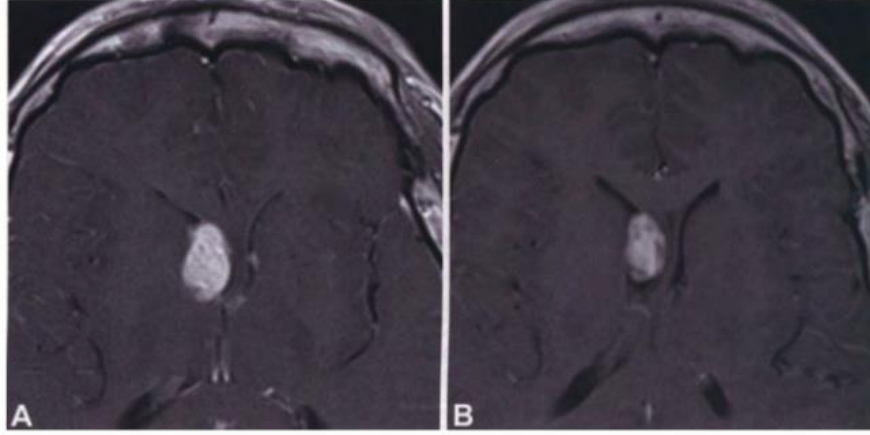
Kanserde mTOR aktivasyonuna neden olan bir diğer durum ise aktifleşen p53'ün mTOR negatif düzenleyicisi olarak görev yapmasıdır. p53 geni, DNA hasarı ve düşük besin seviyeleri gibi hücrede stresi indükleyen şartlar altında aktive olan kritik tümör baskılayıcı proteinleri kodlamaktadır. Bu proteinler sıklıkla malignite oluşumunda, eksikliğe veya mutasyona uğramışlardır ve fonksiyonlarını kaybetmeleri kemoterapiye dirençle ilişkilidir. Örneğin, glikozdan yoksun kalınan koşullarda, kanserde p53 fonksiyonu sıklıkla ortadan kalkar ve böylece bu durum mTOR yapısal aktivasyonunun lehine olabilir (62, 65, 68, 69). (Şekil 7)



İnsanlarda glioblastomlarda yaklaşık %70 oranında AKT aktivasyonu gösterilmiş olup bunun PTEN kaybı ve/veya EGFR ve PDGFR tirozin kinaz aktivasyonuna bağlı olduğu saptanmıştır. PTEN ekspresyonunda değişiklik ise glioblastomlarda %20-40 oranında saptanmış (18, 25, 26) ve kötü prognozla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (18, 26, 27). Son çalışmaların ortaya koyduğu sonuçlara göre mTOR, PTEN/AKT sinyal yolağında aşağı hücre sinyal yolağı efektörlerindendir (“downstream effectors”) (28-31) ve farmakolojik olarak mTOR inaktivasyonunun PTEN-defekti olan farelerde neoplastik proliferasyonu ve tümör boyutunu azalttığı gösterilmiştir (32).

DSÖ derece II gliomaların temozolomid tedavisinin hipermutasyone duruma ve retinoblastom proteini ile AKT/mTOR yolağında sürücü mutasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (1, 73).

2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında bahsedilen bir çalışmada pilositik astrositomlardaki mTOR yolağı aktivasyonunu göstermede immünohistokimyasal boyamanın (fosforile S6) değişken olduğu belirtilmektedir (1, 74). Tüberoz skleroz ile kuvvetli ilişkisi olduğu bilinen subependimal dev hücreli astrositom tedavisinde, cerrahiye elverişli olmayan vakalarda mTOR1’in everolimus ile inhibisyonu umut verici bir tedavi yaklaşımı olarak bildirilmiştir (1, 75, 76). (Resim 5)



Resim 5. Subependimal dev hücreli astrositom (1)

3 aylık mTOR inhibitör tedavisi sonrası boyut ve kontrast tutulumunda azalma.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

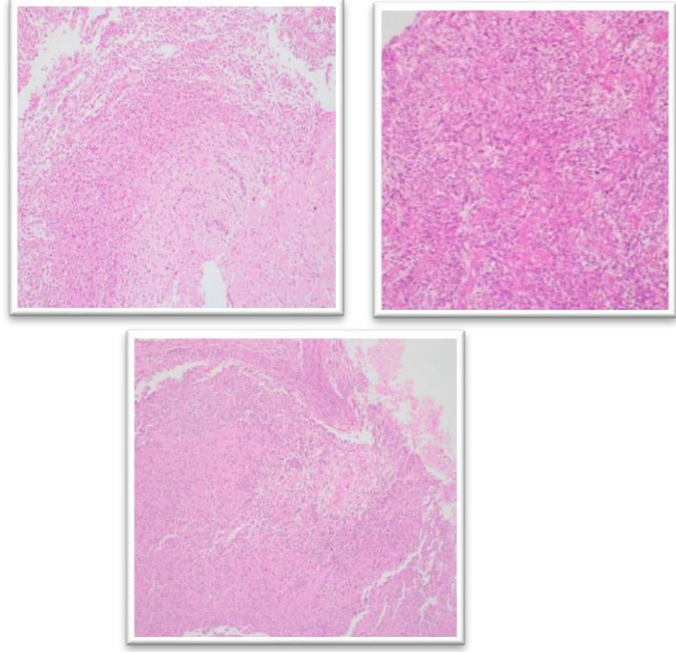
3.1. Olguların Seçilmesi

Çalışmaya 1 Ocak 2008-31 Aralık 2017 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda glioblastom nedeniyle stereotaktik biyopsi, subtotal ya da gross total rezeksiyon yapılan olgular dahil edilmiştir. Hastane bilgi sistemine kayıtlı 571 glioblastom tanılı hastanın 1 Mart 2019 tarihindeki sistemimizdeki sağ kalım bilgilerine ilaveten, iletişim numaraları aranılarak elde edilen sağ kalım bilgileri sonucunda toplam 360 vakanın sağ kalım bilgileri net olarak öğrenilmiştir. Sağ kalım bilgilerine ulaşılamayan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu 360 vakanın, bloklarına ulaşılamayan ya da bloklarında yeterli tümörü olmayan 11 tanesi çalışma dışında bırakılmıştır.

Sağ kalım bilgileri bilinen ve arşivimizde çalışma yapmamıza yetecek kadar dokusu bulunan 349 vaka retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

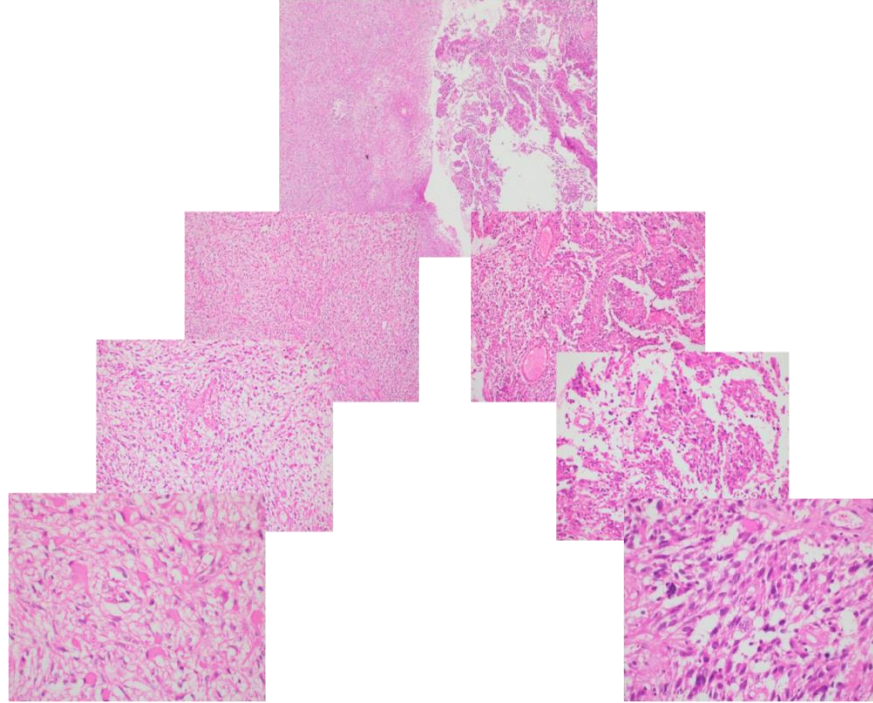
3.2. Morfolojik Parametreler

Glioblastom vakaları tanı kriterlerinde yer alan nekroz ve vasküler proliferasyon yanı sıra mitoz sayısı, düşük dereceli histoloji varlığı ve spesifiye edilebilenlerde hücre tipi açısından tekrar değerlendirilmiştir. Vakaların tüm camlarında, nekroz yaygınlığı yaklaşık yüzde olarak hesaplanmıştır.



Resim 6. Vakaların revizyonu sırasında saptanan tanısal özelliklerden bazıları

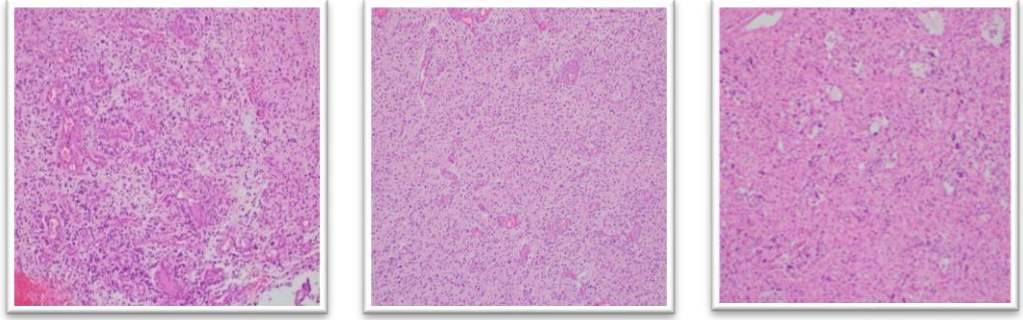
Diffüz infiltratif pattern, vasküler endotelyal proliferasyon ve nekroz varlığı.



Resim 7. “Glioblastoma multiforme”

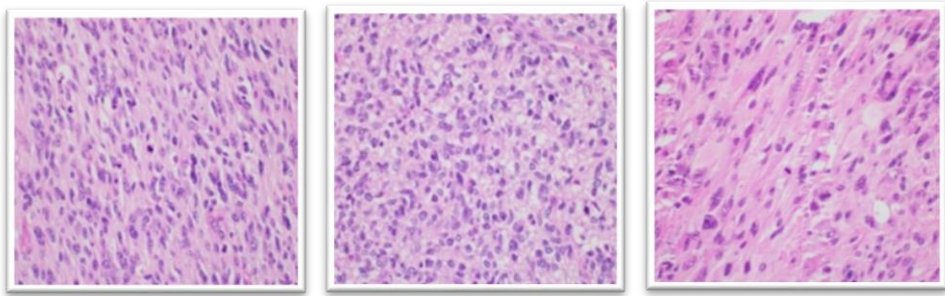
Terminolojinin köken aldığı, pek çok farklı morfolojinin (epiteloid, iğsi, gemistositik vb) birlikte görülebileceğine bir örnek

Vasküler endotelyal proliferasyon (VEP) yaygınlığı seyrek ya da yoğun olmak üzere iki kategoriye ayrılmıştır. Bu kategorilerdeki temel alınan başlıca özellik 10 büyük büyütme alanındaki ve küçük büyütmedeki VEP yaygınlığı idi.



Resim 8. Vasküler endotelyal proliferasyonun yoğun ve seyrek olduğu farklı vakalardan örnekler

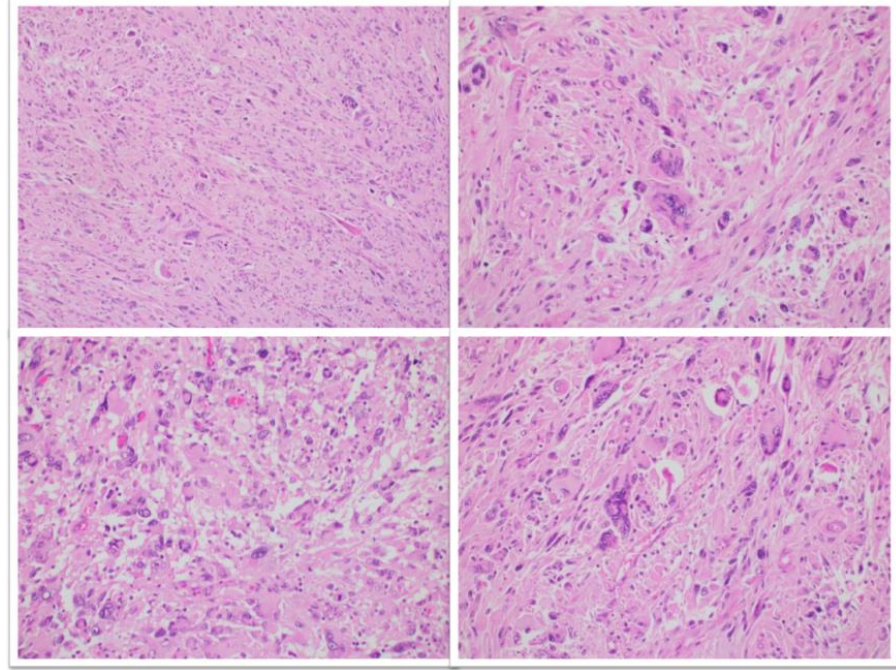
En az 50 büyük büyütme alanında mitoz sayılarak 1 büyük büyütme alanında saptanan maksimum mitoz sayısı ve 10 büyük büyütme alanındaki yaklaşık ortalama mitoz sayısı hesaplanmıştır.



Resim 9. Mitotik aktivitenin çok yüksek ve daha seyrek olduğu farklı vakalardan örnekler

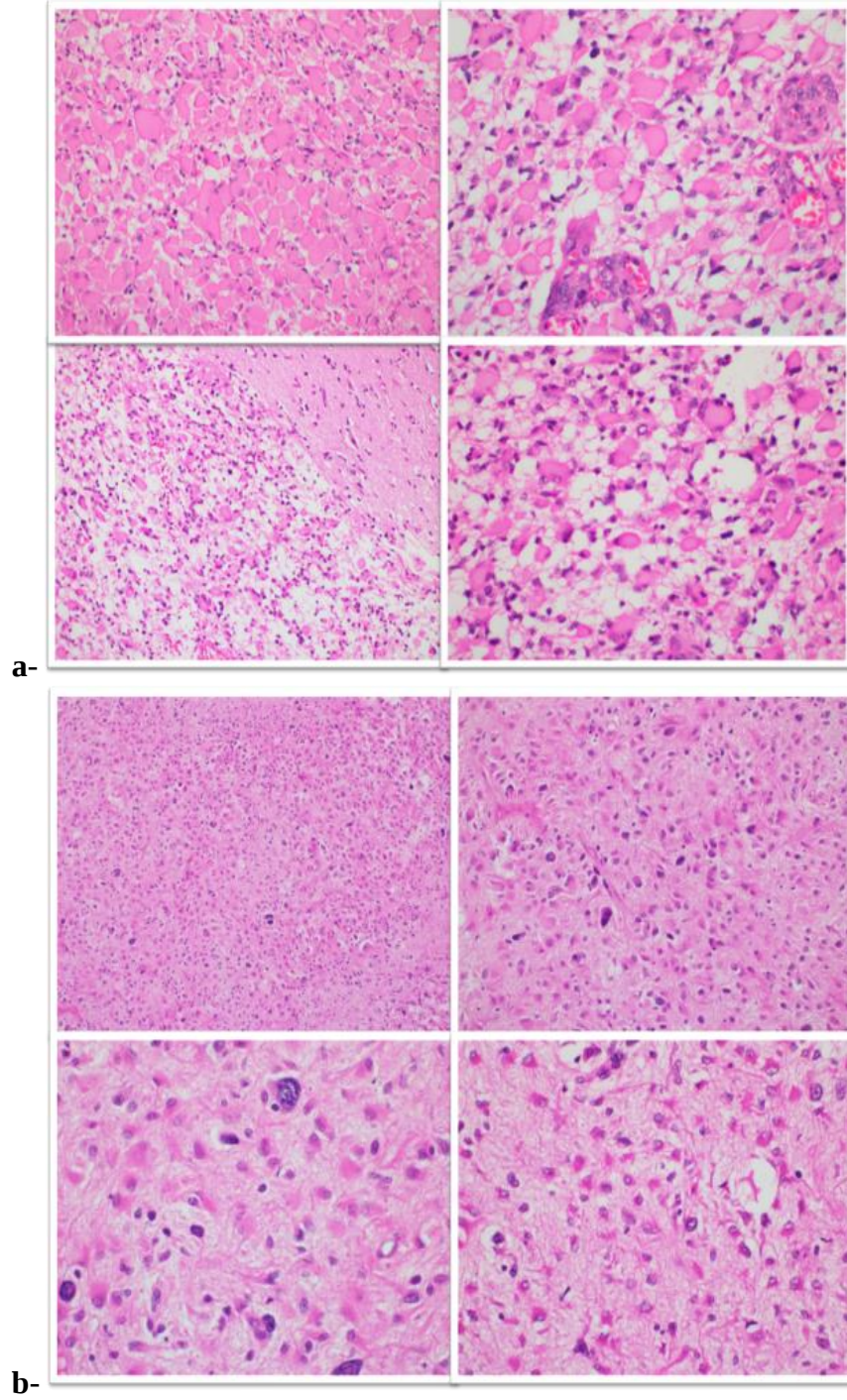
Düşük dereceli histolojiler, glioblastom fragmanları ve çevresindeki gliozis alanı dışında kalan, diffüz astrositom, anaplastik astrositom ya da

oligodendrogliom morfolojisindeki alanların varlığına göre belirlenmiştir. Spesifik hücre tipleri 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında subtip olarak belirtilen dev hücreli glioblastom, gliosarkom ve epiteloid glioblastom yanı sıra hücresel komponent başlığı içerisinde bahsedilen küçük hücreli, “Primitif Neuroektodermal Tümör” (PNET) komponenti içeren, oligodendrogliom komponenti içeren, gemistositik, multinükleer dev hücreli, granüler hücreli, lipidize hücreli glioblastom kriterleri göz önüne alınarak belirlenmiştir.



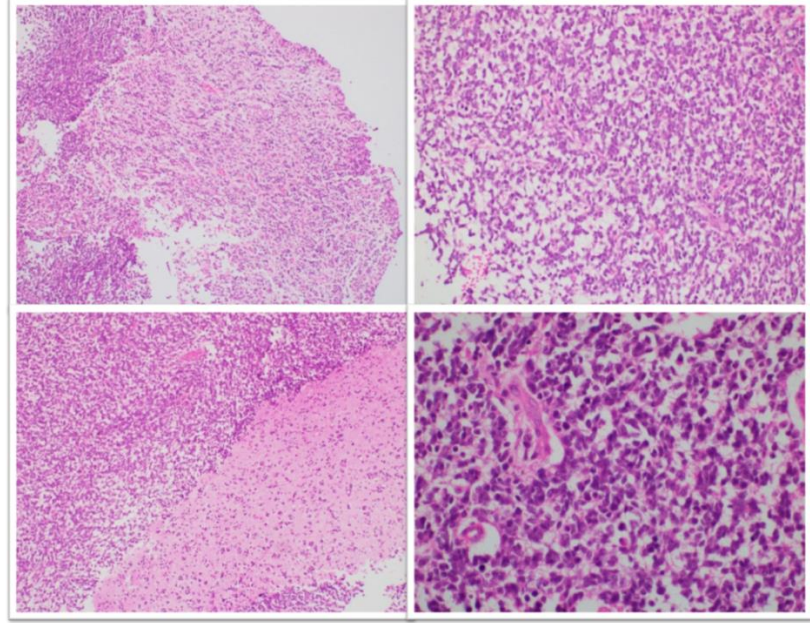
Resim 10. Dev hücreli glioblastom

Histolojiyi büyük oranda temsil eden alanlarından örnekler



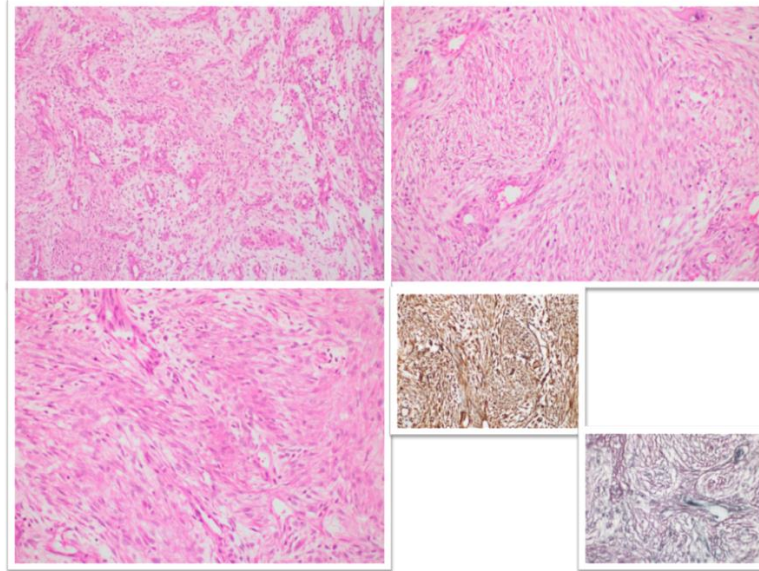
Resim 11. a,b- Gemistositik glioblastom

İki farklı vakanın histolojiyi büyük oranda temsil eden alanlarından örnekler



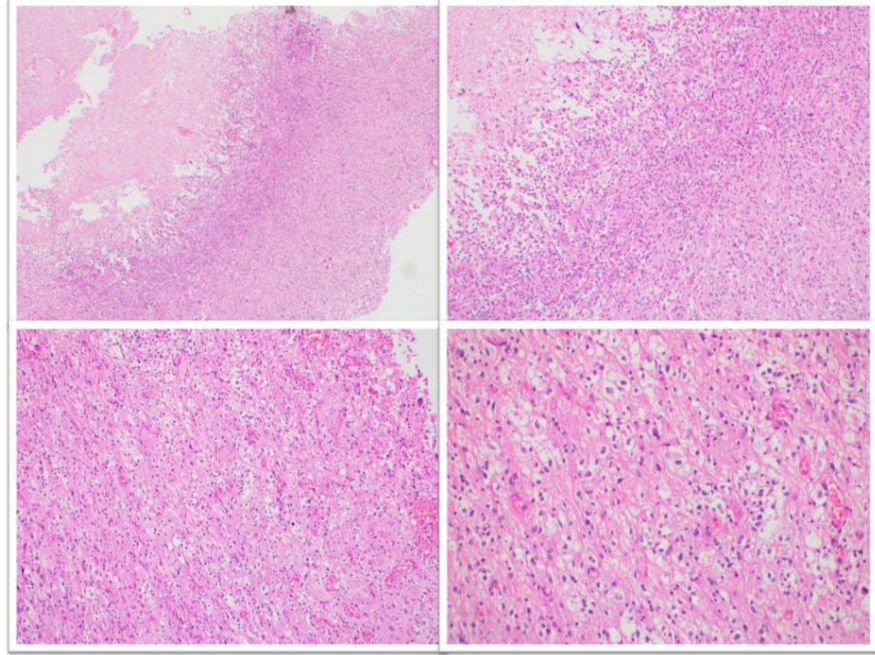
Resim 12. Küçük hücreli glioblastom,

Karakteristik özelliklerinden monomorfik, küçük, yuvarlak-elonge, hiperkromatik nükleuslar, dar sitoplazma, yüksek mitotik aktivite gözlenmekte



Resim 13. Gliosarkom

Yaygın vaskülerite artışı, hücresel komponentin büyük çoğunluğu iğsi morfolojide izlenmekte. İmmünohistokimyasal olarak desmin yaygın pozitif, histokimyasal olarak retikülin ile bağ doku fibrillerindeki yoğunluk görülmekte



Resim 14. Fokal oligodendroglial morfolojideki hücrelerin eşlik ettiği glioblastom

3.3. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemleri

Uygun camlardan morfolojiyi en iyi temsil eden, boya çökmesine neden olabileceği için nekroz oranı düşük olan alanlar işaretlenmiştir. İşaretli alanların bloklardan alınması için 3 mm çaplı deri punch biyopsi aleti kullanılmıştır. Bloklardan bu alanlar punch yapıp 28 tanesi tek blokta biraraya getirilmek üzere doku mikromarray yöntemi uygulanmıştır. Toplam 15 adet mikromarray bloğundan 4 mikrometre kalınlıkta kesitler pozitif şarjlı lamalar üzerine alınıp hematoxilen eozin boyandıktan sonra doku ve alan kontrolü yapılmıştır. Kesitler optimize edildikten sonra her bloktan alınan dört farklı kesite 4 farklı immünohistokimyasal boyanma yapılmıştır. Her bir lama 2 bloktan alınan kesitler (toplam 48 vaka) yanı sıra antikorlara ait kontrol dokularının kesitleri alınmıştır.

3.3.1. IDH1 boyama yöntemi

IDH1 (anti-IDH1 primer antibody, IHC132, fare monoklonal, 1:200 dilüsyon) antikoru otomatik immünhistokimya boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazda boyama yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak anaplastik oligodendrogliom vakası kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Pozitif şarjlı lamalar 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı.
2. Lamlar Ventana cihazına yerleştirildi.
3. Antijen retrieval için IDH1 “Etilenediamin Tetraasetik Asit” (EDTA) buffer (pH:8,0) içinde 1 saat cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için IDH1 cihazda 36 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-detection kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.3.2. p53 boyama yöntemi

P53 (anti-p53 primer antibody, DO-7, fare monoklonal) antikoru otomatik immünhistokimya boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazda boyama yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak overin seröz karsinomu kullanılmıştır.

Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aŗaēıda sıralanmıŗtır:

1. Pozitif şarjl  lamalar 4 mikrometre kalınlıēında kesitler alındı.
2. Lamlar Ventana cihazına yerleŗtirildi.
3. Antijen retrieval iēin p53 EDTA buffer (pH:8,0) iēinde 1 saat cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu iēin p53 cihazda 36 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi saēlamak iēin “Ultraview universal DAB-detection kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar ēeŗme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.3.3. RPS6 boyama yöntemi

RPS6 (anti-RPS6 (phospho S240 + S244) primer antibody, EPR20770, tavŗan monoklonal, 1:1000 dilüsyon) antikor otomatik immünhistokimya boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazda boyama yapılmıŗtır. Pozitif kontrol olarak meme karsinomları kullanılmıŗtır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aŗaēıda sıralanmıŗtır:

1. Pozitif şarjl  lamalar 4 mikrometre kalınlıēında kesitler alındı.
2. Lamlar Ventana cihazına yerleŗtirildi

3. Antijen retrieval için RPS6 EDTA buffer (pH:8,0) içinde 1 saat cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için RPS6 cihazda 32 dakika bekletildi
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal DAB-detection kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.3.4. pAKT boyama yöntemi

pAKT (anti-pAKT1 primer antibody, poliklonal, tavşan monoklonal, 1:1000 dilüsyon) antikoruna otomatik immünohistokimya boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazda boyama yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak akciğer adenokarsinom vakası kullanılmıştır. Uygulanan immünohistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

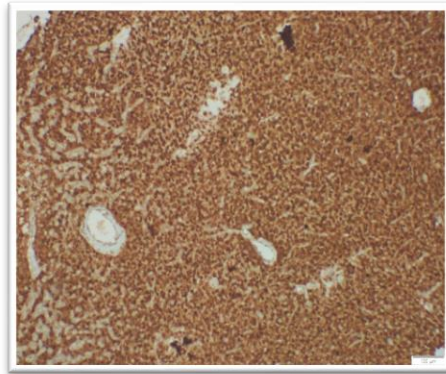
1. Pozitif şarjlı lamlar 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı.
2. Lamlar Ventana cihazına yerleştirildi.
3. Antijen retrieval için pAKT EDTA buffer (pH:8,0) içinde 1 saat cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için pAKT cihazda 32 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal DAB-detection kit” kullanıldı.

6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.4. İmmünohistokimyasal Boyanmaların Değerlendirilmesi

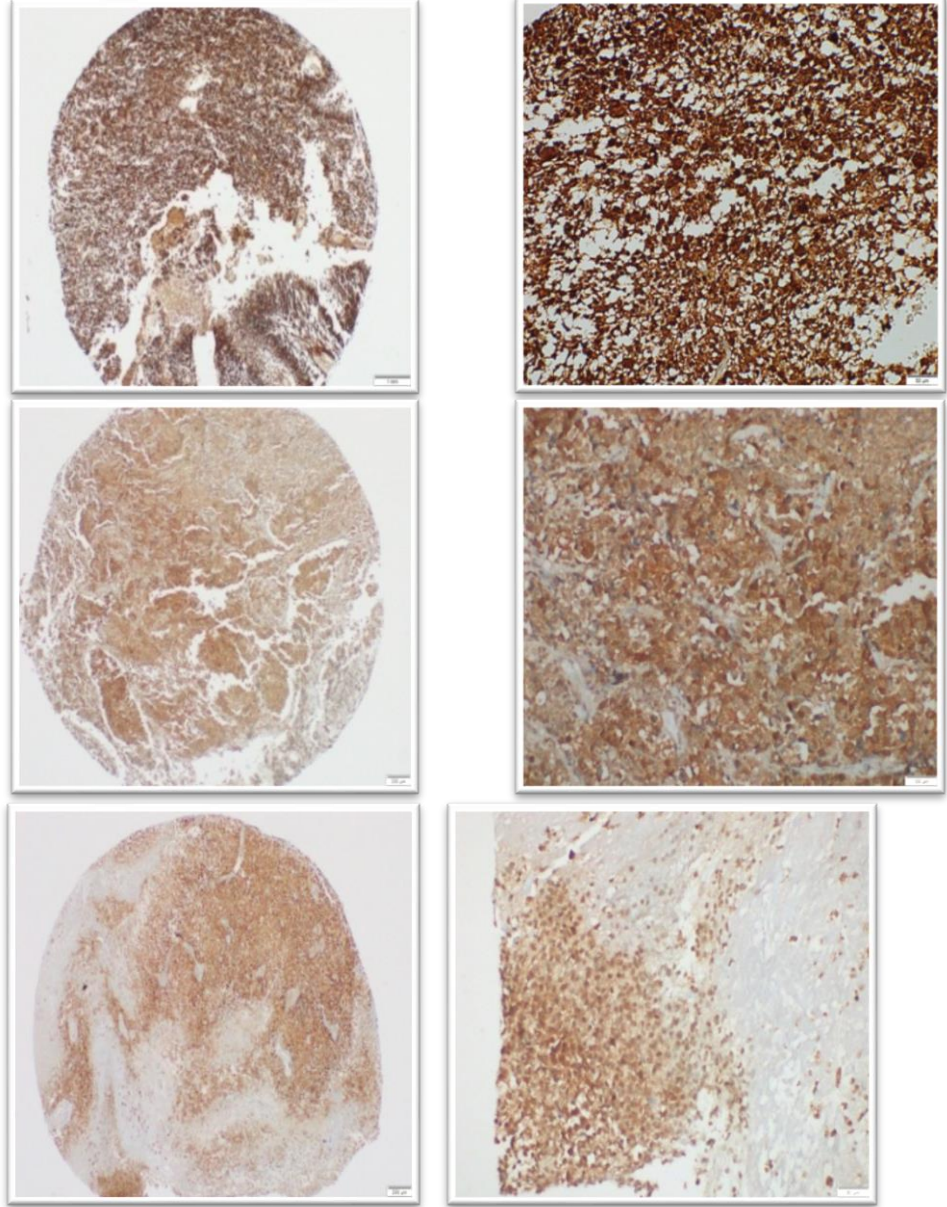
3.4.1. IDH1 boyamasının değerlendirilmesi

Literatür bilgilerine göre mutant IDH1R132H proteini (mIDH1R132H, H09 klonu) ile tümöral hücrelerde kuvvetli sitoplazmik ve zayıf nükleer pozitiflik gözlenmektedir (1, 12, 44). Çalışmamızda uygulanan IDH1 antikoru, literatür ile aynı klon olması nedeniyle pozitiflik kriterleri de bu bilgi ışığında belirlenmiştir. Kontrol dokusu arşivimizdeki IDH1 ekspresyonu kuvvetli sitoplazmik ve nükleer olan bir anaplastik oligodendrogliom vakasından punch yapılarak elde edilmiştir (Resim 15). Pozitif kabul edilen vakaların tamamında yaygın sitoplazmik ve nükleer boyanma izlenmiştir (Resim 16). Fokal zayıf sitoplazmik boyanmalar negatif kabul edilmiştir. (Resim 17).

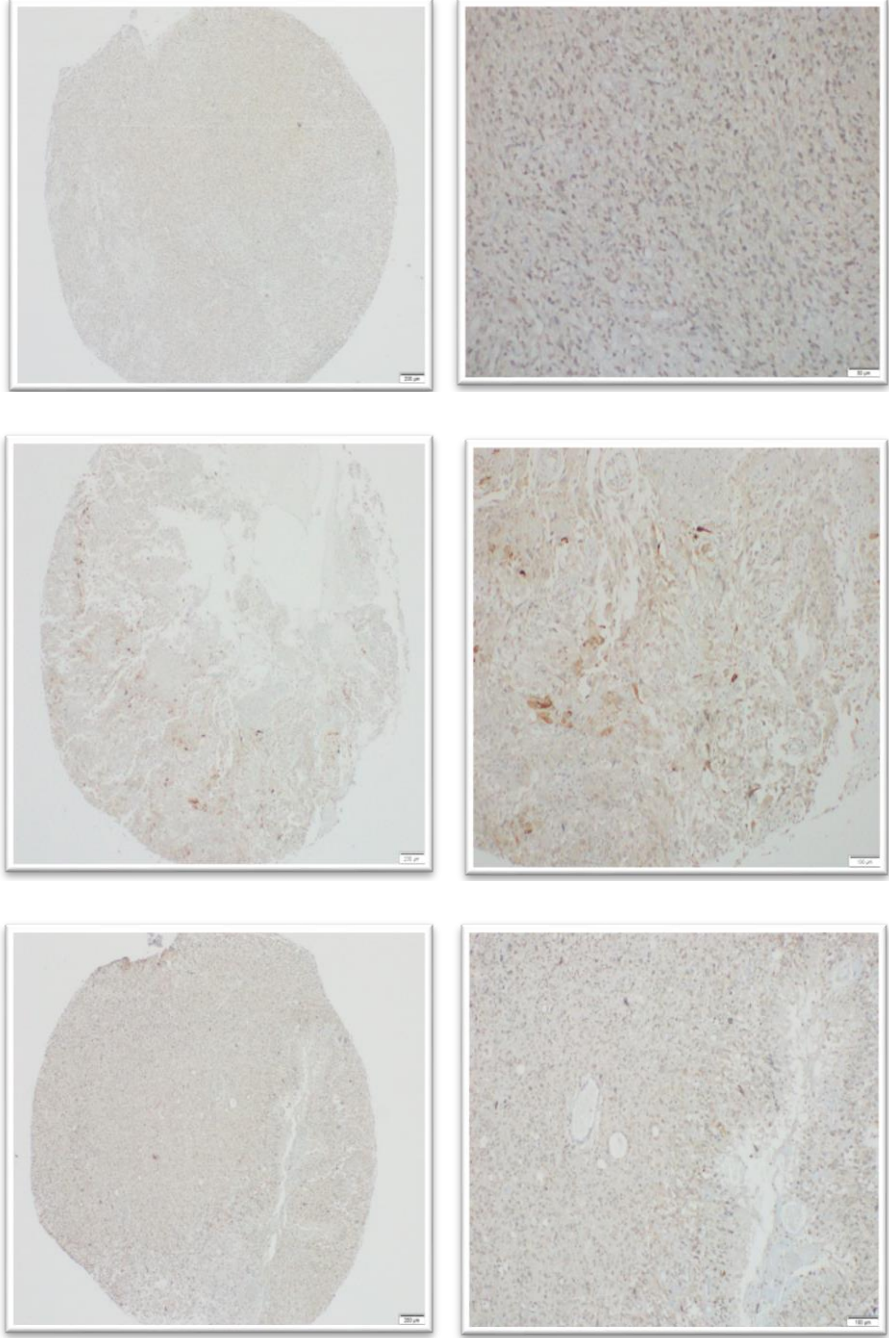


Resim 15. IDH1 kontrol

Bölümümüzde tanı almış anaplastik oligodendrogliom vakası



Resim 16. IDH1 Pozitif vakalardan örnekler



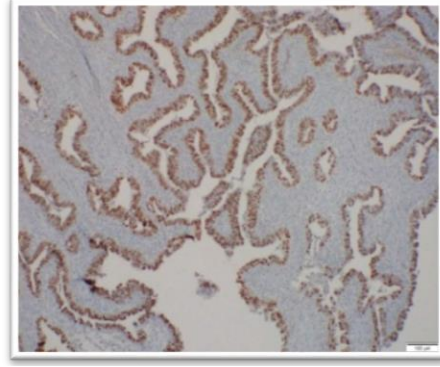
Resim 17. IDH1 negatif vakalardan örnekler

3.4.2. p53 boyamasının değerlendirilmesi

p53 immünhistokimyasal boyaması pek çok organ ve tümörde kullanılmaktadır. Wild tip p53 proteini kısa yarı ömrü nedeniyle genellikle immünhistokimyasal olarak saptanmaz; fakat mutant protein yıkımdan kaçıp hücrede akümüle olduğu için immünhistokimyasal pozitifliğe neden olur (77). “Polimeraz Zincir Reaksiyonu” (PCR) yöntemi ile mutant TP53 ile immünhistokimyasal olarak p53 ekspresyonları kar ıla tırıldığı çalışmalarda protein ekspresyonunu değerlendirilirken yaygınlık ve şiddetin skorlandığı; bir çalışmada %10’dan fazla kuvvetli boyanmanın TP53 mutasyonunu göstermede orta derecede duyarlı ve yüksek özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir (77). Bir başka çalışmada derece III erişkin diffüz gliomlarda mutant TP53’  göstermede p53 proteini boyanmasının pozitifliği için %10’dan fazla şiddetli boyanması sınır kabul edilmiş ve bu sınırın prognostik olarak anlamlı olduğu görülmüştür (78). Astrositik neoplazilerdeki p53 ekspresyonu ile proliferasyonun kar ıla tırıldığı bir çalışmada ise p53 negatiflik kriteri olarak 10 büyük büyütme alanında 1’den az hücrede zayıf nükleer pozitiflik olması negatif olarak değerlendirilmiştir (79). Meningiomlardaki KI67 ve p53 ekspresyonlarının incelendiği bir çalışmada ise p53 ekspresyon yaygınlığı 0, %0-25 ve >%25 olmak üzere üç kategoride incelenmiştir (80).

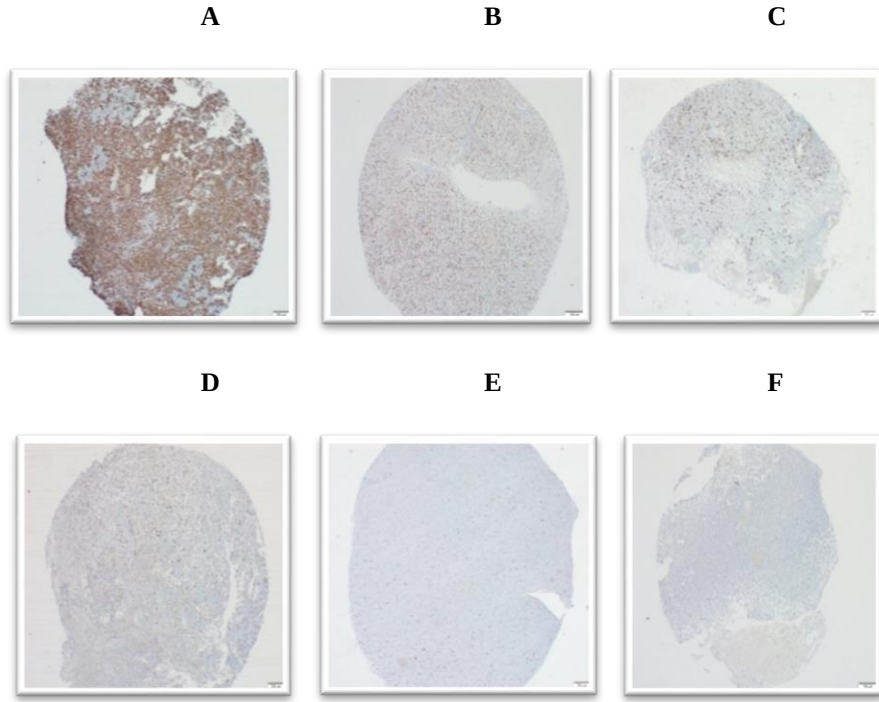
Çalışmamızda bu yayınlarda kullanılan DO7 klonu kullanılmıştır. Kontrol dokusu bölümümüzde tanı alan, diffüz kuvvetli nükleer ekspresyon gösteren overin seröz karsinomlarından birinden punch yapılmıştır (Resim 18). p53 yaygınlığı yüzde olarak, en az 1000 hücrede nükleer ekspresyon oranına göre

verilmiştir (Resim 19). Boyanma şiddeti için mikroskopta x40 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmede kolaylıkla görülebilen koyu renkte boyanmalar “kuvvetli (3)”, x100 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmede görülebilen boyanmalar “orta şiddette (2)”, x400 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmede görülebilen boyanmalar “zayıf (1)” olarak değerlendirilmiştir. Bu skorlamaları homojen ya da heterojen oldukları durumlara göre 1=1, 1-2=2; 2=3; 2-3=4 ve 3=5 olmak üzere 5 kategoride analiz edilmiştir (Resim 20).



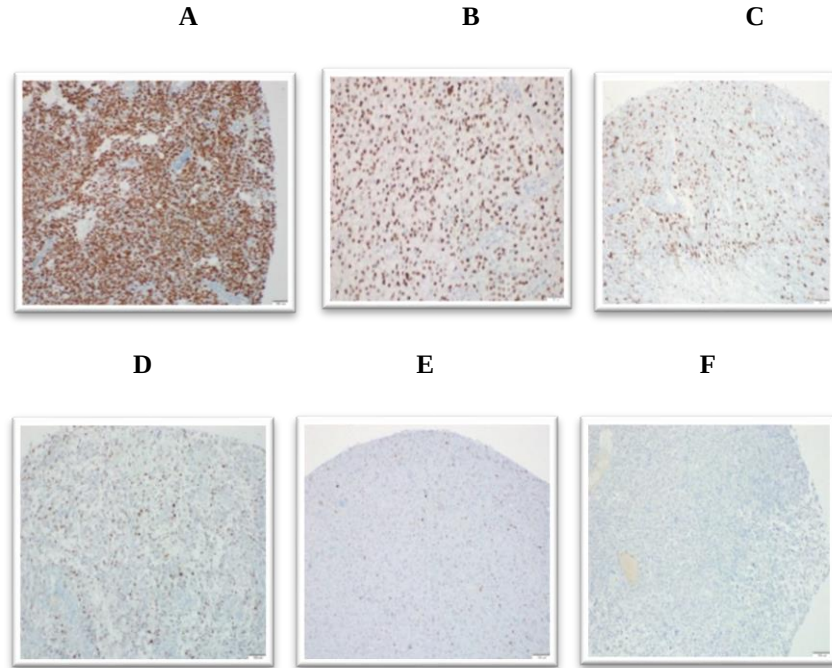
Resim 18. p53 kontrol

Bölümümüzde tanı almış overin seröz karsinomu



Resim 19. p53 boyanma yaygınlıkları

A:%95, B:%80 C:%30, D: 20, E:%10, F:Negatif

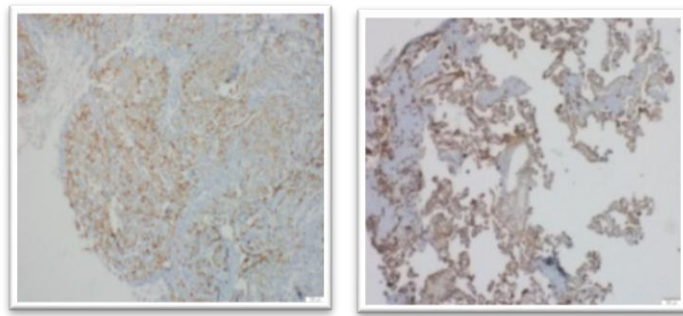


Resim 20. p53 boyanma şiddetleri

A:3, B:2-3 C:2, D:1-2, E:1; F:0

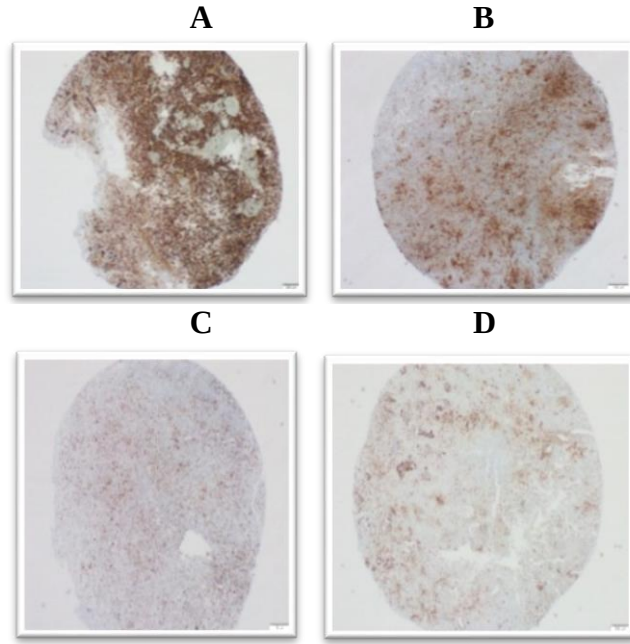
3.4.3. RPS6 boyamasının değerlendirilmesi

İnsan beyin tümörlerinde mTORC1 yolağı proteinlerinin fosforile hallerinin saptanmasına yönelik çalışmada floresan in situ hibridizasyonla da korele edilerek saptanan fosforile RSP6'nın ekspresyonunun güvenilirliği için ideal şartlar üzerinde durulmaktadır (81). Literatürde glial tümörlerdeki pozitiflik sınırına dair net bir veri bulunamadığından çalışmamızda hepatosellüler karsinomlarda RPS6 ekspresyonu için kullanılan skorlamadan faydalanılmıştır. Bu çalışmada yaygınlık skoruları 0=%0, 1=%1-25, 2=%26-50, 3=%51-75 ve 4=%56-100 olarak belirlenmiş, skor 3 ve üzeri pozitif kabul edilmiştir. Boyanma şiddetleri 0=yok; 1=zayıf 2=orta şiddette, 3=kuvvetli olarak belirlenmiş ve yine skor 3 ve üzeri olduğunda pozitif kabul edilmiştir. İkisinden birinin pozitifliği yeterli olarak görülmüştür. (82). Çalışmamızda kullanılan kontrol dokuları bölümümüzde tanı almış invaziv duktal meme karsinomu ve plasenta dokusundan punch yapılmıştır (Resim 21).



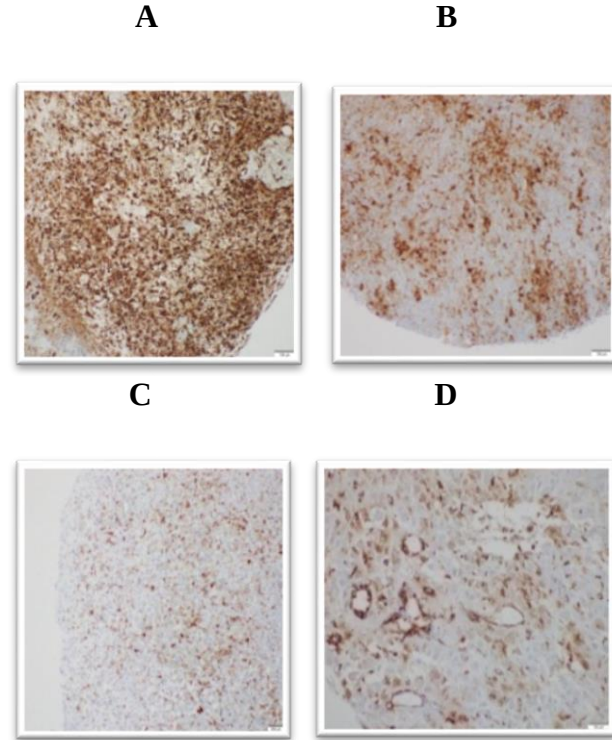
Resim 21. RPS6 kontrol

Bölümümüzde tanı almış invaziv duktal meme karsinomu ve plasenta dokuları



Resim 22. RPS6 boyanmalarının yaygınlıkları

A:%95, B:%70, C:%55, D:%40

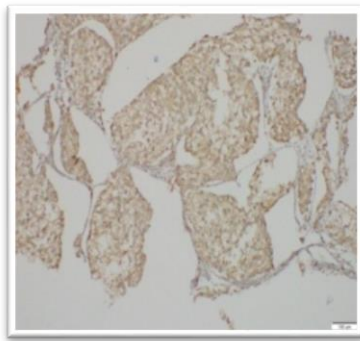


Resim 23. RPS6 boyanmalarının şiddetleri

A:3, B:2-3, C:1-2, D:2

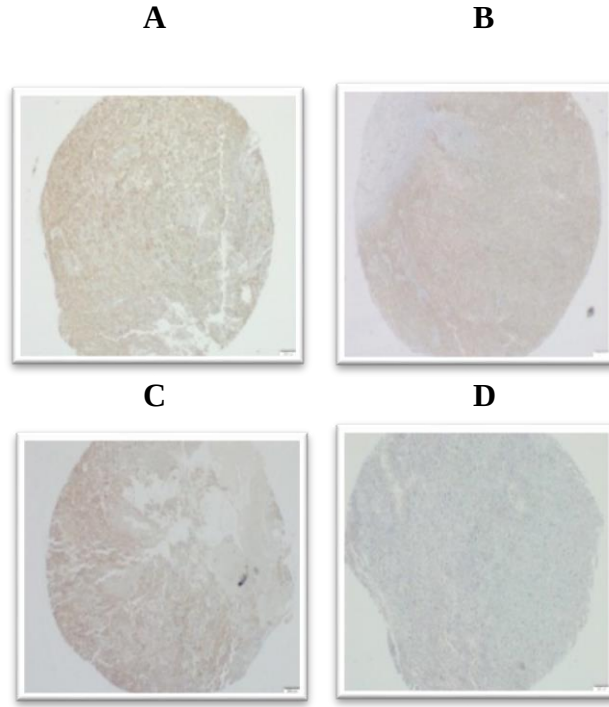
3.4.4. pAKT boyamasının değerlendirilmesi

Artmış AKT ekspresyonunun kötü prognozla ilişkisini göstermede kullanılan pAKT antikoru glioblastomlarda da yüksek oranda saptandığı çalışmalar mevcuttur (83). Anti-Phospho-Akt (Ser473) antikoru kullanıldığı bir çalışmada ekspresyon yaygınlığı yüzde olarak hesaplanıp 0, 0-%10, %10-50 ve >%50 olarak gruplanmıştır. %50'den fazla nükleer ya da sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. Glioblastomlardaki genel sağ kalımla karşılaştırma yapılan bu çalışmada pozitiflik sınırı anlamlı bir bulgu olarak bildirilmiştir (83). Çalışmamızda pAKT için kullandığımız kontrol, bölümümüzdeki akciğer adenokarsinomu tanı vakadan punch yapılmıştır (Resim 24). Ekspresyon yaygınlığı yüzde olarak, sitoplazmik ya da nükleer boyanmalara göre belirlenmiştir (Resim 25). Şiddet zayıf (1), orta şiddette (2) ve kuvvetli (3) olmak üzere üç kategoride değerlendirdi; bunların skorlamaları ise 1=1, 1-2=2; 2=3; 2-3=4 ve 3=5 olmak üzere 5 kategoride analiz edilmiştir (Resim 26).



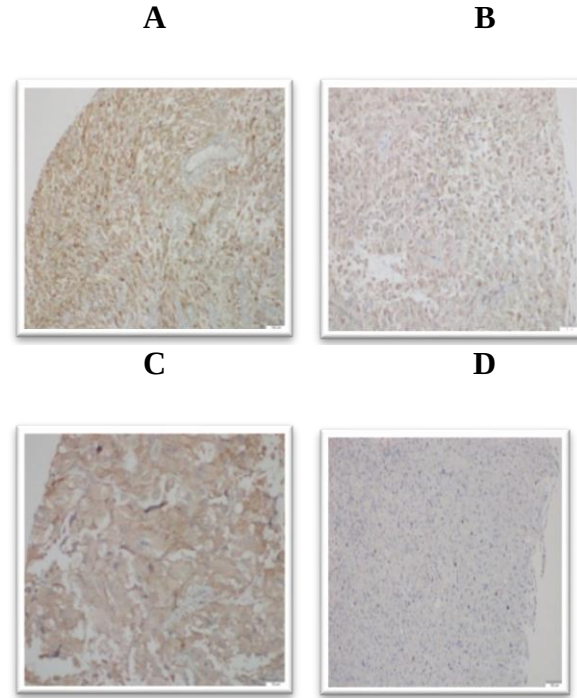
Resim 24. pAKT kontrol

Bölümümüzde tanı almış akciğer adenokarsinomu



Resim 25. pAKT boyanmalarının yaygınlıkları

A:%95, B:%85, C:%60, D:%5



Resim 26. pAKT boyanmalarının şiddetleri

A:3, B:1-2, C:2, D:1

3.5. İstatistiksel Analiz

Araştırma verisi SPSS 22.0 istatistik paket programı aracılığıyla değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler ortalama($\pm$)standart sapma, ortanca (min;maks), frekans dağılımı ve yüzde olarak sunulmuştur. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak değerlendirilmiştir. Kategorik değişkenler için gruplar arasında sıklık bakımından fark olup olmadığı Ki-Kare testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan normallik analizleri sonucu sayısal değişkenlerin normal dağılım göstermediği saptanmıştır. Gruplar arasında yapılan karşılaştırma analizleri Mann-Whitney u testi (bağımsız iki grup) ve Kruskal Wallis testi (bağımsız 3 ve üzerinde gruplar) ile değerlendirilmiştir. Yapılan korelasyon analizleri için spearman korelasyon testi kullanılmıştır. Genel sağkalım hızı hesaplanırken Kaplan Meier sağkalım eğrileri kullanılmıştır. Bazı prediktörlere göre sağkalım sürelerinin karşılaştırılmasında Log Rank testi kullanılmıştır. Cox regresyon analizi sonucu bağımsız prediktörlere ait elde edilen Hazard Ratio(OR) değerleri %95 Güven aralığı ile sunulmuştur. Bu çalışmanın İstatistiksel anlamlılık değeri $p \leq 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

3.6. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Etik Komisyonu'ndan 12.02.2019 tarihinde 02 sayılı toplantısında, 77082166-604.01.02- karar numaralı etik kurul onayı almıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışmamızda glioblastom tanısı almış 349 olgu değerlendirilmiştir. Hastaların %39,3'ü kadın, %60,7'si erkektir. Hastaların yaş aralığı 4-83 olup, ortalama yaş hasta yaşı $55,9 \pm 13,3$ 'tür. Hastaların ilk kez glioblastom tanısı aldıkları yaş ortalaması $54,5 \pm 13,5$ 'tir. Çalışmamıza başlama tarihimiz olan 1 Mart 2019 tarihine kadarki ortalama takip süresi $16,2 \pm 16,2$ ay olup ulaşılan epikrizlerde en uzun takip süresi 101 aydır. Hastane sistemimizdeki bilgilere göre bir kısmı b d l ü m ü m ü z d e , bir kısmı d ı ŝ merkezde olmak üzere 28 (%8) olgunun glioblastom tanısı öncesinde derece II veya III glial t ü m ö r veya non-glial SSS t ü m ö r ü ö y k ü s ü olduğu belirlenmiştir. Bu olguların 8'i (%34,6) diffüz astrositom, 1'i (%3,8) oligodendrogliom, 1'i (%3,8) oligoastrositom, 7'si (%26,9) anaplastik astrositom, 1'i (%3,8) anaplastik oligodendrogliom, 4'ü (%15,4) anaplastik oligoastrositom, 2'si (7,7) pilositik astrositom ve 1'i (%3,8) medulloblastom olarak raporlanmıştır. 1 Mart 2019 tarihi itibariyle olguların 315 tanesinin (%90,3) öldüğü bilgisine ulaşılmıştır. Olguların 34 (%9,7) tanesinin sistemimizdeki kayıtlardan ya da iletişim numaralarından öğrenildiğine göre sağ oldukları bilgisine ulaşılmıştır. Takip süresi boyunca glioblastom nüksü nedeniyle tekrar opere olan 48 olgu (%13,8) mevcuttur. (Tablo 5)

Tablo 5. Glioblastom hastalarının demografik ve klinik özellikleri

Parametreler (N=349)	
Cinsiyet, n (%)	
Erkek	212 (60,7)
Kadın	137 (39,3)
Yaş (yıl)	
Ortalama $\pm$ SS	55,9 $\pm$ 13,3
Ortanca(min-max)	58,5(4-83)
Tanı Yaşı (yıl)	
Ortalama $\pm$ ss	54,5 $\pm$ 13,5
Ortanca (min-max)	56,7(3-82)
Takip Süresi (ay)	
Ortalama $\pm$ SS	16,2 $\pm$ 16,2
Ortanca(min-max)	12,4(0-101)
Derece II veya III glial tümör / non-glial SSS tümörü öyküsü, n (%)	
Var	28 (8)
Yok	321 (92)
Derece II veya III glial tümör / non-glial SSS tümör tipleri (n=26), n (%)	
Diffüz astrositom	9 (34,6)
Oligodendrogliom	1 (3,8)
Oligoastrositom	1 (3,8)
Anaplastik astrositom	7 (26,9)
Anaplastik oligodendrogliom	1 (3,8)
Anaplastik oligoastrositom	4 (15,4)
Pilositik astrositom	2 (7,7)
Medulloblastom	1 (3,8)
Ölüm Durumu, n (%)	
Yok	34 (9,7)
Var	315 (90,3)
Nüks Durumu, n (%)	
Yok	301(86,2)
Var	48 (13,8)
SS:Standart Sapma	

4.2. Olguların Başlıca Histolojik Özellikleri

Olguların arşivimizdeki lamalarının tekrar değerlendirilmesi sırasında bakılan başlıca histolojik özellikler şunlardır: Spesifik hücre varlığı ve tipi, düşük dereceli histoloji varlığı ve tipi, vasküler endotelyal proliferasyon yaygınlığı, nekroz yaygınlığı, mitoz indeksi (1 Büyük Büyütme Alanı (BBA)’nda sayılan en fazla mitoz ve 10 BBA’ndaki yaklaşık ortalama mitoz sayısı).

Spesifik hücre tipine sahip 26 olgunun 13'ü (%60) dev hücreli glioblastom, 6'sı (%23) gemistositik glioblastom, 6'sı (%23) küçük hücreli glioblastom, 1'i (%4) gliosarkom subtipine uymaktaymıştır. Olgulara ait tüm lamalar değerlendirildiğinde 110'unda (%31,5) çevrede daha düşük dereceli (derece II veya III) glial tümör alanları izlenmiş olup bu olguların 60'ının (%54,5) diffüz astrositom, 9'unun (%8,2) oligodendrogliom, 41'inin (%37,3) anaplastik astrositom histolojisine sahip alanlar içerdiği görülmüştür. Vasküler endotelyal proliferasyonun yoğun ve seyrek olarak sınıflandırıldığında, olguların 61'inin (%17,5) seyrek, 288'inin (%82,5) yoğun şekilde vasküler endotelyal proliferasyon içerdiği görülmüştür. Nekroz yaygınlığı viabl tümöre oranla, yüzde olarak, ortalama $23,1 \pm 23$ iken bu oranın 0 ile 98 arasında değiştiği saptanmıştır. 1 BBA'nda sayılan maksimum mitoz ortalama $4,46 \pm 3,3$ olup 0 ile 22 aralığında değişmekte imiştir. En az 10 farklı 10 BBA'nda mitoz sayılıp, yaklaşık olarak ortalaması hesaplanmış, buna göre ortalama $10 \pm 9,4$ olup 0 ile 68 arasında değişen sonuçlar elde edilmiştir. (Tablo 6)

Tablo 6. Glioblastomların başlıca histolojik özellikleri

Parametreler (N=349)	
Spesifik hücre tipi (n=26), n (%)	
Dev hücreli	13 (50)
Gemistositik	6 (1,7)
Küçük hücreli	6 (1,7)
Gliosarkom	1 (0,3)
Düşük dereceli histoloji varlığı, n (%)	
Yok	239 (68,5)
Var	110 (31,5)
Düşük dereceli histoloji tipleri (n=110), n (%)	
Diffüz astrositom	60 (54,5)
Oligodendrogliom	9 (8,2)
Anaplastik astrositom	41 (37,3)
Vasküler endotelial proliferasyon yoğunluğu, n (%)	
Seyrek	61 (17,5)
Yoğun	288 (82,5)
Nekroz yaygınlığı, %	
Ortalama $\pm$ SS	23,1 $\pm$ 23
Ortanca (min-max)	15 (0-98)
Mitoz 1BBA maksimum	
Ortalama $\pm$ SS	4,46 $\pm$ 3,3
Ortanca (min-max)	4 (0-22)
Mitoz 10BBA ortalama	
Ortalama $\pm$ SS	10 $\pm$ 9,4
Ortanca (min-max)	7(0-68)
SS:Standart Sapma	

4.3. Olguların İmmünohistokimyasal Boyanma Durumları

4.3.1. IDH1 ekspresyon durumları

Literatürdeki kriterler (1, 12, 44) dikkate alınarak değerlendirildiğinde 62 (%17,8) olguda IDH1 ile pozitif boyanma elde edilmiştir. (Tablo 7)

Tablo 7. Glioblastomların IDH1 ekspresyon durumları

Parametreler (N=349)	
IDH ekspresyonu, n (%)	
Pozitif	62 (17,8)
Negatif	287 (82,2)

4.3.2. p53 ekspresyon durumları

Olguların p53 ekspresyonları yaygınlık olarak yüzde şeklinde, şiddet olarak 1, 1-2, 2, 2-3 ve 3 olmak üzere skorlanmıştır. Ortalama p53 ekspresyon yaygınlığı % 25,1±27,2 olup 0 ile %95 arasında değişmekteymiştir. Şiddet skorlaması 5 kategoride değerlendirildiğinde 86 olguda (%27,8) zayıf ekspresyon, 150 olguda (%48,5) zayıf-orta şiddette ekspresyon, 6 olguda (%1,9) orta şiddette ekspresyon, 60 olguda (%19,4) orta şiddette-kuvvetli ekspresyon ve 7 olguda (%2,3) kuvvetli ekspresyon izlenmiştir (Tablo 8). Sperman korelasyon katsayısına göre yaygınlık ve şiddet arasında korelasyon mevcuttur (Tablo 9).

Literatürle (77-79) benzer şekilde p53 ekspresyon yaygınlığı %10 ve üzeri olanlar pozitif, %10'dan az olanlar negatif kabul edildiğinde 38 olgu (%10,9) negatif iken 311 olgu (%89,1) pozitif grupta yer almaktadır.

Yine literatürden bir çalışmadaki (80) gibi glioblastom ekspresyon yaygınlığı %0, %0-25 ve >%25 olmak üzere üç grupta değerlendirildiğinde 38 olguda (%10,9) %0, 182 olguda (%52,1) %0-25 aralığında ekspresyon, 129 olguda ise (%37) >%25 ekspresyon saptanmıştır. (Tablo 8)

Tablo 8. Glioblastomların p53 ekspresyon durumları

Parametreler (N=349)	
p53 ekspresyonu yaygınlığı, %	
Ortalama $\pm$ SS	25,1 $\pm$ 27,2
Ortanca (min-max)	10 (0-95)
p53 ekspresyon şiddeti, (n=326), n (%)	
1	86 (27,8)
1-2	150 (48,5)
2	6 (1,9)
2-3	60 (19,4)
3	7 (2,3)
p53 ekspresyonu grupları, (ikili), n (%)	
Negatif	38 (10,9)
Pozitif	311 (89,1)
p53 ekspresyonu grupları, (üçlü), n (%)	
Negatif	38 (10,9)
%1-25	182 (52,1)
>%25	129 (37)
SS:Standart Sapma	

Tablo 9. p53 yaygınlığı ile p53 şiddeti arasındaki ilişki

	p53 şiddeti r (p)
p53 yaygınlığı	-0,671(<0,001)
r: rho, Spearman korelasyon katsayısı	

4.3.3. RPS6 ekspresyon durumları

349 olgudan 326 tanesinde RPS6 antikoru ile optimum boyanma elde edilmiştir. Olguların RPS6 ekspresyonları yaygınlık olarak yüzde şeklinde, şiddet olarak 1, 1-2, 2, 2-3 ve 3 olmak üzere skorlanmıştır. Ortalama RPS6 ekspresyon yaygınlığı % 48,8 $\pm$ 26,7 olup %1 ile %95 arasında değişmektedir. Şiddet skorlaması 5 kategoride değerlendirildiğinde 9 olguda (%2,8) zayıf ekspresyon, 28 olguda (%8,6) zayıf-orta şiddette ekspresyon, 59 olguda (%18,1) orta şiddette ekspresyon, 221 olguda (%67,8) orta şiddette-kuvvetli ekspresyon ve 9 olguda

(%2,8) kuvvetli ekspresyon izlenmiştir (Tablo 10). Sperman korelasyon katsayısına göre yaygınlık ve şiddet arasında korelasyon mevcuttur (Tablo 11).

Literatürle (82) benzer şekilde RPS6 ekspresyon yaygınlığı skorları 1=%1-25, 2=%26-50, 3=>%50 olarak gruplandığında olguların 79 tanesi (%24,2) skor 1, 100 tanesi (%30,7) skor 2 ve 147 tanesi (%45,1) skor 3 grubuna girmektedir. Yaygınlık grubu ya da şiddeti 3 olan vakalar pozitif kabul edildiğinde ise 147 olgu (%45,1) pozitif, 179 olgu (%54,9) negatif grupta yer almaktadır. (Tablo 10)

Tablo 10. Glioblastomların RPS6 ekspresyon durumları

Parametreler (N=326)	
RPS6 ekspresyonu yaygınlığı, %	
Ortalama $\pm$ SS	48,8 $\pm$ 26,7
Ortanca (min-max)	50 (1-95)
RPS6 ekspresyon şiddeti, n (%)	
1	9 (2,8)
1-2	28 (8,6)
2	59 (18,1)
2-3	221 (67,8)
3	9 (2,8)
RPS6 ekspresyonu grupları, (ikili), n (%)	
Negatif	179 (54,9)
Pozitif	147 (45,1)
RPS6 ekspresyon grupları, (üçlü) n (%)	
%1-25	79 (24,2)
%26-50	100 (30,7)
>%50	147 (45,1)
SS:Standart Sapma	

Tablo 11. RPS6 yaygınlığı ile RPS6 şiddeti arasındaki ilişki

	RPS6 Şiddeti r (p)
RPS6 Yaygınlığı	-0,457(<0,001)
r: rho, Spearman korelasyon katsayısı	

4.3.4. pAKT ekspresyon durumları

349 olgudan 309 tanesinde pAKT antikoru ile optimum boyanma elde edilmiştir. Olguların RPS6 ekspresyonları yaygınlık olarak yüzde şeklinde, şiddet olarak 1, 1-2, 2, 2-3 ve 3 olmak üzere skorlanmıştır. Ortalama pAKT ekspresyon yaygınlığı % 60,4±30,7 olup 0 ile %95 arasında değişmekteymiştir. Şiddet skorlaması 5 kategoride değerlendirildiğinde 58 olguda (%20,9) zayıf ekspresyon, 112 olguda (%40,4) zayıf-orta şiddette ekspresyon, 44 olguda (%15,9) orta şiddette ekspresyon, 58 olguda (20,9) orta şiddette-kuvvetli ekspresyon ve 5 olguda (%1,8) kuvvetli ekspresyon izlenmiştir (Tablo 12). Sperman korelasyon katsayısına göre yaygınlık ve şiddet arasında korelasyon mevcuttur (Tablo 13).

Literatürle (83) benzer şekilde pAKT ekspresyon yaygınlığı 0, 0-50 ve >%50 olarak gruplandığında olguların 32 tanesi (%10,4) birinci grupta, 50 tanesi (%16,2) ikinci grupta ve 227 tanesi (%73,5) üçüncü grupta yer almaktaymıştır. Ekspresyon yüzde ve skoruna bakılmaksızın var - yok şeklinde gruplandığında ise 32 olguda (%10,4) ekspresyon yok iken, 277 olguda (%89,6) ekspresyonun var olduğu görülmüştür (Tablo12).

Tablo 12. Glioblastomların pAKT ekspresyon durumları

Parametreler (N=309)	
pAKT ekspresyonu yaygınlığı, %	
Ortalama $\pm$ SS	60,4 (30,7)
Ortanca (min-max)	70 (0-98)
pAKT ekspresyon şiddeti, (n=277), n (%)	
1	58 (20,9)
1-2	112 (40,4)
2	44 (15,9)
2-3	58 (20,9)
3	5 (1,8)
pAKT ekspresyonu grupları, (ikili), n (%)	
Negatif	32 (10,4)
Pozitif	277 (89,6)
pAKT ekspresyon grupları, (üçlü) n (%)	
Negatif	32 (10,4)
<%50	50 (16,2)
≥%50	227 (73,5)
SS:Standart Sapma	

Tablo 13. pAKT Yaygınlığı ile pAKT Şiddeti Arasındaki İlişki

	pAKT Şiddeti r (p)
pAKT Yaygınlığı	-0,404(<0,001)
r: rho, Spearman korelasyon katsayısı	

4.4. Olguların IDH1 Ekspresyon Özelliklerine Göre Karşılaştırılması

4.4.1. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif grupların demografik özelliklerinin karşılaştırılması

IDH1 ekspresyonu pozitif olan olgularda yaş ortalaması $52 \pm 12,2$ iken IDH1 ekspresyonu negatif olgularda yaş ortalamasının $56,7 \pm 13,4$ olduğu görülmüştür. Bu farklılık için Mann-Whitney U testi uygulandığında p değeri 0,004 bulunmuştur. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif vakaların yaş ortalaması

arasındaki fark anlamlı olup, IDH1 pozitif glioblastomlar, IDH1 negatif glioblastomlara göre daha genç yaşta görülmektedir. (Tablo 14)

Bu iki grup, tanı yaşı açısından karşılaştırıldığında IDH1 pozitif vakaların ortalama $50,4 \pm 12,6$ yaşında tanı aldığı, buna karşın IDH1 negatif glioblastomların $55,4 \pm 13,6$ yaşında tanı aldığı görülmüştür. Bu farklılık için Mann-Whitney U testi uygulandığında p değeri 0,004 bulunmuştur. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif vakaların tanı yaşı ortalaması arasındaki fark anlamlı olup, IDH1 pozitif glioblastomların tanı yaşı, IDH1 negatif glioblastomlara göre daha küçüktür. (Tablo 14)

IDH1 pozitif ve IDH1 negatif vakalar arasında cinsiyet açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ortalama 16,2 aylık takipte glioblastom nüksü nedeniyle tekrar opere olma durumları arasında 2 grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Yine aynı süre takipte ölüm oranları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 14).

Olguların geçmişte derece II veya III glial tümör, veya non-glial SSS tümör öyküsü açısından karşılaştırıldığında IDH1 pozitiflerin 10 tanesinde (%16,1), IDH1 negatiflerin ise 18 tanesinde (%6,3) böyle bir öykünün mevcut olduğu görülmüştür. Fisher Ki-Kare testine göre p değeri 0,017 bulunmuştur. Bu fark anlamlı olarak kabul edilmiştir. IDH1 pozitif glioblastomlarda, IDH1 negatif glioblastomlara göre, derece II veya III glial tümör, veya non-glial SSS tümör öyküsü olma sıklığı daha fazladır. (Tablo 14)

Tablo 14. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif gruplar arasında demografik özelliklerin karşılaştırılması

N=349	IDH1 pozitif 62 (%17,8)	IDH1 negatif 287 (%82,2)	P
Yaş (yıl)			0,004¹
Ortalama ±SS	52 ±12,2	56,7 ±13,4	
Ortanca(min-max)	52,1 (31-72)	59(4-83)	
Tanı yaşı (yıl)			0,004¹
Ortalama ±SS	50,4 ±12,6	55,4 ±13,6	
Ortanca(min-max)	50,7 (29-71)	57,6 (3-82)	
Cinsiyet, n (%)			0,634 ²
Erkek	36(58,1)	176 (61,3)	
Kadın	26(41,9)	111 (38,7)	
Nüks durumları, n (%)			0,676 ³
Var	7 (11,3)	41 (14,3)	
Yok	55 (88,7)	246 (85,7)	
Ölüm durumları, n (%)			0,102 ³
Var	52 (83,9)	263 (91,6)	
Yok	10 (16,1)	24 (8,4)	
Derece II veya III glial tümör / non-glial SSS tümörü öyküsü n (%)			0,017⁴
Var	10 (16,1)	18 (6,3)	
Yok	52 (83,9)	269 (93,7)	
SS:Standart Sapma			
¹ Mann-Whitney U testi		³ Continuity Correction Ki-Kare testi	
² Pearson Ki-kare Testi		⁴ Fisher Ki-Kare testi	

4.4.2. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif grupların histolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Olguların nekroz oranı, VEP yaygınlıkları, mitoz sayıları (yaklaşık maksimum mitoz/1BBBA ve n=yaklaşık mitoz sayısı / 10BBA) ve düşük dereceli glial tümör histolojisine sahip olma durumları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak Mann-Whitney U testi ve Ki-Kare testi'nde anlamlı farklılıklar saptanmamıştır (p değerleri >0,01). IDH1 pozitif ve IDH1 negatif glioblastomlar, tarafımızca değerlendirilen histolojik özellikler açısından anlamlı farklılık göstermemektedir. (Tablo 15)

Tablo 15. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif gruplar arasında histolojik özelliklerin karşılaştırılması

N=349	IDH1 pozitif 62 (%17,8)	IDH1 negatif 287 (%82,2)	P
Nekroz (%)			0,730 ¹
Ortalama ±SS	23 ±24,7	23 ±22,5	
Ortanca(min-max)	15(1-98)	15(0-98)	
Vasküler endotelial proliferasyon, n (%)			0,389 ²
Seyrek	8 (12,9)	53 (18,5)	
Yoğun	54 (87,1)	234 (81,5)	
Mitoz, n=yaklaşık maksimum mitoz sayısı/1BBA			0,926 ¹
Ortalama ±SS	4,6 ±3,6	4,4 ±3,2	
Ortanca(min-max)	4 (1-22)	4 (0-20)	
Mitoz, n=yaklaşık mitoz sayısı / 10BBA			0,782 ¹
Ortalama ±SS	9,8 ±10,4	9,5 ±9,2	
Ortanca(min-max)	8 (1-68)	6 (0-52)	
Düşük dereceli histoloji, n(%)			0,773 ²
Var	21 (33,9)	89 (31)	
Yok	41 (66,1)	198 (69)	
SS:Standart Sapma			
¹ Mann-Whitney U testi			
² Continuity Correction Ki-Kare testi			

4.4.3. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif grupların diğer immünohistokimyasal

boyanmalar ile karşılaştırılması

IDH1 pozitif ve IDH1 negatif glioblastomların p53, RPS6 ve pAKT ekspresyon durumları ile karşılaştırılmaları yapılmıştır. Her üç antikorun ekspresyon yaygınlıkları, şiddetleri, yukarıda belirtildiği gibi belirlenen üçlü grupları ve pozitif/negatif durumları IDH1 ekspresyon grupları ile karşılaştırılmıştır. (Tablo 16)

p53 yaygınlığının ortalaması IDH1 pozitif olan grupta 34,2±32,3 iken IDH1 negatif grupta 23,1±25,6 bulunmuştur. Bu farklılık Mann-Whitney U testi ile analiz edildiğinde p değeri 0,022 olduğundan anlamlı olabileceği

düşünülmüştür. IDH1 pozitif olan grubun p53 ekspresyon yaygınlığının daha yüksek olduğu söylenebilir. (Tablo 16) p53 şiddeti, pozitif/negatif grupları ve üçlü grupları ile IDH1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. (Tablo 16 ve Tablo 17)

RPS6 yaygınlığının ortalaması IDH1 pozitif olan grupta $41,2 \pm 25,9$ iken IDH1 negatif grupta $50 \pm 26,6$ bulunmuştur. Bu farklılık Mann-Whitney U testi ile analiz edildiğinde p değeri 0,016 olduğundan anlamlı bulunmuştur. IDH1 negatif olan grubun RPS6 ekspresyon yaygınlığı daha yüksektir. RPS6 şiddeti ile IDH1 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. (Tablo 16)

RPS6 ekspresyon yaygınlığı üç gruba ayrıldığında IDH1 pozitif grupta zayıf eksprese olanların oranının yüksek olduğu (%31), IDH1 negatif grupta ise kuvvetli eksprese olanların oranının yüksek olduğu (%48,9) görülmüştür. Ki-kare testine göre p değeri 0,012 olduğundan bu farklılık anlamlıdır. Benzer şekilde RPS6 ekspresyonu negatif ve pozitif olarak gruplandığında da IDH1 pozitif olanların %27,6'sı RPS6 pozitif iken, IDH1 negatif olanların %48,9'u RPS6 pozitifdir. Bu farklılık Ki-kare testinde p değeri 0,005 olduğundan anlamlıdır. IDH1 negatif glioblastomlar IDH1 pozitif glioblastomlara göre RPS6'yı daha yüksek oranda eksprese etmektedir (Tablo 17). pAKT ekspresyonu ile IDH1 durumu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 16 ve Tablo 17).

Tablo 16. IDH1 ile p53, RPS6 ve pAKT boyanmalarının yaygınlık ve şiddetlerine göre karşılaştırılması

N=349	IDH1 pozitif 62 (%17,8)	IDH1 negatif 287 (%82,2)	P
P53 yaygınlığı (yüzde)			0,022¹
Ortalama ±SS	34,2 ±32,3	23,1 ±25,6	
Ortanca(min-max)	30 (0-95)	10 (0-95)	
P53 şiddeti			0,893¹
Ortalama ±SS	2,2 ±1,1	2,2 ±1,1	
Ortanca(min-max)	2 (1-5)	2 (1-5)	
RPS6 yaygınlığı (yüzde)			0,016¹
Ortalama ±SS	41,2 ±25,9	50 ±26,6	
Ortanca(min-max)	40 (1-95)	50 (1-95)	
RPS6 şiddeti			0,682¹
Ortalama ±SS	3,5 ±0,9	3,6 ±0,8	
Ortanca(min-max)	4 (1-5)	4 (1-5)	
pAKT yaygınlığı (yüzde)			0,580¹
Ortalama ±SS	61,5 ±31,6	60,1 ±30,6	
Ortanca(min-max)	80 (0-95)	70 (0-98)	
pAKT şiddeti			0,810¹
Ortalama ±SS	2,5 ±1,2	2,4 ±1,1	
Ortanca(min-max)	2 (1-5)	2 (1-5)	
SS:Standart Sapma			
¹ Mann-Whitney U testi			

Tablo 17. IDH1 ile p53, RPS6 ve pAKT boyanmalarının gruplanmalarına göre karşılaştırılması

N=349	IDH1 pozitif 62 (%17,8)	IDH1 negatif 287 (%82,2)	P
P53 durumu, n (%)			0,027 ¹
Negatif	4 (6,5)	34(11,8)	
%1-25	26 (41,9)	156 (54,4)	
>%25	32 (51,6)	97 (33,8)	
p53 durumu, n (%)			0,266 ²
Negatif	4 (6,5)	34 (11,8)	
Pozitif	58 (93,5)	253 (88,2)	
RPS6 durumu, n (%)			0,012¹
Zayıf (%1-25)	18 (31)	61(22,8)	
Orta (%26-50)	24 (41,4)	76 (28,4)	
Kuvvetli (>%51)	16 (27,6)	131 (48,9)	
RPS6 durumu, n (%)			0,005²
Negatif	42 (72,4)	137 (51,1)	
Pozitif	16 (27,6)	131 (48,9)	
pAKT durumu, n (%)			0,888 ¹
Negatif	6 (10,5)	26 (10,3)	
<%50	8 (14)	42 (16,7)	
≥%50	43 (75,4)	184 (73)	
pAKT durumu, n (%)			1,000 ²
Negatif	26 (10,3)	6 (10,5)	
Pozitif	226 (89,7)	51 (89,5)	
SS:Standart Sapma ¹ Pearson Ki-kare Testi ² Continuity Correction Ki-Kare testi			

4.5. Olguların p53 Ekspresyon Özelliklerine Göre Karşılaştırılması

p53 ekspresyonu ile diğer parametreler karşılaştırılırken ekspresyon yaygınlığının üç kategoriye ayrıldığı (Negatif, %1-25 ve >%26) gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır.

4.5.1. p53 ekspresyonu durumlarına göre olguların demografik özelliklerinin karşılaştırılması

Yaş ortalaması p53 ekspresyonu negatif olan grupta $58,8 \pm 12,4$, %1-25 olan grupta $57,6 \pm 11,5$, >%25 olan grupta $52,6 \pm 15,2$ olarak bulunmuştur. Bu farklılık için Mann-Whitney U testi uygulandığında p değeri 0,014 bulunmuştur.

p53 ekspresyonu yaygınlığı, daha genç hastalarda anlamlı şekilde daha yüksektir. (Tablo 18)

Bu üç grup, tanı yaşı açısından karşılaştırıldığında, p53 negatif grubun $57,5 \pm 12,6$ yaşında, %1-25 eksprese eden grubun $56,3 \pm 11,7$ yaşında ve $> \%26$ eksprese eden grubun $51,2 \pm 15,6$ yaşında tanı aldığı görülmüştür. Bu farklılık için Mann-Whitney U testi uygulandığında p değeri 0,015 bulunmuştur. Tıpkı hasta yaşı gibi tanı yaşı da p53 ekspresyonu yüksek olanlarda daha küçüktür (Tablo 18).

Üç grup arasında cinsiyet açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ortalama 16,2 aylık takipte glioblastom nüksü nedeniyle tekrar opere olma durumları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Yine aynı süre takipte ölüm oranları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 18).

Olguların geçmişte derece II veya III glial tümör, veya non-glial SSS tümör öyküsü açısından karşılaştırıldığında p53 negatif grupta hiç rastlanmazken, %1-25 eksprese eden grupta % 6,6 oranında, $> \%25$ eksprese eden grupta ise %12,4 oranında böyle bir öykünün -mevcut olduğu görülmüştür. Fisher Ki-Kare testine göre p değeri 0,028 bulunmuştur. Bu fark anlamlı olarak kabul edilebilir. p53 ekspresyonu yüksek olan glioblastomlarda derece II veya III glial tümör, veya non-glial SSS tümör öyküsü olma sıklığı daha fazladır. (Tablo 18)

Tablo 18. p53 ekspresyon grupları arasında demografik özelliklerin karşılaştırılması

N=349	Negatif n=38 (%10,9)	%1-25 ekspresyon n=182 (%52,1)	>%25 ekspresyon n=129 (%37)	P
Yaş (yıl)				0,014¹
Ortalama ±SS	58,8 ±12,4	57,6 ±11,5	52,6 ±15,2	
Ortanca (min-max)	59(17-79)	59(4-83)	55,6(9-79)	
Tanı yaşı (yıl)				0,015¹
Ortalama ±SS	57,5 ±12,6	56,3 ±11,7	51,2 ±15,6	
Ortanca (min-max)	58,8(17-79)	57(3-82)	54(8-79)	
Cinsiyet, n (%)				0,275²
Erkek	19 (%50)	116 (63,7)	77 (59,7)	
Kadın	19 (%50)	66 (36,3)	52 (40,3)	
Nüks durumları, n(%)				0,096²
Yok	37 (97,4)	153 (84,1)	111 (86)	
Var	1 (2,6)	29 (15,9)	18 (14)	
Ölümdurumları, n(%)				0,196²
Yok	1 (2,6)	17 (9,3)	16 (12,4)	
Var	37 (97,4)	165 (90,7)	113 (87,6)	
Derece II veya III glial tümör/non-glial SSS tümörü öyküsü, n (%)				0,028²
Yok	38 (100)	170 (93,4)	113 (87,6)	
Var	0 (0)	12 (6,6)	16 (12,4)	
SS:Standart Sapma				
¹ Mann-Whitney U testi				
² Pearson Ki-kare Testi				

4.5.2. p53 ekspresyonu durumlarına göre olguların histolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Olguların histolojik özellikleri ile p53 ekspresyonları karşılaştırıldığında, VEP yaygınlıkları ve 10BBA'daki yaklaşık maksimum mitoz sayıları p53 ekspresyonu yüksek grupta anlamlı olarak daha fazladır (p değerleri sırasıyla 0,037 ve 0,021). Buna karşın nekroz oranı, 1BBBA'daki yaklaşık maksimum mitoz sayıları ve düşük dereceli glial tümör histolojisine sahip olma durumları

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak Mann-Whitney U testi ve Ki-Kare testi'nde anlamlı farklılıklar saptanmamıştır (p değerleri >0,05) (Tablo 19)

Tablo 19. p53 ekspresyon grupları arasında histolojik özelliklerin karşılaştırılması

N=349	Negatif n=38 (%10,9)	%1-25 ekspresyon n=182 (%52,1)	>%25 ekspresyon n=129 (%37)	P
Nekroz (%)				0,061 ¹
Ortalama ±SS	21,3 ±23	25,6 ±23,4	20,3 ±21,8	
Ortanca(min-max)	15 (2-98)	15 (1-98)	15 (0-95)	
Vasküler endotelial proliferasyon, n (%)				0,037 ²
Seyrek	10 (26,3)	23 (12,6)	28 (21,7)	
Yoğun	28 (73,7)	159 (87,4)	101 (78,3)	
Mitoz, n= yaklaşık maksimum mitoz sayısı / 1BBA				0,095 ¹
Ortalama ±SS	4 ±2,7	4 ±2,7	5,2 ±4	
Ortanca(min-max)	3,5 (1-12)	4 (0-14)	4(0-22)	
Mitoz, n= yaklaşık mitoz sayısı / 10BBA				0,021 ¹
Ortalama ±ss	8,1 ±7,6	8 ±6,6	12,3 ±12,3	
Ortanca(min-max)	6 (1-40)	6 (0-40)	8 (0-68)	
Düşük dereceli histoloji, n(%)				0,946 ²
Var	12 (31,6)	56 (30,8)	42 (32,6)	
Yok	26 (68,4)	126 (69,2)	87 (67,4)	
SS:Standart Sapma				
¹ Kruskal wallis testi				
² Pearson Ki-kare Testi				

4.5.3. p53 ekspresyon grupları ile RPS6 ve pAKT boyanmalarının

karşılaştırılması

RPS6 yaygınlığı, şiddeti, pozitif/negatif grupları ve yaygınlığına göre üçlü grupları ile p53 ekspresyon grupları karşılaştırıldığında RSP6 yaygınlığı p53 ekspresyonu negatif olan grupta anlamlı olarak daha yüksektir (p=0,021). pAKT yaygınlığı, şiddeti, pozitif/negatif grupları ve yaygınlığına göre üçlü grupları ile p53 ekspresyon grupları karşılaştırıldığında pAKT yaygınlığı üç grup şeklinde ele

alındığında p53 ekspresyonu yüksek olan grupta, pAKT yaygınlığı >%50 olma durumu diğer gruplara göre daha fazladır (p=0,030). (Tablo 20 ve Tablo 21)

Tablo 20. p53 ekspresyon grupları ile RPS6 ve pAKT boyanmalarının yaygınlık ve şiddetlerine göre karşılaştırılması

N=349	Negatif n=38 (%10,9)	%1-25 ekspresyon n=182 (%52,1)	>%25 ekspresyon n=129 (%37)	P
RPS6 yaygınlığı (%), (26/177/123)				0,021¹
Ortalama ±SS	38,9 ±29,5	52,3 ±26,3	46 ±26,1	
Ortanca(min-max)	37,5 (1-85)	60 (1-95)	50 (2-95)	
RPS6 şiddeti, (26/177/123)				0,437¹
Ortalama ±SS	3,4 ±1,0	3,6 ±0,8	3,7 ±0,8	
Ortanca(min-max)	4 (1-4)	4 (1-5)	4 (1-5)	
pAKT yaygınlığı (%) (25/167/117)				0,423¹
Ortalama ±SS	48,8 ±37,1	60,5 ±31,2	62,8 ±28,2	
Ortanca(min-max)	50 (0-95)	70 (0-98)	70 (0-95)	
pAKT şiddeti (19/151/107)				0,827¹
Ortalama ±SS	2,4 ±1,0	2,4 ±1,1	2,5 ±1,1	
Ortanca(min-max)	2 (1-4)	2 (1-5)	2 (1-5)	
SS:Standart Sapma				
¹ Kruskal wallis testi				

Tablo 21. p53 ekspresyon grupları ile RPS6 ve pAKT boyanmalarının gruplanmalarına göre karşılaştırılması

N=349	Negatif n=38 (%10,9)	%1-25 ekspresyon n=182 (%52,1)	>%25 ekspresyon n=129 (%37)	P
RPS6 durumu, n (%) (26/177/123)				0,060
Zayıf (%1-25)	11 (42,3)	35 (19,8)	33 (26,8)	
Orta (%26-50)	7 (26,9)	52 (29,4)	41 (33,3)	
Kuvvetli (>%51)	8 (30,8)	90 (50,8)	49 (39,8)	
RPS6 durumu, n (%) (26/177/123)				0,052
Negatif	18 (69,2)	87 (49,2)	74 (60,2)	
Pozitif	8 (30,8)	90 (50,8)	49 (39,8)	
pAKT durumu, n (%) (25/167/117)				0,030
Negatif	6 (24)	16 (9,6)	10 (8,5)	
<%50	6 (24)	31 (18,6)	13 (11,1)	
≥%50	13 (52)	120 (71,9)	94 (80,3)	
pAKT durumu, n (%) (25/167/117)				0,063
Negatif	6 (24)	16 (9,6)	10 (8,5)	
Pozitif	19 (76)	151 (90,4)	107 (91,5)	
SS:Standart Sapma				
¹ Pearson Ki-kare Testi				

4.6. Olguların RPS6 ekspresyon özelliklerine göre karşılaştırılması

RPS6 immünohistokimyası ile optimum boyanma elde edilen toplam 326 olgu mevcuttur. RPS6 ekspresyonu ile diğer parametreler karşılaştırılırken ekspresyon yaygınlığının üç kategoriye ayrıldığı (%1-25, %26-50 ve >%50) gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır.

4.6.1. RPS6 ekspresyonu durumlarına göre olguların demografik özelliklerinin karşılaştırılması

Olguların demografik özellikleri RPS6 ekspresyon grupları karşılaştırıldığında yaş ortalamasının ekspresyon arttıkça anlamlı olarak arttığı (p=0,034), tanı yaşının da benzer şekilde RPS6 ekspresyonu arttıkça anlamlı

olarak arttığı (p=0,023) görülmüştür. Cinsiyet açısından bakıldığında tüm ekspresyon yüzdelerinde erkeklerin kadınlara göre daha fazla olduğu görülmüştür (p=0,027). RPS6 ekspresyonu düşük olan grupta düşük dereceli glial tümör / non-glial SSS tümörü öyküsü RPS6 ekspresyonu yüksek olan gruba göre anlamlı olarak daha yüksektir (p=0,050). (Tablo 22)

Tablo 22. RPS6 ekspresyon grupları arasında demografik özelliklerin karşılaştırılması

N=326	%1-25 ekspresyon n =79 (%24,2)	%26-50 ekspresyon n=100 (%30,7)	>%50ekspresyon n=147 (%45,1)	P
Yaş (yıl)				0,034¹
Ortalama ±SS	52,2 ±14,9	56 ±11,7	57,4 ±13,1	
Ortanca(min-max)	55(9-79)	57,8(29-83)	59,2(4-80)	
Tanı yaşı (yıl)				0,023¹
Ortalama ±SS	50,5 ±15,1	54,5 ±12	56,2 ±13,4	
Ortanca(min-max)	53,5(8-79)	55,8(28-82)	58,4(3-79)	
Cinsiyet, n (%)				0,027²
Erkek	39 (50,6)	69 (69)	91 (61,9)	
Kadın	40 (49,4)	31 (31)	56 (38,1)	
Nüks durumları, n(%)				0,152²
Yok	63 (79,7)	90 (90)	126 (85,7)	
Var	16 (20,3)	10 (10)	21 (14,3)	
Ölüm durumları, n(%)				0,090²
Yok	6 (7,6)	16 (16)	12 (8,2)	
Var	73 (92,4)	84 (84)	135 (91,8)	
Derece II veya III glial tümör/non-glial SSS tümörü öyküsü, n(%)				0,050²
Yok	68 (86,1)	92 (92)	140 (95,2)	
Var	11 (13,9)	8 (8)	7 (4,8)	
SS:Standart Sapma				
¹ Mann-Whitney U testi				
² Pearson Ki-kare Testi				

4.6.2. RPS6 ekspresyonu durumlarına göre olguların histolojik özelliklerinin

karşılaştırılması

Olguların histolojik özellikleri açısından bakıldığında RPS6 ekspresyonu >%50 olan grupta nekroz yaygınlığının diğer iki gruptan anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,004$). RPS6 ekspresyon grupları arasında diğer histolojik özellikler bakımından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). (Tablo 23)

Tablo 23. RPS6 ekspresyon grupları arasında histolojik özelliklerin karşılaştırılması

N=326	%1-25 ekspresyon n =79 (%24,2)	%26-50 ekspresyon n=100 (%30,7)	>%50 ekspresyon n=147 (%45,1)	P
Nekroz (%)				0,004¹
Ortalama $\pm$ SS	19,3 $\pm$ 19,4	19,5 $\pm$ 21,5	27,6 $\pm$ 24,5	
Ortanca(min-max)	15 (1-98)	10 (0-95)	20 (1-95)	
Vasküler endotelial proliferasyon, n(%)				0,554²
Seyrek	17 (21,5)	16 (16)	24 (16,3)	
Yoğun	62 (78,5)	84 (84)	123 (83,7)	
Mitoz, n= yaklaşık maksimum mitoz sayısı / 1BBA				0,485¹
Ortalama $\pm$ SS	4,4 $\pm$ 3,7	4,7 $\pm$ 3,2	4,4 $\pm$ 3	
Ortanca(min-max)	3 (1-22)	4 (1-15)	4(0-20)	
Mitoz, n= yaklaşık mitoz sayısı / 10BBA				0,218¹
Ortalama $\pm$ ss	9,6 $\pm$ 11,5	9,8 $\pm$ 8,9	9,4 $\pm$ 8,4	
Ortanca(min-max)	5 (0-68)	8 (1-50)	6 (0-40)	
Derece II veya III histoloji (%)				0,073²
Var	48 (60,8)	66 (66)	110 (74,8)	
Yok	31 (39,2)	34 (34)	147 (25,2)	
SS:Standart Sapma				

¹Kruskal wallis testi
²Pearson Ki-kare Testi

4.6.3. RPS6 ekspresyon grupları ile pAKT boyanmalarının karşılaştırılması

RPS6 ekspresyonları ile pAKT ekspresyonları karşılaştırıldığında, RSP6 ekspresyonu arttıkça pAKT ekspresyonunun yaygınlık ve şiddetinde anlamlı artış saptanmıştır. (p değerleri sırasıyla 0,001 ve 0,002) (Tablo 24)

Tablo 24. RPS6 ekspresyon grupları ile ve pAKT boyanmalarının yaygınlık, şiddet ve gruplarına göre karşılaştırılması

N=326	%1-25 ekspresyon n =79 (%24,2)	%26-50 ekspresyon n=100 (%30,7)	>%50 ekspresyon n=147 (%45,1)	P
pAKT yaygınlığı (%) (70/92/134)				0,001¹
Ortalama ±SS	51 ±31	62,4 ±30,3	64,8 ±29,6	
Ortanca(min-max)	60 (0-95)	77,5 (0-98)	80 (0-98)	
pAKT şiddeti (62/85/119)				0,002¹
Ortalama ±SS	2 ±1,1	2,3 ±1,2	2,7 ±1	
Ortanca(min-max)	2 (1-5)	2 (1-5)	2 (1-5)	
pAKT durumu, n (%) (70/92/134)				0,021²
Negatif	8 (11,4)	7 (7,6)	15 (11,2)	
<%50	19 (27,1)	16 (17,4)	13 (9,7)	
≥%50	43 (61,4)	69 (75)	106 (79,1)	
pAKT durumu, n (%) (70/92/134)				0,626²
Negatif	8 (11,4)	7 (7,6)	15 (11,2)	
Pozitif	62 (88,6)	85 (92,4)	119 (88,8)	
SS:Standart Sapma ¹ Kruskal wallis testi ² Pearson Ki-kare Testi				

4.7. Olguların pAKT Ekspresyon Özelliklerine Göre Karşılaştırılması

pAKT ile optimum boyanma elde edilen toplam 309 olgu mevcuttur. pAKT ekspresyonları negatif, <%50 ekspresyon ve ≥%50 ekspresyon olarak üç grup altında incelenmiştir.

4.7.1. pAKT ekspresyonu durumlarına göre olguların demografik özelliklerinin karşılaştırılması

Olguların demografik özellikleri pAKT ekspresyon grupları arasında benzerdir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.7.2. pAKT ekspresyonu durumlarına göre olguların histolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Olguların histolojik özelliklerinden VEP yaygınlığının pAKT ekspresyon grupları arasında anlamlı olarak farklı olduğu ($p=0,019$); pAKT ekspresyonu arttıkça VEP yoğunluğunun da arttığı görülmüştür. Diğer özellikler ile pAKT ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p değerleri $>0,05$). (Tablo 25)

Tablo 25. pAKT ekspresyon grupları arasında bazı histolojik özelliklerin karşılaştırılması

N=309	Negatif n =32 (%10,4)	<%50 ekspresyon n=50 (%16,2)	≥%50 ekspresyon n=227(%73,5)	P
Nekroz (%)				0,478 ¹
Ortalama ±SS	18,3 ±24,8	18,9 ±18,6	24,1 ±23,4	
Ortanca(min-max)	7,5 (1-98)	10 (1-70)	15 (0-98)	
Vasküler endotelial proliferasyon, n(%)				0,019²
Seyrek	11(34,4)	10(20)	33(14,5)	
Yoğun	21(65,6)	40(80)	194(85,5)	
Mitoz, n= yaklaşık maksimum mitoz sayısı / 1BBA				0,346 ¹
Ortalama ±SS	5,5 ±4,78	4,8 ±2,8	4,4 ±3,1	
Ortanca(min-max)	4 (0-22)	5 (1-13)	4 (0-20)	
Mitoz, n= yaklaşık mitoz sayısı / 10BBA				0,939 ¹
Ortalama ±ss	10,8 ±13,4	9,7 ±8,3	9,7 ±9	
Ortanca(min-max)	5,5(0-68)	8(1-40)	8(0-52)	
Düşük dereceli histoloji, n(%)				0,389 ²
Var	24(75)	31(62)	160(70,5)	
Yok	8(25)	19(38)	67(29,5)	
SS:Standart Sapma				
¹ Kruskal wallis testi				
² Pearson Ki-kare Testi				

4.8. Olguların Sağkalım Özelliklerine Göre Karşılaştırılması

1 Mart 2019 itibariyle, 349 hastadan 315'i eksitus bilgisi mevcutken, 34 hastanın sağ olduğu bilgisi mevcuttur. İstatistiksel olarak eksitus olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı farklılık olan özellikler Tablo 26'da gösterilmiştir.

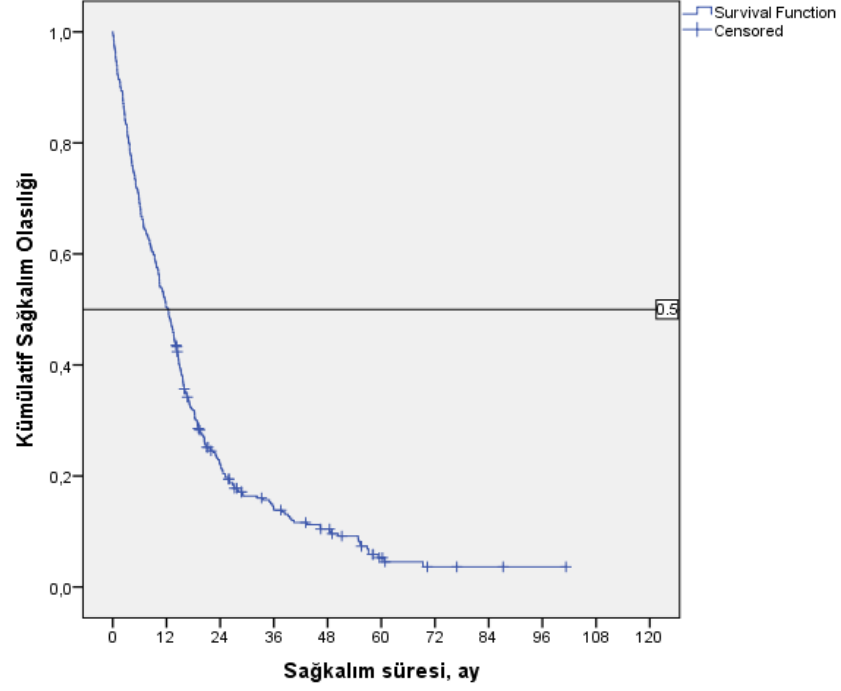
Tablo 26 . Exitus durumuna göre hastaların değerlendirilmesi

N=349	Exitus yok 34 (%17,8)	Exitus var 315 (%82,2)	P
Yaş (yıl)			0,021¹
Ortalama ±SS	52 ±11,5	56,3 ±13,4	
Ortanca(min-max)	54 (31-75)	58 (4-83)	
Tanı yaşı, yıl			0,002¹
Ortalama ±SS	48,7 ±12,2	55,2 ±13,6	
Ortanca(min-max)	51,5 (29-70)	57,3 (3-82)	
Nekroz yaygınlığı, (%)			0,031¹
Ortalama ±SS	19 ±23,1	23,6 ±22,81	
Ortanca(min-max)	10 (0-80)	15 (1-98)	
VEP, n (%)			0,008²
Seyrek	12 (35,3)	49 (15,6)	
Yoğun	22 (64,7)	266 (84,4)	
IDH1, n (%)			0,102²
Negatif	24 (70,6)	263 (83,5)	
Pozitif	10 (29,4)	52 (16,5)	
Düşük dereceli tümör varlığı, n(%)			0,001²
Var	20(58,8)	90(28,8)	
Yok	14(41,2)	223(71,4)	
P53 ekspresyonu, n(%)			0,151²
Var	33(97,1)	278(88,3)	
Yok	1(2,9)	37(11,7)	
RPS6-ikili grup, n (%)			0,303²
(34/292)			
Negatif	22 (64,7)	157 (53,8)	
Pozitif	12 (35,3)	135 (46,2)	
pAKT ekspresyonu, n(%)			0,216²
Negatif	5(16,7)	27(9,7)	
Pozitif	25(83,3)	252(90,3)	
SS:Standart Sapma ¹ Mann Whitney u testi ² Continuity Correction Ki-Kare testi			

4.8.1. Sağkalım Analizi Değerlendirmesi:

Bu çalışmada genel sağkalım hızları Kaplan-Meier sağkalım analizi kullanılarak hesaplandı. Sağkalım süresi hesaplanırken başlangıç tarihi olarak hastaların glioblastom tanısı aldığı tarih ve bitiş tarihi olarak 1 Mart 2019 alınmıştır. Aradaki süre ay olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda medyan sağkalım süresi **12,42 ±0,85** (%95 GA:10,7-14,09) ay olarak hesaplanmıştır. Hastaların 1

yıllık sağkalım hızı %50,4; 2 yıllık sağ kalım hızı %22,0; 3 yıllık sağkalım hızı %13,9; 5 yıllık sağkalım hızı %1 bulunmuştur. (Şekil 8)



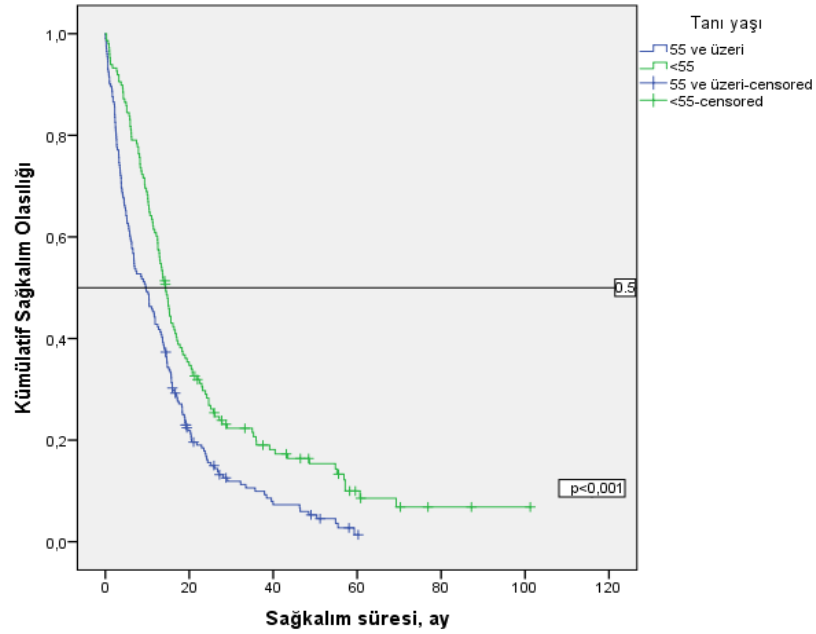
Şekil 8. Kümülatif sağ kalım oranının aylara göre dağılımı

4.8.2. Sağ Kalım üzerine etkili olan faktörlerin incelenmesi

Univariate analizlerde exitus durumuna göre anlamlı bulunan ($P < 0,05$) değişkenlerin (tanı yaşı, nekroz yaygınlığı, VEP, IDH1 ve RSP ekspresyonları, AKT şiddeti) sağkalım hızları arasındaki değerlendirme log rank testi ile yapılmıştır.

Tanı Yaşı

Tanı yaşı 55 yaş ve üzeri olan hastalarda medyan sağkalım süresi $9,66 \pm 1,6$ (%95 GA: 6,51 -12,81) ay iken 55 yaş altında olan grupta medyan sağkalım süresi $14,36 \pm 0,86$ (%95 GA:12,67-16,05) ay olarak tespit edildi. Tanı anında 55 yaş ve üzerindeki hasta grubunun medyan sağkalım süresi istatistiksel olarak anlamlı daha düşük bulunmuştur (log rank test; $p < 0,001$). (Şekil 9 ve Tablo 27)



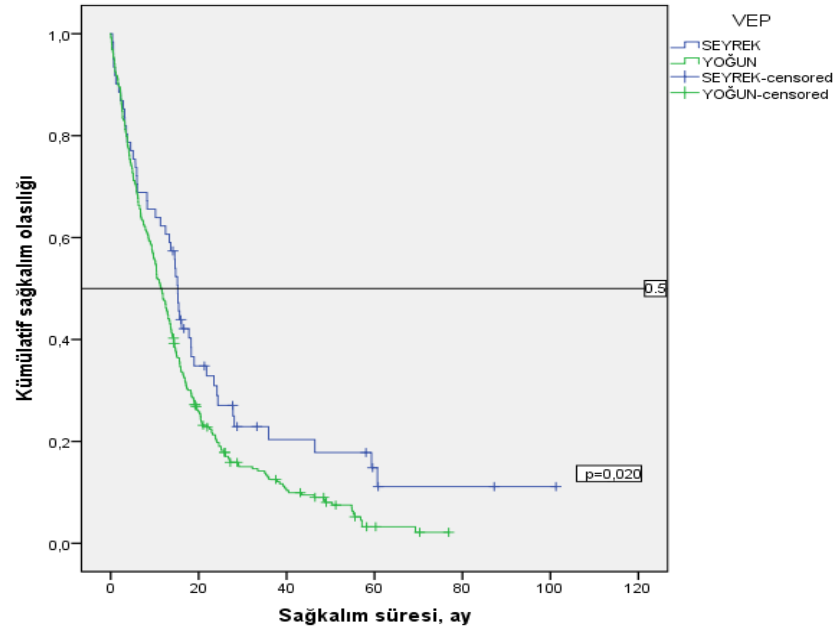
Şekil 9. Kümülatif sağ kalım oranının tanı yaşı 55 ve üzeri ve <55 olan hastalarda aylara göre dağılımı

Tablo 27. Tanı yaşı ≥ 55 ve <55 olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları

Yıllar	<55 yaş Sağkalım Olasılığı (%)	55 yaş ve üzeri Sağkalım Olasılığı (%)
1. Yıl	60,1	42,3
3. Yıl	19	9,9
5. Yıl	8,6	1,4

VEP

VEP seyrek olan hastalarda medyan sağkalım süresi $15,24 \pm 0,61$ (%95 GA: 14,1 -16,4) ay iken VEP yoğun olan grupta medyan sağkalım süresi $11,43 \pm 0,81$ (%95 GA:9,85-13,02) ay olarak tespit edildi. VEP yoğun olan hasta grubunun medyan sağkalım süresi istatistiksel olarak anlamlı daha düşük bulunmuştur (log rank test; $p < 0,001$). (Şekil 10 ve Tablo 28)



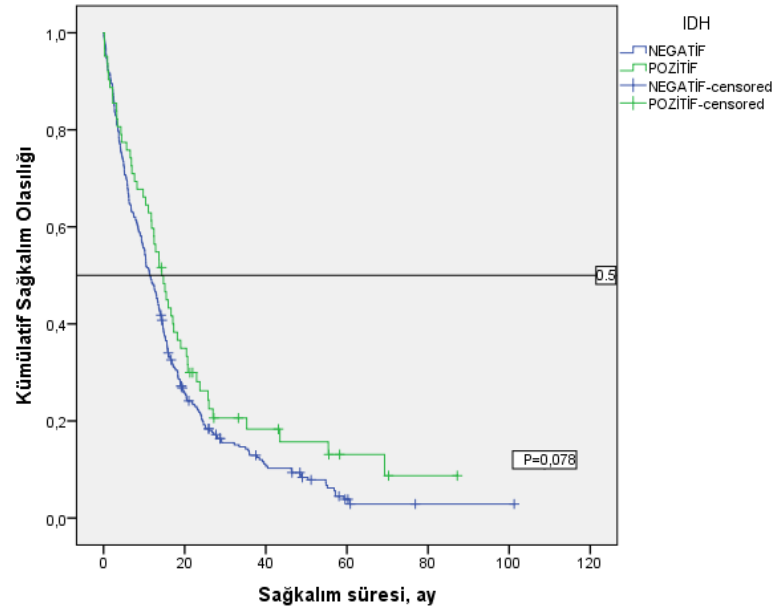
Şekil 10. Kümülatif sağ kalım oranının VEP yoğun ve VEP seyrek olan hastalarda aylara göre dağılımı

Tablo 28. VEP yoğun ve VEP seyrek olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları

Yıllar	VEP seyrek, Sağkalım Olasılığı (%)	VEP yoğun, Sağkalım Olasılığı (%)
1. Yıl	62,3	47,6
3. Yıl	20,4	12,5
5. Yıl	11,1	3,2

IDH1

IDH1negatif olan hastaların medyan sağkalım süresi $11,43 \pm 0,91$ (%95 GA: 9,65 -13,22) ay iken IDH1 pozitif olan grupta medyan sağkalım süresi $14,36 \pm 1,64$ (%95 GA:11,15-17,55) ay olarak tespit edildi. IDH1 ekspresyon grupları arasında sağkalım süreleri benzer bulunmuştur (log rank test; $p=0,078$). (Şekil 11 ve Tablo 29)



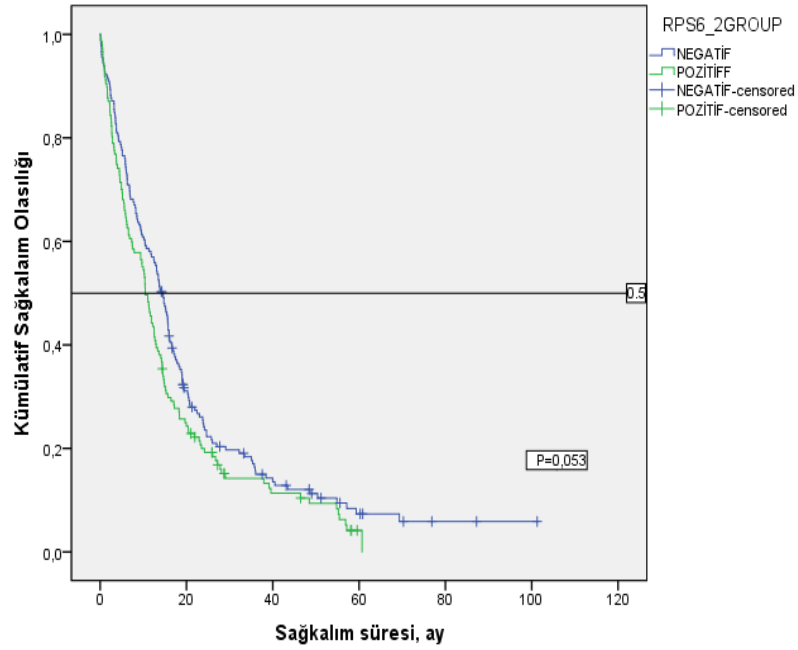
Şekil 11. Kümülatif sağ kalım oranının IDH1 pozitif ve IDH1 negatif olan hastalarda aylara göre dağılımı

Tablo 29. IDH1 pozitif ve IDH1 negatif olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları

Yıllar	IDH1 pozitif , Sağkalım Olasılığı (%)	IDH1 negatif, Sağkalım Olasılığı (%)
1. Yıl	58,1	48,1
3. Yıl	18,3	12,9
5. Yıl	8,7	3,8

RPS6

RPS6 negatif olan hastaların medyan sağkalım süresi $14,49 \pm 0,97$ (%95 GA: 12,58 -16,39) ay iken RPS6 pozitif olan grupta medyan sağkalım süresi $10,45 \pm 0,81$ (%95 GA:8,86-12,03) ay olarak tespit edildi. RPS6 ekspresyon grupları arasında sağkalım süreleri benzer bulunmuştur (log rank test; $p=0,053$). (Şekil 12 ve Tablo 30)



Şekil 12. Kümülatif sağ kalım oranının RPS6 pozitif ve RPS6 negatif olan hastalarda aylara göre dağılımı

Tablo 30. RPS6 pozitif ve RPS6 negatif olan hastalarda 1 yıllık, 3 yıllık ve 5 yıllık sağ kalım oranları

Yıllar	RPS6 pozitif , Sağkalım Olasılığı (%)	RPS6 negatif, Sağkalım Olasılığı (%)
1. Yıl	43,5	56,4
3. Yıl	14,2	15
5. Yıl	4,2	7,4

4.8.3. Multivariate Cox regresyon analizi

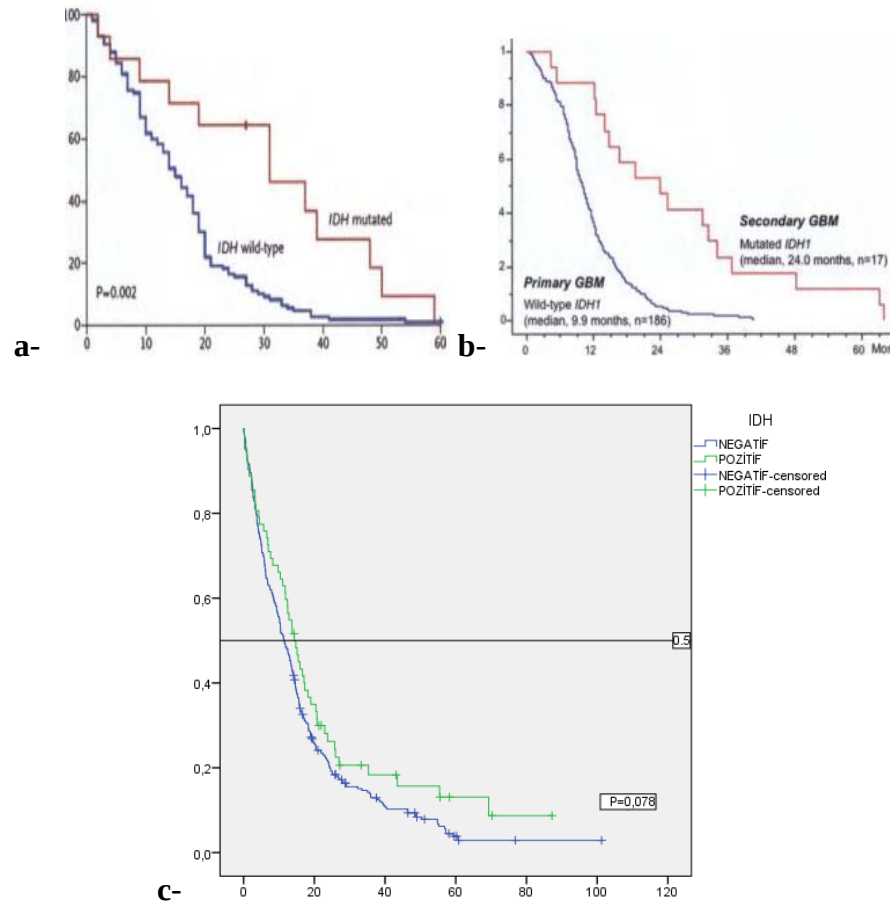
Univariate analizler sonucu sağkalım üzerine etkisi olan değişkenler multivariate cox regresyon analizi ile değerlendirmiştir. 55 yaşın üzerinde tanı alan hastaların (HR:1,51) ve VEP'i yoğun olan hastaların (HR:1,46) exitus riskinin yaklaşık 1,5 kat yüksek olduğu tespit edilmiştir. (Tablo 31)

Tablo 31. Exitus durumu üzerine etkili faktörlerin multivariate Cox regresyon analizi ile değerlendirilmesi

N=349	HR	%95 GA	P
Tanı yaşı ≥55 (ref:<55 yaş)	1,51	1,18-1,91	0,001
Cinsiyet (ref:kadın)	0,98	0,77-1,25	0,874
RPS6 pozitifliği (ref: negatif)	0,81	0,64-1,0	0,071
IDH1 negatif (ref: pozitif)	0,80	0,58-1,10	0,173
VEP Yoğun (ref:seyrek)	1,46	1,06-2,02	0,022
HR: Hazard Ratio			

5. TARTIŞMA

Çalışmamızdaki en önemli sonuçlardan biri IDH1 ekspresyonunun sağ kalım üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı şeklindedir. IDH1 negatif olan hastaların medyan sağkalım süresi $11,43 \pm 0,91$ ay iken IDH1 pozitif olan grupta medyan sağkalım süresi $14,36 \pm 1,64$ ay olarak bulunmuştur. Bu veriler log rank test analizi ile karşılaştırılmış, p değeri 0,078 ($>0,05$) olması nedeniyle fark anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 13. IDH ile sağ kalım ilişkisi; DSÖ verileri ile çalışmamızdaki sonuçların grafiksel karşılaştırılması.

(a,b-DSÖ kitabından, c-Bizim çalışmamızdan)

DSÖ SSS tümörleri sınıflaması kitabında yer alan ilk tablonun (Şekil 13-a) referans gösterildiği çalışmada (10) IDH-mutant hastaların kümülatif sağ kalımları 31 ay; IDH-wild tip glioblastomlarınsa 15 ay bulunmuştur. DSÖ SSS tümörleri sınıflaması kitabında yer alan ikinci tablonun (Şekil 13-b) referans gösterildiği çalışmada (11) ise IDH-mutant glioblastomların kümülatif sağ kalımları 27,1 ay iken IDH-wild tip glioblastomlarda 11,3 ay bulunmuştur. Her iki çalışmada da mutasyonlar sekans analizi ile saptanmıştır. (1)

Literatür ile olan bu uyumsuzluk IDH mutasyonunu göstermede kullandığımız yöntemden kaynaklı olabileceği gibi IDH1'in mutasyonu göstermedeki gücünü de sorgulatması gereken bir durumdur.

Bizim çalışmamızdaki univariate analizler sonucu sağkalım üzerine etkisi olan değişkenler multivariate cox regresyon analizi ile değerlendirmiş, VEP yoğunluğu olan hastalarda ve 55 yaşın üzerinde tanı alan hastalarda exitus riskinin yaklaşık 1,5 kat yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Demografik özellikler açısından bakıldığında, DSÖ 2016 verilerine göre glioblastom görülme insidansı 55-85 yaş aralığındadır (1). Çalışmamızdaki tüm hasta popülasyonunun yaş ortalaması 55 olup yaş dağılımı 4 ile 83 arasında değişmektedir. 20 yaş altı glioblastom tanısı alan 5 hasta (%1) mevcuttur. Çalışmamızdaki IDH1 pozitif hastaların yaş ortalaması 52, IDH1 negatif hastaların yaş ortalaması ise 56'dır. Bu sonuçlar literatürdeki "IDH-mutant glioblastomlar, IDH-wild tip glioblastomlara göre belirgin olarak daha gençtir" (1, 10, 84, 85) bilgisi ile karşılaştırıldığında, verilerimiz literatür ile uyumludur. Glioblastomlar IDH1 mutasyonu açısından sekans analizi olmaksızın

immünohistokimyasal özelliklerine göre gruplandığında da yaş açısından literatür ile benzer bir sonuç elde edilmiştir.

DSÖ 2016 verilerine göre IDH-mutant tip glioblastomlu hastaların tanı anındaki yaş ortalaması 45 iken, bu ortalama IDH-mutant tip glioblastomlu hastalarda 62'dir (1). Çalışmamızdaki IDH1 pozitif hastaların tanı anındaki yaş ortalaması 50, IDH1 negatif hastaların yaş ortalaması ise 55'tir. Yine immünohistokimyasal açıdan bakıldığında IDH1 durumu tanı yaşında anlamlı farklılık gösteren bir belirteç olup literatür verileri ile uyumlu yönde sonuçlara sahiptir.

Genel popülasyondaki IDH mutant glioblastomlar, tüm glioblastomların yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (1). Bizim çalışmamızda IDH1 antikor pozitifliği %17,8'dir. Capper ve ark. mutant-IDH1'e spesifik immünohistokimyasal belirteci araştırmaya yönelik yapılan çalışmada (44) duyarlılığı %100 olarak bulunan mIDH1R132H antikor klonu bizim çalışmamızda da tercih edilmiş olup ekspresyon oranı literatürdeki IDH-mutant glioblastom oranından fazla bulunmuştur. Bu farklılık sekans analizleri ile korele edilemediğinden IDH1 pozitif vakaların mutasyonu göstermedeki gücü ile ilgili net bir yorum yapılamamıştır.

DSÖ verilerine göre glioblastomlar erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmekte olup IDH mutant tipte E:K oranı 1,05:1 ; IDH wild tipte E:K oranı 1,42:1'dir (1). Çalışmamızda da benzer şekilde erkek baskınlığı izlenmiş olup IDH1 pozitif grupta E:K oranı 1,38:1 ; IDH1 negatif grupta E:K oranı 1,58:1'dir. IDH1 pozitif ve IDH negatif vakalar arasında cinsiyet açısından anlamlı farklılık

saptanmamıştır. Literatürde bunun tersini ortaya koyan, IDH-mutant glioblastomlarda E:K oranı 0,96:1; IDH-wild tip glioblastomlarda E:K oranı 1,63:1 olan, DSÖ SSS tümörleri sınıflaması kitabında da yer verilen bir çalışma mevcuttur (1, 40).

Eskiden beri savunulan bir yaklaşım da glioblastomların primer ya da sekonder oluşlarının sağ kalımı etkileyen önemli bir klinik özellik olduğudur. IDH mutasyonunun keşfine kadar sekonder glioblastom tanısı klinik olarak yani nörogörüntüleme ve / veya histolojik olarak kanıtlanmış düşük dereceli ya da anaplastik astrositom öyküsü olup olmamasına göre verilmekteydi (1, 16). Yalnızca klinik bilgiye göre sekonder olarak sınıflanan glioblastomların tüm glioblastomlara oranı yaklaşık %5 (2, 86) olarak saptanırken, IDH1 mutasyonuna göre sekonder olarak sınıflanan glioblastomların tüm glioblastomlara oranı toplum temelli çalışmalarda %9 (11), hastane temelli çalışmalarda %6-13 (10, 40, 85, 87) olarak bulunmuştur. Çalışmamıza dahil edilen hastaların epikriz ve eski patoloji raporlarından edinilen bilgilere göre 28 (%8) hastanın derece II/III glial tümör veya non-glial SSS tümörü öyküsü mevcuttur. IDH1 antikor pozitifliği ise olguların %17,8'inde görülmüştür. Sonuçlar benzer olmakla birlikte IDH1 immünohistokimyasal pozitifliğinin yüksek oluşu mutasyona spesifik olamama ihtimalini akla getirmektedir.

IDH1 mutant olan primer glioblastom vakaları, yapılan bir çalışmada %3,4 olarak saptanmıştır. Bu vakaların sekonder glioblastomlara göre 10 yaş kadar daha genç olmalarına karşın sekonder glioblastomlar ile benzer genetik profile (TP53 mutasyonu sık ve EGFR amplifikasyonu nadir) sahip oldukları görülmüştür

(1, 11). Fakat bu vakalar için glioblastom tanısı almadan önce klinik olarak sessiz ve hızlı progrese olan, düşük dereceli glial tümör varlığı hala olasılık dahilinde görülmektedir (1). Bizim çalışmamızdaki sonuçlara bu açıdan bakıldığında IDH1 pozitif olup klinik açıdan primer olan ya da sekonder olduğuna dair bilgi elde edilemeyen 52 (%83,9) olgu mevcuttur. Oransal olarak bu kadar yüksek bir sonuç elde etmiş olmamız, kayıt yetersizliği, hastaların ilk şikayetlerinde hastaneye başvurmamış olma ihtimalleri, hasta veya hasta yakınlarından alınan bilgini yetersizliği gibi nedenlere bağlı olabileceği gibi IDH1 antikor pozitifliğinin sensitivitesinin düşük olabileceği ihtimalini de akla getirmektedir. Özellikle IDH1 pozitif olup klinik olarak primer grupta yer alan olgularımız ileri analizleri (sekanslama) hak etmektedir.

IDH1 mutasyonu olmayıp sekonder olan glioblastomlara bakıldığında DSÖ derece III anaplastik astrositomdan geliştikleri, IDH1 mutant olanlarınsa genellikle DSÖ derece II diffüz astrositomdan geliştiği görülmüştür (1, 11) . Bu da anaplastik astrositom tanısı alan bazı vakaların yetersiz örnekleme nedeniyle yanlış tanı almış primer glioblastom olabileceğini düşündürmektedir (1). Literatürdeki bu bilgi ile çalışmamızdaki veriler karşılaştırıldığında IDH1 negatif olup sekonder olan 18 olgu (%6,3) mevcuttur. Bu 18 olgunun eski tanıları sıklık sırasıyla anaplastik astositom (%33), diffüz astrositom (%27), pilositik astrositom (%11), oligodendrogliom (%5), anaplastik oligoastrositom (%5) ve medulloblastom (%5) şeklindedir. IDH1 pozitif olup sekonder olan grubumuzdaki eski tanıları ise sıklık ile diffüz astrositom (%40), anaplastik oligoastositom (%30), anaplastik astrositom (%10), oligoastrositom (%10) ve anaplastik oligoastrositom

(%10) şeklindedir. Her ne kadar literatürle benzer sonuçlar elde edilmiş olsa da bu grupların hasta sayısı azlığı nedeniyle net yorum yapılamamıştır. Ayrıca yine sekanslama yapılamadığı için bu olguların IDH mutasyon durumları net bilinmemektedir.

Çalışmamıza dahil edilen 344 hastadan 48 tanesi (%13,8) glioblastom nüksü nedeniyle tekrar opere olmuştur. Bu gruptaki hastalar 1 yıldan uzun süre sonra, biyopsi ile nüks tanısı almış hastalardır. Literatürde glioblastomlarda nüks görülme sıklığı 1/3 olarak bildirilmektedir (88). Bu farklılığın sebebi çalışmamızda biyopsi tanısı olmayan vakaların nüks kategorisinde değerlendirilmemesi olabilir. Radyolojik nükslerde radyonekroz ihtimali net dışlanamadığından (1) çalışmamızda sadece biyopsi ile tanı teyidi yapılmış vakalar nüks kabul edilmiştir. Ortalama 16,2 aylık takipte glioblastom nüksü nedeniyle tekrar opere olma durumları arasında IDH1 pozitif ve IDH1 negatif grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Histolojik özellikler açısından bakıldığında literatürde IDH-mutant tip ile IDH-wild tipin morfolojik olarak ayırt edilemeyeceği; tek farkın nekroz yaygınlığının IDH-wild tipte daha az olduğu bilgisi mevcuttur (1). Neuman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada genç hastalarda glioblastom moleküler subtiplerinin histolojik özellikleri karşılaştırılmış, gemistositik tümör hücreler ve /veya mikrokistik değişikliklerin IDH1 mutasyonu ile yakın ilişkili olduğu, tümör dev hücrelerinin H3K27M mutant veya IDH/H3 mutasyonu olmayan olgularda sık olduğu, PNET benzeri özellikler taşıyanlarınsa H3 G34R mutasyonu ile yakından ilişkili olduğu sonuçlarına varılmıştır (89). Bizim

değerlendirmelerimizde IDH1 ekspresyonu ile nekroz veya değerlendirdiğimiz diğer histolojik parametreler açısından anlamlı fark bulunamamıştır.

p53 ekspresyonu ile histolojik özellikler karşılaştırıldığında p53 eksprese etmeyen grupta p53 eksprese eden gruba göre yoğun VEP yoğun görülme oranı daha düşüktür. Mitotik aktivite de 10 BBA'daki yaklaşık ortalama açısından bakıldığında p53 ekspresyonu >%25 olan grupta diğer gruplara göre daha yüksektir. TP53'ün "fonksiyon kazanımı (GOF)" mutasyonlarının anjiogenezi ve proliferasyonu uyardığı bilgisi bilinen bir gerçek olduğundan glioblastomlarda mutant p53 proteininin yüksek ekspresyonu durumunda yaygın vasküler endotelial proliferasyon ve artmış mitotik aktivite görmemiz bu etkinin bir başka kanıtı kabul edilebilir ve uyarıcı olabilir. TP53 mutasyonunun glioblastomlardaki etkileri üzerine yaptıkları çalışmada Hai ve arkadaşları, hayvan deneyleri sonucunda TP53-GOF mutasyonu taşıyan glioblastomlarda inflamatuvar yanıtın belirgin olduğunu göstermişlerdir (90).

DSÖ verilerine göre (1) glioblastomların yaklaşık %90'ında p53 yolağında değişiklikleri mevcut (14) olup klinikopatolojik olarak sekonder glioblastom kabul edilen vakalarda daha sık rastlandığı, prekürsör düşük dereceli ya da anaplastik astrositomda da neredeyse her zaman saptandığı bildirilmektedir (58). Klinikopatolojik olarak primer olan glioblastomlarda ise bu değişikliklerin belirgin olarak daha az olduğu (~%25) savunulmaktadır (1, 16). Watanabe ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise primer glioblastomlarda TP53 mutasyonuna %11 oranında rastlanırken sekonder glioblastomlarda TP53 mutasyonuna %67 oranında rastlanmıştır (15). Çalışmamızda p53

immünohistokimyasal pozitifliği %89,1 oranında saptanmış olup literatürle bu anlamda uyumludur. Çalışmamızdaki derece II/III glial tümör veya non-glial SSS tümörü öyküsü olan hastaların %100'ünde değişen yaygınlık ve şiddetlerde p53 ekspresyonu saptanmıştır. Derece II/III glial tümör veya non-glial SSS tümörü olmayan hastalarda p53'ü %1 ve üzerinde eksprese etme durumları %88,2'dir. Guedes ve arkadaşlarının çalışmasına göre prostat kansinomlarında TP53 missense mutasyonunu göstermede p53 (DO7 klonu) immünohistokimyası %100 duyarlı, %86 özgül olarak bulunmuştur (91). Watanabe arkadaşları da meme kansinomlarında TP53 mutasyonunun göstermede p53 immünohistokimyasal boyamasının prediktif değerini 0,94 olarak bildirmiştir (92). Takami ve arkadaşları tarafından diffüz gliomlarda TP53 mutasyonu ve immünoreaktivitenin karşılaştırıldığı çalışmada yine DO7 klonu kullanılmış ve mutasyon açısından en prediktif ekspresyon değerinin %10 sınırının üstü olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre antikoru sensitivitesi %78,8, sensitivitesi %96,7 olarak bulunmuştur (77). Sekans analizi yapamadığımız çalışmamızda, yukarıdaki belirtildiği TP53 mutasyonunu göstermede yukarıdaki çalışmalarda yer verilen immünohistokimyasal klon ve yöntem kullanılmış olup bu yöntemle ait sonuçlar da literatür ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Yaş dağılımı açısından bakıldığında p53 ekspresyonu yüksek olan grubun yaş ortalaması (52,6±15,2) eksprese etmeyenlere (58,8±12,4) göre daha gençtir. Tanı yaşı için de aynı durum geçerlidir; p53 ekspresyonu yüksek olan grubun tanı yaş ortalaması 51,2±15,6 iken, eksprese etmeyenlerde tanı yaşı ortalaması 57,5±12,6 olarak bulunmuştur.

Primer ve sekonder glioblastomlarda sekans analiziyle TP53 mutasyonuna bakıldığında sekonderlerde %67, primerlerde %11 oranında rastlanmıştır. Aynı çalışmada p53 immünohistokimyasal (PAb 1801 klonu) ekspresyonları yüzde olarak bakıldığında, sekonder glioblastomların %96,7 ve primer glioblastomlarınsa %36,8 olarak bildirilmiştir. (15). Bu çalışma 1996 yılında yapıldığından sekonder olma kriteri klinikopatolojik özelliklere göre belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda p53 ekspresyon yüzdeleri IDH1 pozitif grupta ortalama % 34,2 iken IDH1 negatif grupta %23,1'dir.

Brennan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada glioblastomların somatik gen haritası araştırılmış, 543 glioblastom vakası ele alınmıştır. Hem pronöral hem de mezene kimal subtipinde mTORC1 yolağı aktivasyonu saptanmıştır. (93) Bu yolağın aktivasyonunun göstergesi olarak PI3K, Akt, mTOR, p70S6K, 4E-BP, and rpS6'nın fosforilasyonlarının gösterdiği savunulmaktadır (94-97). Machado ve arkadaşları 195 insan astrositomunda mTOR, RAPTOR, ve RPS6 ekspresyonu ile fosforilasyonuna bakmış, mTOR ekspresyonunun glioblastomlarda arttığı sonucuna varmışlardır. Total ve fosforile mTOR ile fosforile RPS6 (240-244 rezidüleri) ekspresyonlarının sadece IDH-wild tip glioblastomlarda yüksek olduğu ve aynı zamanda kötü prognozla ilişkili oldukları da bu çalışmanın dikkat çekici bir sonucu olarak bildirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre de mTOR ve RPS6'nın glioblastomlarda genel sağ kalıma ilişkin prediktif belirteçler olabileceği; IDH-wild tip glioblastomlarınsa mTOR karşıtı hedefe yönelik tedavilerden fayda görebilecekleri görüşü ortaya atılmıştır (98).

Çalışmamızda mTOR yolağı aktivasyonunu gösterebilmek amaçlı kullandığımız antikorlardan RPS6 ile IDH1 ekspresyon grupları karşılaştırıldığında, RPS6 ekspresyonuna yaygınlık açısından bakıldığında IDH1 negatif grupta ortalama % 50±26,6 yaygınlıkta eksprese olurken IDH1 pozitif grupta bu oran anlamlı olarak daha düşük (41,2±25,9) olduğu görülmüştür (p değeri=0,016). RPS6 ekspresyonu şiddet olarak 3 veya yaygınlık olarak >%50 iken pozitif kabul edildiği durumda IDH1 negatif grupta RPS6 pozitifliği %48,9 iken IDH1 pozitif grupta RPS6 pozitifliği %27,6 olup anlamlı olarak daha düşüktür (p değeri=0,005). Bulgular literatür ile uyumlu olmakla birlikte teknik açıdan sadece immünohistokimyasal ekspresyonlara bakıldığı için güvenilirliği düşüktür. Fakat literatür bilgileri ile birlikte değerlendirildiğinde mTOR yolağını hedefleyen tedavilerden IDH-wild tip glioblastomların daha fazla fayda görebileceği ön görüşüne bizim çalışmamız da IDH1 ekspresyonu-RPS6 ekspresyonu arasındaki ters ilişki ile olumlu yönde katkıda bulunmaktadır.

6. SONUÇLAR

1- Çalışmamızda glioblastom tanısı alan 349 olguda immunohistokimyasal olarak IDH1, p53, RPS6 ve pAKT ekspresyonu ile olguların demografik özellikleri ve tümörlerin histolojik özellikleri araştırılıp sağkalım süresi ile karşılaştırılmıştır.

2- Çalışmamızda medyan sağkalım süresi $12,42 \pm 0,85$ ay olarak hesaplanmıştır. Hastaların 1 yıllık sağkalım hızı %50,4; 2 yıllık sağ kalım hızı %22,0; 3 yıllık sağkalım hızı %13,9; 5 yıllık sağkalım hızı %1 bulunmuştur.

3- IDH1 grupları arasında sağkalım süreleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (log rank test; $p=0,078$).

4- VEP yoğunluğu olan ve 55 yaşın üzerinde tanı alan hastalarda exitus riskinin yaklaşık 1,5 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

5- Olgularımızda IDH1 antikor pozitifliği %17,8'dir. IDH1 pozitif glioblastomlar, IDH1 negatif glioblastomlara göre daha genç yaşta görülmekte olup ($p= 0,004$) tanı yaşı IDH1 pozitif glioblastomlarda daha küçüktür ($p= 0,004$).

6- IDH1 pozitif glioblastomlarda, IDH1 negatif glioblastomlara göre, derece II veya III glial tümör, veya non-glial SSS tümör öyküsü olma sıklığı daha fazladır ($p= 0,017$).

7- IDH1 pozitif olan grubun p53 ekspresyon yaygınlığının daha yüksek olarak bulunmuştur ($p= 0,022$). IDH1 negatif glioblastomlar IDH1 pozitif glioblastomlara göre RPS6'yı daha yüksek oranda eksprese etmektedir ($p= 0,005$). pAKT ekspresyonu ile IDH1 durumu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

8- p53 ekspresyonu yaygınlığı, daha genç hastalarda anlamlı şekilde daha yüksek ($p=0,014$); tanı yaşı da p53 ekspresyonu yüksek olanlarda daha küçüktür ($p=0,015$).

9- p53 ekspresyonu yüksek olan glioblastomlarda derece II veya III glial tümör, veya non-glial SSS tümör öyküsü olma sıklığı daha fazladır ($p=0,028$).

10- VEP yaygınlıkları ve 10BBA'daki yaklaşık maksimum mitoz sayıları p53 ekspresyonu yüksek grupta anlamlı olarak daha fazladır (p değerleri sırasıyla 0,037 ve 0,021).

11- RPS6 ekspresyonu $>50\%$ olan grupta nekroz yaygınlığının diğer iki gruptan anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,004$).

12- RSP6 ekspresyonu arttıkça pAKT ekspresyonunun yaygınlık ve şiddetinde anlamlı artış saptanmıştır (p değerleri sırasıyla 0,001 ve 0,002).

7. KAYNAKLAR

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. WHO classification of tumours of the central nervous system: International Agency for Research on Cancer; 2016.
2. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2005;64(6):479-89.
3. 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-oncology*. 2012;14(suppl_5):v1-v49.
4. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The lancet oncology*. 2009;10(5):459-66.
5. Reifenberger G, Weber RG, Riehm V, Kaulich K, Willscher E, Wirth H, et al. Molecular characterization of long-term survivors of glioblastoma using genome-and transcriptome-wide profiling. *International journal of cancer*. 2014;135(8):1822-31.
6. Hartmann C, Hentschel B, Simon M, Westphal M, Schackert G, Tonn JC, et al. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(18):5146-57.
7. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC-H, Leary RJ, Angenendt P, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008;321(5897):1807-12.
8. Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *The American journal of pathology*. 2009;174(4):1149-53.
9. Watanabe T, Vital A, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H. Selective acquisition of IDH1 R132C mutations in astrocytomas associated with Li-Fraumeni syndrome. *Acta neuropathologica*. 2009;117(6):653-6.
10. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *New England Journal of Medicine*. 2009;360(8):765-73.
11. Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations as molecular signature and predictive factor of secondary glioblastomas. *Clinical Cancer Research*. 2009;15(19):6002-7.
12. Capper D, Sahm F, Hartmann C, Meyermann R, von Deimling A, Schittenhelm J. Application of mutant IDH1 antibody to differentiate diffuse glioma from nonneoplastic central nervous system lesions and therapy-induced changes. *The American journal of surgical pathology*. 2010;34(8):1199-204.

13. Joshi SK, Lucic N, Zuniga R. Molecular pathogenesis of glioblastoma multiforme: Nuances, obstacles, and implications for treatment. *World Journal of Neurology*. 2015;5(3):88-101.
14. Network CGAR. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*. 2008;455(7216):1061.
15. Watanabe K, Tachibana O, Sato K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain pathology*. 1996;6(3):217-23.
16. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre P-L, et al. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer research*. 2004;64(19):6892-9.
17. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(10):987-96.
18. Minniti G, Muni R, Lanzetta G, Marchetti P, Enrici RM. Chemotherapy for glioblastoma: current treatment and future perspectives for cytotoxic and targeted agents. *Anticancer research*. 2009;29(12):5171-84.
19. Polivka Jr J, Janku F. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Pharmacology & therapeutics*. 2014;142(2):164-75.
20. Burris HA. Overcoming acquired resistance to anticancer therapy: focus on the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2013;71(4):829-42.
21. Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. *Nature Reviews Cancer*. 2009;9(8):550.
22. Keppler-Noreuil KM, Parker VE, Darling TN, Martinez-Agosto JA, editors. Somatic overgrowth disorders of the PI3K/AKT/mTOR pathway & therapeutic strategies. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*; 2016: Wiley Online Library.
23. Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer cell*. 2007;12(1):9-22.
24. Hu X, Pandolfi PP, Li Y, Koutcher JA, Rosenblum M, Holland EC. mTOR promotes survival and astrocytic characteristics induced by Pten/AKT signaling in glioblastoma. *Neoplasia*. 2005;7(4):356-68.
25. Wang SI, Puc J, Li J, Bruce JN, Cairns P, Sidransky D, et al. Somatic mutations of PTEN in glioblastoma multiforme. *Cancer research*. 1997;57(19):4183-6.
26. Zhou XP, Li YJ, Hoang-Xuan K, Laurent-Puig P, Mokhtari K, Longy M, et al. Mutational analysis of the PTEN gene in gliomas: molecular and pathological correlations. *International journal of cancer*. 1999;84(2):150-4.
27. Sano T, Lin H, Chen X, Langford LA, Koul D, Bondy ML, et al. Differential expression of MMAC/PTEN in glioblastoma multiforme: relationship to localization and prognosis. *Cancer research*. 1999;59(8):1820-4.
28. Schmelzle T, Hall MN. TOR, a central controller of cell growth. *Cell*. 2000;103(2):253-62.

29. Castedo M, Ferri K, Kroemer G. Mammalian target of rapamycin (mTOR): pro-and anti-apoptotic. Nature Publishing Group; 2002.
30. Podsypanina K, Lee RT, Politis C, Hennessy I, Crane A, Puc J, et al. An inhibitor of mTOR reduces neoplasia and normalizes p70/S6 kinase activity in Pten+/- mice. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2001;98(18):10320-5.
31. Choe G, Horvath S, Cloughesy TF, Crosby K, Seligson D, Palotie A, et al. Analysis of the phosphatidylinositol 3'-kinase signaling pathway in glioblastoma patients in vivo. Cancer research. 2003;63(11):2742-6.
32. Rajasekhar VK, Viale A, Socci ND, Wiedmann M, Hu X, Holland EC. Oncogenic Ras and Akt signaling contribute to glioblastoma formation by differential recruitment of existing mRNAs to polysomes. Molecular cell. 2003;12(4):889-901.
33. Bailey P, Cushing HW. A Classification of the Tumors of the Glioma Group on a Histo-genetic Basis, with a Correlated Study of Prognosis... With 108 Illustrations: JB Lippincott Company; 1926.
34. PRACTICAL SURGICAL NEUROPATHOLOGY: A DIAGNOSTIC APPROACH, SECOND EDITION 2018.
35. Ringertz N. » GRADING « OF GLIOMAS. Acta pathologica microbiologica Scandinavica. 1950;27(1):51-64.
36. Daumas-Duport C, Scheithauer B, O'Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas: a simple and reproducible method. Cancer. 1988;62(10):2152-65.
37. Arevalo O, Valenzuela R, Esquenazi Y, Rao M, Tran B, Zhu J, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A Practical Approach for Gliomas, Part 1. Basic Tumor Genetics. Neurographics. 2017;7(5):334-43.
38. Pope WB, Prins RM, Thomas MA, Nagarajan R, Yen KE, Bittinger MA, et al. Non-invasive detection of 2-hydroxyglutarate and other metabolites in IDH1 mutant glioma patients using magnetic resonance spectroscopy. Journal of neuro-oncology. 2012;107(1):197-205.
39. Eoli M, Menghi F, Bruzzone MG, De Simone T, Valletta L, Pollo B, et al. Methylation of O6-methylguanine DNA methyltransferase and loss of heterozygosity on 19q and/or 17p are overlapping features of secondary glioblastomas with prolonged survival. Clinical Cancer Research. 2007;13(9):2606-13.
40. Lai A, Kharbanda S, Pope WB, Tran A, Solis OE, Peale F, et al. Evidence for sequenced molecular evolution of IDH1 mutant glioblastoma from a distinct cell of origin. Journal of clinical oncology. 2011;29(34):4482.
41. HİNDİLERDEN İY, Hindilerden F, SARGIN FD. THE IMPACT OF MOLECULAR EVENTS ON MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS. İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi. 2015;78(4):125-36.
42. Ryken TC, Aygun N, Morris J, Schweizer M, Nair R, Spracklen C, et al. The role of imaging in the management of progressive glioblastoma. Journal of Neuro-oncology. 2014;118(3):435-60.

43. Brat DJ, Ryken TC, Kalkanis SN, Olson JJ. The role of neuropathology in the management of progressive glioblastoma. *Journal of neuro-oncology*. 2014;118(3):461-78.
44. Capper D, Weiße S, Balss J, Habel A, Meyer J, Jäger D, et al. Characterization of R132H mutation-specific IDH1 antibody binding in brain tumors. *Brain pathology*. 2010;20(1):245-54.
45. Chen L, Voronovich Z, Clark K, Hands I, Mannas J, Walsh M, et al. Predicting the likelihood of an isocitrate dehydrogenase 1 or 2 mutation in diagnoses of infiltrative glioma. *Neuro-oncology*. 2014;16(11):1478-83.
46. Wang F, Travins J, DeLaBarre B, Penard-Lacronique V, Schalm S, Hansen E, et al. Targeted inhibition of mutant IDH2 in leukemia cells induces cellular differentiation. *Science*. 2013;340(6132):622-6.
47. Schumacher T, Bunse L, Pusch S, Sahm F, Wiestler B, Quandt J, et al. A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity. *Nature*. 2014;512(7514):324.
48. Kozak KR, Moody JS. Giant cell glioblastoma: a glioblastoma subtype with distinct epidemiology and superior prognosis. *Neuro-oncology*. 2009;11(6):833-41.
49. Ortega A, Nuño M, Walia S, Mukherjee D, Black KL, Patil CG. Treatment and survival of patients harboring histological variants of glioblastoma. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2014;21(10):1709-13.
50. Peraud A, Watanabe K, Schwechheimer K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Genetic profile of the giant cell glioblastoma. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1999;79(2):123-9.
51. Feigin IH, Gross SW. Sarcoma arising in glioblastoma of the brain. *The American journal of pathology*. 1955;31(4):633.
52. Furnari FB, Fenton T, Bachoo RM, Mukasa A, Stommel JM, Stegh A, et al. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. *Genes & development*. 2007;21(21):2683-710.
53. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica*. 2007;114(2):97-109.
54. Jiao Y, Killela PJ, Reitman ZJ, Rasheed BA, Heaphy CM, de Wilde RF, et al. Frequent ATRX, CIC, FUBP1 and IDH1 mutations refine the classification of malignant gliomas. *Oncotarget*. 2012;3(7):709.
55. Kannan K, Inagaki A, Silber J, Gorovets D, Zhang J, Kastenhuber ER, et al. Whole exome sequencing identifies ATRX mutation as a key molecular determinant in lower-grade glioma. *Oncotarget*. 2012;3(10):1194.
56. Okamoto Y, Di Patre P-L, Burkhard C, Horstmann S, Jourde B, Fahey M, et al. Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade diffuse astrocytomas and oligodendrogliomas. *Acta neuropathologica*. 2004;108(1):49-56.
57. Reifenberger J, Ring GU, Gies U, Cobbers JL, Oberstraß J, An H-X, et al. Analysis of p53 mutation and epidermal growth factor receptor amplification in recurrent gliomas with malignant progression. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 1996;55(7):822-31.

58. Watanabe K, Sato K, Biernat W, Tachibana O, von Ammon K, Ogata N, et al. Incidence and timing of p53 mutations during astrocytoma progression in patients with multiple biopsies. *Clinical Cancer Research*. 1997;3(4):523-30.
59. Network CGAR. Comprehensive, integrative genomic analysis of diffuse lower-grade gliomas. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(26):2481-98.
60. Küçüköner M, Isikdogan A. Kanser tedavisinde mTOR sinyal yolu ve mTOR inhibitörleri/mTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in the treatment of cancer. *Dicle Tıp Dergisi*. 2013;40(1):156.
61. Pawson T. Introduction: protein kinases. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1994;8(14):1112-3.
62. Ozcan O, Dikmen M. mTOR Inhibitors in the Treatment of Cancer. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2015;19(3).
63. Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI (3) K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature*. 2006;441(7092):424.
64. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling at a glance. *Journal of cell science*. 2009;122(20):3589-94.
65. Toschi A, Lee E, Gadir N, Ohh M, Foster DA. Differential dependence of hypoxia-inducible factors 1 α and 2 α on mTORC1 and mTORC2. *Journal of Biological Chemistry*. 2008;283(50):34495-9.
66. Lee HC, Tian B, Sedivy JM, Wands JR, Kim M. Loss of Raf kinase inhibitor protein promotes cell proliferation and migration of human hepatoma cells. *Gastroenterology*. 2006;131(4):1208-17.
67. McCubrey JA, Steelman LS, Kempf CR, Chappell WH, Abrams SL, Stivala F, et al. Therapeutic resistance resulting from mutations in Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR signaling pathways. *Journal of cellular physiology*. 2011;226(11):2762-81.
68. Zhou H, Huang S. mTOR signaling in cancer cell motility and tumor metastasis. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*. 2010;20(1).
69. Feng Z, Zhang H, Levine AJ, Jin S. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102(23):8204-9.
70. Fuller GN, Bigner SH. Amplified cellular oncogenes in neoplasms of the human central nervous system. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*. 1992;276(3):299-306.
71. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *nature*. 2004;432(7015):396.
72. Singh D, Chan JM, Zoppoli P, Niola F, Sullivan R, Castano A, et al. Transforming fusions of FGFR and TACC genes in human glioblastoma. *Science*. 2012;337(6099):1231-5.
73. van Thuijl HF, Mazar T, Johnson BE, Fouse SD, Aihara K, Hong C, et al. Evolution of DNA repair defects during malignant progression of low-

grade gliomas after temozolomide treatment. *Acta neuropathologica*. 2015;129(4):597-607.

74. Hütt-Cabezas M, Karajannis MA, Zagzag D, Shah S, Horkayne-Szakaly I, Rushing EJ, et al. Activation of mTORC1/mTORC2 signaling in pediatric low-grade glioma and pilocytic astrocytoma reveals mTOR as a therapeutic target. *Neuro-oncology*. 2013;15(12):1604-14.

75. Franz DN, Belousova E, Sparagana S, Bebin EM, Frost M, Kuperman R, et al. Efficacy and safety of everolimus for subependymal giant cell astrocytomas associated with tuberous sclerosis complex (EXIST-1): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet*. 2013;381(9861):125-32.

76. Franz DN, Belousova E, Sparagana S, Bebin EM, Frost M, Kuperman R, et al. Everolimus for subependymal giant cell astrocytoma in patients with tuberous sclerosis complex: 2-year open-label extension of the randomised EXIST-1 study. *The Lancet Oncology*. 2014;15(13):1513-20.

77. Takami H, Yoshida A, Fukushima S, Arita H, Matsushita Y, Nakamura T, et al. Revisiting TP 53 Mutations and Immunohistochemistry—A Comparative Study in 157 Diffuse Gliomas. *Brain pathology*. 2015;25(3):256-65.

78. Takano S, Ishikawa E, Sakamoto N, Matsuda M, Akutsu H, Noguchi M, et al. Immunohistochemistry on IDH 1/2, ATRX, p53 and Ki-67 substitute molecular genetic testing and predict patient prognosis in grade III adult diffuse gliomas. *Brain tumor pathology*. 2016;33(2):107-16.

79. Haapasalo H, Isola J, Sallinen P, Kalimo H, Helin H, Rantala I. Aberrant p53 expression in astrocytic neoplasms of the brain: association with proliferation. *The American journal of pathology*. 1993;142(5):1347.

80. Pavelin S, Becic K, Forempoher G, Mrklic I, Pogorelic Z, Titlic M, et al. Expression of Ki-67 and p53 in meningiomas. *Neoplasma*. 2013;60(5):480-5.

81. Harter PN, Jennewein L, Baumgarten P, Ilina E, Burger MC, Thiebold A-L, et al. Immunohistochemical assessment of phosphorylated mTORC1-pathway proteins in human brain tumors. *PloS one*. 2015;10(5):e0127123.

82. Masuda M, Chen W-Y, Miyanaga A, Nakamura Y, Kawasaki K, Sakuma T, et al. Alternative mammalian target of rapamycin (mTOR) signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells revealed by array-based pathway profiling. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2014;13(6):1429-38.

83. Suzuki Y, Shirai K, Oka K, Mobaraki A, Yoshida Y, Noda S-e, et al. Higher pAkt expression predicts a significant worse prognosis in glioblastomas. *Journal of radiation research*. 2010;51(3):343-8.

84. Bleeker FE, Atai NA, Lamba S, Jonker A, Rijkeboer D, Bosch KS, et al. The prognostic IDH1 R132 mutation is associated with reduced NADP+-dependent IDH activity in glioblastoma. *Acta neuropathologica*. 2010;119(4):487-94.

85. Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, Bäcklund LM, Chan R, Jones DT, et al. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro-oncology*. 2009;11(4):341-7.

86. Dropcho EJ, Soong S-j. The prognostic impact of prior low grade histology in patients with anaplastic gliomas: a case-control study. *Neurology*. 1996;47(3):684-90.
87. Balss J, Meyer J, Mueller W, Korshunov A, Hartmann C, von Deimling A. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta neuropathologica*. 2008;116(6):597-602.
88. Campos B, Olsen LR, Urup T, Poulsen H. A comprehensive profile of recurrent glioblastoma. *Oncogene*. 2016;35(45):5819.
89. Neumann JE, Dorostkar MM, Korshunov A, Mawrin C, Koch A, Giese A, et al. Distinct histomorphology in molecular subgroups of glioblastomas in young patients. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2016;75(5):408-14.
90. Ham SW, Jeon H-Y, Jin X, Kim E-J, Kim J-K, Shin YJ, et al. TP53 gain-of-function mutation promotes inflammation in glioblastoma. *Cell Death & Differentiation*. 2019;26(3):409.
91. Guedes LB, Almutairi F, Haffner MC, Rajoria G, Liu Z, Klimek S, et al. Analytic, preanalytic, and clinical validation of p53 IHC for detection of TP53 missense mutation in prostate cancer. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(16):4693-703.
92. Watanabe G, Ishida T, Furuta A, Takahashi S, Watanabe M, Nakata H, et al. Combined Immunohistochemistry of PLK1, p21, and p53 for Predicting TP53 Status. *The American journal of surgical pathology*. 2015;39(8):1026-34.
93. Brennan CW, Verhaak RG, McKenna A, Campos B, Nounshmehr H, Salama SR, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell*. 2013;155(2):462-77.
94. Annovazzi L, Mellai M, Caldera V, Valente G, Tessitore L, Schiffer D. mTOR, S6 and AKT expression in relation to proliferation and apoptosis/autophagy in glioma. *Anticancer research*. 2009;29(8):3087-94.
95. Chakravarti A, Zhai G, Suzuki Y, Sarkesh S, Black PM, Muzikansky A, et al. The prognostic significance of phosphatidylinositol 3-kinase pathway activation in human gliomas. *Journal of Clinical Oncology*. 2004;22(10):1926-33.
96. Riemenschneider MJ, Betensky RA, Pasedag SM, Louis DN. AKT activation in human glioblastomas enhances proliferation via TSC2 and S6 kinase signaling. *Cancer research*. 2006;66(11):5618-23.
97. Korkolopoulou P, Levidou G, El-Habr EA, Piperi C, Adamopoulos C, Samaras V, et al. Phosphorylated 4E-binding protein 1 (p-4E-BP1): a novel prognostic marker in human astrocytomas. *Histopathology*. 2012;61(2):293-305.
98. Machado LE, Alvarenga AW, da Silva FF, Roff éM, Begnami MD, Torres LFB, et al. Overexpression of mTOR and p (240–244) S6 in IDH1 Wild-Type Human Glioblastomas Is Predictive of Low Survival. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2018;66(6):403-14.

8. ÖZET

GLİOBLASTOMLARDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK IDH1 VE P53 MUTASYON ANALİZİ; PI3K/AKT/mTOR YOLAĞININ İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK pAKT VE RPS6 EKSPRESYON DÜZEYLERİNE GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

Erişkinlerde en sık rastanan primer malign beyin neoplazisi prognozu oldukça kötü olan glioblastomdur. Güncel sınıflamada bu tümörün genetiği ön plana çıkarılmış; prognostik açıdan anlamı bir belirteç olan IDH mutasyonu önem kazanmıştır. TP53 mutasyonu da sekonder grupta daha sık görülen, astrositik serideki neoplastik sürece de katkısı olan önemli bir mutasyondur.

Glioblastomlar için güncel tedavi yaklaşımı maksimum güvenli cerrahi rezeksiyon sonrası standart radyoterapi ile temozolamid kombinasyonudur. Alternatif olarak glioblastomlarda mutasyonları saptanan hücresel yollara yönelik tedaviler gündemdedir.

Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2008-2017 yılları arasında glioblastom tanısı alan 349 olgu klinik ve histolojik özellikleri açısından tekrar değerlendirilmiştir. Tümör dokularında immünhistokimyasal olarak IDH1, p53, RPS6 ve pAKT ekspresyonlarına bakılmıştır.

Çalışmamızda medyan sağkalım süresi yaklaşık 12,42 ay olarak hesaplanmıştır. Hastaların 1 yıllık sağkalım hızı %50,4; 2 yıllık sağ kalım hızı %22,0; 3 yıllık sağkalım hızı %13,9; 5 yıllık sağkalım hızı %1'dir. Literatür bilgilerinin aksine, çalışmamızda IDH1 ekspresyonu ile sağ kalım arasında

anlamli iliski bulunamamis, tani yasinin 55 yasin uzerinde olmasi ve VEP'i yogun sag kalimla anlamli iliskisi olan faktörler olarak saptanmistir.

IDH1 ve p53 ekspresyonlarının hasta yasi, tani yasi, sekonder grup iliskileri literatürle uyumlu olarak genç yasi ve sekonder grupta ekspresyonun yüksek olduğu görölmüstür. p53 ekspresyonu yüksek olan grupta VEP'in yaygin, mitotik aktiviteninse yüksek olduğu görölmüstür. RPS6 ekspresyonunu literatür ile uyumlu olarak IDH1 negatif grupta daha yüksek olarak bulunmustur.

Çalışmamızda IDH1'in ekspresyonu ile sag kalim arasında anlamli bir iliski bulunmamis olmasi literatürdeki bilgilere zıt bir görüş olmasi nedeniyle dikkat çekicidir.

Anahtar kelimeler: Glioblastom, sagkalim, IDH1-RPS6

9. SUMMARY

IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF IDH1 AND P53 MUTATIONS IN GLIOBLASTOMAS; EVALUATION OF PI3K/AKT/mTOR PATHWAY ACCORDING TO IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSIONS OF pAKT AND RPS6

Classification of glioblastoma, which is the most frequent and highly aggressive, primary brain neoplasm in adults, has been based on genetic alterations, especially IDH mutation. p53 mutation is related to the progression of a lower grade glioma and frequently seen with IDH mutant glioblastomas.

The current therapy strategy for glioblastomas is, after a maximum surgical resection, conventional radiotherapy combined with temozolamide. Studies about targeting the cellular pathways altered in glioblastoma are getting more important.

In our study, 349 glioblastoma cases' clinical and histological properties were reexamined, who was diagnosed at Gazi University Hospital, Pathology department, between years 2008-2017. Each case was immunohistochemically stained with IDH1, p53, RPS6, and pAKT antibodies.

According to analysis, median overall survival is 12,42 months, cumulative survival rates for glioblastoma patients are: For 1 year 50,4%; for 2 years 22,0%; for 3 years 13,9% and for 5 years 1%. The most important result is we haven't found a relation with IDH expression and overall survival, however,

being more than 55 years old at diagnosis and having a tumor includes intense VEP, cause a 1,5 fold higher risk for exitus.

IDH1 positive and p53 expression high groups have younger patient age; younger age of diagnosis. Previous brain tumor history is higher in these two groups. Also, IDH1 negative group has a higher expression rate for the RPS6 antibody. These findings are compatible with the literature.

Keywords: Glioblastoma, survival, IDH1-RPS6

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Pınar Çakmak

Doğum Yeri ve Tarihi : Malatya / 01.07.1987

Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru) :

2015-Halen, Araştırma görevlisi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

2013-2014, Araştırma görevlisi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

2006-2012, Lisans, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (İngilizce)

2001-2005, Lise, Malatya Turgut Özal Anadolu Lisesi

Yabancı Dili :

İngilizce, C2

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar :

Patoloji Dernekleri Federasyonu

Ankara Patoloji Derneği

Türk Nöroonkoloji Derneği

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri, yayınları)

Yayın

- Quantitative Third Harmonic Generation Microscopy for Assessment of Glioma in Human Brain Tissue Zhiqing Zhang, Jan C. de Munck, Niels Verburg, Annemieke J. Rozemuller, Willem Vreuls, Pınar Çakmak, Laura M. G. van Huizen, Sander Idema, Eleonora Aronica,

Philip C. de Witt Hamer, Pieter Wesseling, and Marie Louise Groot
Adv Sci (Weinh). 2019 Jun 5; 6(11): 1900163. Published online 2019
Apr 5. doi: 10.1002/advs.201900163

Burs

- International Society of Neuropathology, kurs katılım desteği, “EuroCNS course on CNS tumours,” Amsterdam, Hollanda, 2018
- 30. Avrupa Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, 2018, Bilbao, İspanya
- Erasmus Plus Programı, 2 aylık eğitim desteği, Amsterdam, Hollanda, 2018

Sözlü sunum

- “PD-L1 expression of medulloblastoma”, 30. Avrupa Patoloji Kongresi, 2018, Bilbao, İspanya

Poster

- “Low risk and high risk HPV chromogenic in-situ hybridization in pap smears” 28. Avrupa Patoloji Kongresi, 2016, Köln, Almanya
- “Juvenil Gastrik Polipozis Sendromu, olgu sunumu ve literatür özeti” 26.Ulusal Patoloji Kongresi, 2016, Antalya, Türkiye
- “Orbital mikst germ hücreli tümör, olgu sunumu ve literatür özeti” 29.Ulusal Patoloji Kongresi, 2019, Trabzon, Türkiye;

Katılım belgeleri

- 29. Ulusal Patoloji Kongresi (+Nöropatoloji Kursu)
- 14th Meeting of the European Association of Neuro-Oncology

- 8. Patoloji Kış Okulu
- Yapılandırılmış Üropatoloji Eğitim Kursu (YÜEK) I,: Böbrek Tümörleri”
- 33rd Euro-CNS course, Tumors of the central nervous system
- 30th European Congress of Pathology
- 28. Ulusal Patoloji Kongresi (+ Karaciğer Patolojisi Kursu,+Jinekopatoloji Kursu, +Nöropatoloji Kursu)
- 6. Patoloji Kış Okulu
- Jinekoloji- dışı Sitopatoloji Kursu
- 28th European Congress of Pathology
- Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi
- 5. Patoloji Kış Okulu
- 26. Ulusal Patoloji & 7. Ulusal Sitopatoloji Kongresi