

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**GLİOM OLGULARINDA KOPYA SAYISI DEĞİŞİKLİKLERİ
VE KANSER MUTASYONLARININ KLİNİK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. MÜNİBE BÜŞRA ERDEM

TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. ÖMER HAKAN EMMEZ

MAYIS 2020 – ANKARA

TEŞEKKÜR

Bilimi ve bilimsel düşünceyi rehber edinen Ulu Önderimiz Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK'e,

Nöroşirurji ihtisas eğitimim ve tez çalışmam sürecinde bana yol gösteren, emek, destek ve sabrını esirgemeyen tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Ömer Hakan Emmez'e,

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Aydın Paşaoğlu, Prof. Dr. Şükrü Aykol, Prof. Dr. Fikret Hüseyin Doğulu, Prof. Dr. Ahmet Memduh Kaymaz, Prof. Dr. Gökhan Kurt, Doç. Dr. Alp Özgün Börcek, değerli abilerim Doç. Dr. Mesut Emre Yaman, Doç. Dr. Aydemir Kale ve Öğr.Gör. Dr. Emrah Çeltikçi'ye,

Tez çalışmam boyunca büyük bir özveri ile bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve destek olan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan değerli Öğr.Gör. Dr. Gülsüm Kayhan, değerli moleküler biyolog Hasan Hüseyin Kazan ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan değerli Öğr.Gör. Dr. Mehmet Arda İnan'a,

El becerisi, bilgisi ve birikimine hayran kaldığım, bana bir nöroşirürjiyen olma yolunda özgüven kazandırmış değerli abim Op.Dr. Burak Özaydın'a,

Çalışkanlığını örnek aldığım, bilgi ve birikimlerinden yararlandığım değerli Op.Dr. Ayfer Aslan'a,

Gamma Knife Ünitemizin fizik mühendisleri Dr. Özlem Dağlı ve Yük.Müh. Temur Demirci'ye,

Kliniğimizin başhemşiresi Nurhan Bilge Çakar’a,

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Kliniğimiz ve ameliyathanemizde görev yapan; güler yüzleri, esprileri ve iş bitiricilikleri ile zor zamanlarımı kolaylaştıran başta anestezi teknisyenimiz değerli Ayla Şıkman olmak üzere anestezi teknisyenlerimiz, hemşirelerimiz ve tüm sağlık personellerimize,

Eğitim hayatımda yoluma ışık olmuş ve hayatımın her anında destek olan sevgili fedakâr ablam Uzm.Dr. Fatma Şule Erdem’e,

Hayatımın her anında destek olan sevgili fedakâr annem Gülseren Erdem ve rahmetli babam Veli Haydar Erdem’e,

İstiklâli, yaşamanın gereği olarak düşünmüş Kahraman Şehitlerimiz ve Gazilerimize,

En içten sevgi, saygı, minnet ve teşekkürlerimi sunarım...

Bu çalışmadaki motivasyon kaynağım kliniğimizden yolu geçmiş her doktorun hayatında bir parça olan, gün geçtikçe kıymetini daha fazla anladığım, değerli hocam Prof. Dr. Mustafa Kemali Baykaner olmuştur. Kıymetli hocamı rahmet ve şükranla anıyorum...

Dr. Münibe Büşra Erdem

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay

Teşekkür

İçindekiler

Tablo Listesi

Şekil Listesi

Kısaltmalar

1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. GLİAL TÜMÖRLER.....	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. Etiyoloji.....	4
<i>Çevresel Faktörler.....</i>	<i>4</i>
<i>Genetik Faktörler.....</i>	<i>4</i>
2.1.3. Gliom Belirti ve Bulguları.....	5
2.1.4. Yayılım.....	6
2.1.5. Tedavi.....	7
2.1.6.Sınıflandırma.....	8
2.2. DİFFÜZ ASTROSİTİK TÜMÖRLER.....	14
2.2.1. İnsidans.....	14
2.2.2. Sınıflandırma.....	14
2.2.3. Radyolojik Görüntüleme.....	16
2.2.4. Diffüz Astrositom, WHO Grade II.....	16
<i>Diffüz Astrositom, IDH-mutant (WHO Grade II).....</i>	<i>17</i>
<i>IDH 1/2 Gen Mutasyonları.....</i>	<i>18</i>

<i>TP53 ve ATRX Gen Mutasyonları.....</i>	19
<i>Gemiositik Astrositom – IDH mutant.....</i>	19
<i>Diffüz Astrositom, IDH-wild tip (WHO Grade Belirtilmemiş).....</i>	20
<i>TERT Promotör Gen Mutasyonları.....</i>	21
<i>Diffüz Astrositom, NOS (WHO Grade Belirtilmemiş).....</i>	22
<i>Diffüz Astrositomda Tedavi</i>	22
Diffüz Astrositomda Cerrahi Tedavi.....	23
İntraoperatif Haritalama ve Uyanık Kraniyotomi.....	24
Diffüz Astrositomda Adjuvan Tedavi.....	25
Diffüz Astrositomda Radyoterapi.....	26
Diffüz Astrositomda Kemoterapi.....	27
<i>Diffüz Astrositomda Sağkalım.....</i>	28
2.2.5. Anaplastik Astrositom, WHO Grade III.....	29
<i>Anaplastik Astrositom, IDH-mutant (WHO Grade III).....</i>	30
<i>Anaplastik Astrositom, IDH-wild tip (WHO Grade III).....</i>	30
<i>Anaplastik Astrositom, NOS (WHO Grade III).....</i>	30
<i>Anaplastik Astrositomda Tedavi.....</i>	31
2.2.6. Glioblastom, WHO Grade IV	31
<i>Glioblastom Gelişiminde Moleküler Yolaklar.....</i>	32
<i>MGMT Transkripsiyonel Susturma (Epigenetik Mekanizma).....</i>	33
<i>Glioblastomların Radyolojik Özellikleri.....</i>	34
<i>Primer ve Sekonder Glioblastom Kavramı.....</i>	35
Primer Glioblastom.....	35
IDH-Wild tip Glioblastom Subtipleri.....	36
Sekonder Glioblastom.....	37

<i>Glioblastom, NOS (WHO Grade IV).....</i>	<i>40</i>
<i>Glioblastomda Tedavi.....</i>	<i>40</i>
5-Aminolevulinik-Asit Yardımlı Rezeksiyon.....	41
<i>Glioblastomda Cerrahi Sonrası Adjuvan Tedavi.....</i>	<i>41</i>
<i>Glioblastomda Diğer Adjuvan Tedaviler.....</i>	<i>44</i>
<i>Glioblastomda Tedaviye Yanıt.....</i>	<i>44</i>
<i>RANO (“Response Assessment in Neuro-Oncology” – Nöro-Onkolojide Yanıt Değerlendirmesi) Kriterleri.....</i>	<i>45</i>
<i>Rekürren Glioblastomda Tedavi.....</i>	<i>47</i>
<i>Glioblastomda Sağ kalım.....</i>	<i>49</i>
2.3. OLİGODENDROGLİOMLAR.....	49
2.3.1. Oligodendrogliom, IDH-mutant & 1p/19q kodelesyonu (WHO Grade II).....	51
2.3.2. Oligodendrogliom, NOS (WHO Grade II)	53
2.3.3. Anaplastik Oligodendrogliom, IDH-mutant & 1p/19q-kodelesyonu (WHO Grade III).....	53
2.3.4. Anaplastik Oligodendrogliom, NOS (WHO Grade III).....	54
<i>Oligoastrositom Tanımı.....</i>	<i>54</i>
2.4. DİFFÜZ GLİOM PATOGENEZİNDE KOPYA SAYISI DEĞİŞİKLİKLERİ, HOTSPOT MUTASYONLAR VE KULLANILAN ANALİZLER.....	56
2.4.1. Kopya Sayısı Değişiklikleri.....	56
2.4.2. Kopya Sayısı Değişikliklerinin Hastalıklara Yol Açma Mekanizmaları.....	57
2.4.3. Array Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon.....	59
<i>Kopya Sayısı Değişikliklerinin Yorumlanması.....</i>	<i>60</i>

2.4.4. Yeni Nesil Dizileme.....	64
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	66
3.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	71
3.2. GENETİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	74
3.2.1. Genomik DNA izolasyonu.....	74
3.2.2. Array Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon.....	74
3.2.3. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi.....	78
3.3.KLİNİK, HİSTOPATOLOJİK VE GENETİK BULGULARIN BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ.....	79
3.3.1. İstatistiki Analiz.....	80
4. BULGULAR.....	81
4.1.DEMOGRAFİ.....	81
4.1.1. Hasta Sayısı.....	81
4.1.2. Yaş.....	81
4.2. BELİRTİ VE BULGULAR.....	82
4.3. RADYOLOJİK BULGULAR.....	85
4.3.1. Taraf	85
4.3.2. Boyut ve Büyüme hızı.....	85
4.3.3. Sayı	89
4.3.4.Yerleşim.....	89
4.3.5. Peritümöral ödem.....	90
4.3.6.Kontrast Tutma Özelliği (Kan-Beyin Bariyeri Geçirgenliği).....	90
4.4. AMELİYATA AİT BULGULAR.....	95
4.5. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	96
4.6. GENETİK BULGULAR.....	109

4.7. AMELİYAT SONRASI BULGULAR.....	126
4.7.1. Ameliyat Sonrası Klinik Bulgular.....	126
4.7.2. Adjuvan Tedaviler, Prognoz ve Sağkalım.....	128
4.8.ELDE EDİLEN GENETİK BULGULARIN SAĞKALIM İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ.....	130
5. TARTIŞMA.....	139
6. SONUÇ.....	150
7. KAYNAKLAR.....	151
8. ÖZET.....	181
9. SUMMARY.....	182
10. ÖZGEÇMİŞ.....	183

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. WHO 2016 sınıflandırmasına göre gliomlar ve dereceleri.....	13
Tablo 2. Diffüz astrositik tümörlerde WHO 2016 Sınıflandırmasında değerlendirilen morfolojik kriterler.....	15
Tablo 3. Diffüz astrositik tümörlerde radyolojik özellikler.....	16
Tablo 4. Primer ve sekonder glioblastomun karşılaştırılması.....	39
Tablo 5. Yüksek dereceli gliomlar için RANO Kriterleri.....	46
Tablo 6. Yüksek dereceli gliomlar için RANO kriterleri (Özet).....	47
Tablo 7. Kopya sayısı değişikliklerinin ACMG'ye göre klinik sınıflandırması...	63
Tablo 8. Hotspot kanser paneli v2'de mutasyonu taranan 50 gen.....	65
Tablo 9. Hastalara ait demografik veriler.....	82
Tablo 10. Ameliyat öncesinde hastalara ait belirti ve bulgular.....	84
Tablo 11. Hastalara ait radyolojik bulgular.....	93
Tablo 12. Tümörlerin tercih ettiği tutulum bölgeleri.....	94
Tablo 13. Uygulanan cerrahi rezeksiyon oranları	96
Tablo 14. Olgulara ait histopatolojik bulgular.....	109
Tablo 15. Diffüz astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri.....	110
Tablo 16. Diffüz astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları.....	112
Tablo 17. Anaplastik astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri.....	115
Tablo 18. Anaplastik astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları.....	116

Tablo 19. Glioblastom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri.....	118
Tablo 20. Glioblastom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları.....	121
Tablo 21. Oligodendrogliom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri.....	124
Tablo 22. Oligodendrogliom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları.....	125
Tablo 23. Ameliyat sonrası klinik bulgular.....	127
Tablo 24. Adjuvan tedaviler ve sağ kalım.....	130
Tablo 25. Kopya sayısı değişikliği için cut off değerlerin belirlenmesi.....	131
Tablo 26. Sağ kalım analizinde değerlendirilen değişkenler ve dağılımlar.....	132
Tablo 27. Sağ kalım ve genetik değişikliklerin istatistiki analizi.....	133

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Diffüz astrositik ve oligodendrogliyal tümörlerin sınıflandırılmasının özeti.....	12
Şekil 2. Diffüz astrositomda moleküler tanı algoritması.....	19
Şekil 3. Diffüz gliom morfolojisindeki tümörler için moleküler belirteçleri içeren tanı algoritması.....	55
Şekil 4. Array CGH çalışmasının temel mekanizması.....	60
Şekil 5. Tümörlerin kraniyal MR görüntülemelerde sınıflandırılan yerleşim yerleri.....	69
Şekil 6. Tümörlerin yerleşim yerlerinin sınıflandırması.....	70
Şekil 7. Hastalara ait Hemotoksilen&Eozin boyalı camlarda tümör hücrelerinin yoğun olduğu bölgeler.....	72
Şekil 8. Biyopsi iğnesi ile tümör hücrelerinin yoğun olduğu bölgelerden alınan örneklerin tekrar parafin bloklara gömülmesi ve örneklerin numaralandırılması...72	72
Şekil 9. IDH, p53, ATRX ve Ki-67 antikorları ile boyanmış olan camlar.....	73
Şekil 10. Histopatolojik inceleme örnekleri.....	73
Şekil 11. Anaplastik astrositom grubunda hızlı şekilde görülen kitle boyut artışı.....	86
Şekil 12. Glioblastom grubunda hızlı şekilde görülen kitle boyut artışı.....	87
Şekil 13. Glioblastom grubunda kitle içi kanama ile prezente olan hastada meydana gelen kitle boyut artışı.....	88
Şekil 14. Glioblastom grubunda birden çok kitle ve satellit lezyona örnekler.....	89
Şekil 15. Kontrast tutulumu olan hastalar.....	92
Şekil 16. Diffüz astrositom grubundaki bir olguya ait histopatolojik bulgular....	97

Şekil 17. Diffüz astrositom grubundaki bir olguya ait histopatolojik değerlendirme.....	98
Şekil 18. Diffüz astrositom grubunda dikkate değer olguların histopatolojik incelemeleri.....	99
Şekil 19. Anaplastik astrositom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	100
Şekil 20. Glioblastom grubunda IDH mutant tip olan hastaya ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	101
Şekil 21. Glioblastom grubunda dev hücreli glioblastom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	102
Şekil 22. Glioblastom grubunda gliosarkom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	103
Şekil 23. Glioblastom grubunda atipik mitozların görüldüğü olguya ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	104
Şekil 24. Oligodendrogliom grubundaki olgulara ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	106
Şekil 25. Anaplastik oligodendrogliom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	107
Şekil 26. Pediatrik oligodendrogliom kabul edilen olguya ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler.....	108
Şekil 27. Kopya sayısı değişikliği için ROC analizi.....	131
Şekil 28. Toplam kopya sayısı değişikliğine göre sağkalım grafiği.....	133
Şekil 29. 6q delesyonuna göre sağkalım grafiği.....	134
Şekil 30. 9p delesyonuna göre sağkalım grafiği.....	134
Şekil 31. 10p delesyonuna göre sağkalım grafiği.....	135

Şekil 32. 10q delesyonuna göre sağkalım grafiği.....	135
Şekil 33. 7p duplikasyonuna göre sağkalım grafiği.....	136
Şekil 34. 7q duplikasyonuna göre sağkalım grafiği.....	136
Şekil 35. 20p duplikasyonuna göre sağkalım grafiği.....	137
Şekil 36. 20q duplikasyonuna göre sağkalım grafiği.....	137
Şekil 37. IDH mutasyonuna göre sağkalım grafiği.....	138

KISALTMALAR

α -KG: Alfa Ketoglutarat

ACMG: “American College of Medical Genetics and Genomics” - Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji

Array CGH: “Array Comparative Genomic Hybridization” - Array Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon

ATRX: ATP'ye Bağlı Helikaz X

BT: Bilgisayarlı Tomografi

cIMPACT: “The Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy” - Santral Sinir Sistemi Tümörleri Taksonomisine Moleküler ve Pratik Yaklaşımları Bildiren Konsorsiyum

CDK4: Siklin Bağımlı Kinaz 4

CDKN2A: Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör 2A

CNV: “Copy Number Variations” - Kopya Sayısı Değişiklikleri

EGFR: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

EORTC: “The European Organisation for Research and Treatment of Cancer” - Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonu

GBM: Glioblastom Multiforme

IDH: İzositrat Dehidrogenaz

MGMT: Metilguanin-DNA metiltransferaz

MR: Manyetik Rezonans

NGS: “Next Generation Sequencing” - Yeni Nesil Dizileme

NOS : “Not Otherwise Specified” - Başka Biçimde Tanımlanamayan

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PIK3CA: Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinaz

PTEN: Fosfataz ve Tensin Homoloğu

RANO: “Response Assessment in Neuro-Oncology” - Nöro-Onkolojide Yanıt Değerlendirmesi

RB: Retinoblastom

rCBV: Tümör Alanında Ölçülen Kan Hacmi

SSS: Santral Sinir Sistemi

TERT: Telomeraz Reverse Transkriptaz

TMZ: Temozolomid

WHO: “World Health Organization” – Dünya Sağlık Örgütü

2-HG: 2-hidroksiglutarat

5-ALA: 5-aminolevulinik asit

1. GİRİŞ

Glial tümörler (gliomlar), tüm primer Santral Sinir Sistemi (SSS) tümörlerinin %27'sini ve primer SSS malign tümörlerinin %80'ini oluşturur. Gliomlar, stromal (glial) hücrelerden kaynaklanır ve herhangi bir glial hücre serisinden (astrosit hücresi, oligodendroglia, ependim hücresi, schwann hücresi, mikroglia) köken alan tümörleri ifade eder. Astrositlerden astrositomlar, oligodendrositlerden oligodendrogliomlar ve ependimal hücrelerden ise ependimomlar gelişir. Gliomlar, konnektomları invaze eder ve beyaz cevher fibrilleri boyunca ilerler. Büyüme paternine göre mikroskopik olarak düşük ve yüksek dereceli gliom olarak ikiye ayrılır. Kabaca; yavaş büyüyen lezyonlar düşük dereceli, daha hızlı büyüyenler yüksek derecelidir. Tüm gliomların %70'ini astrositomlar oluşturur. Astrositomlar içinde en yaygın görülen tümör glioblastom multiforme (GBM)'dir. Gliomlar apoptoza karşı dirençlidir, invazyon potansiyeli ve anjiogenez kapasitesi yüksektir. Hücre göçü yeteneği mevcuttur. Gliomlar bu nedenle diğer beyin tümörleri ve malign neoplazilerden farklıdır. Patogenezindeki bu özellikler nedeniyle, bugüne kadar yapılan moleküler çalışmalarda birçok tanısal ve prognostik belirteç tanımlanmaya çalışılmıştır (1).

Dünya Sağlık Örgütü'nün ("World Health Organization" – WHO) SSS tümörleri sınıflandırmasının 2016 yılında yayınlanan son güncellemesi, histolojik fenotiplendirme temellidir ve tamamlayıcı moleküler genotiplendirmeye dayanmaktadır. Bu sınıflandırma; IDH mutasyonu, 1p/19q kodelesyonu, H3-K27M mutasyonu ve C11orf95–RELA füzyonunu belirli gliom türlerini tanımlamaya yönelik doğrudan tanı koyucu belirteçler olarak önermiştir (2).

Kopya sayısı değişiklikleri, bir insanın genomundaki kopya sayılarındaki farklılıklardan oluşan genetik özelliklerini ifade eder ve bu değişiklikler insanlar arasındaki genetik çeşitliliğe katkıda bulunur. Bu değişiklikler; genin silinmesi (delesyon) veya çiftleşmesi (amplifikasyon) şeklinde olabilir. Yapılan çalışmalarda bazı kopya sayısı değişikliklerinin hastalığa yatkınlık ya da direnç gösterme gibi özellikleri saptanmıştır. Kopya sayısı değişikliklerinin tespiti için kullanılan yöntemlerden biri *Array Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon*'dur. ("Array Comparative Genomic Hybridization"; Array CGH) Ayrıca, günümüzde kanserle ilişkili tespit edilmiş genlerin "hotspot" bölgelerindeki mutasyonları bir gün gibi çok kısa bir sürede tarayabilen *Yeni Nesil Dizileme* ("Next Generation Sequencing"; NGS) panelleri geliştirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı; kliniğimizde gliom tanısı ile ameliyat edilmiş hastalarda kopya sayısı değişikliklerinin ve kanserde yaygın görülen 50 farklı gendeki mutasyonların Array CGH ve NGS yöntemi ile taranmasıdır. Elde edilen bulguların klinik bulgular ile değerlendirilmesi ve mevcut literatüre katkıda bulunmak hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. GLİAL TÜMÖRLER

2.1.1. Epidemiyoloji

Küresel Kanser Araştırması (“Global Cancer Incidence, Mortality and Prevalence”; GLOBOCAN) 2018 verilerine göre Türkiye’de SSS tümörleri tüm kanserlerin %2,8’sini oluşturur (3). Beyin, meninks ve SSS kanserlerinin her 100.000 kişide yaşa standardize edilmiş hızı; erkeklerde yılda 5,3 ve kadınlarda 4,1’dir (4). Bu oran dünya istatistiklerine benzerdir. Gliom görülme sıklığı; analizin yapıldığı ülkeye, o ülkenin tıbbi imkanları ve sağlık politikalarına göre değişir. Amerikan istatistiklerine göre gliomlar, primer beyin tümörlerinin %30’unu oluşturur ve bunların %80’i malign’dir (5). Avrupa istatistiklerinde ise gliomlar, primer beyin tümörlerinin %34’ünü oluşturur ve bunların %95’i malign’dir. Beyin tümörlerinin gelişmiş ülkelerde ve sosyoekonomik düzeyi yüksek toplumlarda görülme sıklığı daha fazladır.

Beyin tümörlerinin görülme sıklığı yaşa göre değişkenlik gösterir. 0-14 yaş çocuklarda 5,54/100.000, 0-19 yaş arasında 5,81/100.000, ve 20 yaşın üzerindeki yaş grubunda 29,41/100.000 sıklığında görülür (6). Örneğin, adölesan ve genç erişkinlerde primer beyin tümörlerinin görülme sıklığı, metastatik tümörlere göre daha fazladır. Bu hastalarda primer beyin tümörü olan düşük dereceli gliomlar daha sık görülür. Dördüncü dekattan sonra ise metastatik beyin tümörleri sıklığı artar. Bu yaş grubundaki hastalarda görülen tüm beyin tümörlerinin yarısından fazlasını metastatik tümörler oluşturur. İleri yaşlarda ise yine primer beyin tümörü olan

yüksek dereceli gliomların görülme sıklığı daha fazladır. Buradan anlaşılacağı üzere, gliomlar erişkin yaş grubunun nadir tümörlerindendir.

2.1.2. Etiyoloji

Çevresel Faktörler

Glial tümör oluşumunda bilinen en net çevresel faktör iyonizan radyasyon maruziyetidir. İyonizan radyasyon DNA hasarı oluşturur. Atom bombası sonrası sağ kalan kişilerde (7), tinea kapitis nedeniyle çok düşük doz kraniyal ışınlama tedavisi alanlarda (8), hipofiz adenomları nedeniyle düşük doz radyasyon alan hastalarda (9) ve çocukluk çağı kanserleri nedeniyle yüksek doz kraniyospinal ışınlama alan hastalarda (10) yeni bir SSS tümörü geliştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. İyonizan radyasyona maruz kalınan yaş ne kadar küçükse, gliom gelişme riski o kadar fazladır. Ayrıca güncel bir meta-analize göre radyofrekans radyasyon da insanda temporal lobda gliom oluşumunda karsinogenik etkilidir (11). Solunum yolu alerjileri, astım ve egzama hikayesi olan hastalarda gliom gelişme riski düşük bulunmuştur. Bu ilişkiden sorumlu olan mekanizma bilinmemektedir (12). Astım ve egzema öyküsü bulunmasının, gliom oluşumuna koruyucu etkisi olduğu öne sürülmüştür.

Genetik Faktörler

Epidemiyolojik çalışmalar, gliomların %25'inin kalıtılmış faktörlerden kaynaklandığını tahmin etmektedir (13). Ailesel gliomlar (bir ailede ikiden fazla gliom görülmesi) gliomların %5-10'unu oluşturur (14). Bu olguların beşte biri (tüm gliomların %1'i) mendelyan kalıtım paternindedir. Ancak, toplumda GBM görülme

sıklığı 5/100.000'dir. Mendelyan kalıtım gösteren hastalarda dahi hastalığın görülme sıklığını 1/10.000 bile çıksa, bu hâlâ düşük bir orandır. Dolayısıyla aynı ailede birden çok kişide gliom gelişmesi durumu çok nadir gözlenir. Olguların bir kısmı da kalıtsal sendromlarla birlikte dir. Gliom görülen sendromlar ve bozukluğun izlendiği genler şunlardır: Nörofibromatozis tip 1 (NF1), Nörofibromatozis tip 2 (NF2), Lynch sendromu (MSH2, MLH1, MSH6, PMS2, EPCAM), Li/Fraumeni sendromu (TP53), Turcot sendromu (APC, MLH1, PMS2), Cowden sendromu (PTEN) ve Tuberoz Skleroz (TSC1, TSC2). Ayrıca BRCA2, APC, ATM, DMBT1, MLH1, MSH2, MSH6, NBN, NF1, NF2, CDKN2A, TP53, PMS2, PTEN, TSC1, TSC2 genlerinde olabilecek mutasyonlar non-sendromik ailesel gliomlara yol açabilir (15).

2.1.3. Gliom Belirti ve Bulguları

Gliomlar; baş ağrısı (%54), nöbet (%26), progresif nörolojik defisit (68%) ve motor zayıflık (45%) ile karşımıza çıkabilir (16). Progresif defisitler etkilenen beyin bölgesi ile ilişkili bulgulara sebep olur. Bunlar;

- Frontal lob: Abuli, demans, kişilik değişiklikleri. Genellikle non-lateralizan ancak apraksi, hemiparezi veya disfazi olabilir. (Dominant hemisfer tutulumu ile)
- Temporal lob: İşitsel veya koku halusinasyonları, déjà vu, hafıza bozuklukları. Görme alanı testinde kontralateral superior kuadranopsi olabilir.

- Parietal lob: Kontralateral motor veya duyu bozukluğu, homonim hemianopsia. Agnozi (dominant hemisfer tutulumunda) ve apraksi olabilir.
- Oksipital lob: Kontralateral görme alanı defisitleri ve aleksi. (Özellikle korpus kallozum tutulumu veya infiltre eden tümörlerde)
- Posterior fossa: Kranial sinir defisitleri, ataksi. (Trunkal veya appendiküler)

2.1.4. Yayılım

Gliomlar şu mekanizmalarla yayılabilirler (17):

1. Akmadde boyunca yayılım
 - a) Korpus kallozum
 - Korpus kallozumun genu veya gövdesi boyunca → bilateral frontal lob tutulumu (butterfly gliom)
 - Korpus kallozumun spleniumu boyunca → bilateral parietal veya oksipital loblar
 - b) Serebral pedinküller → ortabeyin tutulumu
 - c) İnternal kapsül → bazal ganglion tümörlerinin sentrum semiovaleye ulaşması
 - d) Ünsinat fasikül → eşzamanlı frontal ve temporal lob tümörleri
 - e) İntertalamik adezyon → bilateral talamik gliomlar
2. BOS yolları (subaraknoid ekim): Yüksek dereceli gliomlar tarafından %10-25 sıklıkta meningeal ve ventriküler ekim
3. Nadiren gliomlar sistemik yola yayılabilir.

2.1.5. Tedavi

Glioma yönelik ilk cerrahi tedavi Bennet ve Godlee'nin 1884 tarihli olgu sunumunda rapor edilmiştir (18). Bu olgunun ardından Ferrier, Horsley, Jackson ve Maceven eğer mümkünse beyin tümörlerinin cerrahi tedavisinin yapılması gerektiğini söyleyerek gliom cerrahisini başlatmışlardır. 1892'de Keen, intraserebral tümörlerin parmak ya da uygun bir aletle içinin boşaltılmasını önermiştir. 1893'te Horsley ise malign tümörlerin bile cerrahi ile çıkarılabileceğini savunmuş fakat tümörün ak madde liflerine kadar temizlenmesini öğütlemiştir. Cerrahi teknik değişiklikleri sonrasında tedavi sonuçları değişmeyince, cerrahlar hastalığı daha iyi anlamak konusundaki girişimlerini artırmıştır. 1926'da Bailey ve Cushing'in beyin tümörü sınıflaması tüm gliomların aynı olmadıklarını göstermiş ve gliom cerrahisinde sonucu belirleyen en önemli faktörün tümörün tanısı olduğu fikri kabul görmeye başlamıştır (19). Cushing, kendi sınıflandırmasına dayanarak infiltratif beyin tümörlerini benign ve malign olarak ayırmıştır ve ameliyat sırasında aldığı patoloji örnekleri ile cerrahiye yönlendirmiştir (20). Dandy ise tümör sınırlarını ve rezeksiyon kararını ameliyat sırasındaki makroskopik gözlemi üzerinden değerlendirmiştir (21). Scherer, 1940'da gliom konusundaki gözlemlerini yayınladığında bu iki büyük cerrahın da doğru olduğu noktalar olduğunu göstermiş ve tümörlerin malignite ve infiltrasyon potansiyellerinin paralel olmadığına işaret etmiştir (22). Scherer, otopsi örneklerinde glioblastomların %20'sinin lokalize olduğunu, radikal cerrahi ekziyona uygun olduğunu; buna karşılık gliomların %60'nın yaygın olduğunu göstermiş ve sadece histopatolojinin tümör biyolojisini anlatmak için yeterli olmadığını savunmuştur.

2.1.6. Sınıflandırma

Tümörlerin değişken biyolojisini anlayabilmek ve davranışlarını öngörebilmek için sınıflandırma geliştirilmiştir. Beyin tümörlerinin sistematik olarak sınıflandırmasını Rudolf Virchow'un (1821 – 1902) çalışmaları başlatmıştır. 1846 yılında ilk sistematik sınıflandırma yapılmıştır. Virchow'dan sonra, morfolojinin en büyük öncüsü olan İspanyol bilim adamı Santiago Ramón y Cajal (1852 – 1934) beyindeki farklı hücre gruplarını tanımlamıştır. 1926 yılında Harvey Cushing (1869 – 1939) ve Percival Bailey (1892 – 1973), “embriyolojik farklılaşma sırasında takılma” hipotezleri ile hücre kökenini temel alan 14 farklı SSS tümör grubunu içeren bir sınıflandırma yayınlamıştır (23). 400 gliomun incelendiği bu sınıflandırmada klinik davranış, sağ kalım süresi ve diferansiyasyon derecesi dikkate alınmıştır. Alman nöropatolog Hans Joachim Scherer (1906 – 1945) 1940 yılında primer ve sekonder GBM kavramını ortaya çıkarmıştır. Gliomların perinöral ve perivasküler dizilim, ak madde yolakları boyunca yayılım ve anatomik bariyerlerin korunumu gibi morfolojik özelliklerinden bahsetmiştir. 1860-1960 arasındaki morfolojik temelli sınıflandırmalar geliştirilmiştir. 1979 yılında ise, Zülch ve arkadaşları tarafından ilk defa WHO SSS tümörleri sınıflandırması yayınlanmıştır. Böylelikle tüm dünya ortak bir sınıflandırmada buluşmuştur (24). 1988 yılında ise Sainte Anne Hastanesi'nde çalışan Fransız patolog Catherine Daumas-Duport ve Mayo Clinic'te çalışan arkadaşları tarafından, histopatolojik sınıflandırmayı patologlar arası daha objektif bir hale getirmek için St. Anne-Mayo (Daumas-Duport) Evreleme Sistemi yayınlanmıştır (25). Bu evrelemede nükleer atipi, mitoz, endotelial proliferasyon ve nekroz

değerlendirilmektedir. Sonraki yıllarda ise morfolojik bulguları, klinik kullanımda yaygınlaşan immünohistokimya ve moleküler biyoloji teknikleri desteklemiştir. 1994'te 1p/19q kodelesyonu, 2008'de IDH (izositrat dehidrogenaz) mutasyonları ve 2013'te telomeraz promoter mutasyonları tanımlanmıştır. 2005 sonrasında moleküler tekniklerdeki bu belirgin gelişmeler, genetik ve epigenetik bulguları morfolojiden daha ön plana çıkarmıştır. 2016 yılında WHO'nun SSS Tümörleri Sınıflandırmasının son güncellemesinde çok-katmanlı bir tanı modeli oluşturulmuş ve klasik histopatolojik özelliklere moleküler belirteçler entegre edilmiştir (2). (Tablo 1) Yani bu güncelleme histolojik fenotiplendirme temelli ve tamamlayıcı moleküler genotiplendirmeye dayanmaktadır. WHO 2016 sınıflaması; IDH mutasyonu, 1p/19q kodelesyonu, H3-K27M mutasyonu ve C11orf95–RELA füzyonunu belirli gliom türlerini tanımlamaya yönelik doğrudan tanı koyucu belirteçler olarak önermiştir. Buna göre; tüm diffüz gliomlarda IDH1 ve/veya IDH2 mutasyonuna ve 1p/19q kodelesyonuna yönelik test yapılmalıdır. ATP'ye Bağlı Helikaz (ATRX), Telomeraz Reverse Transkriptaz (TERT) ve BRAF gibi diğer biyobelirteçlerin de ek bilgi sağlayabileceği savunulmuştur. Metil Guanin-DNA Metil Transferaz (MGMT) promotor metilasyonu gibi epigenetik diğer belirteçler de araştırma ve tedavi paradigmaları için kullanılabilir ama sınıflandırma için henüz kullanılmamaktadır. Moleküler çalışmanın yapılamadığı ya da yetersiz olduğu durumlarda, tanının sadece histopatolojiye dayandırıldığını ifade etmeye yönelik NOS ("Not Otherwise Specified") terimi önerilmiştir. Ayrıca, birçok gliomda immünohistokimyasal yöntemle belirlenen Ki-67'nin prognostik değeri olduğu kanıtlanmıştır. Nükleer bir antijen olan Ki-67, proliferasyon gösteren hücrelerde

hücre siklusunun G0 dışındaki tüm fazları boyunca salınmaktadır. Bu da onu proliferen olan hücreleri belirlemede kullanılabilen çok güvenilir bir nükleer belirteç yapmıştır. Böylece moleküler belirteçler gliom sınıflaması ve tedavi yanıtının belirlenmesinin yanında bireysel tedavilerin de önünü açmıştır. Ancak sınıflandırma, bu yeni güncellemede dahi, sağ kalımı öngörebilecek kadar güvenilir ve tam değildir. Ayrıca, yalnızca WHO sınıflandırmasını göz önünde bulundurarak klinik davranışı tümör derecesi ile bütünleştirmek doğru değildir. Örneğin Grade II bir tümör olan diffüz astrositomda sağ kalım beklentisi yüksek olsa da bu tümör talamus ve beyin sapında yerleşimli ise bu beklenti değişmektedir. Yine Grade II gliomlar; çocukluk çağında, genç hastalarda, genç erişkin ve yaşlılarda farklı klinik davranış gösterirler. Dolayısıyla sağ kalım tahmini yaparken yalnızca tümörün derecesi değil aynı zamanda hastanın yaşı, tümörün yerleşim yeri, histopatolojik değerlendirmeyi yapan patolog, hastanın almış olduğu adjuvan tedaviler gibi birçok faktör de göz önünde bulundurulmalıdır.

Diffüz gliom terimi, SSS'de histolojik olarak glial hücrelere benzer görünümde olan özellikle astrositom, oligodendrogliom ve oligoastrositom gibi WHO Grade II'den Grade IV'e değişen infiltratif tümörleri kapsayan bir terimdir. Bu terim; pilositik astrositom, subependimal dev hücreli astrositom ve pleomorfik xantoastrositom gibi sınırları belirgin olan ve sağlıklı beyin dokusuna infiltrasyon göstermeyen tümörleri ve nöronal elementler içeren gangliogliom gibi tümörleri kapsamaz. Düşük dereceli gliom terimi; astrositom, oligodendrogliom ve oligoastrositomları kapsayan WHO Grade II diffüz infiltratif gliomları

tanımlanmaktadır. Yüksek dereceli gliom terimi ise; WHO Grade III anaplastik astrositom ve anaplastik oligodendrogliom ile WHO Grade IV GBM'i tanımlar.

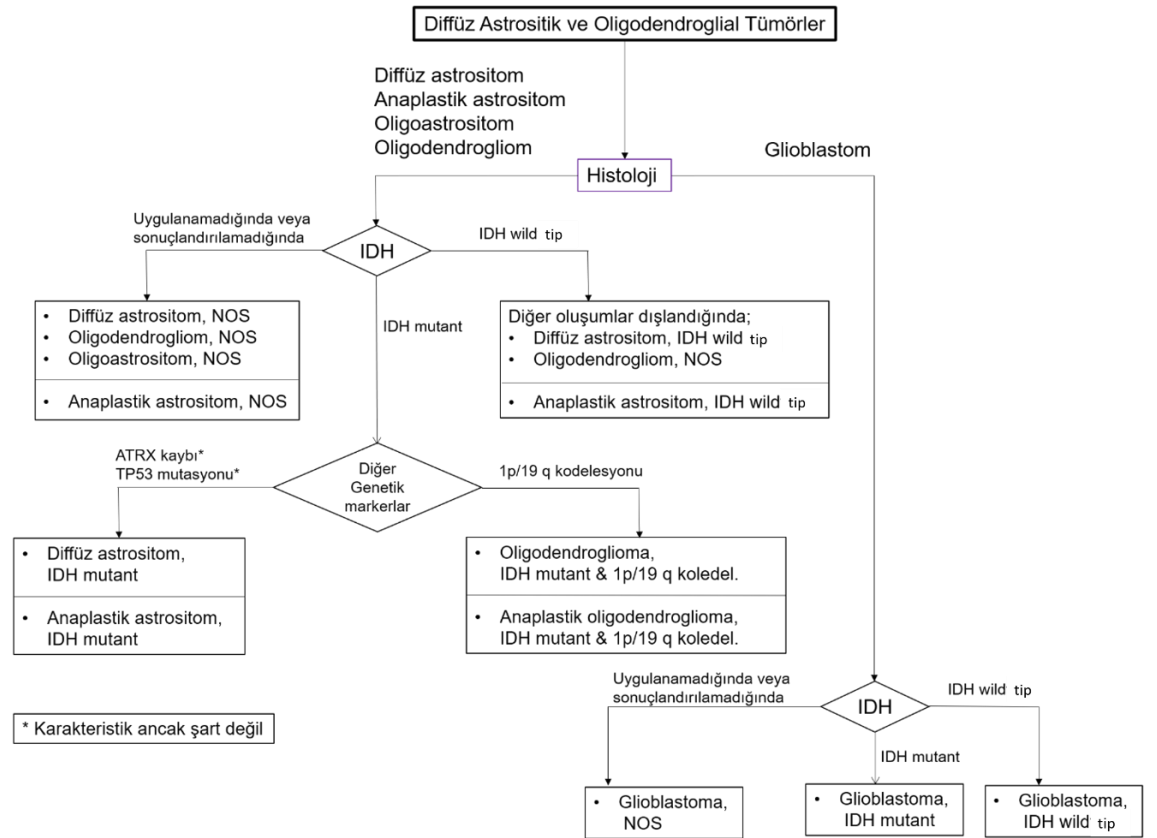
2016 WHO SSS tümörlerinin sınıflandırılmasında 3 farklı seviyede moleküler bilgiye yer verilmiştir (26):

- 1- Kanser hücresi oluşumuna neden olan moleküler değişiklikler: TP53 ya da BRAF mutasyonu, tümör türüne özgü IDH1/2 mutasyonları veya delesyon/duplikasyon, translokasyonlar gibi kromozomal anomaliler
- 2- Gen ifadesi seviyesindeki değişiklikler: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR), Trombosit Türevli Büyüme Faktörü Reseptörü-a (PDGFR-a) overekspresyonları
- 3- Genlerin epigenetik modifikasyonu: MGMT promotor metilasyonu

Ayrıca, 2016 yılından itibaren Uluslararası Nöropatoloji Topluluğu tarafından basılan ve bir sonraki WHO sınıflaması yayınlanana kadar rehberlik edecek en güncel bilgileri paylaşan cIMPACT ("the Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy"- SSS Tümörleri Taksonomisine Moleküler ve Pratik Yaklaşımları Bildiren Konsorsiyum) güncellemeleri yayınlanmaktadır.

cIMPACT'ın ilk güncellemesinde "NOS" tanımına açıklık getirilmiştir. "NOS" ifadesinin, sadece moleküler değişiklikler yönünden test yapılamadığı durumlarda kullanılması önerilmiştir (27,28). Buna göre diffüz glial bir tümörde IDH mutasyonuna ve/veya 1p/19q kodelesyonuna bakılamadığı durumlarda, tümör "Diffüz astrositom, NOS", "Oligodendrogliom, NOS" tanısı alacaktır. Ayrıca bu

güncellemede “Not Elsewhere Classified” (NEC) terimi dile getirilmiştir. Buna göre gerekli moleküler testler uygulanmış ancak WHO sınıflamasına göre spesifik bir tanı konulamıyor ise tanıya “NEC” ifadesi eklenecektir. Örneğin; oligodendrogliom histolojisinde bir tümörde IDH mutasyonu mevcut, 1p delesyonu saptanmış, ancak 19q delesyonu yok ise, tümör “Diffüz gliom, IDH mutant, 1p delesyonlu/19q intakt, NEC” olarak rapor edilecektir (27). WHO 2016 sınıflandırmasına göre diffüz astrositik ve oligodendroglial tümörlerin sınıflandırılmasında izlenecek algoritma Şekil 1’de özetlenmiştir.



Şekil 1. Diffüz astrositik ve oligodendroglial tümörlerin sınıflandırılmasının özeti

Tablo 1. WHO 2016 sınıflandırmasına göre gliomlar ve dereceleri

A. Diffüz Astrositik ve Oligodendrogliyal Tümörler
- Diffüz astrositom, IDH-mutant (WHO Grade II) - Gemiositik astrositom, IDH-mutant (WHO Grade II) - Diffüz astrositom, IDH-wild tip (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Diffüz astrositom, NOS (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Anaplastik astrositom, IDH-mutant (WHO Grade III) - Anaplastik astrositom, IDH-wild tip (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Anaplastik astrositom, NOS (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Glioblastoma, IDH-wild tip (WHO Grade IV) - Dev hücreli glioblastom (WHO Grade IV) - Gliosarkom (WHO Grade IV) - Epiteloid glioblastom (WHO Grade IV) - Glioblastoma, IDH-mutant (WHO Grade IV) - Glioblastoma, NOS (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Diffüz midline glioma, H3 K27M-mutant (WHO Grade IV) - Oligodendroglioma, IDH-mutant & 1p/19q koledasyonu (WHO Grade II) - Oligodendroglioma, NOS (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Anaplastik oligodendroglioma, IDH-mutant & 1p/19q koledasyonu (WHO Grade III) - Anaplastik oligodendroglioma, NOS (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Oligoastrositoma, NOS (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Anaplastik oligoastrositoma, NOS (Derecesinden bahsedilmemiştir.)
B. Diğer Astrositik Tümörler
- Pilositik astrositom (WHO Grade I) - Pilomiksoid astrositom (Derecesinden bahsedilmemiştir.) - Subependimal dev hücreli astrositom (SEGA) (WHO Grade I) - Pleomorfik xantoastrositom (PXA) (WHO Grade II) - Anaplastik pleomorfik xantoastrositom (WHO Grade III)

2.2. DİFFÜZ ASTROSİTİK TÜMÖRLER

Sıklıkla kullanılan “gliom” terimi genellikle astrositik tümörleri ifade eder. Diffüz astrositik tümörler ile diffüz astrositomlar sematik bir karışıklığa sebep olabilir. WHO 2016’daki diffüz astrositik tümörler terimi, astrositlerden oluşan infiltran tümörleri ifade etmektedir. Yani bunlar diffüz astrositom, anaplastik astrositom ve glioblastomların tamamıdır. Oysa diffüz astrositom yalnızca Grade II tümörleri ifade etmektedir. Daha yüksek dereceli tümörler ise Grade III anaplastik astrositom ve Grade IV glioblastomdur.

2.2.1. İnsidans

Astrositik tümörler, en sık görülen primer intra-axial beyin tümörleridir. ABD’de insidans her 100.000 kişide 5.17 ve yılda 16.000 yeni olgudur (29).

2.2.2. Sınıflandırma

Histolojik diffüz astrositik tümörler (WHO Grade II diffüz astrositomlar, WHO Grade III anaplastik astrositomlar ve WHO Grade IV glioblastomalar), moleküler genetiğe göre şu şekilde alt kategoriye ayrılır:

- IDH mutant
- IDH wild tip
- NOS (Genetik testler yapılamayınca)

Histopatolojik incelemelerde değerlendirilen morfolojik kriterler Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Diffüz astrositik tümörlerde WHO 2016 Sınıflandırmasında değerlendirilen morfolojik kriterler (16)

Grade	Adlandırma	Kriterler ¹	Detaylar
II	Diffüz astrositom	Sadece sitolojik atipi	Atipi (nükleer biçim veya boyutta değişiklikler) ve hiperkromoz
III	Anaplastik astrositom	Sitolojik atipi, anaplazi ve mitotik aktivite	Mitozlar belirgin olmalı (geniş bir spesmende birkaç mitoz yeterli değil), Ki-67 ² proliferasyon indeksi (Grade III tümörü Grade II ve IV'ten ayırmada faydalı olabilir.)
IV	Glioblastom	Sitolojik atipi, anaplazi ve mitotik aktivite, mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekroz	Mikrovasküler proliferasyon = vasküler endotelyumun çok katlılığı (sadece hipervaskülerite değil) veya glomerüloid vaskülerite Nekroz herhangi bir tipte olabilir ama tamamlanmış olmalı (perinekrotik psödopalizatlanma mecburi değil)

¹ Yukarıdaki kriterler şu sıralama ile meydana gelir:

1. Nükleer atipi: Tüm Grade II tümörlerde oluşur
2. Mitotik aktivite: Grade III tümörlerin %92'sinde görülür (Grade II'lerin hiçbirinde görülmez)
3. Artmış sellülarite
4. Eldotelyal proliferasyon ve/veya nekroz: Sadece Grade IV tümörlerle sınırlı (Grade III tümörlerin sadece %8'inde görülür)

² Ki-67 (MIB-1) indeksi anaplastik astrositomlarda genellikle %5-9'dur, Grade II-III-IV tümörler arasında yegâne bir ayırt edici olarak kullanılmaz. Ki-67 indeksi, tümörün kendi içinde de değişkenlik gösterebilir. Bu, gözlemciler ve kurumlar arasında da değişkenlik gösterebilir. Bu nedenle Ki-67 endeksinin Grade II ve III astrositomlar arasında veya Grade III ve IV astrositomlar arasında tek başına bir ayırt edici olarak kullanılmasını engeller (30).

2.2.3. Radyolojik Görüntüleme

Diffüz astrositik tümörlerin radyolojik özellikleri Tablo 3'te özetlenmiştir.

Tablo 3. Diffüz astrositik tümörlerde radyolojik özellikler

WHO Grade	Tipik Radyografik Bulgular		Yerleşim
Diffüz astrositom (WHO Grade II)	Tomografi: düşük dansite Manyetik Rezonans: T2'de anormal sinyal	Çok az kitle etkisi	Temporal, posterior frontal, anterior parietal loblar
Anaplastik Astrositom (WHO Grade III)	Kompleks tutulum		
Glioblastom, IDH mutant (WHO Grade IV)	Solid tutulum		Frontal lob tercihi
Glioblastom, IDH wild-tip (WHO Grade IV)	Ring şeklinde tutulum ile santral nekroz (parlayan halka sellüler tümördür, ama tümör hücreleri halkanın ≥ 15 mm uzağına kadar uzanabilir)		Temporal > parietal > frontal > oksipital

2.2.4. Diffüz Astrositom, WHO Grade II

Düşük dereceli infiltratif astrositik hücrelerden oluşan yavaş seyirli primer beyin tümörüdür. Diffüz astrositomların çoğunda IDH mutasyonu mevcuttur. TP53 mutasyonu (94%) ve ATRX inaktivasyonu (86%) da çok sık görülür (31). TERT mutasyonu (%4) nadirdir. Bu tümörlerde 1p/19q kodelesyonu kesinlikle görülmez. 1p/19q kodelesyonu yoksa, oligodendrogliomu andıran hücre bölgeleri olsa dahi,

tanı diffüz astrositom olarak değerlendirilir. WHO, tüm astrositik tümörlerin IDH mutasyonu yönünden test edilmesini önermektedir. IDH mutant diffüz gliomların prognozu, IDH-wild tipe göre daha iyidir. IDH-wild tip hem diffüz astrositomlar hem de anaplastik astrositomlarda nadirdir.

Diffüz Astrositom, IDH-mutant (WHO Grade II)

IDH1 veya IDH2 geninde mutasyon görülür. Primer beyin tümörlerinin sadece $\approx$ % 5'ini ve tüm gliomaların % 15'ini oluştururlar (32). Bu nedenle rölatif olarak nadir tümörlerdir. Genellikle 20'li yaşların sonları ile 40'lı yaşların ortaları arasında teşhis edilir. Pediatrik (<20 yaş) yaygın astrositomlar (IDH mutasyon durumu belirlenmemiştir) 100.000'de 0,26; yetişkinlerde de 0,48 oranda görülür (33). Temporal, posterior frontal ve ön parietal loblar için bir yatkınlık vardır (34). Pediatrik popülasyonda önemli bir kısmı talamusta görülür. Yetişkinlerde ise bu lokalizasyon olağandışıdır. Yavaş büyüme ile karakterizedir. Hastalarda en sık görülen semptom (%40) nöbettir. Bununla beraber baş ağrısı nedeniyle başvuran hastalar da çoğunluktadır. Görüntüleme tekniklerinin kullanımının artması ile insidental olarak tanı alan hastalarda artış görülmüştür. Bu tümörler parankimal hasar ve bası yerine infiltrasyon yaptıklarından, parankimde şişlik ve distorsiyon görülür. Bu nedenle afazi veya hemiparezi gibi fokal defisitler nadirdir. Tümör büyüklüğü ve lokalizasyonuna göre değişmekle birlikte beyin ödemi, obstrüktif hidrosefaliye bağlı baş ağrısı, bulantı-kusma ve mental durum bozuklukları görülebilir (35). Genellikle yavaş büyüyen tümörlerdir. Tedavi edilmezse yıllık büyüme hızı 4-6 mm arasındadır (36).

Tümörlerde yüksek diferansiye hücreler ve düşük derecede sellülarite ve normal beyin elementlerinin korunmuş olduğu görülür. Orta derecede nükleer atipi gösteren fibriler neoplastik astrositik hücreler bulunur. Kalsifikasyon nadirdir. Anaplazi, mitoz, mikrovasküler proliferasyon veya nekroz yoktur. (Tek mitoz kabul edilebilir.) Kan damarları bir miktar artmıştır. GFAP ile pozitifdir.

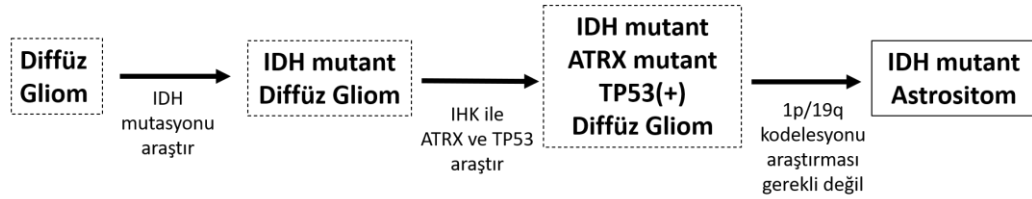
IDH 1/2 Gen Mutasyonları

IDH mutasyonları 2008 yılında GBM'lerin genom analizi sırasında saptanmıştır (37). IDH geni (wild tip), Krebs siklusunda normalde var olan bir enzimdir ve izositratın alfa ketoglutarata (α -KG) çevrilmesini katalize eder (38). Yani IDH bir hücresel ara-metabolizma enzimidir. Enerji üretiminden sorumlu olan Krebs siklusunun önemli ara elemanlarından. IDH 1 ve 2 genlerinde mutasyon, izositratın alfaketoglutarata dönüşümünü azaltır. Mutant IDH'in metabolitleri; α -KG, NADPH, 2-hidroksiglutarat (2-HG) ve HIF-1 α 'dır. IDH1 mutasyonu olan tümörlerde, 2-HG seviyesi yükselir. 2-HG, epitel-mezenkimal geçişi uyarak protoonkogenlerin ifadesini arttırabilir; aynı zamanda, dioksijenazları inhibe ederek, DNA ve histon modifikasyonlarına ve hücre mikroçevresinin değişmesine katkıda bulunur (39). Yani 2-hidroksiglutarat'ın ciddi epigenetik değişikliklere yol açabileceği ve onkogeneze katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (40). Öte yandan, α -KG bağımlı deoksijenazlar inhibe olunca, bu inhibisyon atipik DNA ve histon metilasyonuna neden olarak geniş çaplı CpG adacıklarında hipermetilasyona yani Glioma CpG-ada metilatör fenotip (G-CIMP) oluşumuna neden olur. IDH mutasyonlarının, gliom olgularında yol açtığı yaygın DNA metilasyonunun, iyileşmiş sağ kalım ile bağlantılı olduğu saptanmıştır (41). IDH-mutant olup DNA

hipermetilasyonu göstermeyen çok küçük bir popülasyon kötü sağ kalım ile seyreder. Mutant IDH1 Arg132 (sitoplazmik) ve IDH2 Arg140 ve Arg172 (mitokondriyal) genleri anormalliklerin %90'dan fazlasını oluşturur (42). IDH1 en sık görülen mutasyondur. Analiz ilk olarak IDH1 132 kodonu için yürütülür, IDH1 R132H mutasyonu için negatif vakalarda IDH2 172.kodon mutasyonuna yönelik analiz yapılabilir. IDH mutasyonu birçok tümörde meydana gelir, ancak normal hücrelerde oluşmaz.

TP53 ve ATRX Gen Mutasyonları

TP53 ve ATRX özellikle IDH mutasyonu olan ve 1p/19q kodelesyonu olmayan diffüz astrositomlarda sık görülür. IDH mutant diffüz astrositomda, %94 TP53 ve %86 ATRX inaktivasyonu mevcuttur (31). ATRX inaktivasyonu; %79 mutasyon, %3 delesyon, %2 gen füzyonu ve %2 bunların kombine mekanizmaları ile meydana gelmektedir. Sonuç olarak ATRX ve TP53 mutasyonları, IDH mutant astrositomları oligodendrogliomlardan ayırt etmede kullanılabilir (2). (Şekil 2)



Şekil 2. Diffüz astrositomda moleküler tanı algoritması

Gemistositik Astrositom – IDH mutant

IDH-mutant diffüz astrositomun bir subtipidir. Tümör hücrelerinin %20'sini gemistositler oluşturur. Grade II tümörlerin %10'unu oluştururlar. Ortalama yaş

40'tır (43). Gemistositler, camısı, dolgun, aşısal eozinofilik hücre gövdelerine sahip astrositler olarak görünür, ve GFAP-pozitifler (44). TP53 mutasyonları yüksek orandadır (>%80), IDH-mutant gemistositik astrositlerde bu oran daha yüksektir. Bu alt tipi ayırt edebilecek hiçbir görüntüleme özelliği yoktur. Gemistositik astrositler daha erken dediferansiye olma eğilimindedir ve daha kötü bir sonlanıma sahiptir, ancak bu bilgi IDH mutasyon durumu bilinen kohortlarla onay gerektirir.

IDH mutant diffüz astrositler tomografide genellikle hipodensitir. Manyetik Rezonans (MR) görüntülemeye T1'de hipointens, T2 ve FLAIR'da hiperintens ve genellikle kontrast tutulumu olmayan tümörlerdir. Perfüzyon MR'da tümör alanında ölçülen kan hacmi (rCBV) oranı düşüktür.

Bu tümörler malign transformasyon gösterebilirler. Erişkin tümörlerin %75'i anaplastik IDH mutant tipe progrese olur ve sonrasında IDH-mutant GBM'e ilerler. Bu durum morbiditeden sorumludur. Pediatrik diffüz astrositler ise (<20 yaş) nadiren malign transformasyona gider (45). 45 yaşın üzerinde olan hastalarda malign transformasyona gidiş daha hızlı meydana gelmektedir (46). Malign transformasyona neden olan en belirgin moleküler mekanizma MYC onkogeninin aktivasyonu olarak gösterilmiştir (47).

Diffüz Astrositom, IDH-wild tip (WHO Grade Belirtilmemiş)

Mitotik aktivite, nekroz veya vasküler endotelial proliferasyonun gözlenmediği IDH mutasyonu olmayan tümörlerdir. IDH wild tip diffüz astrositler, IDH mutant tümörlere göre daha nadirdir. Daha ileri yaşta görülür ve

ailesel kanser öyküsü daha fazladır (31). Düşük dereceli gliomlar grubunda en az sağ kalıma sahip tümörlerdir.

WHO derecesi ne olursa olsun; IDH-wild tip tümörler, IDH mutant tümörlerden daha kötü klinik seyir gösterirler. Ancak günümüzde diffüz bir gliom IDH-wild tip olsa da histopatolojik olarak hâlâ mitotik aktivitesine, nekroz ve vasküler endotelyal proliferasyona göre derecelendirilmektedir. Bu nedenle WHO 2016 sınıflamasında, bu tümör grubunda mitoz sayısı eşiği daha düşük kabul edilmiştir. Buna göre; hiç mitoz görülmeyen tümörler WHO Grade II, mitozu olup da nekroz ve vasküler endotelyal proliferasyon göstermeyen tümörler WHO Grade III kabul edilmiştir (2). IDH-wild tip tümörlerde %64 oranında TERT promotor mutasyonu görülür.

TERT Promotör Gen Mutasyonları

TERT geni, telomeraz enziminin bir parçası olan hTERT proteinini kodlar. Bu protein DNA telomerinin uzunluğunu kontrol eder ve hızlı bölünen normal hücrelerde aktiftir. Telomeraz enzimi, kök hücreler gibi bölünme yeteneğinin ön planda olduğu hücrelerde kromozom uçlarını ters transkriptaz aktivitesi ile yeniden yapar ve telomerler yenilenir. Böylelikle hücreye sonsuz bölünme potansiyeli kazandırır (48). İnsan hotspot TERT promotör gen (TERTp) mutasyonları telomerazın artmış ekspresyonuna neden olur ve 50'nin üzerinde kanser tipinde gösterilmiştir (49). TERT mutasyonları genellikle 1p/19q kodelesyonu ile eşzamanlı olarak ortaya çıkar. Oligodendrogliomların hemen hepsinde ve primer glioblastomların %80'inde TERT promotor mutasyonları görülür (31). IDH mutant,

1p/19q ko-delesyonu olmayan gliomlarda ise TP53 mutasyonu, ATRX kaybı ya da kopya sayı değişiklikleri görülür. Bu nedenle TERT mutasyonu olan tümörler IDH mutant ise oligodendrogliom, IDH wild tip ise glioblastom lehine değerlendirilir.

Diffüz Astrositom, NOS (WHO Grade Belirtilmemiş)

IDH mutasyonunun araştırılmadığı durumlarda diffüz astrositom ile uyumlu histolojik görünümü olan tümörleri sınıflandırmak için kullanılan bir terimdir.

Diffüz Astrositomda Tedavi

Bu tümörler, spesifik tedavi olmaması nedeniyle semptomatik olarak tedavi edilir. Büyük kitle etkisi ve yaygın nörolojik semptomları olan hastalarda genellikle acil cerrahi gerekir. Küçük tümörü olan, asemptomatik veya sadece nöbetlerin görüldüğü hastalarda erken cerrahi uygulaması tartışmalıdır ancak düşük dereceli gliomdan şüphelenilen tüm hastalarda tümör teşhis edilir edilmez maksimum güvenli rezeksiyon yapılması genel anlamda kabul gören yaklaşımdır (50). Konservatif tedavi tercih ediliyor ise; nöbetin ve perilezyoner ödemin medikal tedavi ile kontrolü sağlanır. Düzenli takipteki nörolojik muayene ve görüntüleme çalışmaları yapılır. Tümör büyümesinin veya malign transformasyonun radyolojik olarak gösterilmesi, inatçı nöbetlerin ve ilerleyici nörolojik bozuklukların ortaya çıkması durumunda cerrahi uygulanır. Pediatrik diffüz astrositomlar malign transformasyona nadiren gittiği için, bu yaş grubunda tedavi modifiye edilebilir (45).

Maksimum güvenli rezeksiyon sonrasında, IDH öncesi randomize çalışmalar hastaları şu şekilde ayırmışlardır:

- Düşük riskli hastalar
 - Karakteristik: Yaş<40 ve gross total rezeksiyon uygulanmış
 - Öneri: Her 3-6 ayda bir rutin görüntüleme çalışmaları (IDH-wild tip diffüz astrositom bunun için bir istisna olabilir.)
- Yüksek riskli hastalar
 - Karakteristik: Yaş> 40 ve subtotal rezeksiyon uygulanmış
 - Öneri: Kombine radyoterapi ve kemoterapi

Norveç'te yapılan bir çalışmada, “bekle-gör” (aktif gözlem) yaklaşımı ile genel sağ kalımda belirgin düşüklük olduğu görülmüştür (51). Fazla agresif eksizyon, daha iyi sonlanım ve malign transformasyona kadar daha uzun latans süresi ile ilişkilendirilmiştir (52). Rekürren diffüz astrositomda bile, cerrahi rezeksiyon fayda ile ilişkilendirilmiştir.

Diffüz Astrositomda Cerrahi Tedavi

Cerrahi tedavinin amacı mümkün olduğunca fazla miktarda tümörü beyin dokusuna zarar vermeden güvenli şekilde çıkarmaktır. Tümör yükünün ve kitle etkisinin azaltılması, tümörün histopatolojik ve moleküler yapısının belirlenmesi cerrahi tedavinin başlıca faydaları arasındadır. Düşük dereceli gliomlar için cerrahinin dört amacı vardır (53):

1. Histolojik doğrulama ve moleküler genetik analiz için doku elde etmek
2. Nörolojik durumu daha iyi hale getirmek

3. Tümör büyümesi riskini azaltmak
4. Malign transformasyonu geciktirmek veya engellemek.

Radyolojik incelemelerde düzgün sınırlı kitleler olarak görülse de tümör ve sağlıklı beyin dokusu arasında belirgin bir sınır yoktur, infiltrasyon mevcuttur. İnfiltratif tümörün cerrahi rezeksiyonu sırasında normal beyin dokusunun rezeksiyonu ve bir miktar tümör hücresinin geride bırakılması söz konusudur. Geride kalan bu tümör hücreleri sıklıkla rekürrens ve malign transformasyonun kaynağını oluşturur. Diffüz astrositomların yıllar içinde izlenen rekürrenslerinde, artmış sellülarite, atipi ve mitotik aktivite gösteren anaplastik astrositom veya vasküler proliferasyon ve/veya nekroz ile karakterize glioblastom morfolojisi görülebilir. Konservatif tedavi ile takip edilen bir grup hastada progresyon sonrası cerrahi için geç kalabileceği akılda tutulmalıdır (54). Cerrahi planlanan hastalarda güvenli geniş rezeksiyon önerilir. Bu hastaların progresyonsuz ve /veya genel sağ kalım sürelerini belirleyen en önemli kriter cerrahi rezeksiyon miktarıdır (55).

İntraoperatif Haritalama ve Uyanık Kraniyotomi

Düşük dereceli gliomların infiltratif doğası ve elegan bölgelere sıklıkla yakın olan lokalizasyonları nedeniyle tam rezeksiyon genellikle mümkün olmamaktadır. İntraoperatif haritamalama ve uyanık kraniyotomi ile rezeksiyon sınırları güvenli olarak genişletilebilir (56). 8091 hastayı içeren bir meta-analizde intraoperatif stimulan beyin haritalama kullanımının geç nörolojik defisit gelişimini azalttığı gösterilmiş ve elegan bölgeleri içeren gliom cerrahisi için bir standart olarak önerilmiştir (57). Multisentrik gliomlar daha önceden “rezeke edilemez”

olarak düşünülse de uyanık intraoperatif haritalama yardımı ile rezeke edilebilir hale gelmiştir (58). Bu gelişmelere rağmen, cerrahinin rolü yaygın veya çok derin yerleşimli gliomlar için yine de kısıtlıdır. Cerrahide düşük dereceli gliomların sınırları kolaylıkla görünür olmadığı için, sterotaksi ve görüntüleme yardımcı teknikler gibi ilave yöntemler de özellikle derin tümörler ve elegan bölge sınırlarındaki kitleler için oldukça yararlıdır.

Bir çalışmada gross total rezeksiyon uygulanan hastalarda progresyonsuz sağ kalım ortalama 7 yıl iken, bu süre subtotal rezeksiyon uygulananlarda sadece 3,5 yıl bulunmuştur (59). Başka bir çalışmada tümör hacminin %90'dan fazlasının çıkarıldığı hastalarda 8 yıllık sağ kalım oranı %91 iken, %90'dan az rezeksiyon uygulananlarda 8 yıllık sağ kalım oranı %60 olarak tespit edilmiştir (55). Geniş tümör rezeksiyonunun sağ kalım üzerine olumlu etkisi IDH mutant düşük dereceli astrositomlarda daha belirgindir.

Diffüz Astrositomda Adjuvan Tedavi

IDH mutant diffüz astrositomda, total cerrahi rezeksiyon uygulanabilmiş ise, bu tedavinin yeterli olduğu savunulmaktadır (60). Subtotal rezeksiyon yapılmış ve hatta gross total rezeksiyon yapılmış bir grup hastada cerrahi sonrası radyoterapi ve kemoterapi gibi ek tedavilere ihtiyaç duyulduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (61). Hangi hasta grubuna cerrahi sonrası adjuvan tedavi verilmesinin uygun olacağı ise birçok araştırmada açıklanmaya çalışılmış ve buna göre hastalarda risk faktörleri belirlenmiştir. IDH öncesi dönemde Pignatti'ye göre şu kriterlerin 3 ve daha fazlası varlığında düşük dereceli gliomlar yüksek risklidir:

- ≥ 40 yaş (Bu durum günümüzde IDH-wildtip ile koreledir.)
- Astrositik histoloji (Bu durum günümüzde iyi bir prognostik faktör olan 1p/19q kodelesyonunun olmaması ile koreledir.)
- Tümör çapının ≥ 6 cm olması
- Orta hattı geçen tümör olması
- Cerrahi öncesi nörolojik defisit olması

Bu kriterler daha sonra yapılan çalışmalarda farklılaştırılmış ve geliştirilmiştir. Farklı çalışma gruplarına göre riskin tanımı hâlâ değişkenlik göstermektedir (62). Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Organizasyonu'na (EORTC) göre şunlardan biri veya fazlası riski ifade etmektedir: ≥ 40 yaş, progresif hastalık, tümör çapının ≥ 5 cm olması, orta hattı geçen tümör ve nörolojik semptomların olması. Radyasyon Tedavisi Onkoloji Grubu'na göre ise; ≥ 40 yaş, tümör çapının ≥ 6 cm olması, orta hattı geçen tümör, astrositik histoloji ve ameliyat öncesi nörolojik defisit varlığı riski ifade etmektedir.

IDH wild tip diffüz astrositomda, rezeksiyon derecesinden ve diğer prognostik faktörlerden bağımsız olarak cerrahi sonrası erken dönemde adjuvan tedavi önerilmektedir (63).

Diffüz Astrositomda Radyoterapi

Tama yakın tümör rezeksiyonu yapılmış, 40 yaşın altında, IDH mutant, düşük risk faktörleri taşıyan hastalarda cerrahi sonrası takip önerilir. Diğer olgular için ise; radyoterapinin medyan progresyonsuz sağ kalımı 3,4 yıldan 5,3 yıla uzattığı gösterilmiştir, ancak genel sağ kalımı etkilemediği görülmüştür (64). Bu

nedenle bazı kliniklerde radyoterapi ile ilişkili yan etkiler nedeniyle bekle-gör stratejisi uygulanmaktadır. Çünkü erken dönemde uygulanan radyoterapinin genel sağ kalım üzerine etkisinin olmadığına gösterilmesi, tümör progrese olana kadar hastaya radyoterapi verilmemesi için gerekçe olarak kabul edilir.

Güncel radyoterapi protokolü; T2 veya FLAIR sekanslarda görülen tümör yatağının 2 cm periferini de içine alacak şekilde toplam 54 Gy'in, 1.8-2 Gy fraksiyonlar halinde (30 fraksiyonda) 5-6 hafta boyunca verilmesidir. Daha yüksek dozların sağ kalıma etkisi olmadığı gibi, yan etki oranlarında da artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Farklı radyoterapi dozları ile yürütülen iki prospektif araştırmada (EORTC çalışması (65): 5 haftada 45 Gy'e karşı 6,6 haftada 59,4 Gy; Intergroup çalışması (66): 50,4 Gy'e karşı 64,8 Gy) genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalım arasında farklılık saptanmamıştır.

Diffüz Astrositomda Kemoterapi

Temozolomid ve prokarbazin, DNA bazlarına metil grupları bağlayarak etki gösterir. Buna karşılık daha toksik olan lomustin (CCNU) ve karmustin gibi ajanlar buna ek olarak DNA sarmalları arasında çapraz bağlar da oluştururlar. RTOG 9802 çalışmasında, 40 yaşından büyük ve rezeksiyon oranı %50'den az olan hastalarda sadece cerrahi tedavinin yeterli olmadığı ve bu olgularda cerrahi + radyoterapi ve PCV (Prokarbazin, CCNU ve vinkristin) rejiminin daha etkili olduğu bildirilmiştir (67). Yüksek risk faktörü olan düşük dereceli gliomlarda, adjuvan tedavi olarak tek başına temozolomid ve tek başına radyoterapinin kıyaslandığı bir çalışmada; IDH mutant diffüz astrositomlu hastalarda tek başına radyoterapi alanlarda

progresyonsuz sağ kalımın arttığı, IDH wild tip diffüz astrositomda ise progresyonsuz sağ kalımın tek başına radyoterapi alanlar ve tek başına temozolomid alanlarda eşit olduğu bulunmuştur (68). Buna göre; cerrahi sonrası tekli tedavi modalitesi uygulanması planlanıyorsa IDH mutant diffüz astrositomlarda radyoterapi, IDH wild tip diffüz astrositomlarda ise radyoterapinin yan etkilerinden korunmak için temozolomid tedavisinin tercih edilmesi uygun olacaktır.

Diffüz Astrositomda Sağ kalım

Cerrahi sonrası hastaların onkolojik olarak uzun dönem izlenmesi, yeni MR görüntülerinin erken cerrahi sonrası MR görüntüleri ile karşılaştırılması gerekir. 40 yaş altındaki hastalarda düşük dereceli gliomların gross total rezeksiyon sonrası izlendiği prospektif bir çalışmada olguların %50'den biraz fazlasının cerrahiden sonraki 5 yıl içinde rekürrens gösterdiği tespit edilmiştir (61).

IDH öncesi dönemde Kaliforniya Üniversitesi, San Francisco (UCSF), WHO Grade II olgularda şu kriterleri kullanarak ve her kriterin varlığını 1 puan kabul edilerek puanlama yapmıştır (69):

- >50 yaş
- KPS $\leq$ 80
- Elegan alanlarında yerleşim (Primer duyu veya motor korteks, Wernicke veya Broca alanı)
- Maksimum tümör boyutu > 4 cm

Buna göre; 0-1 puan alan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %97 ve 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım %76, 2 puan alan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %81 ve 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım %49, 3-4 puan alan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %56 ve 5 yıllık progresyonsuz sağ kalım %18 oranındadır.

2.2.5. Anaplastik Astrositom, WHO Grade III

Bu tümörler histolojik olarak dağınık anaplazi ve belirgin mitotik aktivitenin olduğu yaygın infiltratif astrositomlardır (2). Sıklıkla frontal ve temporal loblarda yerleşirler. WHO Grade II astrositomlara göre sellülaritede artış ve artmış mitotik aktivite (rezeksiyon spesmeninde birkaç mitozdan fazlası), sıklıkla buna eklenmiş anaplazi belirtileri (belirgin nükleer atipi, multinükleer tümör hücreleri ve anormal mitozlar) mevcuttur. Proliferasyon indeksi yüksektir ancak mikrovasküler proliferasyon veya nekroz göstermezler. ATRX ve TP53 mutasyonları bu tümörlerin büyük bir kısmında görülür ve tanıyı destekler.

Anaplastik astrositomlar; MR’da T1 sekanslarda hipointens, T2 sekanslarda ve FLAIR’de ise hiperintens görünürler. Difüzyon kısıtlaması göstermezler. Perfüzyon MR’da, diffüz astrositomlar ile karşılaştırıldığında rCBV artışı dikkat çeker. MR spektroskopide ise kolin artışı, N-asetil aspartat ve myoinositol azalması görüntülenir. MR’da %50-70’inde kontrastlanma görülür. Ancak bir kısmı tutulum göstermez (70). IDH wild tip tümörlerde kontrast tutulumu oranı daha fazladır. Glioblastom gibi halkasal tutulum yoktur. Kalsifikasyonlar ve kistler %10-20 hastada görülebilir.

Anaplastik astrositomlarda en önemli prognostik faktör IDH-1 mutasyonudur. IDH-mutant hastalarda ortalama sağ kalım 7,9 yıl iken, IDH-mutant olmayanlarda 2,8 yıla inmektedir (71). Diğer prognostik faktörler; yaş, Karnofsky performans skoru, rezeksiyon miktarı ve tümörün yerleşim yeridir (72).

Anaplastik Astrositom, IDH-mutant (WHO Grade III)

Bu tümörler *de novo* olarak veya daha az sıklıkla WHO Grade II astrositomun anaplastik progresyona uğraması ile oluşabilirler. IDH, TP53 mutasyonu, PDGFR aşırı ekspresyonuna ek olarak Retinoblastom (RB) geninin mutasyonu veya delesyonu, BCL-2 ilişkili X (BAX) genini içeren 19q'da olan kayıplar ve özellikle 10.kromozomun q kolundaki delesyonların eklenmesi ile anaplastik astrositom ve sekonder glioblastom gelişebilmektedir (73). Bu tümörler IDH-mutant glioblastoma malign transformasyon eğilimi gösterir. Ortalama yaş 38'dir (74). Klinik seyir, IDH-mutant diffüz astrositomdakine benzer veya biraz daha kötü olabilir, ancak bu tartışmalıdır.

Anaplastik Astrositom, IDH-wild tip (WHO Grade III)

Bu tümörlerin çoğu IDH-wild tip glioblastom ile ortak moleküler belirteçlere sahiptir. Anaplastik astrositomların %20'sini oluşturur. IDH-mutant anaplastik astrositoma göre daha agresif ve IDH wild tip glioblastoma daha benzer davranışlar sergiler.

Anaplastik Astrositom, NOS (WHO Grade III)

IDH gen mutasyonu durumu araştırılamayan veya belirsiz olan anaplastik morfolojide astrositik tümörlerdir.

Anaplastik Astrositomda Tedavi

Öncelikli olarak sitoredüksiyona yönelik cerrahi tedavi uygulanır. Gross total rezeksiyondan sonra dahi yüksek nüks oranları olan bu tümörlerde yaklaşık 30 yıldır standart tedavi mümkün olan en geniş cerrahi eksizyon sonrası radyoterapidir. Tümör yatağı ve periferindeki 2 cm alana 30 fraksiyonda toplam 60 Gy standart radyoterapi protokolü uygulanır. Güncel uygulamada kemoterapinin anaplastik astrositomdaki yeri tartışmalıdır. Faz III çalışmalarda radyoterapi ile verilen temozolomid, nitrözüre, PCV gibi kemoterapi protokollerinin progresyonsuz ve ortalama sağ kalıma olumlu etkisi saptanmamıştır (71). Ancak CATNON çalışmasında (EORTC 26053-22054 çalışması), radyoterapiye ek olarak verilen temozolomid ile 5 yıllık genel sağ kalıma belirgin etki gözlenmiştir (75).

2.2.6. Glioblastom, WHO Grade IV

Glioblastom %54 oran ile en sık görülen primer malign beyin tümörüdür ve en öldürücü astrositomdur (5). İnsidansı yaşla birlikte artar. Sıklıkla 45-75 yaş arasında görülür. Ortalama tanı yaşı 64'tür (76).

St. Anne-Mayo sınıflamasına göre histolojik olarak belirgin nükleer atipi, hücresel pleomorfizm ve mitotik aktivite ile mikrovasküler proliferasyon ve nekroz içermektedir. Tanısal işaretleri belirgin mikrovasküler proliferasyon ve/veya nekrozdur. Pleomorfik fibriler astrositomlar, gemistositler, büyük multinükleer dev hücreler ve mikroglialar görülür. Bu nedenle “glioblastoma mutiforme” teriminin ifade ettiği gibi, tümörün histopatolojisi oldukça değişkendir. Bu özellik, küçük

örneklemeler ile (örn. iğne biyopsisi) güvenilir bir tanı koymayı zorlaştırır. 3 ana alt tipi vardır: GBM, IDH-wild tip; GBM, IDH-mutant ve GBM, NOS.

“Glioblastoma multiforme” terimi günümüzde kullanılmamaktadır, ancak GBM kısaltması devam etmektedir (77). Hastalık biyolojisi konusunda yapılan tüm çalışmalara, cerrahi ve radyoterapideki tüm gelişmelere, tüm ilaç geliştirme ve denemelerine rağmen GBM, SSS tümörleri arasında en invaziv ve en kötü sağ kalıma sahip tümörlerden biridir. Tedavi edilmeyen hastalarda ortalama sağ kalım yalnızca 3 aydır ve beş yıllık sağ kalım oranı %5’tir (78). Sistemik bir analize göre ortalama genel sağ kalım 13,5 aydır (79). Uzun sağ kalımla ilişkilendirilen faktörler; genç yaş, kadın cinsiyet, komorbiditelerin azlığı, beyaz ırktan olmamak, yüksek gelir düzeyine sahip olmak, tümörün sol hemisferde olması, beyin sapı invazyonunun olmaması ve radyoterapi alabilmiş olmaktır. Infratentoryal glioblastomlar nadirdir ve sıklıkla supratentoryal GBM'nin subaraknoid yayılımını temsil eder. Bu argüman posterior fossa GBM’si olan tüm hastaların irradyasyonu için kullanılmaktadır (80). Özetle GBM’de tümör davranışı; hızlı progresyon, invazyon, hücre infiltrasyonu, yoğun anjiyogenez, kemoradyoterapiye direnç ve sık relaps ile karakterizedir. Bu agresif davranış kötü prognoz, 14 ay gibi kısa bir ortalama sağ kalım ve %5,1 oranında 5 yıllık sağ kalım oranından sorumludur (81).

Glioblastom Gelişiminde Moleküler Yolaklar

Genom çaplı profil çalışmaları, glioblastomlar arasında dikkate değer genomik çeşitlilik olduğunu göstermiştir (82):

- 1. Yolak: Reseptör tirozin kinaz (RTK) genlerinin amplifikasyonu ve mutasyonel aktivasyonu yoluyla büyüme faktörü sinyalinin düzensizliğidir. RTK'lar; epitelyal büyüme faktörü, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve PDGF için reseptör görevi gören transmembran proteinleridir. Ayrıca sitokinler, hormonlar ve diğer sinyal yolları için reseptör görevi görebilirler.
- 2. Yolak: Hücre sağ kalımının düzenlenmesi için esansiyel bir hücre içi sinyal yolu olan fosfatidilinositol-3-OH kinazın (PI3K) / AKT / mTOR'un aktivasyonudur.
- 3. Yolak: p53 ve RB tümör baskılayıcı yollarının inaktivasyonudur.

Glioblastomda daha iyi prognoz ile ilişkilendirilmiş moleküler genetik özellikler IDH1/2 mutasyonu ve MGMT metilasyonudur. IDH1/2 mutasyonları, genel sağ kalımı daha uzun olan düşük dereceli astrositomlar ile ilişkilendirilmiştir. Bu mutasyonu olmayan diffüz gliomlar (IDH “wild” tip) klinik derecesine bakılmaksızın daha agresiftir (83).

MGMT Transkripsiyonel Susturma (Epigenetik Mekanizma)

Alkilleyici kemoterapötik ajanlar (örn. Nitrözüre veya temozolomid), etkilerini DNA’da çift sarmal kırıkları ve sarmallar arası çapraz bağlanma yaparak oluştururlar. Yani DNA’daki guanin bazlarına bir alkil grubu (en küçüğü bir metil grubudur) eklerler, O6-metilguanin oluşur ve bu şekilde DNA'ya zarar verirler. Alkilleyici ilaçların oluşturduğu hasar büyük ölçüde MGMT tarafından onarılır. MGMT, bu sitotoksik alkil grubunu spesifik olarak uzaklaştıran ve guanin

kalıntılarını kendi doğal hallerine geri yükleyen bir DNA hasar tamiri enzimidir (84). Bu tamir mekanizması sağlıklı hücreleri alkilleyici ajanlarının sitotoksik etkilerinden korumaktadır. MGMT aktivitesi, kanser hücrelerinde ise kemoterapi etkilerine karşı direnç gelişmesine neden olur. Bu enzimin miktarı epigenetik olarak düzenlenir ve gösterilmiş en etkin mekanizma MGMT enziminin promoter bölgesinin metillenmesi (susturulması) yolu ile olur. Birçok GBM'nin doğası gereği MGMT aktivitesi azdır. IDH-mutant astrositomlarda (%75), IDH wild tip GBM'lere göre (%36) daha fazladır. Bu durum büyük olasılıkla, 10q26 kromozomal bölgede bulunan ve MGMT'yi kodlayan genomun CpG adalarının (promotör alanları) hipermetillenmesi yoluyla yani epigenetik transkripsiyonel gen susturulması sonucunda olur. MGMT aktivitesinin az olmasına neden olur. MGMT aktivitesi, alkilleyici ajanlarla kemoterapiye yanıt için bağımsız bir prognostik faktördür (85). Düşük düzeyde MGMT aktivitesi olan tümörler, normal MGMT aktivitesi olan non-tümöral hücrelere göre temozolomidin sitotoksik etkisine daha yatkındır. Yani azalmış MGMT aktivitesi olan malign gliomlarda daha uzun sağ kalım gözlenmiştir (86).

Glioblastomların Radyolojik Özellikleri

MR'da T1 sekanslarda sınırları iyi seçilemeyen, değişik intensitelerde bir kitle olarak görülür. T2 ve FLAIR incelemelerde heterojen bir hiperintensite ve vazojenik ödem görülür. Nekroz, kist ve vaskülaritesi yüksek olduğu için kitle içi hemoraji, değişik evrelerde kanama görülebilir. Kontrastlı T1 incelemelerde nekroz etrafında irregüler yoğun heterojen bir kontrast tutulum izlenir. Kontrastlanmanın dışında kalan ödem alanında da mikroskopik tümör odaklarının olabileceği

bilinmektedir. Spektroskopide tümör duvarında kolin yüksekliği görülür ve perfüzyon MR incelemesinde duvarın hiperperfüze olduğu gözlenir. GBM'ler sıklıkla beyaz cevher yolakları üzerinden yayıldığı için multifokal görülebilmektedir. Multifokal senkron gelişim tüm GBM'lerin yaklaşık %5'inde görülmektedir. Korpus kallozum aracılığıyla her iki hemisfere simetrik yayılım (kelebek gliom) gözlenebilir.

Primer ve Sekonder Glioblastom Kavramı

Primer ve sekonder glioblastom kavramı kuvvetle muhtemel 1940'ta Alman nöropatolog Hans-Joachim Scherer (1906-1945) tarafından tasarlanmıştır (87). Primer GBM *de novo* olarak, sekonder GBM ise daha düşük dereceli glial neoplazilerden gelişir. Histolojik olarak, bu iki tümör tipi neredeyse ayırt edilemez. Moleküler genetik ile bu ayrım netleşir.

Primer Glioblastom

Diğer adıyla: IDH-wild tip. En malign astrositomdur. GBM'lerin büyük çoğunluğunu (%95) oluşturur. Ortalama tanı yaşı 62'dir. Bu tümör, tanımlanabilir bir düşük dereceli öncü olmadan *de novo* ortaya çıkar. Genellikle 3 ay gibi kısa bir klinik öyküyü ile gelen yaşlı hastalarda daha sık görülür. Daha az kötü huylu bir öncünün kanıtı (klinik veya histolojik olarak) olmadan derin beyaz cevherde ortaya çıkar. %31 temporal lob, %24 parietal lob, %23 frontal lob, %16 oksipital lobda bulunur. Semptomlar; fokal nörolojik defisit (tümör ve ödem etkileri nedeniyle), artmış intrakraniyal basınç (başağrısı, bulantı, letarji...) veya nöbettir. IDH-wild tip

GBM'ler, kontrastlı bilgisayarlı tomografi (BT) veya MR'da bir halka oluşturan geniş bir merkezi nekroz alanına sahip olma eğilimindedir.

CIMPACT-NOW'ın birinci güncellemesine göre; 55 yaş üstünde glioblastom morfolojisi olan hastalarda immünohistokimyada IDH1R132H antikoru ile boyanma negatif ise doğrudan IDH-wild tip olarak sınıflandırılacaktır (28). 55 yaşında veya daha genç hastalarda IDH1R132H antikoru ile boyanma negatif ise IDH mutasyonu yönünden moleküler test yapılacaktır ve buna göre IDH-mutant veya IDH-wild tip olarak sınıflandırılacaktır.

CIMPACT-NOW'ın üçüncü güncellemesine göre; IDH-wild tip herhangi bir diffüz gliom; TERT promotor mutasyonu, EGFR amplifikasyonu, Kromozom 7 kazanımı ve Kromozom 10 kaybı olduğunda glioblastom benzeri klinik seyir göstermektedir (88–90). Bu nedenle IDH-wild tip diffüz gliomlarda, histopatolojik morfoloji glioblastomu desteklemese de TERT mutasyonuna, EGFR amplifikasyonuna, Kromozom 7 kazanımı/Kromozom 10 kaybına bakılmalıdır. Bunlardan herhangi biri varsa “Glioblastom moleküler özellikleri gösteren diffüz gliom, WHO Grade IV” olarak kabul edilmesi önerilmiştir (27,90).

IDH-Wild tip Glioblastom Subtipleri

- Dev hücreli glioblastom: IDH wild tip GBM'lerin nadir bir varyantıdır glioblastomların %1'den azını oluşturur. Histolojik olarak multinükleer dev hücreler ve bazı olgularda bol miktarda retikülün çatısı içerir. IDH wild tip GBM'e göre (Ortalama yaş=62) daha genç hastalarda oluşmaya meyillidir. (Ortalama yaş=51) IDH-wild tip GBM'de olduğu gibi, bu tümörler de

bilinen bir öncü olmadan *de novo* ortaya çıkar. TP53 mutasyonları (%75-90 oranda) ve Fosfataz ve Tensin Homoloğu (PTEN) mutasyonları (%33 oranda) karakteristiktir.

- Gliosarkom: IDH wild tip GBM'lerin nadir bir varyantıdır ve glioblastomların %2-8'ini oluşturur. Histolojik özellikleri, mezenkimal farklılaşma alanlarıyla dönüşümlü olarak glial farklılaşma alanlarını içeren bifazik doku paterninden oluşturur. *De novo* ortaya çıkabilir veya bir GBM tedavisinden sonra gelişebilir. Ependimom (ependimosarkom) ve oligodendrogliom (oligosarkom) ile birlikte de görülebilir. Ağırlıklı olarak sarkomatöz olan gliosarkomlar daha periferik yerleşimlidir ve direkt dural invazyona ya da dural kalınlaşmaya (dural tail) neden olabilir. Homojen olarak büyüyebildikleri için bir menenjiyomu taklit edebilir.
- Epitelioid glioblastom: Yakın aralıklı epitelioid hücreler ve bazı rabdoid hücrelere ek olarak mitoz, mikrovasküler proliferasyon ve nekrozun karakteristik GBM bulgularını içeren IDH wild tip GBM'lerin subtipidir. Genç yetişkinleri ve çocukları etkiler, beyincik ve diensefalon lokalizasyonunu tercih eder. %50 orandaki yüksek insidanslı BRAF V600E mutasyonu nedeniyle moleküler genetiği dikkat çekicidir.

Sekonder Glioblastom

Diğer adıyla: IDH-mutant glioblastom. WHO Grade II veya Grade III astrositomun malign transformasyonu sonrası oluşur. Hastalar daha gençtir (<45 yaş) ve daha yavaş bir klinik seyre sahiptir. Primer GBM'den daha nadir görülür. IDH mutasyonları sekonder GBM'lerin prekürsörleri olan Grade II ve Grade III

tümörlerde görülür ve sekonder GBM’lerde %70-80 oranda bulunmaktadır. Primer GBM’de ise IDH mutasyonları sadece %5 oranda görülür. TP53 mutasyonları, daha az kötü huylu öncüllerin %90’ından fazlasında bulunur. Primer GBM’ler geniş nekrotik kitleler şeklinde tanı alırken, sekonder GBM’ler daha düşük gradeli glial tümörün ortasından bir GBM adası şeklinde gelişim gösterebilir. Bu tümörlerde malign dejenerasyon, 19q ve 10q kromozomlarının alelik kaybı ile karakterizedir. Düşük dereceli astrositomların GBM’e dönüşmesi için geçmesi gereken süre ortalama 4–5 yıldır.

IDH-mutant glioblastomlar, frontal lobda olma eğilimindedir. Spinal kord ve serebellum tutulumu nadirdir. IDH-wild tip GBM'lere göre klinik seyir daha uzundur. (16,8 ay) IDH-wild tip GBM’lerden farklı olarak santral nekroz alanı daha büyüktür, tanıda genellikle daha da büyüktürler ve perilezyoner ödem daha az orandadır.

IDH-mutant glioblastomlar, IDH-wild tip GBM'lere göre biraz daha iyi bir prognoza sahiptir. Bu durum düşük MGMT aktivitesine sahip olma olasılıklarından bağımsızdır. MGMT promotör gen metilasyonu, sekonder GBM’de primer GBM'ye göre daha yaygındır (91,92). (Alkilleyici kemoterapi ajanlarına daha olumlu bir yanıt verir.) 200 glioblastomun genetik sekanslaması sonucunda, IDH1 ve IDH2'nin primer GBM'lerin % 5'inde ve sekonder GBM'lerin çoğunda (% 60-90) tekrar tekrar mutasyona uğradığı ortaya çıkmıştır (37). Primer ve sekonder glioblastomları içeren bilgiler Tablo 4’te özetlenmiştir. Tabloda belirtildiği gibi primer glioblastomda TERT mutasyonu, sekonder glioblastomda ise TP53 mutasyonu ve ATRX kaybı daha siktir. PTEN mutasyonu ise sekonder

glioblastomda çok nadir iken, primer glioblastomda her 4 hastanın birinde görülmektedir.

Tablo 4. Primer ve sekonder glioblastomun karşılaştırılması

Özellik	Primer GBM	Sekonder GBM
Moleküler belirteç	IDH-wild tip (%95'inde)	IDH-mutant (%60-90'ında)
Prekürsör lezyon	Belirlenemez; <i>de-novo</i> olarak oluştur	Diffüz astrositom, anaplastik astrositom
Tüm GBM'lerde oranı	~ %90	~ %10
Tanı anında ortalama yaş	~ 62 yaş	~ 44 yaş
Erkek/kadın oranı	1,42 : 1	1,05 : 1
Klinik öyküsünün ortalama süresi	4 ay	15 ay
Ortalama survival		
Cerrahi + Radyoterapi	9,9 ay	24 ay
Cerrahi + Radyoterapi + Kemoterapi	15 ay	31 ay
Yerleşim yeri	Temp → parietal → frontal → occipital	Frontal lob ağırlıklı
Nekroz	Yaygın	Kısıtlı
TERT promotor mutasyonu	%72	%26
TP53 mutasyonu	%27	%81
ATRX mutasyonu	Ender	%71
EGFR amplifikasyonu	%35	Ender
PTEN mutasyonu	%24	Ender
MGMT promotor gen metilasyonu	%36	%75

Glioblastom, NOS (WHO Grade IV)

IDH mutasyon durumunun güvenilir bir şekilde değerlendirilemediği glioblastomdur. Bu tanıyı koyarken dev hücreli GBM, gliosarkom ve epitelioid GBM'nin histolojik varyantlarının dışlanması gerekir.

Glioblastomda Tedavi

WHO Grade III ve IV yüksek dereceli gliomlarda cerrahinin amacı sitoredüksiyon, kitle etkisini hafifletmek, histolojik ve moleküler çalışma için yeterli doku elde etmektir. Sitoredüktif cerrahi ve ardından eksternal beam radyasyon ile eşzamanlı temozolomid, karşılaştırılan diğer tedavilere göre standart haline gelmiştir (93). Tümörün çıkarılma derecesi ve ameliyat sonrası görüntüleme çalışmalarında görülen rezidüel tümör hacmi (ters orantılı), tümör ilerlemesi ve medyan sağ kalım süresi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (94,95). %97 veya daha fazla eksizyonun sağ kalım süresinin artması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dünyadaki ortak tutum mümkün olan tüm teknolojik yöntemlerin desteğinde maksimum güvenli rezeksiyondur (96). Mümkün olduğunca etkili ve kritik yapılar korunarak tümörün gross total rezeksiyonu amaçlanmalıdır. Tümör lokalizasyonunu belirlemede güncel yenilikler, intraoperatif monitörleme ve haritalamadaki son gelişmeler daha etkili ve güvenli rezeksiyona olanak sağlamıştır. GBM'nin parsiyel rezeksiyonu, postoperatif kanama ve/veya ödem (yaralı gliom sendromu) gelişmesi açısından risklidir ve bu da herniasyona sebebiyet verebilir. Ayrıca, subtotal rezeksiyonun da ne kadar yararı olduğu şüphelidir. Retrospektif çalışmaların kanıtları, gross total rezeksiyonun sağ kalıma

yararı olduğunu göstermiştir. Ancak tam olmayan rezeksiyonda böyle bir kanıt yoktur (97). Bu nedenle, cerrahi eksizyon ancak gross total rezeksiyon mümkün olduğunda uygulanmalıdır. Bu nedenlerle şu durumlarda cerrahi eksizyon genellikle uygulanmaz:

- Dominant lobda yaygın GBM
- Belirgin bilateral tutulumu olan lezyonlar (büyük kelebek gliomlar)
- Yaşlı hastalar
- Karnofsky skoru <70 (İnfiltratif tümörlerde cerrahi, steroidlerin nörolojik duruma olan yararına çok nadiren katkıda bulunur.)
- Multisentrik gliomlar

5-Aminolevulinik-Asit Yardımlı Rezeksiyon

İntraoperatif haritalama ve sterotaktik hedeflemelere ek olarak, tümörün ameliyat esnasında göz ile ayırt edilmesini sağlayan 5-aminolevulinik asit (5-ALA) tekniği kullanılabilir. 5-ALA, malign gliom hücrelerinde birikmiş olan floresan porfirinlere metabolize olur. Bu özellik için, ameliyat sırasında ultraviyole aydınlatma ile haritalama yapılır. 5-ALA kullanımı genel sağ kalımı etkilemese de 6 aylık progresyonsuz sağ kalım oranını artırır (98).

Glioblastomda Cerrahi Sonrası Adjuvan Tedavi

Yeni tanı GBM için standart tedavi sitoredüktif cerrahi ardından adjuvan radyoterapi ve kemoterapiden oluşan “Stupp rejimi” dir (93). Kemoradyoterapi, GBM'nin histolojik tanısından sonraki altı hafta içinde başlatılır.

- Radyoterapi: Stupp rejimi, 2-3 cm'lik klinik hedef doku için 6 hafta boyunca her haftanın ilk 5 gününde ve her fraksiyon için 2 Gy doz verilen fraksiyone fokal radyasyonu içerir. (Toplam doz: 60 Gy) Bu tedavi malign gliomlar için daha önceden uygulanan konvansiyonel 50-60 Gy'lik radyoterapi rejimine karşılık gelir (70).
- Kemoterapi: Temozolomid, dakarbazin türevi bir oral alkilasyon ajanıdır. DNA'yı çeşitli bölgelerden, özellikle guaninin O6 ve N7 pozisyonlarından alkiller. (Alkil grubu ekler.) Birçok hücre bu hasarı MGMT ile tamir eder. Anormal MGMT aktivitesi olan tümörlerde temozolomid çok daha etkilidir. Eşzamanlı kemoterapi esnasında temozolomid, fizyolojik pH'da hızlı bir nonenzimatik dönüşüm ile aktif metaboliti olan monometil triazenoimidazol karboksamidi (MTIC) dönüşür. Yani temozolomid bir ön ilaçtır. MTIC'nin sitotoksik etkisi, guanin üzerindeki O6 ve N7 pozisyonları dahil olmak üzere çeşitli bölgelerde DNA'nın alkilasyonu (öncelikle metilasyon) ile olur. Temozolomid, radyoterapinin sonuna kadar haftada 7 gün 75 mg/m²/gün verilir. Dört hafta sonra, altı döngü adjuvan kemoterapi başlar. Her döngü 28 günde bir tekrarlanan 5 günlük temozolomidden oluşur. Doz, ilk döngü için 150 mg/m²/gündür ve daha sonra 200 mg/m²/güne kadar artırılır.

“Stupp protokolü” olarak da bilinen bu uygulama, yalnızca radyoterapi uygulamasına göre genel sağ kalımı anlamlı şekilde arttırması (14,6 ay vs. 12,1 ay) nedeniyle dünya genelinde klinisyenler tarafından uygulanmaktadır (99). Yani Stupp rejiminin medyan sağ kalıma faydası 2,1 aydır. EORTC/ NCIC olarak da bilinen bu çalışmanın 5 yıllık takip sonuçları 2009 yılında yayınlanmıştır. Bu

Çalışma sonucunda TMZ+RT alan grupta genel sağ kalım oranı iki yılda %27,2, üç yılda %16, dört yılda %12,1 ve beş yılda %9,8 bulunmuştur. Bu oranlar cerrahi sonrası sadece RT alan grupta iki yılda %10,9, üç yılda %4,4, dört yılda %3 ve beş yılda %1,9 olarak bildirilmiştir. Araştırmaya göre rezeksiyonun derecesi ve MGMT durumu ne olursa olsun, Stupp rejimini alan hastalarda medyan sağ kalım daha uzun saptanmıştır. Bu çalışmaya, 70 yaşı üstü ve genel performansı iyi olmayan GBM hastaları dahil edilmemiştir. Bu çalışmada uzun sağ kalım gösteren hastaların tümör hücrelerindeki belirteçlerine bakıldığında MGMT metilasyonunun daha sık olduğu tespit edilmiştir. MGMT promotör gmetilasyonu olan ve konkomitan kemoradyoterapi alan hastalarda ortalama sağ kalım 23,4 ay iken, unmetile ve konkomitan kemoradyoterapi alan grupta ortalama sağ kalım 12,6 ay saptanmıştır. MGMT unmetile grupta, Stupp rejimi medyan sağ kalımı sadece 11,8 aydan 12,6 aya uzatmıştır. Bazı uzmanlar adjuvan kemoterapiyi standart altı aylık rejimden sonra tümör ilerlemesi gözlenene kadar uzatır; bir çalışmada bu uygulama ortalama sağ kalımı 16,5 aydan 24,6 aya uzatmıştır (100).

Yaşlı hastalarda yaşam beklentisi daha düşük ve tedavi toksisitesi yüksek olduğu için, 75 yaşı üstü hasta grubunda adjuvan tedavi olarak radyoterapi ve kemoterapi kombinasyonu yerine; MGMT unmetile hastalara yalnızca radyoterapi, MGMT-metile hastalara ise radyoterapi/kemoterapi kombinasyonu ya da yalnızca kemoterapi önerilmektedir (101).

Temozolomid miyelosupresyona neden olabilir. Nötrofil sayısı $\geq 1,5 \times 10^9/L$ ve platelet sayısı $\geq 100 \times 10^9/L$ sağlanana kadar temozolomid verilmemelidir. Tüm yeni tanılı GBM olgularında 6 haftalık eşı zamanlı kemoterapi ve radyoterapi tedavisi

için, Pneumocystis jirovecii (Önceden: P. carinii) pnömonisi açısından profilaksi uygulanmalıdır.

Glioblastomda Diğer Adjuvan Tedaviler

Gliadel® diski, tümör eksizyonundan sonra rezeksiyon boşluğuna uygulanabilen ve içinde 7,7 mg karmustin (BCNU) içeren bir ajandır. Diskler hidroliz ile bozunur ve ilaç 2-3 hafta içinde salınır. Böylelikle tümör, intravenöz uygulamanın 113 katı kadar BCNU konsantrasyonuna maruz kalır. Tümörün çıkarılmasından sonra, ameliyat sırasında tümör rezeksiyon yatağına 8 adede kadar 1,4 cm x 1 mm boyutlu diskler yerleştirilir. Bu yöntemle yeni tanıli GBM olgularında ortalama sağ kalım, plaseboya kıyasla 11,6 aydan 13,8 aya çıkmıştır (102). Rekürren hastalıkta cerrahi yararı gösterilmemiştir (103). Yan etkiler; nöbet, serebral ödem, yara iyileşmesi anormallikleri ve intrakraniyal enfeksiyondur.

Glioblastomda Tedaviye Yanıt

Radyoterapi ve temozolomid GBM tedavisinde standart bakımın bir parçası haline geldiğinden MR’da progresif şekilde kontrast tutulumu olan ve bu nedenle tümör ilerlemesini taklit eden alanlar görölmüştür. Tipik olarak tedaviden sonraki 3 ay içinde görülür. Bu fenomene psödoprogresyon denir, RT ve temozolomid tedavisi alan hastaların %28-60’ında görülür. Histolojik olarak radyasyon nekrozuna benzemektedir ve radyasyon nedeniyle tümör hücresinin ölümü ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Kemoterapi ile artan tümör ölümü sonucunda daha fazla psödoprogresyon görülür: bu nedenle metillenmiş MGMT promotör genleri olan tümörlerde (%91), metillenmemiş tümörlere göre (%41) daha yaygındır (104).

MR bulguları genellikle tedavi olmadan iyileşir ve steroidler semptomları kontrol etmeye yardımcı olabilir (105). Kesin bir tanı testi yoktur. Perfüzyon MR ile, psödoprogresyon gerçek progresyondan ayırmaya çalışılmıştır, ancak güvenilir değildir. Diffüzyon MR’da yüksek görünür difüzyon katsayısı, MR spektroskopi ve PET ile de yüksek hassasiyet ve özgüllük elde edememiştir. Seri MR’lar ve klinik muayeneler ile izleme, etkili bir strateji gibi görünmektedir. Temel kural şudur: Radyoterapi ve temozolomid ile tedaviden sonraki ilk 6 ayda GBM nüksünü düşündüren MR değişiklikleri radyasyon alanındaysa, bunun psödoprogresyon olduğu varsayılmalıdır.

RANO (“Response Assessment in Neuro-Oncology” – Nöro-Onkolojide Yanıt Değerlendirmesi) Kriterleri

MacDonald kriterleri, yüksek dereceli gliomalarda tedaviye yanıt değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmıştır (106). Bu kriterler, BT’de kontrast tutulumuna dayanmakta idi. Ancak kontrast tutulumu psödoprogresyon ve bazı lokal olarak uygulanan tedavilerden (örneğin kemoterapi plakaları, gen ve viral tedaviler, brakiterapi...) etkilenebilir. Ayrıca bu kriterler, angiogenez inhibitörleri (VEGF ve VEGF reseptörlerini hedef alan ajanlar) ile tedavi esnasında ortaya çıkabilen kontrast tutulumu göstermeyen progresyon olma ihtimalini (psödoyanıt – “pseudoresponse”: tümör yükü azalmadan kontrast tutulumunun baskılanması) dikkate almamıştır. Kontrast tutulumu ayrıca kortikosteroidler, inflamasyon ve diğer faktörlerden de etkilenir ve rezeksiyon duvarında cerrahiden sonraki 24-48 saat içinde artar. Sonuç olarak RANO (Nöro-Onkolojide Yanıt Değerlendirmesi) kriterleri, MacDonald kriterlerinin yerini almıştır (107). (Tablo 5 ve 6)

Tablo 5. Yüksek dereceli gliomlar için RANO Kriterleri

TAM YANIT Aşağıdakilerin tümünü gerektirir: 1. Tüm hastalığın ≥ 4 haftadır tamamen kaybolması (hem ölçülebilir hem ölçülemez yönden) 2. Yeni lezyon yok 3. T2/Flair'daki kontrastlanmayan lezyonların stabil olması veya iyileşmesi 4. Kortikosteroid kullanmayan hasta (fizyolojik replasman hariç) 5. Stabil veya iyileşmiş klinik Sadece ölçülemeyen hastalığı olan hastalar tam yanıt veremez. (Stabil hastalık en iyi yanıttır.)
PARSİYEL YANIT Aşağıdakilerin tümünü gerektirir: 1. ≥ 4 haftadır tüm ölçülebilir kontrastlanan lezyonların dikey boyutlarında, bazale kıyasla $\geq \%50$ oranda azalma olması 2. Ölçülemeyen hastalıkta progresyon olmaması 3. Yeni lezyon yok 4. Bazale kıyasla aynı veya daha az kortikosteroid dozları ile T2/Flair'daki kontrastlanmayan lezyonların stabil olması veya iyileşmesi 5. Bazal ölçümdeki kortikosteroid dozundan daha az kortikosteroid kullanılması 6. Stabil veya iyileşmiş klinik
STABİL HASTALIK Aşağıdakilerin tümünü gerektirir: 1. Tam yanıt, kısmi yanıt veya ilerleme olarak tanımlamak için uygun değil 2. Bazale kıyasla aynı veya daha az kortikosteroid dozları ile T2/Flair'daki kontrastlanmayan lezyonların stabil olması 3. Yeni semptomlar nedeniyle steroid dozu yükseltilmişse, görüntülemelerde progresyonu gösterilmemiş ama hastalık progresyonu nedeniyle steroid dozu artırılmışsa, son tarama stabil hastalığı işaret ediyorsa
PROGRESYON Şunlardan herhangi birini gerektirir: 1. Stabil veya artan kortikosteroid dozlarına rağmen kontrastlanan lezyonların dikey boyutlarında ≥ 25 artış olması 2. Aynı veya artan steroid dozları altında T2/Flair'daki kontrastlanmayan lezyonların artması 3. Herhangi yeni lezyon 4. Steroid dozundaki değişiklik veya tümör dışındaki durumlara (nöbet, ilaç yan etkileri veya enfeksiyon gibi) bağlanamayan klinik kötüleşme 5. Ölçülemeyen hastalıkta belirgin progresyon 6. Ölüm veya klinik kötüleşme

Tablo 6. Yüksek dereceli gliomlar için RANO kriterleri (Özet)

	Tam yanıt	Kısmi yanıt	Stabil hastalık	Progresyon
T1 kontrastlı	Yok	$\geq \%50 \downarrow$	$< \%50 \downarrow$, $< \%25 \uparrow$	$\geq \%25 \uparrow$
T2/Flair	Stabil, $\downarrow$	Stabil, $\downarrow$	Stabil, $\downarrow$	$\uparrow$
Yeni lezyon	Yok	Yok	Yok	Var
Steroid	-	Stabil, $\downarrow$	Stabil, $\downarrow$	-
Klinik semptomlar	Stabil, düzelme	Stabil, düzelme	Stabil, düzelme	Kötüleşme
Gerekli kriterler	Hepsi	Hepsi	Hepsi	Herhangi biri

Rekürren Glioblastomda Tedavi

Rekürren gliomların % 10'undan azı orijinal tümör bölgesinde nükseder (108).

1. Cerrahi: Yeniden ameliyat, GBM'li hastalarda sağ kalımı 36 hafta uzatır (109). (Anaplastik astrositomda ise 88 hafta uzatır.) Yaşam kalitesi yüksek olan sağ kalım 10 haftadır. Karnofsky skoru <70 ise bu süre daha kısadır. Karnofsky skoruna ek olarak, tekrar cerrahiye yanıt için önemli prognostik faktörler yaş ve ilk ameliyattan ikinci ameliyata kadar olan süredir. (Süre kısa ise prognoz kötüdür.) Yeniden ameliyat ile morbidite oranı yükselir. (%5-18) Enfeksiyon oranı ilk ameliyattan ortalama 3 kat daha fazladır. Yara yeri iyileşmesinde problem yaşanma ihtimali daha fazladır.
2. Radyoterapi ve Radyocerrahi: Rekürren GBM olgularında “kurtarma tedavisi” olarak re-irridasyon seçilebilecek tedavi yöntemlerinden birisidir. Önceki RT

protokolünün üzerinden 6 aydan uzun süre geçmiş genel performansı uygun ve sınırlı nüksü olan hastalarda radyasyon onkoloğunun yapacağı doz ayarlamasına göre 10 fraksiyonda günlük 3-3,5 Gy doz tercih edilebilir.(99) (Hipofraksiyone radyoterapi) Diğer seçilebilecek bir yöntem ise sterotaktik radyocerrahidir. Reküren yüksek dereceli glial tümörlere yönelik prospektif bir çalışmada, Gamma knife radyocerrahisinin kurtarma tedavileri ile karşılaştırılınca progresyonsuz ve ortalama sağ kalıma kısmen de olsa faydası olduğu bildirilmiştir (110).

3. Kemoterapi

a) Temozolomid: 2013 yılındaki bir Cochrane derlemesinde temozolomid ile tedavi ne progresyonsuz sağ kalım ne de genel sağ kalım ile ilişkilendirilmemiştir (111). RESCUE çalışmasında 50mg/m²/gün sürekli dozda temozolomid tedavisi araştırılmış, progresyonun zamanlaması ve yoğun doz tedavinin başlama tarihine bağlı olarak 1 yıllık sağ kalım %14,8-28,6 arasında gözlenmiştir (112).

b) Bevacizumab (Avastin®) — VEGF'e karşı monoklonal antikordur. Rekürren yüksek dereceli gliomlarda reirradiasyonun yan etkisi olan radyonekroza karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir (113). FDA, Mayıs 2009'da progresif GBM'de bu tedaviyi onaylamıştır. Hastalığın ilerlemesine kadar her 2 haftada bir 10 mg/kg olarak verilir. 6-aylık progresyonsuz sağ kalım oranı %36'dır. FDA'nın onayladığı iki çalışmada ortalama yanıt süresi 3,9 ay ve 4,2 ay bulunmuştur. Ortalama sağ kalım 9,3 aydır (114). Yan etkileri gastrointestinal perforasyon, yara iyileşmesi komplikasyonu, fistül formasyonu, arteriyel tromboembolik

olay ve hipertansiyondur. Bevacizumab tedavisine Irrinotekan eklenmesinin tedavi etkinliğini artırdığını bildiren yayınlar mevcuttur (115).

Özetleyecek olursak reküren GBM’de güncel tedavi; önce cerrahi (uygun ise) + reirridasyon + Bevacizumab/Irrinotekan olarak kabul edilmektedir.

Glioblastomda Sağ kalım

Tek değişkenli analize göre aşağıdakiler iyi prognozu işaret eder (116):

1. Ameliyat öncesi KPS ≥ 80
2. Yaş; genç yaş (<45) çok önemli bir prognostik faktördür
3. IDH1 mutasyonu
4. MGMT promotör gen metilasyonu

206 hasta ile yapılan bir çalışmada ortalama genel sağ kalım: temozolomid + RT ile tedavi edilen MGMT promotör gen metilasyonu olan hastalarda 21,7 ay, sadece RT ile 15,3 ay saptanmıştır. Unmetile MGMT hastalarda tedaviler arasında sağ kalım farkı yoktur. MGMT promotör gen metilasyonu olan hastalarda ortalama sağ kalım 18,2 ay ve 2 yıllık sağ kalım %34,1 iken, unmetile hastalarda ortalama sağ kalım 12,2 ay ve 2 yıllık sağ kalım %7,8’dir (86).

2.3. OLİGODENDROGLİOMLAR

Oligodendrogliomlar, tüm gliomların %5-10’unu oluştururlar. 1994 yılında, oligodendrogliomlar üzerinde yapılan kromozomal kopya sayısı çalışmaları sırasında 1p/19q kodelesyonunun olduğu görülmüştür (117). 1p/19 q kodelesyonu tanımı; hem 1.kromozomun kısa kolunun (1p) hem de 19.kromozomun uzun

kolunun (19q) sentromer olarak isimlendirilen kromozom merkezinden itibaren tamamen delesyonunu ifade eder. Hem astrositom hem de oligodendrogliomlarda 19. kromozomdaki kayıplar sık gözlenir, ancak 1p ve 19q'nun kaybı oligodendrogliomlar için patognomoniktir ve oligodendrogliom tanısı için mutlaka gereklidir (118). WHO 2016 sınıflandırmasına göre, oligodendrogliom grubundaki bir tümör hem IDH mutasyonu hem de 1p/19q kodelesyonuna sahip olmalıdır (2). Yani sadece morfolojik olarak oligodendrogliom differansiasyon olması oligodendrogliom tanısını koymak için yeterli değildir. 1p/19q kodelesyonu, IDH mutasyonu ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Morfolojik olarak oligodendrogliom özellikler mevcut olduğunda veya diğer gerekçelerle oligodendrogliomdan şüpheleniliyorsa test edilmelidir. Floresan in situ hibridizasyon (FISH) veya polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak test edilir.

cIMPACT'ın ikinci güncellemesine göre; diffüz glial bir tümör IDH mutant olduğu anlaşıldıktan sonra önce ATRX kaybı ve p53 mutasyonu açısından incelenmelidir. ATRX immünoekspresyon kaybı saptandığında, p53 ile de yaygın ve koyu boyanma gösterilirse, tümör IDH mutant bir astrositik tümör olarak tanımlanır, bu grubun kriterlerine göre derecelendirilir. Ancak IDH mutasyonu varken, ATRX immünoekspresyonu korunmuş, p53 ile fokal boyanan ya da hiç boyanma göstermeyen bir diffüz glial tümörde ise 1p/19q kodelesyonu araştırılmalıdır. 1p/19q kodelesyon saptanır ise tümör oligodendrogliom olarak kabul edilir (119).

Kanser Genom Atlası Çalışma Grubunun IDH mutasyonu ve 1p/19q kodelesyonu taşıyan tümör verilerine göre; bu tümörlerde ayrıca, CIC (%62),

FUBP1 (%29), NOTCH1 (%31), PIK3CA (20%) ve TERT promotör mutasyonu (%96) da görülür (31). ATRX mutasyonu ise çok nadirdir. CIC ve FUBP1 mutasyonları diğer düşük dereceli gliomlarda saptanmamıştır.

1p / 19q kodesyonlu oligodendrogliomlar, histolojiye dayanarak WHO Grade II veya WHO grade III olarak derecelendirilir (2007 WHO sınıflandırmasında “düşük dereceli” ve “yüksek dereceli” gibi). 1p / 19q kodesyonundan bağımsız olarak, WHO Grade II olumlu bir prognostik göstergedir.

2.3.1. Oligodendrogliom, IDH-mutant & 1p/19q kodelesyonu (WHO Grade II)

Hem 1.kromozomun kısa kolunda hem de 19.kromozomun uzun kolunda tam delesyon olan ve IDH1 veya IDH2 mutasyonu içeren diffüz infiltran gliomları ifade eder. Sıklıkla nöbetler ile ortaya çıkan (%50-80) ve yavaş büyüyen tümörlerdir (120). Esas olarak erişkin hastalarda ortaya çıkar, >%50 olguda frontal lob tutulumunu tercih eder. İnsidans 15-39 yaşları için 100.000'de 0.28 ve 40 yaş üzeri hastalar için 0.31'dir (33). Primer beyin tümörlerinin %1'ini oluştururlar. Erkek/Kadın oranı=1,3/1'dir. Histolojik olarak “sahanda yumurta” görünümü oluşturan sitoplazma ve “tavuk teli” görünümü oluşturan vasküler yapılar vardır. Kalsifikasyonlar sıktır. Önerilen tedavi WHO Grade II astrositik tümörler ile benzerdir. Diğer gliomlar gibi, oligodendrogliomların da tedavisi öncelikli olarak cerrahidir. Cerrahi ile maksimum güvenli rezeksiyon uygulanır.

Adjuvan tedavi tüm hastalarda gereklidir ancak özellikle Grade II tümörlerde, adjuvan tedavinin zamanlaması belirsizdir. Gross total rezeksiyon uygulanan Grade II tümörlerde bekle-gör yaklaşımı uygulanır. Çünkü

radoterapinin geciktirilmesi genel sağ kalımı etkilemez ve aynı zamanda radoterapinin potansiyel toksisitesi de ertelenmiş olur (64). Yüksek riskli düşük dereceli gliomlarda RT ve/veya PCV tedavisinin araştırıldığı RTOG 9803 çalışmasına göre 40 yaşından büyük olmak bir risk faktörüdür (67). Bu nedenle 40 yaşında büyük ve nörolojik defisiti olan hastalarda erken tedavi düşünülebilir ancak bu konuda yapılmış bir prospektif çalışma henüz yoktur.

Cerrahi sonrasındaki ilk bir veya iki yıl içinde her üç veya altı ayda bir kontrastlı MR ile kontrol önerilir. Sonraki yıllar içinse her altı ayda bir takip önerilir. Oligodendrogliomlar rezeksiyon kavitesi etrafında nüks etmeye meyillidir. Grade II tümörlerde, rekürren tümör hacmi rölatif olarak düşük olan hastalarda, kitle kontrast tutmuyorsa veya hasta cerrahi tedaviyi kabul etmiyorsa radoterapi ve kemoterapi uygulanır. Ancak hızlı nüks etmiş veya rekürren tümör hacmi büyük olan hastalarda tanı ve derecelendirmeyi teyit etmek için cerrahi tedavi gereklidir. Tekrar cerrahi tedavi uygulanan hastalarda ameliyat sonrasında radoterapi ve kemoterapi uygulanır. Gross total rezeksiyon uygulanmış ise, bekle-gör stratejisi yine denenebilir.

Maksimal güvenli rezeksiyon uygulanan (subtotal rezeksiyon) ve belirgin rezidüsü olan WHO Grade II tümörlerde ameliyat sonrasında erken adjuvan tedavi önerilir. Ancak genç hastalarda veya rezidü tümör nedeniyle semptomları olmayan hastalarda (Örn. epilepsi) adjuvan tedavi ertelenebilir. RTOG 9802'ye göre adjuvan tedavi verilmesi kararlaştırıldıysa hem radoterapi hem kemoterapinin birlikte verilmesi önerilir (121). 30 fraksiyondan oluşan 54 Gy tedavi, 6 siklus PCV ile kombine edilir. Bu tedavi 18-39 yaş arasında subtotal rezeksiyon uygulanan veya

biyopsi yapılan olgularda veya 40 yaşından büyük ve herhangi bir oranda rezeksiyon yapılmış olgularda uygundur. Ancak multifokal tümörü olan veya büyük bir tümörü olan hastalarda, radyoterapinin geniş bir alana verilmesi istenmeyeceği için, sadece kemoterapi verilebilir.

Oligodendrogliomlar, düşük dereceli gliomlar içinde en iyi prognoza sahip ve adjuvan tedaviye en iyi yanıt veren tümörlerdir. Çünkü 1p/19q kodelesyonu daha uzun ortalama sağ kalım ile ilişkilendirilir. IDH-mutant & 1p/19q kodelesyonu olan oligodendrogliomlar için ortalama sağ kalım 8 yıldır (31). IDH mutant ve 1p/19q kodelesyonu olmayan diffüz astrositomda ise ortalama sağ kalım 6,3 yıldır. Ancak IDH mutasyonu olmayan IDH wild tip tümörler ise, her iki gruba göre daha kısa sağ kalıma sahiptir.

2.3.2. Oligodendrogliom, NOS (WHO Grade II)

IDH mutasyonu ve 1p / 19q kodelesyonu gösterilemeyen oligodendrogliom histolojideki (izomorfik, yuvarlak çekirdekler) hücrelerden oluşan tümörler için kullanılır.

2.3.3. Anaplastik Oligodendrogliom, IDH-mutant & 1p/19q-kodelesyonu (WHO Grade III)

IDH-mutant ve 1p / 19q-kodelesyonu olan Grade II oligodendrogliomdan histolojik olarak belirgin mitotik aktivite, mikrovasküler proliferasyon ve nekroz özellikleri olması ile ayırt edilir. Risk faktörlerinden bağımsız olarak hangi oranda rezeksiyon yapılmış olursa olsun, cerrahi tedavi sonrasında adjuvan kemoradyoterapi önerilir.

2.3.4. Anaplastik Oligodendrogliom, NOS (WHO Grade III)

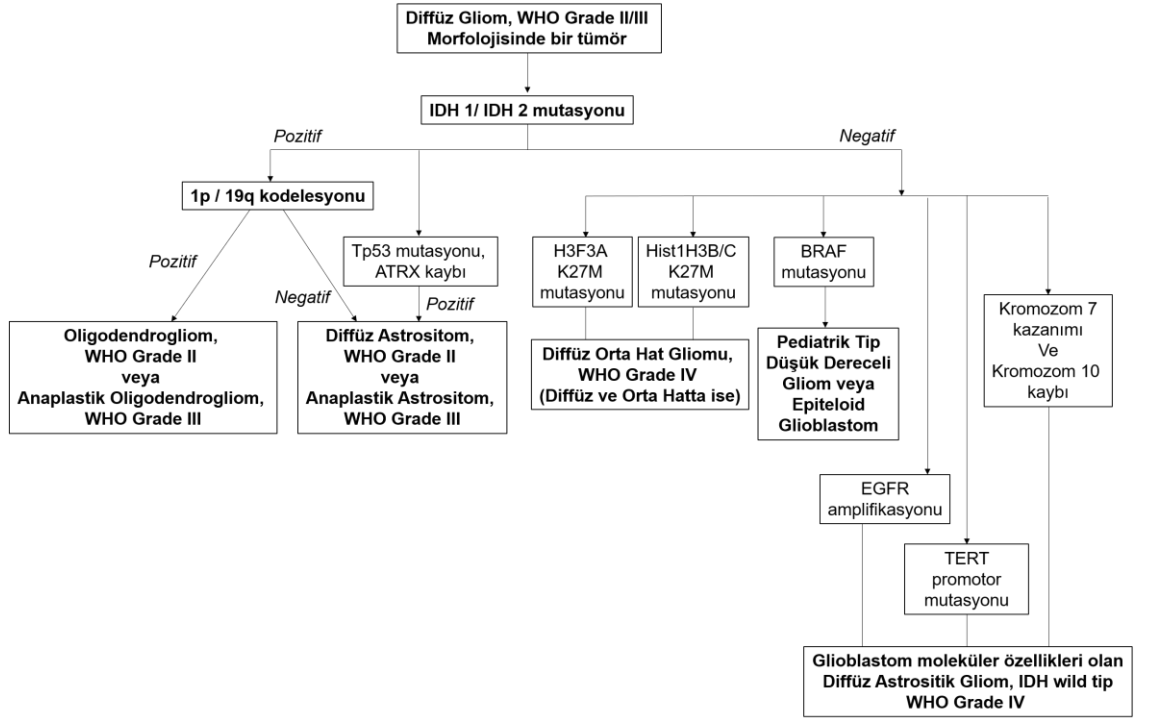
IDH-mutasyonu veya 1p / 19q-kodelesyonu gösterilememiş olan oligodendrogliom histolojideki diffüz infiltratif anaplastik gliomlardır. ATRX pozitifliği ve IDH mutasyonu oligodendrogliom tümörü destekler, ancak bu belirteçler 1p / 19q kodelesyonu yerine geçemez.

Oligodendrogliomlar WHO grade IV morfolojisinde görülmezler.

Oligoastrocitom Tanımı

Oligoastrocitomları ayıran herhangi bir moleküler belirteç olmaması nedeniyle bu tümörler tanımlanmış üç moleküler alt tip arasında dağıtılmıştır. Bu tip bir sistemin uygulanması aynı zamanda “oligoastrocitoma” tanısını ve klinik yönetimi ile ilgili karışıklığı azaltmaktadır.

Özet olarak, diffüz gliom kategorisindeki tümörler için günümüzde sık kullanılan moleküler tanı algoritması Şekil 3’te özetlenmiştir.



Şekil 3. Diffüz gliomlar için moleküler belirteçleri içeren tanı algoritması

2.4. DİFFÜZ GLİOM PATOGENEZİNDE KOPYA SAYISI DEĞİŞİKLİKLERİ, HOTSPOT MUTASYONLAR VE KULLANILAN ANALİZLER

2.4.1. Kopya Sayısı Değişiklikleri

Kopya sayısı değişiklikleri (“Copy Number Variations”, CNV) bir insanın genomundaki 1000 baz çiftinden daha büyük olan yapısal farklılıklardır. Bu farklılık; genin silinmesi (delesyon) veya çoğaltılması (duplikasyon-amplifikasyon) şeklinde olabilir. Bu farklılıklar kuşaktan kuşağa aktarılabilir ya da *de novo* mutasyonlarla oluşabilir. Buna göre bazı insanlarda bir kromozomda birkaç gen silinmiş olabilir, bazı insanlarda ise aynı genin birden çok kopyası mevcut olabilir. Bu değişiklikler eğer tümör gelişiminde önemli rol oynayan tümör baskılayıcı genlerin veya protoonkogenlerin yer aldığı bölgelerde olursa, genlerin ifadenmesi etkilenebilir. Bu durum kanser gelişiminde etkili olabileceği gibi insanlar arasındaki genetik çeşitliliğe de katkıda bulunur.

İnsanlardaki ortalama 20.000 gen içinde, yaklaşık 12 farklı yerde değişik kopya sayısı vardır. Değişikliklerin boyutları birkaç kilobazdan (1 kilobaz=1000 baz çifti) 2 megabaz (1 megabaz=1.000.000 baz çifti) kadar değişebilir. Veri bankalarında 500.000’den fazla CNV arşivlenmiştir. CNV’ler genomun yaklaşık %12’sini oluşturmaktadır. Diğer genetik varyasyonlar gibi, bazı CNV’ler de hastalığa yatkınlık ya da direnç oluşturabilir. Gen kopya sayıları kanser hücrelerinde yüksek olabilir. Örneğin, küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında EGFR kopya sayısı normalden fazladır (122). CCL3L1 geninin yüksek kopya sayısı

ise HIV enfeksiyonu için koruyucu olabilir (123). FCGR3B geninin düşük kopya sayısı, sistemik lupus eritematoz gibi otoimmün hastalıklara duyarlılığı artırabilir (124). Yani insanlardaki farklı CNV'ler, fenotip çeşitliliğinden ve hastalık duyarlılığından sorumlu olabilir. CNV'lerin glial tümörler konusundaki en bilinen örneği Kromozom 1'in kısa kolu ve Kromozom 19'un uzun kolunun kaybının birlikte görülmesini ifade eden 1p/19q kodelesyonudur.

2.4.2. Kopya Sayısı Değişikliklerinin Hastalıklara Yol Açma Mekanizmaları

CNV'ler, birkaç yolla hastalık fenotipinin ortaya çıkmasına yol açarlar. Bunların başında kantitatif etki (dozaj) ve önemli bir genin bölünmesi (disruption) gelir.

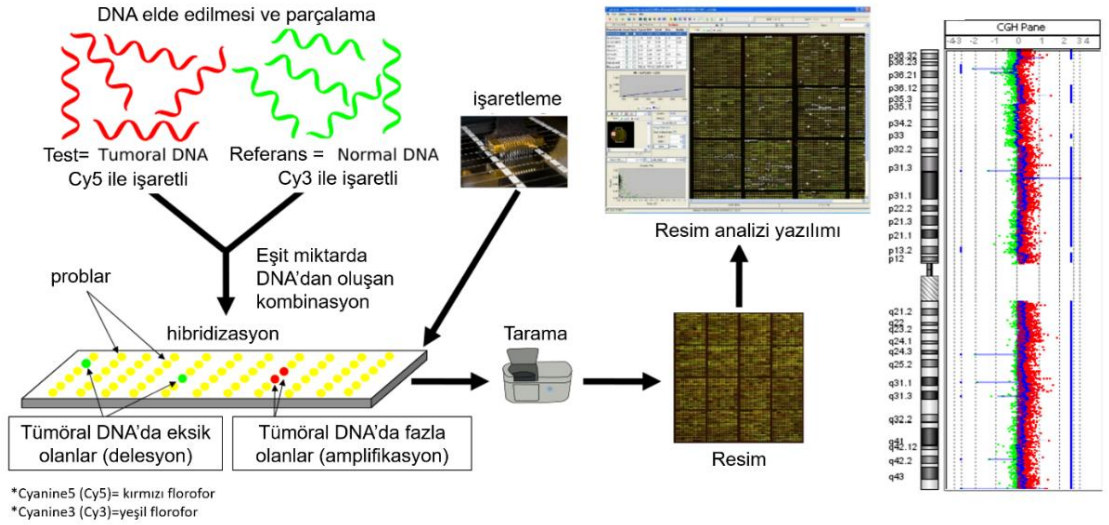
- Kantitatif Etki (dozaj): Delesyon veya duplikasyonlar, dozaj-sensitif genlerin kopya sayılarını değiştirir. Kopya sayısı artışları ile (örneğin duplikasyonlar) duplike genlerde ürün artışı oluşarak dengesizliklere neden olmaktadır. Bu değişiklik, intragenik bir kopya artışı ise, ürünün yapısını ve dolayısıyla fonksiyonunu bozmaktadır. Değişiklik eğer üst düzey replikasyon bölgeleriyle ilişkiliyse, bunların dozaj etkileri zamanla artış gösterebilir. Bu durumda kopya sayısı ve hastalık ilişkisini kurmak zorlaşır ve bu ilişki belli bir eşik değere bağlı olur (125). Erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı (Amiloid Prekürsör Protein), 22q Otizm'i (SHANK3 geni) bu mekanizmaya örnektir.
- Genlerin bölünmesi: CNV'ler oluşurken genlerin bütünlüğü her zaman korunmamaktadır. Bir gen içerisindeki kırık noktası, gen ürününün

fonksiyonunu bozabilmektedir. Duchenne musküler distrofisi (Distrofin geni) resesif bölünme ve delesyona örnektir. NF1, Tuberoskleroz ise dominant bölünme ve delesyona örnektir.

- Regülatör bölgelerin etkilenmesi: Promotör veya diğer regülatuar bölgelerin kesintiye uğraması gen ürününün miktarını ve/veya fonksiyonunu etkileyebilir. Bilinen CNV'lerin yarısından fazlasındaki patojenite; dozaj etkisinden öte, genin veya regülatuar bölgelerin kesintiye uğramasına bağlıdır (126).
- Heterozigozite kaybı: Bir CNV'nin gen içeriğinin yanında, fenotipik sonuçları açısından genel genomik durumu oldukça önemlidir. Örneğin dozaj-insensitif bir geni silen bir CNV'nin, tamamıyla resesif özellik göstermesi beklenir ancak, diğer allel fonksiyonel bir mutasyona sahipse, yine fenotipin etkilenmesi beklenir (125). İzole bir CNV'nin belli bir fenotipe yol açmamış olması, başka bir genomik durum nedeniyle gelişebilecek patojenite potansiyelini dışlamaz. Ayrıca CNV'lerin, otozomal resesif hastalıkların ortaya çıkma ihtimalini artırdığı da düşünülür.
- Ardışık gen delesyonları: İntragenik olan veya tek bir geni içeren CNV'ler, fonksiyonel olarak nokta mutasyonları gibi davranıp, dominant ya da resesif mendeliyen kalıtım paterni sergileyebilirler. Daha geniş CNV'ler birden fazla gen içerirler ve ardışık gen sendromlarına neden olurlar (127). DiGeorge Sendromu (22q11.2 delesyonu, Williams-Beuren Sendromu (7q11.23 delesyonu), 1p36 mikrodelesyon sendromu bu mekanizmaya örnektir.

2.4.3. Array Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon

Array CGH analizi, kopya sayısı değişikliklerinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir (128). Tüm genoma yönelik bu moleküler tabanlı sistemde, 2 Mb'dan daha küçük delesyon ve duplikasyonlar saptanabilmektedir (129). Ancak translokasyon, inversiyon vb. dengeli kromozomal değişiklikleri saptanamamaktadır. Genellikle 50 baz çifti ve daha büyük değişimler CNV olarak tanımlanırken, daha küçük boyuttaki değişimler insersiyon ya da delesyon (indel) olarak tanımlanmaktadır (130). Bu yöntemde, hastanın DNA'sı ve sağlıklı referans genom iki farklı florofor ile işaretlenir. (Şekil 4) Örnekler, cam slayt üzerine sabitlenmiş belirli diziler (prob) üzerinde eş zamanlı hibridize edilir ve karşılaştırılır. Hasta ve referans DNA'larının sinyalleri floresan mikroskopunda 3-10 Mb çözünürlükte tespit edilebilir ve farklılıklar görülebilir. İki farklı renkten gelen sinyallerin karşılaştırması yapılır, sinyal fazlalığı olduğunda duplikasyon, sinyal zayıflığı olduğunda ise delesyon olarak okunur. Heterojen doku veya hücre popülasyonu ile çalışılması ve standardizasyonun zorluğu nedeniyle, araştırmayı yalnızca alanında uzman kişiler yapabilir. Bu yöntemle konvansiyonel kromozom analizi ile saptanamayan submikroskopik kromozomal anormallikler tespit edilebilmektedir.



Şekil 4. Array CGH çalışmasının temel mekanizması: Yeşil floresanlı hasta DNA'sı ile kırmızı floresanlı referans DNA'nın birlikte hibridize edilmesinin ardından, iki farklı DNA'nın platform üzerindeki problarla olan bağlanma derecesi istatistiki veri olarak bilgiye dönüştürülür. İki örnek arasındaki rölatif fark, probdan gelen sinyalin duplikasyon (yeşil) ya da delesyon (kırmızı) görülmesini sağlar. Kromozom düzeyinde bakış yapılabilmesi sayesinde anormalliklerin lokalizasyonu açısından oryantasyon sağlamaktadır.

Kopya Sayısı Değişikliklerinin Yorumlanması

Elde edilen veriler değerlendirilirken en az 3 prob ile temsil edilen, gen içeren, minimum mutlak ortalama logaritmik değeri 0.25'in üzerinde olan kopya sayısı değişiklikleri dikkate alınmaktadır (131). Değişiklikler üç aşamada değerlendirilerek raporlanır:

1. Yalancı pozitiflikler ayıklanır. Bunun için; birim alana düşen prob sayısı, prob yerleşimi ve prob dağılımı değerlendirilir ve aynı platformda yapılan

analizlerde, farklı hasta gruplarında sıklıkla karşılaşılan değişiklikler yanlış pozitif olarak değerlendirilir. Farklı hastaların analizinde benzer genom noktalarındaki pozitiflikler, aynı noktalarda ve hastaların çoğunda pozitif ise, bu değişiklikler yanlış pozitif olarak değerlendirilmektedir.

2. Popülasyonda sık görülen pozitifliklerin ayıklanır. Genetik değişkenlerin veritabanında sağlıklı bireylerdeki CNV'lerin hastada da bulunması bu değişikliklerin benign olma ihtimalini gösterir.

3. Klinik ile ilişkilendirilir. Patojen olduğu düşünülen CNV'lerin hastanın kliniği ile olan ilişkisi değerlendirilir. Veri tabanlarının gen-protein-fonksiyon ilişkisi değerlendirilir. Array CGH analizinde kullanılan veri tabanları şunlardır:

- OMIM (“Online Mendelian Inheritance in Medicine”): John Hopkins Üniversitesi tarafından düzenlenen bu veritabanı, genlerin genel bilgilerini ve gen-fenotip ilişkisini açıklar. Tıbbi genetik konularında sık kullanılan bu veri tabanı klinik, kalıtım ve patogenezis ile ilgili bilgi sunmaktadır.
- DGV (“Database of Genomic Variants”): Diğer kaynaklardan farklı olarak kontrol verilerindeki değişikliklere odaklanmış bir veri tabanıdır. Yani bu veritabanının içeriği sadece sağlıklı kontrol örneklerinde tanımlanan yapısal varyasyonu temsil etmektedir.
- UCSC Genome Bioinformatics: Kaliforniya Üniversitesi, Santa Cruz’a bağlı çevrimiçi ve indirilebilir bir genom tarayıcısıdır.

- Genecards: Genler hakkında genetik ve fonksiyonel bilgileri, genomik, proteomik, transkriptomik bilgiyi sunar. Yüzden fazla veri tabanının derlenmesi ile oluşturulmuştur.
- DECIPHER (“Database of Genomic Variation and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources”): Submikroskopik kromozomal anormalliklerin yorumlanması için geliştirilmiş bir veri tabanıdır. Delesyon ve duplikasyonlar hakkında bilimsel bilginin artırılması ve bu yönde hastaların genetik danışma kalitesinin artırılmasını amaçlar.
- STRING (“Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins”): Özellikle protein fonksiyonları ile ilgili veri sunan veri tabanıdır.
- ClinGen: Varyantlar ile fenotip arasında ilişkilendirme sağlamak amacıyla kurulmuş bir veri tabanıdır.

Bu kriterlere göre değerlendirmeye alınan değişiklikler aşağıdaki şekilde sınıflandırılır:

- a. Hastalığın nedeni olanlar (Patojenik)
- b. Hastalığa neden olduğu düşünülenler (Olası patojenik)
- c. Hakkında yeterince çalışma bulunmayanlar (Klinik önemi bilinmeyen)
- d. Uluslararası veritabanlarında sağlıklı popülasyonda sıklıkla bildirilenler (Olası benign)

Yapılan araştırmalar sonucunda CNV’lerin, klinik önemini belirten gruplandırmaya göre raporlanması gerekir. Tablo 7’de Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji

(“American College of Medical Genetics and Genomics”- ACMG) tarafından belirlenen, klinik önemi belirten beş kategori, örnekleriyle birlikte verilmiştir.

Tablo 7. Kopya sayısı değişikliklerinin ACMG’ye göre klinik sınıflandırması

Sınıflama	Tanımlama	Örnek
Benign	Birçok yayında ve sağlık bireylerin çalışıldığı veri tabanlarında benign olarak raporlanan CNV’ler veya polimorfizmler (sağlıklı popülasyonun>%1’inde bulunan)	19p13.2 polimorfizmi
Olası Benign	Benign olma ihtimalini artıran kanıtlar bulunan CNV	Sağlıklı genom çalışmalarında belirtilmemiş fakat gen içermeyen, 500 kb büyüklüğünde delesyon
Klinik Önemi Bilinmeyen	Raporlama döneminde fenotipik etkisi bilinmeyen fakat laboratuvarın raporlama kriterlerine uyan, ileride benign ya da patojenik olarak gruplanması beklenen CNV	Henüz önemi bilinmeyen 5 gen içeren, fakat kalıtımı bilinmeyen 500 kb büyüklüğünde delesyon
Olası Patojenik	Patojenik olma ihtimalini artıran kanıtlar bulunan CNV	Literatürde benzer kırık noktaları ve fenotipi bulunduran tek bir yayının bulunduğu 5 geni içeren 500 kb büyüklüğünde delesyon
Patojenik	Birçok yayına ve veri tabanına göre kararlı bir şekilde fenotipe yansıyan CNV	22q11.2 delesyon sendromu (DiGeorge / Velokardiyofasiyal Sendrom)

2.4.4. Yeni Nesil Dizileme

Yeni Nesil Dizileme (NGS) yöntemi, insan genomundaki 3,2 milyar bazlık DNA'yı dizilemek için kullanılan bir teknolojidir. Bu yöntemde, DNA enzimatik reaksiyonlarla kesilir ve çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulur. Bu DNA parçaları çoğaltılır. Böylelikle tüm genom ve tüm ekzom dizilenmesi yapılabilir. Ayrıca, hedefe yönelik olarak oluşturulan paneller ile çok sayıda gen aynı anda dizilenebilir (132). İmmun yetmezlikler, kemik iliği yetmezliği ile giden sendromlar, nörolojik hastalıklar, renal hastalıklar, bağ dokusu hastalıkları, kanser yatkınlık sendromları, kardiyomiyopatiler, işitme kaybı ve körlük gibi hastalıkların etiolojisini taramak amacıyla oluşturulan paneller günümüzde kullanılmaktadır (133). Tüm dünya genelinde yayın kullanılan NGS sistemlerine örnek olarak Illumina Miseq, SOLID, Ion Torrent, Roche 454, Pacific Biosciences sayılabilir. Bu platformlarda; DNA kütüphanesi oluşturulur, dizilenir, görüntülenir ve elde edilen veriler analizi edilir. Bu markalar, diğer DNA bölgelerine göre daha sık mutasyona uğrayan DNA dizilerine yönelik "hotspot kanser panelleri" geliştirmiştir. Hotspot kanser panelleri, Kanser Somatik Mutasyonları Kataloğu ("Catalogue of Somatic Mutations in Cancer"- COSMIC) tarafından tanımlanmış olan ve kanserle ilişkili genlerin hotspot bölgelerindeki mutasyonları tarayan bir hedefe yönelik NGS yöntemidir. Hotspot kanser panelleri, iyi tanımlanmış ve bilinen kanser genlerinin küçük bölgelerini hedefler. Bu panellere, hedefe yönelik olarak araştırmalarda çalışılacak başka genler eklenebilir veya çıkarılabilir. Örneğin Hotspot kanser paneli v2; 50 onkogen ve tumor supresor genin COSMIC'te tanımlanmış yaklaşık 2800 mutasyonunu tarayabilir. (Tablo 8)

Günümüzde NGS yöntemlerinin yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla gen panelleri oluşturularak hastalığa yol açan tüm genlerin moleküler analizi toplamda 1 gün sürecek kadar hızlı ve daha ekonomik şekilde yapılabilmektedir. Formalinle sabitlenen, parafine gömülen sekanslaması zor olan dokulardan dahi elde edilen DNA'lar ile bu testi yapmak mümkündür. Hotspot kanser paneli v2, 207 primer çifti içerir. Yüksek kalitedeki 1 ng veya formalinle sabitlenmiş, parafine gömdürülmüş örneklerden 10 ng kadar küçük boyutlarından 1 gün kadar az bir sürede sekanslamaya hazır kütüphane oluşturulur ve test yaklaşık 2-3 saat sürer. Hedefler belirlenir, sonrasında kütüphane oluşturulur, sekanslama yapılır ve uygun yazılımlarla elde edilen veri analiz edilir. Tümör dokularının çoğu, bir genin mutant ve wild tip varyantlarının karışımına sahip olabilir. Bu test, hasta numunesinde wild tip DNA daha fazla olsa bile, mutant DNA'yı amplifiye edebilir. Kullanıma hazır panel hem zaman kaybı oluşturmaz hem de hedefleri tanımlamada, primerleri tasarlamada ve panelleri optimize etmede yardımcı olur.

Tablo 8. Hotspot kanser paneli v2'de mutasyonu taranan 50 gen

ABL1	EGFR	GNAS	KRAS	PTPN11
AKT1	ERBB2	GNAQ	MET	RB1
ALK	ERBB4	HNF1A	MLH1	RET
APC	EZH2	HRAS	MPL	SMAD4
ATM	FBXW7	IDH1	NOTCH1	SMARCB1
BRAF	FGFR1	JAK2	NPM1	SMO
CDH1	FGFR2	JAK3	NRAS	SRC
CDKN2A	FGFR3	IDH2	PDGFRA	STK11
CSF1R	FLT3	KDR	PIK3CA	TP53
CTNNB1	GNA11	KIT	PTEN	VHL

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı kliniğinde Ocak 2015 – Mart 2019 tarihleri arasında supratentoriyal gliom nedeniyle rezeksiyon cerrahisi uygulanmış, 18 yaşından büyük, araştırmaya katılmak için onam veren 47 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların histopatolojik tanısı WHO 2016 SSS Sınıflamasına göre diffüz gliom kategorisindedir. Çalışmamız Dünya Tabipler Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun yapılmıştır. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 23.09.2019 tarih 03 sayı ile etik kurul onayı alınmıştır.

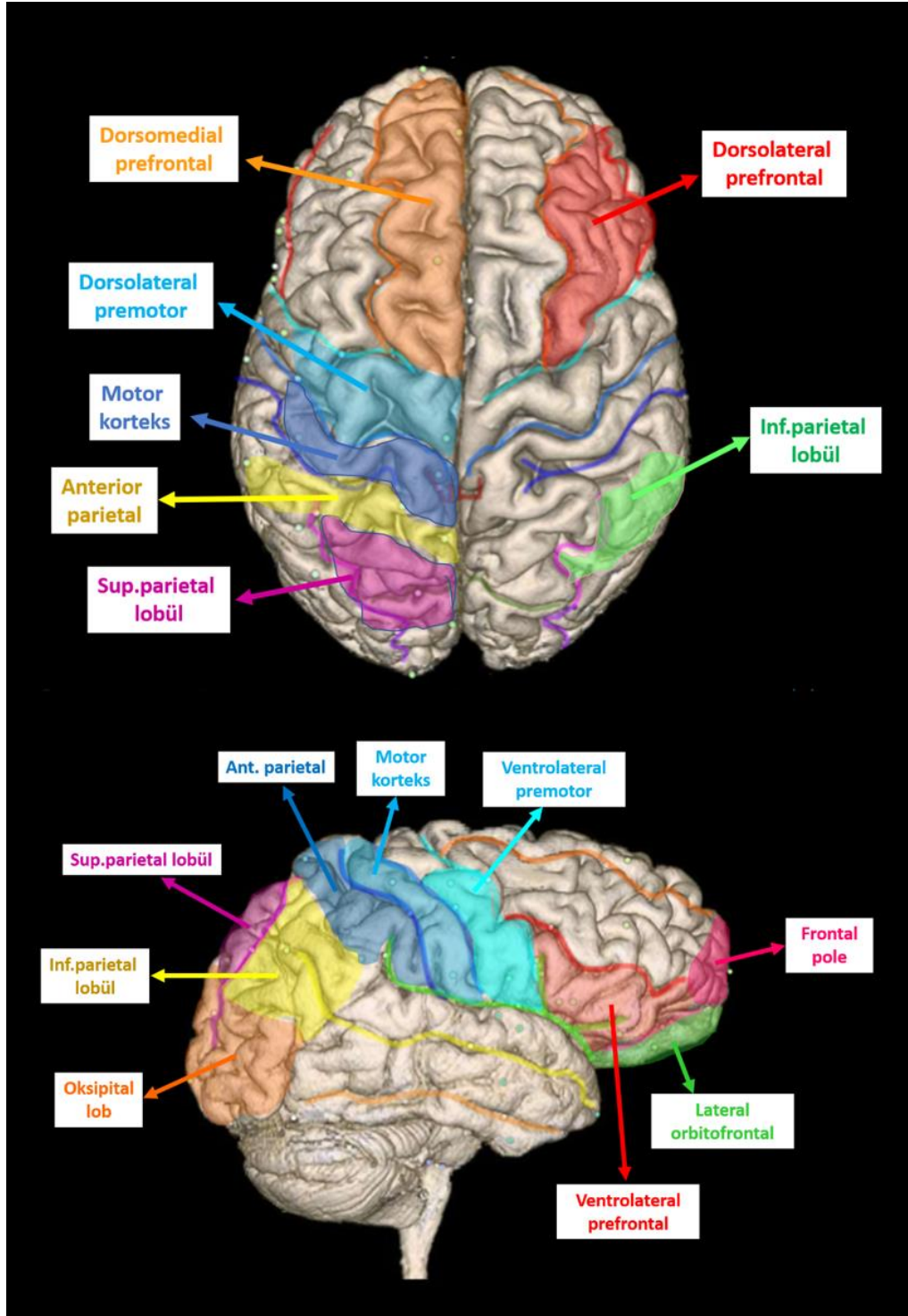
Hastaların demografik bilgileri, glial tümör tanısı almalarına neden olan belirti ve bulgular ve ameliyat öncesinde çekilmiş olan tüm kraniyal MR görüntülemeleri kayıt altına alınmıştır. Hastaların kraniyal MR görüntülemelerindeki tümör yerleşim bölgeleri mevcut literatür çalışmaları göz önünde bulundurularak sınıflandırılmıştır. (134,135) Ameliyat tarihi, ameliyatta uygulanan tümör rezeksiyonunun oranı, ameliyat sonrasındaki nörolojik muayene bulguları, ameliyattan sonra erken veya geç dönemde meydana gelen komplikasyonlar kaydedilmiştir. Rezeke edilen tümör dokuları Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik olarak değerlendirilmiş ve immünohistokimyasal olarak IDH ve p53 gen mutasyonları, ATRX kaybı ve ki-67 proliferasyon indeksi incelenmiştir. Ayrıca Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda tümör dokularından DNA elde edilerek Array CGH yöntemi ile kopya sayısı değişiklikleri ve NGS yöntemi ile kanser hotspot mutasyonları araştırılmıştır. Sonrasında hastalara uygulanan adjuvan tedaviler ve kontrol kraniyal MR görüntülemeler son takip süresi olan 01.03.2020 tarihine kadar

incelenerek kayıt altına alınmıştır. Bu tarihten önce vefat etmiş hastalar ise ölüm tarihlerine kadar takip edilmiştir. Çalışmada değerlendirilen veriler şunlardır:

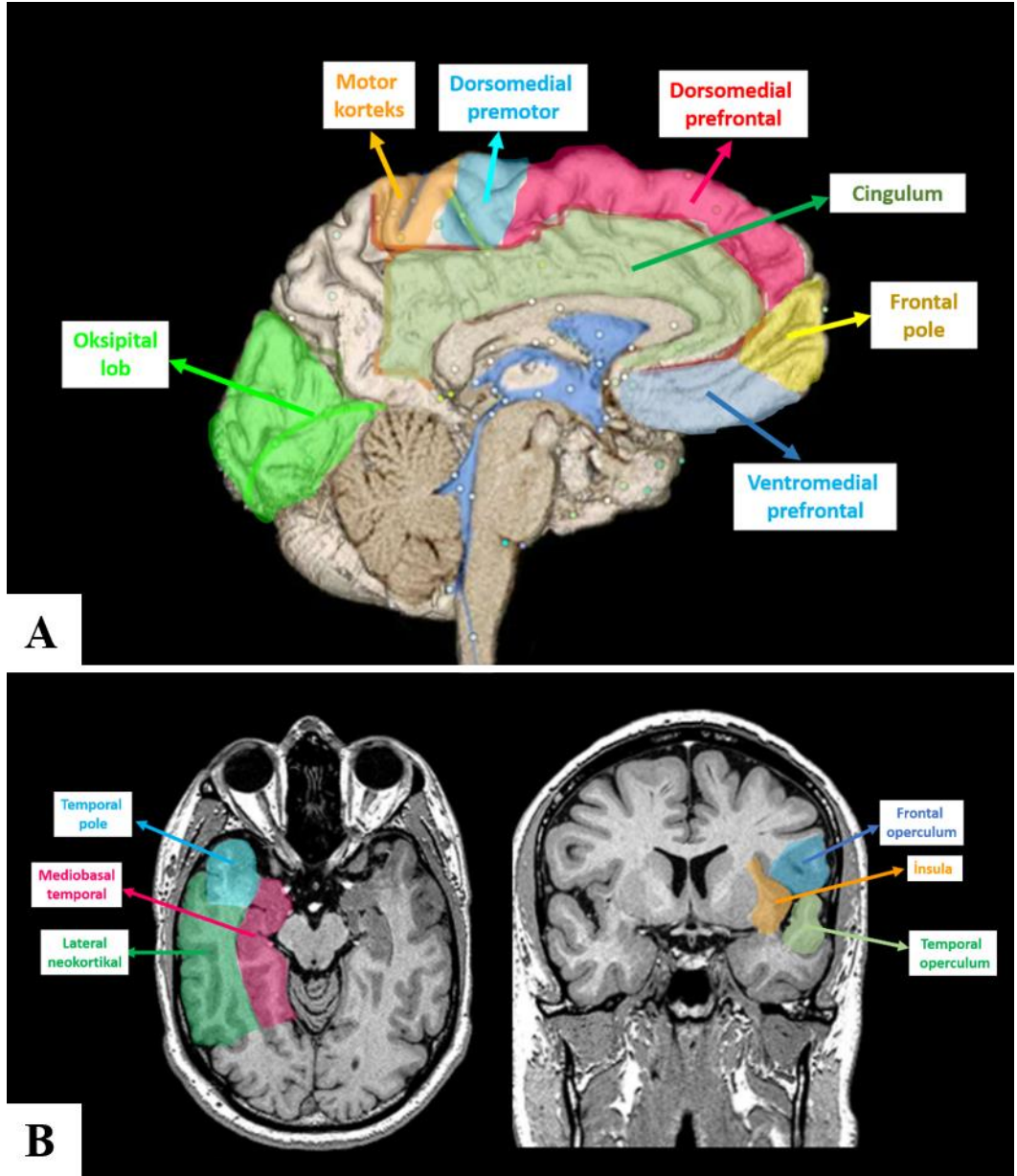
- Çalışmaya dahil edilen hastaların; cinsiyeti, yaşı, beyin tümörü tanısı almasına neden olan belirtisi, belirtinin süresi, ameliyat öncesi ve sonrasındaki nörolojik muayene bulguları,
- Ameliyat öncesindeki kraniyal MR görüntülemelerde tümörün yer aldığı beyin hemisferinin tarafı, tümörün yerleşim yeri (motor korteks, dorsomedial premotor alan, dorsolateral premotor alan, ventrolateral premotor alan, dorsomedial prefrontal alan, dorsolateral prefrontal alan, ventrolateral prefrontal alan (frontal operculum), frontal pole, lateral orbitofrontal alan, ventromedial prefrontal alan, temporal pole, lateral neokortikal alan, mediobasal temporal alan, anterior parietal alan, superior parietal lobül, superior parietal lobül, insula, insula ve temporal stem, oksipital lob, singulum) (Şekil 5, 6), sayısı, boyutu, kistik olup olmaması, kontrast tutup tutmaması, tümör içeriğinin homojenliği, tümörün etrafındaki ödemin boyutu, orta hat tutulumunun olup olmaması,
- Ameliyatta uygulanan rezeksiyon oranı ($\geq$ %99: gross total rezeksiyon, %90-99: totale yakın rezeksiyon, %50-90: maksimum güvenli rezeksiyon),
- Tümör dokusunun histopatolojik ve immünohistokimyasal özellikleri (WHO SSS 2016 Sınıflandırmasına göre derecesi, IDH ve TP53 mutasyonu ile ATRX kaybı varlığı, ki-67 proliferasyon indeksi),

- Tümördeki kopya sayısı değişiklikleri ve hotspot mutasyonların varlığı,
- Ameliyat sonrası erken veya geç dönemde (varsa) gelişen komplikasyonlar (kanama, yara yeri iyileşmesinde problem, BOS fistülü, derin ven trombozu, hidrosefali, radyonekroz) ve ameliyat sonrasında uygulanan adjuvan tedaviler (radyoterapi, kemoterapi, gammaknife radyocerrahi, cyberknife radyocerrahi)
- Takip kraniyal MR görüntülemelerdeki bulgular (stabil hastalık, nüks, malign transformasyon)
- Takip süresi içinde ölüm gerçekleşmişse genel sağ kalım süresi ve ölüm nedeni (tümör progresyonuna bağlı ölümler, direkt tümöre bağlı ölümler (nöbet, kanama), indirekt tümöre bağlı ölümler (enfeksiyon, kronik steroid kullanımına bağlı etkiler, derin ven trombozu ve pulmoner emboli, aspirasyon pnömonisi) ve tümörden bağımsız nedenler (travma, ek sistemik hastalık veya malignite)

Çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesine ait Nucleus Hastane Bilgi Yönetim Sistemi arşivi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Extreme PACS Radyoloji arşivi, Gazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı arşivi, Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivi, Gazi Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı arşivi, T.C. Sağlık Bakanlığı e-Nabız Uygulaması ve T.C. Sağlık Bakanlığı Teletıp Sistemi'ndeki hasta bilgilerinden yararlanılmıştır. Olguların incelenmesinde hiçbir finansal kaynağa ihtiyaç duyulmamıştır.



Şekil 5. Tümörlerin kraniyal MR görüntülemelerde sınıflandırılan yerleşim yerleri



Şekil 6. Tümörlerin yerleşim yerlerinin sınıflandırması. Medial bölgede sınıflandırma (A), Temporal lob ve insulada sınıflandırma. (B)

3.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmaya dahil edilmiş hastaların tümör dokuları, Gazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda WHO SSS 2016 Sınıflandırmasına göre değerlendirilmiştir. 2016 yılındaki güncellemeden önce tanı alan hastaların histopatolojik preparatları yeniden incelenip son güncellemeye uygun şekilde değerlendirilmiştir. İncelemeler sırasında öncelikle tümöral ve glial hücre yapıları, kanama veya nekroz varsa o bölgeye yoğun histiyosit infiltrasyonunun olup olmadığı incelenip; tümör hücrelerinin tespiti ve genetik çalışma için yeterli oranda tümöral dokunun olup olmadığı incelenmiştir. Şüphelenilen bölgelerden GFAP ve vimentin ile glial hücre sitoplazma ve uzantılarında, sinaptofizin ile nöronal hücrelerde immunreaksiyon gelişip gelişmediği incelenmiştir. Mitotik aktivite sıklığı, sitoplazmik ve nükleer atipi özellikleri incelenip derecelendirmesi yapılmıştır. Buna göre hastalar; diffüz astrositom, anaplastik astrositom, oligodendrogliom, anaplastik oligodendrogliom veya glioblastom tanılarından herhangi birini almıştır. Bununla beraber immünohistokimyasal olarak IDH ve p53 mutasyonları, ATRX kaybı ve Ki-67 proliferasyon indeksi değerlendirilmiştir. Bunun için tümör hücrelerinin Hemotoksilen&Eozin boyalı camlarda yoğun olduğu görülen bölgeler işaretlenerek bu camlara ait parafin bloklardan 5 milimetrelik biyopsi iğnesi ile örnek alınmıştır. (Şekil 7) Alınan örnekler numaralandırılıp tekrar parafin dokulara gömülerek mikrotom ile 5 µm kalınlığında enine ve boyuna kesilmiştir. (Şekil 8) Deparafinize ve hidrate edilen kesitler IDH, p53, ATRX ve Ki-67 antikorları ile boyanmıştır. (Şekil 9) IDH antikoruna pozitif veya negatif olarak, p53 antikoruna pozitif veya negatif olarak, ATRX antikoruna pozitif veya negatif olarak, Ki-67 antikoruna pozitif veya negatif olarak boyanma pozitif

olarak, ATRX antikoru ile ATRX kaybının görülmesi pozitif olarak ve Ki-67 antikoru ile 100x boyanma ise yüzde olarak belirtilmiştir. (Şekil 10-11)



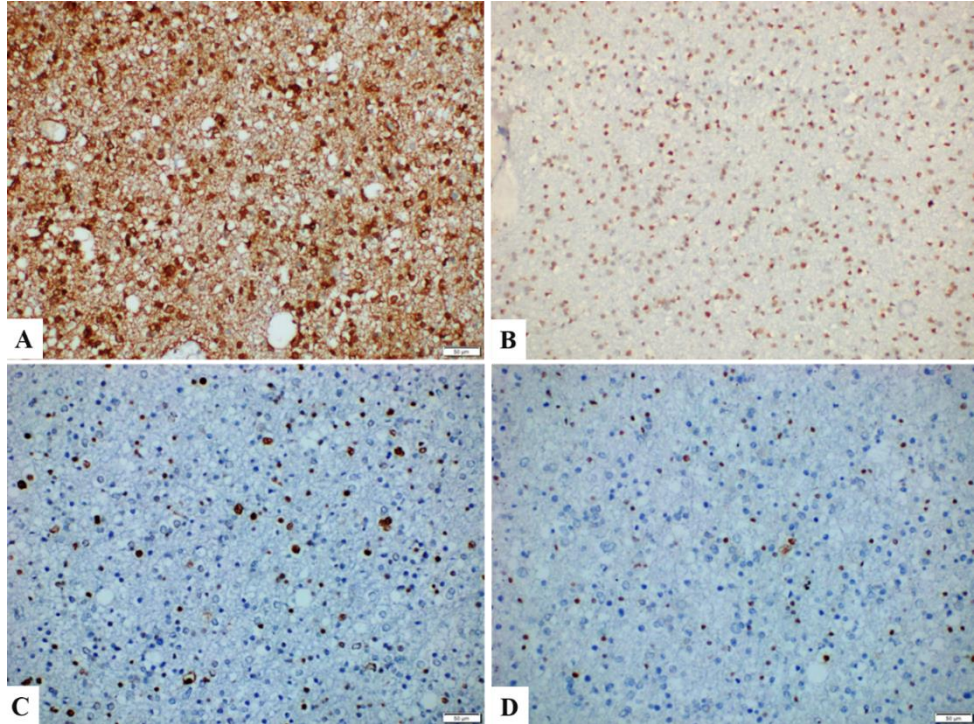
Şekil 7. Hastalara ait Hemotoksilen&Eozin boyalı camlarda tümör hücrelerinin yoğun olduğu bölgeler



Şekil 8. Biyopsi iğnesi ile tümör hücrelerinin yoğun olduğu bölgelerden alınan örneklerin tekrar parafin bloklara gömülmesi ve örneklerin numaralandırılması



Şekil 9. IDH, p53, ATRX ve Ki-67 antikorları ile boyanmış olan camlar



Şekil 10. Histopatolojik inceleme örnekleri. IDH antikoruna pozitifliği (A), ATRX kaybı pozitifliği (B), p53 mutasyonu pozitifliği (C), %30 oranında ki-67 proliferasyon indeksi. (D)

3.2. GENETİK BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmadaki 35 hastanın tümör dokularından ameliyat sırasında tümöral hücrelerin yoğun olduğu bölgelerden taze doku örneği alınarak DNA eldesi yapılmıştır. Araştırmadaki diğer 12 hastanın histopatolojik preparatlarının yeniden değerlendirilmesinin ardından, tümör dokusunu en iyi temsil eden formalinle fikse olmuş parafine gömülü tümör dokularından DNA eldesi yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile zenginleştirilerek Array CGH ve NGS çalışması yapılmıştır.

3.2.1. Genomik DNA izolasyonu

İleri genetik çalışmalar için taze dokudan DNA izolasyonu Reliaprep gDNA Tissue Miniprep Sistemi (Promega, ABD) ile, parafin bloklardan DNA izolasyonu ise High Pure FFPET DNA Isolation Kiti (Roche, İsviçre) kullanılarak sağlayıcıların talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA kalitesi NanoDrop (ND-1000 Spectrophotometer, Thermo Scientific, ABD) ve Qubit fotometre (Life Technologies, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.2. Array Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon

Araştırmada kullanılan Array CGH yöntemi (Agilent Human Genome G3 SurePrint 8x60K ISCA, Santa Clara, CA, USA) ile ilgili protokol aşağıda listelenmiş 10 ana aşamadan oluşur:

- A. Restriksiyon Enzim Kesimi
- B. Ligasyon

- C. PCR
- D. PCR Pürifikasyon
- E. PCR Ürünlerinin Ölçümü
- F. Fragmantasyon
- G. İşaretleme
- H. Hibridizasyon
- İ. Yıkama/Boyama/Tarama

A- Restriksiyon Enzim Kesimi

Çalışmada 250 ng (50ng/ul) genomik DNA kullanılmıştır. Buz üzerinde uygun miktarlarda tampon kullanılan Array'e uygun enzim, BSA ile kesim karışımı hazırlanır. DNA ile karıştırılarak uygun inkübasyon programında koşullara göre 2-16 saat arası kesim reaksiyonu yapılır. Kesim sonrası örnekler agaroz jelde yürütülerek kontrol edilir ve örnekler -20°C'de saklanır.

B- Ligasyon

Buz üzerinde uygun miktarlarda tampon, ligaz enzimi ve kesim enzimine uygun adaptör ile ligasyon karışımı hazırlanır. DNA ile karıştırılarak uygun inkübasyon programında yaklaşık 3 saat ligasyon reaksiyonu yapılır. Örnekler -20°C'de saklanır.

C- PCR

Ligasyon sonrası ürünler dilüe edilerek PCR aşamasına hazırlanır. PCR için gerekli olan malzemeler (enzim, primer, dNTP gibi) buzda karışım olarak hazırlanır ve

DNA eklenir. Kullanılacak PCR cihazına göre uygun program yazılır ve PCR reaksiyonu yapılır. PCR sonrası örnekler agaroz jelde yürütülerek kontrol edilir.

D- PCR Pürifikasyon

Pürifikasyon için PCR reaksiyonuna uygun miktarda magnetics bead solüsyonu eklenir. Karışım magnetik yüzeyde bekletilip tüpün alt kısmında toplanan DNA uygun mikropipetle alınır. İşlem sonu elde edilen ürünler spektrofotometrik analizle ölçülür. Örnekler -20°C’de saklanır.

E- PCR Ürünlerinin Ölçümü

Uygun cihaz kullanılarak pürifiye edilmiş PCR ürünlerinin konsantrasyonu ölçülür.

Fragmantasyona hazırlık için ürünlere uygun tampon eklenip, vorteks ve spin yapılır.

F- Fragmentasyon

Pürifiye edilmiş PCR ürünü ve uygun tampon ile fragmentasyon karışımı hazırlanır.

Fragmentation Reagent uygun miktarda dilüe edildikten sonra, buzda hazırlanan karışıma eklenir. Termal Cycler’da uygun programla yaklaşık 45 dk fragmentasyon reaksiyonu yapılır. Fragmentasyon sonrası ürünler agaroz jelde yürütülüp kontrol edilir.

G- İşaretleme

Buzda enzim, tampon gibi malzemelerle işaretleme karışımı hazırlanıp fragmente olmuş DNA karışıma eklenir. Termal Cycler’da uygun programda yaklaşık 4 saat işaretleme reaksiyonu gerçekleşir. Örnekler -20°C’de saklanır.

H- Hibridizasyon

Hibridizasyon aşaması için gerekli solüsyonlar ve tamponlar önceden gereken miktarda hazırlanır. Bu solüsyonlardan uygun miktarlarda kullanarak bir karışım hazırlanır. Karışıma işaretlenmiş DNA örneği eklenip, gereken sıcaklıklarda inkübasyon yapıldıktan sonra, karışımdan uygun miktar mikropipet ile Array'lere enjekte edilir. Array'ler hibridizasyon fırınına yerleştirilir ve 49°C, 60 rpm rotasyonla 16-18 saat hibridizasyon gerçekleştirilir.

I- Yıkama/Boyama/Tarama

Yıkama aşaması öncesi gerekli solüsyon ve tamponlar hazırlanır. Yıkama öncesi örneklerle ilgili bilgiler sistem bilgisayarına işlenir. Yıkama-boyama ve tarama aşamaları bilgisayar tarafından kontrol edildiği için bu aşama önemlidir. 16-18 saat hibridizasyon sonrası Array içinde olan sıvı mikropipet ile geri çekilip, yerine uygun miktarda tampon enjekte edilir. Solüsyonlar, boyalar ve array yıkama istasyonuna yerleştirilir. Array'e uygun yıkama protokolü bilgisayar programından seçilip, protokol başlatılır. Yıkama işlemi bittikten sonra yine program yardımıyla tarama işlemi gerçekleştirilir.

Verilerin Analiz Edilmesi

Kullanılan Array platformunun çözünürlüğü 100-300 kb olup prob yoğunluğuna göre bölgesel çözünürlük değişebilmektedir. Elde edilen veriler değerlendirilirken; gen içeren, minimum mutlak ortalama logaritmik değeri 0.25'in üzerinde olan ve en az 3 prob ile temsil edilen CNV'ler dikkate alınmıştır. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı bünyesinde aynı platform kullanılarak Array

CGH uygulanmış farklı hasta gruplarının verileri bir araya getirilerek oluşturulmuş in-house veritabanı kullanılarak yanlış pozitif CNV'ler göz ardı edilmiştir.

3.2.3. Yeni Nesil Dizileme

Kütüphane Hazırlama

NGS işlemi için kütüphane hazırlama işlemi Ion AmpliSeq Library Kit 2.0-96LV (Life Technologies, ABD) ve CHPv2 paneli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. CHPv2 50 onkogen ve tümör süpresör gende (ABL1, EGFR, GNAS, KRAS, PTPN11, AKT1, ERBB2, GNAQ, MET, RB1, ALK, ERBB4, HNF1A, MLH1, RET, APC, EZH2, HRAS, MPL, SMAD4, ATM, FBXW7, IDH1, NOTCH1, SMARCB1, BRAF, FGFR1, JAK2, NPM1, SMO, CDH1, FGFR2, JAK3, NRAS, SRC, CDKN2A, FGFR3, IDH2, PDGFRA, STK11, CSF1R, FLT3, KDR, PIK3CA, TP53, CTNNB1, GNA11, KIT, PTEN, VHL) yaklaşık 2800 COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer; COSMIC) mutasyonu taramaktadır. 10 ng total gDNA kullanılarak, sağlayıcının talimatları doğrultusunda, 29 siklüs olacak şekilde PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Her bir kütüphane, Ion Xpress Barcode Adapters 1-16 Kit (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak barkodlanmıştır, Qubit fotometre kullanılarak kütüphane konsantrasyonları belirlenmiştir ve 100 µM final konsantrasyon hazırlanmıştır.

Emülsiyon PCR

Bir önceki adımda hazırlanan kütüphaneler birleştirilmiş ve Ion OneTouch 2 system (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak manuel şablon hazırlama için emülsiyon PCR gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, şablon iyon küre parçacıkları

(template ion sphere particles) ile kütüphane zenginleştirilmiş ve sekanslama primerleri ve polimeraz eklenerek örnekler 316 çiplere yüklenmiştir. Sekanslama işlemi Ion PGM Sequencing 200 Kit v2 (Thermo Fisher Scientific, ABD) ve Ion Torrent PGM sistemi kullanılarak sağlayıcının talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

Biyoinformatik Analizler

Sekanslama sonucunda, veriler Torrent Suite Software içeren Torrent Server (Thermo Fisher Scientific, ABD)'a otomatik olarak transfer edilmiştir. Bu sistem, eşleştirme ve varyant tespiti için sırasıyla Torrent Mapping Alignment Program ve Torrent Variant Caller programlarını kullanmaktadır. Çalışmada insan referans genomu, hg19 referans olarak kullanılmıştır. Ion Reporter Software (Thermo Fisher Scientific, ABD) analizler için kullanılmıştır. Varyantlar ACMG 2015 kriterlerine(136) göre değerlendirilmiştir. Buna göre patojen, olası patojen, klinik önemi belirsiz, olası benign, benign olarak sınıflandırılmıştır. Değerlendirmelerde PubMed(137), GnomAD(138) ClinVar(139), The International Cancer Genome Consortium Somatic Mutation Database(140), The International Agency for Research on Cancer(141) veritabanlarından yararlanılmıştır.

3.3.KLİNİK, HİSTOPATOLOJİK VE GENETİK BULGULARIN BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmadaki hastaların sağ kalım süreleri tümör dokularının histopatolojik ve genetik incelemelerde elde edilen bulguları ile kıyaslanmıştır.

3.3.1. İstatistiki Analiz

Elde edilen bulguların kaydedilmesi ve işlenmesi için SPSS 22.0 (SPSS, Chicago, IL) yazılımı kullanılmıştır. Ölçülen değişkenlerin kestirim değerlerini saptamak için ROC (Reciever Operator Characteristics Curve) analizi uygulanıp, yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır. Kaplan-Meier methodu ile sağ kalım analizi yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİ

4.1.1. Hasta Sayısı

Çalışmaya dahil edilen 47 hastanın %42,6'sini kadın (n=20), %57,4'ü erkektir. (n=27) Gruplar içinde; diffüz astrositom grubunda 7'si (%50) kadın, 7'si (%50) erkek toplam 14 hasta, anaplastik astrositom grubunda 2'si (%33,33) kadın, 4'ü (%66,66) erkek toplam 6 hasta, glioblastom grubunda 10'u (%58,8) kadın, 7'si (%41,2) erkek toplam 17 hasta, oligodendrogliom grubunda 1'i (%10) kadın, 9'u (%90) erkek olmak üzere toplam 10 hasta vardır. (Tablo 9)

4.1.2. Yaş

Diffüz astrositom grubunda hastaların yaş aralığı 22-72 olup, ortalama yaş 42,4'tür. Anaplastik astrositom grubunda hastaların yaş aralığı 25-63 olup, ortalama yaş 47,5'tur. Glioblastom grubunda hastaların yaş aralığı 37-75 olup, ortalama yaş 56'dır. Oligodendrogliom grubunda hastaların yaş aralığı 20-46 olup, ortalama yaş 31,1'dir. (Tablo 9)

Tablo 9. Hastalara ait demografik bulgular

<i>Demografi</i>	Diffüz Astrositom	Anaplastik Astrositom	Glioblastom	Oligodendro gliom	Toplam
<i>Hasta Sayısı, n (%)</i>	14 (%29,8)	6 (%12,7)	17 (%36,2)	10 (%21,3)	47 (%100)
<i>Cinsiyet</i>					
<i>Kadın, n (%)</i>	7 (%50)	2 (%33,33)	10 (%58,8)	1 (%10)	20 (%42,6)
<i>Erkek, n (%)</i>	7 (%50)	4 (%66,66)	7 (%41,2)	9 (%90)	27 (%57,4)
<i>Ortalama Yaş</i>	42,4 (22-72)	47,5 (25-63)	56 (37-75)	31,1 (20-46)	46,1 (20-75)

4.2. BELİRTİ VE BULGULAR

Diffüz astrositom grubunda, %50 oran ile en sık belirti nöbetidir. (n=7) Bunun ardından %28,5 baş dönmesi (n=4) ve %14,2 baş ağrısı (n=2) şikayeti gelmektedir. Bir hastada ise uyuşma şikâyeti mevcuttur. Belirti süresi 1 ay ile 24 ay arasında değişmekte olup, ortalama 172 gündür.

Anaplastik astrositom grubunda %33,3 konuşma güçlüğü (n=2), %16,6 kuvvet kaybı (n=1), %16,6 nöbet (n=1), %16,6 baş ağrısı (n=1) şikâyeti ile hastalar başvurmuştur. Diğer 1 hastada ise insidental olarak kitle tespit edilmiştir. Belirti süresi 7 gün ile 12 ay arasında değişmekte olup, ortalama 6 aydır.

Glioblastom grubunda %29,4 baş ağrısı (n=5), %23,6 baş dönmesi veya dengesizlik (n=4), %23,6 konuşma bozukluğu (n=4), %17,6 nöbet (n=3) ve %5,8

unutkanlık (n=1) şikâyeti ile hastalar başvurmuştur. Belirti süresi 4 gün ile 6 ay arasında değişmekte olup, ortalama 35 gündür.

Oligodendrogliom grubunda, %70 oran ile en sık belirti nöbettir. (n=7) Hastaların %10'u (n=1) baş ağrısı, %10'u (n=1) baş dönmesi ve %10'u (n=1) üst ekstremitelerde uyuşma şikayeti ile başvurmuştur. Belirti süresi 15 gün-12 ay aralığında değişmekte olup, ortalama 4 aydır.

Diffüz astrositom ve oligodendrogliom grubundaki hastalarda ameliyat öncesinde nörolojik defisit saptanmamıştır. Anaplastik astrositom grubundaki hastaların yarısında (n=3) ameliyat öncesinde nörolojik defisit saptanmış; iki hastada konuşma bozukluğu (iletim tipi afazi ve nominal afazi) ve bir hastada sağda 4/5 düzeyinde hemiparezi tespit edilmiştir. Glioblastom grubundaki hastaların %29,4'ünde (n=5) ameliyat öncesinde nörolojik defisit saptanmış; üç hastada konuşma bozukluğu (iki hastada Wernicke afazisi ve bir hastada iletim tipi afazi) ve bir hastada hemiparezi ve bir hastada kortikal görme kaybı tespit edilmiştir.

Belirti ve bulgular Tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 10. Ameliyat öncesinde hastalara ait belirti ve bulgular

Klinik Bulgular	Diffüz Astrositom	Anaplastik Astrositom	Glioblastom	Oligodendrogliom	Toplam
Belirti, n (%)					
<i>Baş ağrısı</i>	2 (%14,2)	1 (%16,6)	5 (%29,4)	1 (%10)	9 (%19,1)
<i>Baş dönmesi</i>	4 (%28,5)	0 (%0)	4 (%23,6)	1 (%10)	9 (%19,1)
<i>Konuşma güçlüğü</i>	0 (%0)	2 (%33,3)	4 (%23,6)	0 (%0)	6 (%12,7)
<i>Kuvvet kaybı</i>	0 (%0)	1 (%16,6)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%2,1)
<i>Nöbet</i>	7 (%50)	1 (%16,6)	3 (%17,6)	7 (%66,6)	18 (38,2)
<i>Unutkanlık</i>	0 (%0)	0 (%0)	1 (%5,8)	0 (%0)	1 (%2,1)
<i>Uyuşma</i>	1 (%7,1)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%10)	2 (%4,2)
<i>İnsidental</i>	0 (%0)	1 (%16,6)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%2,1)
Belirti süresi	172 gün (1 ay – 24 ay)	6 ay (7 gün – 12 ay)	35 gün (4 gün – 6 ay)	4 ay (15 gün – 12 ay)	123 gün (7 gün – 24 ay)
Nörolojik Muayene (Ameliyat Öncesi)					
<i>Afazi</i>	0 (%0)	2 (%33,3)	3 (%17,6)	0 (%0)	5 (%10,6)
<i>Hemiparezi</i>	0 (%0)	1 (%16,6)	1 (%5,8)	0 (%0)	2 (%4,2)
<i>Görme kaybı</i>	0 (%0)	0 (%0)	1 (%5,8)	0 (%0)	1 (%2,1)

4.3. RADYOLOJİK BULGULAR

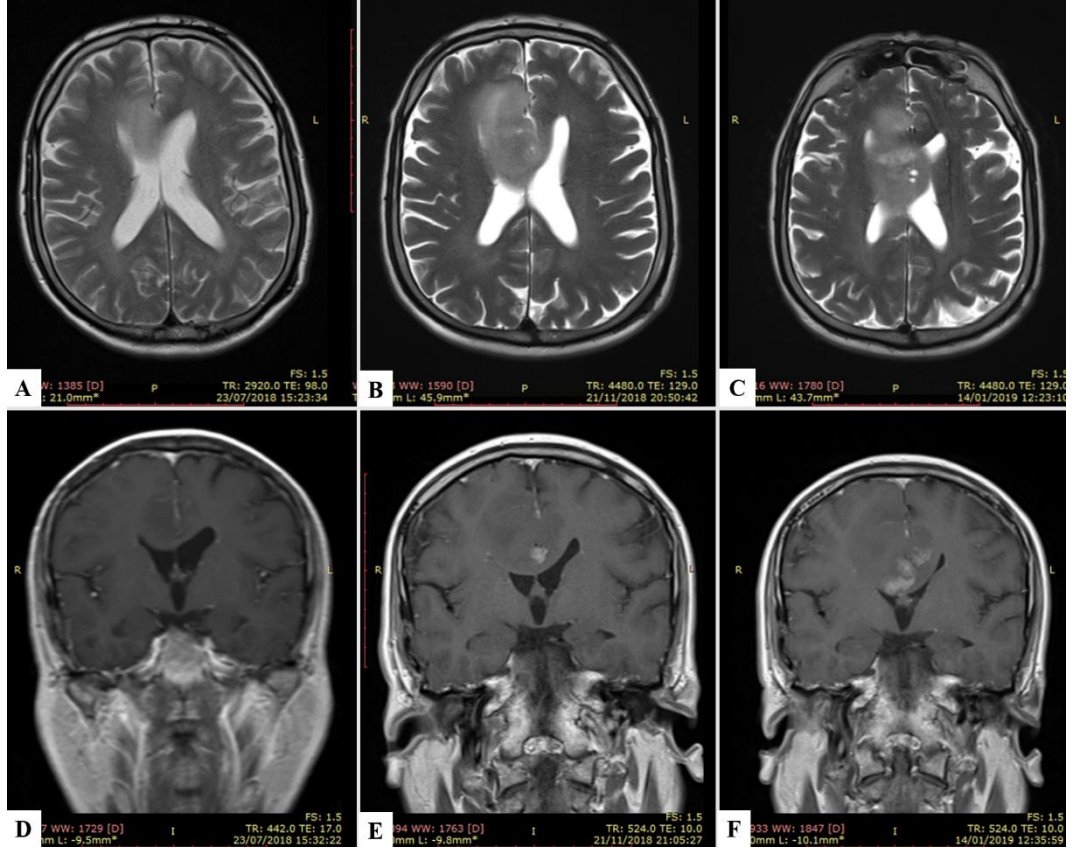
4.3.1. Taraf

Araştırmadaki hastaların %36,2'sinde (n=17) sağ, %63,8'inde (n=30) sol hemisferde kitle tespit edilmiştir. (Tablo 11)

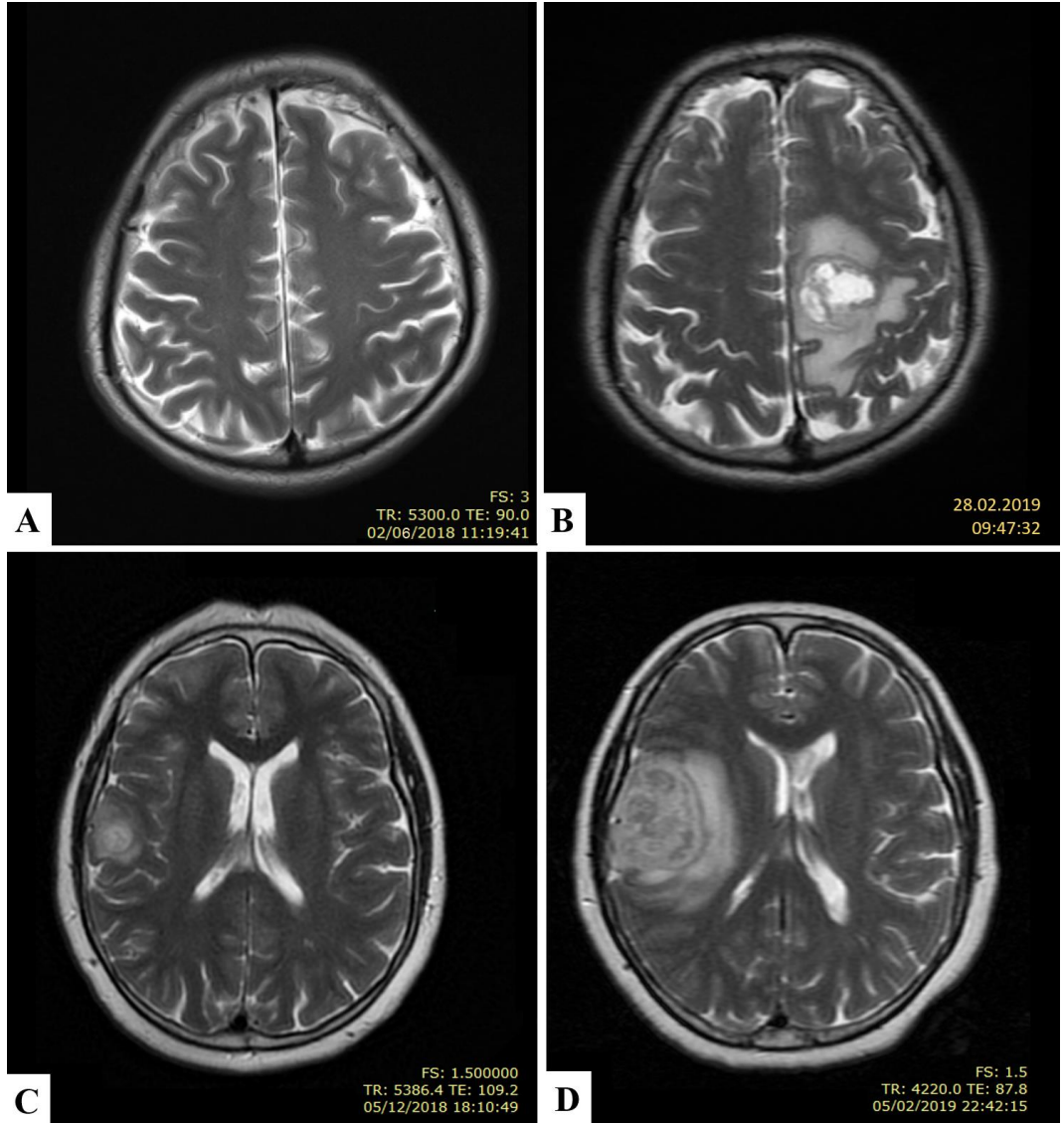
4.3.2. Boyut ve Büyüme hızı

Diffüz astrositom grubunda kitle boyutları 18x10x12 mm ile 62x49x59 mm arasında olup, ortalama 46x32x36 mm'dir. Anaplastik astrositom grubunda kitle boyutları 42x39x37 mm ile 78x40x47 mm arasında olup, ortalama 54x43x41 mm'dir. Glioblastom grubunda kitle boyutları 14x14x16 mm ile 52x51x43 mm arasında olup, ortalama 37x30x33 mm'dir. Oligodendrogliom grubunda ise kitle boyutları 32x19x30 mm ile 85x54x58 mm arasında olup, ortalama 51x36x41 mm'dir. (Tablo 11)

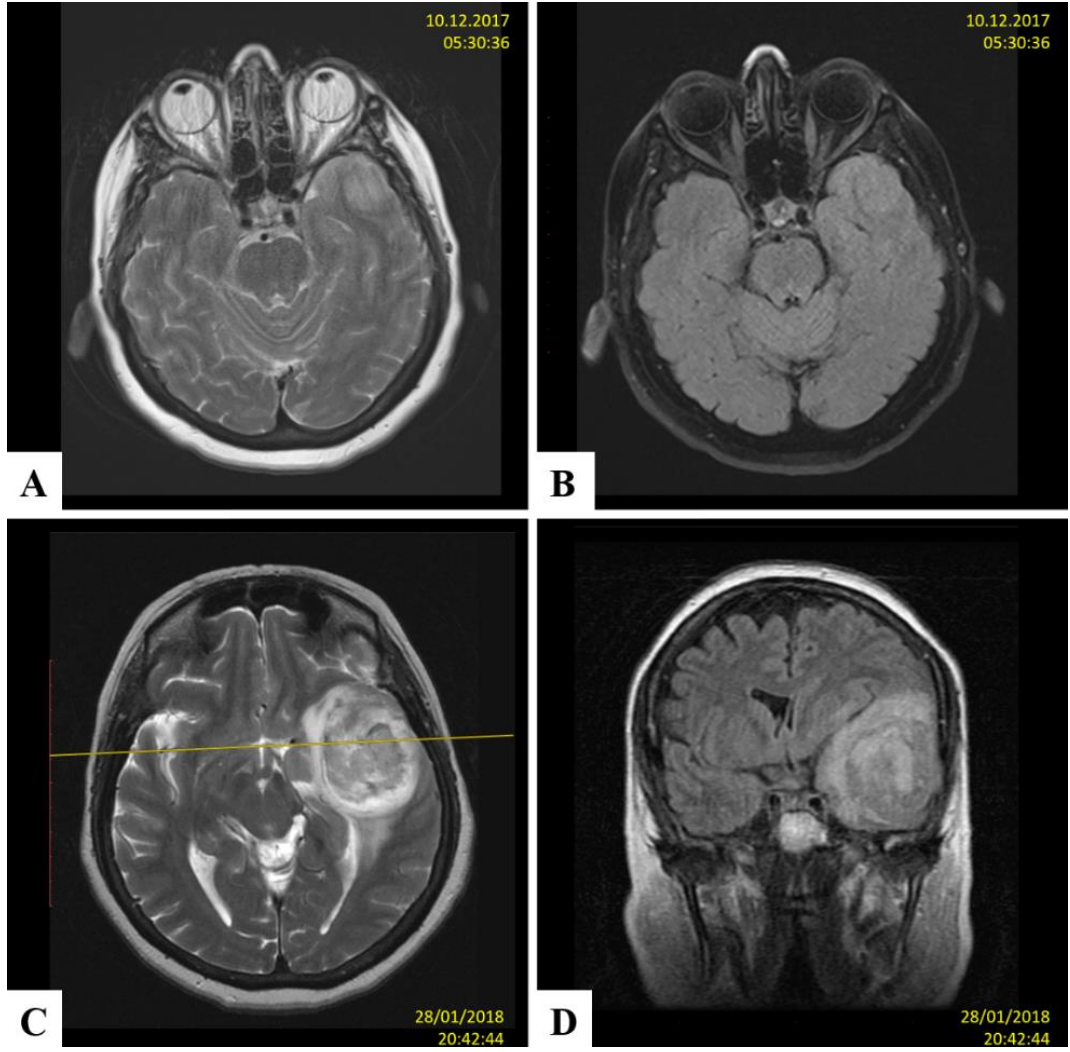
Diffüz astrositom grubunda bir hastanın kitlesinin bir süredir takip edilirken radyografik karakteristiklerinin değiştiği ve kısa dönemde boyutunun arttığı tespit edilmiştir. Bu hasta, diffüz astrositom grubundaki IDH mutasyonu negatif olan tek hastadır. Aynı şekilde, anaplastik astrositom grubunda bir hastanın kitlesinin radyografik karakteristiklerinin değiştiği ve kısa dönemde büyüdüğü tespit edilmiştir. Bu hasta da IDH mutasyonu negatif olan hastadır. (Şekil 11) Glioblastom grubunda daha önceden MR görüntülemesi olan 5 hastanın (%29,4) kitlelerin çok hızlı bir şekilde ortaya çıktığı ve büyüdüğü görülmüştür. (Şekil 12 ve 13) Oligodendrogliom grubunda ise kısa dönemde kitle boyutunda artış olan veya radyografik özellikleri değişen hasta olmamıştır.



Şekil 11. Anaplastik astrositom grubunda hızlı şekilde görülen kitle boyut artışı. Kraniyal MR görüntülemelerde 6 ay içinde kitlenin (A ve D) boyut artışı (B) ve radyografik özelliklerinin değiştiği; kontrast tutulumunun oluştuğu (E) ve orta hat tutulumunun meydana geldiği görülmekte. (C ve F)



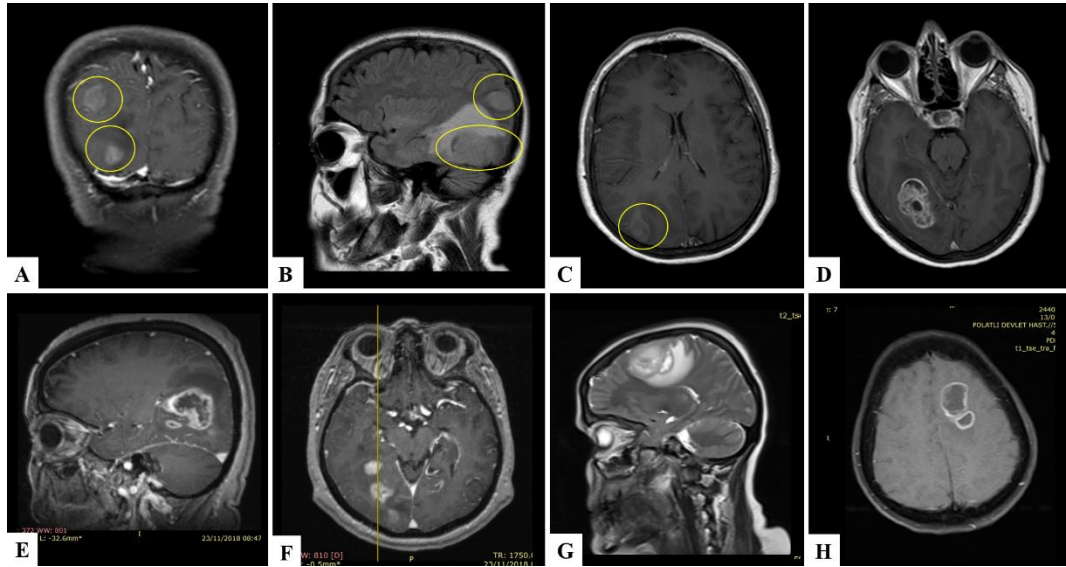
Şekil 12. Glioblastom grubunda hızlı şekilde görülen kitle boyut artışı. Aynı hastaya ait kraniyal MR görüntülemesinden axial kesitler (A ve B) arasındaki süre 7 aydır. Glioblastom grubunda başka bir hastaya ait axial kesitler (C ve D) arasındaki süre 62 gündür.



Şekil 13. Glioblastom grubunda kitle içi kanama ile prezente olan hastada meydana gelen kitle boyut artışı. Kraniyal MR görüntülemeye; 48 gün önce çekilen kesitler (A ve B) ile acil servise başvurusunda çekilen kesitler (C ve D) arasında boyut farklılığı görülmektedir.

4.3.3. Sayı

Diffüz astrositom, anaplastik astrositom ve oligodendrogliom grubundaki hastaların tamamında bir kitle mevcuttur. Glioblastom grubundaki hastaların %70,6'sında (n=12) bir kitle, %23,5'inde (n=4) bir kitle ile beraber satellit lezyonlar, %5,9'unda (n=1) birden çok kitle mevcuttur. (Tablo 11) Bu hastanın kitlesi sağ transvers sinüse komşudur. (Şekil 14)



Şekil 14. Glioblastom grubunda birden çok kitle ve satellit lezyona örnekler. Birden çok kitlesi olan hastaya ait görüntüler. (A, B, C, D) Satellit lezyonu alan hastalara ait görüntüler. (E, F, G, H)

4.3.4. Yerleşim

Araştırmaya dahil edilen hastalarda en sık tutulum olan bölge dorsomedial prefrontal bölge (%12,2) ve temporal lateral neokortikal bölgedir. (%12,2) Diğer tümör yerleşim yerleri Tablo 12'de özetlenmiştir.

Buna göre; diffüz astrositom grubunda en sık tümör yerleşim yeri insula ve temporal stem bölgesi (n=4, %20) ile temporal lateral neokortikal bölgedir. (n=3,%15) Anaplastik astrositom grubunda ise her hastanın tümörü farklı anatomik bölgededir ve dağılım eşittir. Tutulum bölgeleri; motor korteks, dorsolateral prefrontal alan, temporal lateral neokortikal alan, mediobasal temporal alan, superior parietal lobül ve singulumdur. Glioblastom grubunda ise, en sık tümör yerleşim yeri lateral neokortikal bölgedir. (n=3, %16,6) Oligodendrogliom grubunda ise, en sık tümör yerleşim yeri dorsomedial prefrontal bölgedir. (n=3, %23)

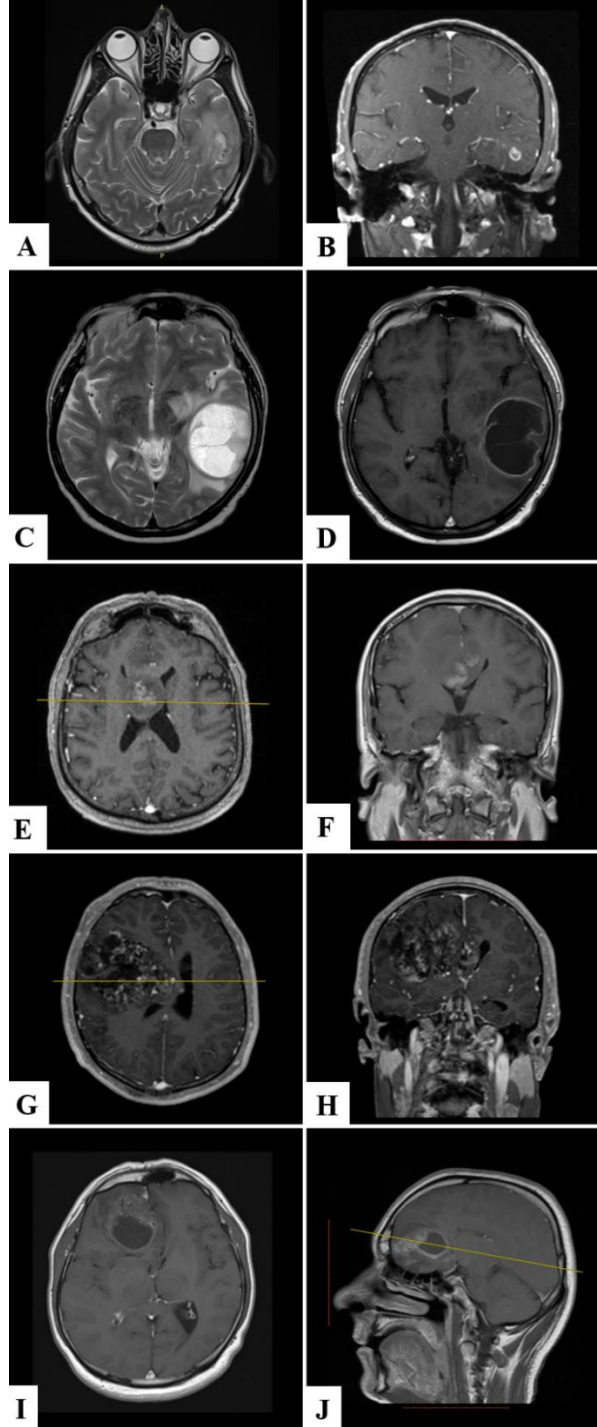
4.3.5. Peritümöral ödem

Diffüz astrositom, anaplastik astrositom ve oligodendrogliom grubundaki hastaların tamamında kitle boyutundan daha az oranda peritümöral ödem mevcuttur. Glioblastom grubundaki hastaların %50'sinde (n=7) kitle boyutundan daha fazla oranda peritümöral mevcuttur. (Tablo 11)

4.3.6. Kontrast Tutma Özelliği (Kan-Beyin Bariyeri Geçirgenliği)

Diffüz astrositom grubundaki hastaların %92'sinde (n=13) tümör kontrast tutmamaktadır. Diğer bir hastanın kitlesi kontrast tutmaktadır ve bu hasta diffüz astrositom grubunda IDH mutasyonu negatif olan tek hastadır. (Şekil 15 A ve B) Anaplastik astrositom grubunda %33,3 hastanın (n=2) kitlesi kontrast tutmaktadır. Bu hastalardan birinde kitle kistik görünümündedir ve anaplastik astrositom grubunda kistik görünümde kitlesi olan tek hastadır. (Şekil 15 C ve D) Diğer hastanın ise kitlesi düzensiz kontrast tutmaktadır. (Şekil 15 E ve F) Glioblastom grubundaki tüm

hastaların kitlesi kontrast tutmaktadır. Bu gruptaki hastaların %57,1'inde (n=8) kistik görünüm mevcuttur. Kistik kitlesi olmayan hastalardan (n=9) 2 hastada kitlenin kanamış bir komponenti mevcuttur. Oligodendrogliom grubundaki hastaların %20'sinde (n=2) kitleler kontrast tutmaktadır. Bunlardan biri frontal lobun büyük bir kısmını işgal eden ve belirgin kalsifikasyonu olan bir hastadır (Şekil 15 G ve H), diğer hasta ise anaplastik oligodendrogliom tanısı almış iki hastadan biridir. (Şekil 15 I ve J)



Şekil 15. Kontrast tutulumu olan hastalar. Diffüz astrositom (A ve B), anaplastik astrositom (C ve D ile E ve F), oligodendrogliom (G ve H ile I ve J) grubunda olan hastaların görüntülemeleri izlenmektedir.

Tablo 11. Hastalara ait radyolojik bulgular

MR Bulguları	Diffüz Astrositom	Anaplastik Astrositom	Glioblastom	Oligodendrogliom	Toplam
Taraf					
Sağ, n (%)	5 (%35,7)	3 (%50)	5 (%29,4)	4 (%40)	17 (%36,2)
Sol, n (%)	9 (%64,2)	3 (%50)	12 (%70,5)	6 (%60)	30 (%63,8)
Boyut					
Axial, ortalama mm (dağılım)	45,7 (18- 62)	54,1 (42- 78)	37,4 (14-52)	51,4 (30-85)	45
Koronal, ortalama mm (dağılım)	32,7 (10- 64)	43,6 (33- 53)	30,5 (14-51)	36 (19-54)	34
Sagittal, ortalama mm (dağılım)	35,7 (18- 59)	41 (37-47)	33,7 (16-54)	36,3 (26-58)	35
Kitle sayısı					
Tek kitle, n (%)	14 (%100)	6 (%100)	12 (%70,6)	10 (%100)	42 (%89,4)
Tek kitle ve satellit lezyonlar, n (%)	0 (%0)	0 (%0)	4 (%23,5)	0 (%0)	4 (%8,5)
Birden çok kitle, n (%)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%5,9)	0 (%0)	1 (%2,1)
Kitle içeriği					
Homojen, n (%)	12 (%85,7)	3 (%50)	15 (%88,2)	3 (%30)	33 (%70,2)
Heterojen, n (%)	2 (%14,2)	3 (%50)	2 (%11,7)	7 (%70)	14 (%29,8)
Kistik kitle, n (%)	0 (%0)	1 (%16,6)	8 (%47)	2 (%20)	11 (%23,4)
Kontrast tutma					
Düzenli, n (%)	0 (%0)	1 (%16,6)	10 (%58,8)	1 (%10)	12 (%25,5)
Düzensiz, n (%)	1	1 (%16,6)	7 (%41,1)	2 (%20)	11 (%23,4)
Peritümöral ödem					
Kitle boyutundan az – eşit, n (%)	14 (%100)	5 (%83,3)	10 (%58,8)	9 (%90)	38 (%80,8)
Kitle boyutundan fazla, n (%)	0 (%0)	1 (%16,6)	7 (%41,1)	1 (%10)	9 (%19,2)

Tablo 12. Tümörlerin tercih ettiği tutulum bölgeleri

<i>Lokalizasyon</i>	Diffüz Astrositom, n (%)	Anaplastik Astrositom, n (%)	Glioblastom, n (%)	Oligodendro- gliom, n (%)	Toplam, n (%)
<i>Motor korteks</i>	1 (%5)	1 (%16,6)	0	2 (%15,3)	4 (%7)
<i>Dorsomedial premotor</i>	1 (%5)	0	1 (%5,5)	0	2 (%3,5)
<i>Dorsolateral premotor</i>	1 (%5)	0	0	0	1 (%1,7)
<i>Ventrolateral premotor</i>	0	0	1 (%5,5)	0	1 (%1,7)
<i>Dorsomedial prefrontal</i>	2 (%10)	0	2 (%11,1)	3 (%23)	7 (%12,2)
<i>Dorsolateral prefrontal</i>	0	1 (%16,6)	0	2 (%15,3)	3 (%5,2)
<i>Ventrolateral prefrontal (frontal operculum)</i>	0	0	2(%11,1)	1 (%7,6)	3 (%5,2)
<i>Frontal pole</i>	0	0	0	1 (%7,6)	1 (%1,7)
<i>Lateral orbitofrontal</i>	1 (%5)	0	0	0	1 (%1,7)
<i>Ventromedial prefrontal</i>	1 (%5)	0	0	1 (%7,6)	2 (%3,5)
<i>Temporal pole</i>	2 (%10)	0	2 (%11,1)	0	4 (%7)
<i>Lateral neokortikal</i>	3 (%15)	1 (%16,6)	3 (%16,6)	0	7 (%12,2)
<i>Mediobasal temporal</i>	2 (%10)	1 (%16,6)	1 (%5,5)	0	4 (%7)
<i>Anterior parietal</i>	0	0	0	0	0 (%0)
<i>Superior parietal lobül</i>	0	1 (%16,6)	2 (%11,1)	1 (%7,6)	4 (%7)
<i>İnferior parietal lobül</i>	0	0	1 (%5,5)	0	1 (%1,7)
<i>İnsuler korteks</i>	2 (%10)	0	1 (%5,5)	1 (%7,6)	4 (%7)
<i>Insula ve temporal stem</i>	4 (%20)	0	0	0	4 (%7)
<i>Oksipital lob</i>	0	0	2 (%11,1)	0	2 (%3,5)
<i>Singulum</i>	0	1 (%16,6)	0	1 (%7,6)	2 (%3,5)

4.4. AMELİYATA AİT BULGULAR

Diffüz astrositom grubundaki hastaların %21,4'üne (n=3) gross total rezeksiyon (%99) uygulanmıştır. %42,8 hastaya (n=6) totale yakın rezeksiyon (%90-99) uygulanmıştır. %35,8 hastaya (n=5) maksimum güvenli rezeksiyon (%50-90) uygulanmış olup, bu hastaların üçünde insüler lob yerleşimli ve ikisinde ise derin santral yapılara uzanımı olan kitle mevcuttur.

Anaplastik astrositom grubundaki hastaların %33,33'üne (n=2) gross total rezeksiyon ve %33,33'üne (n=2) totale yakın rezeksiyon uygulanmıştır. Gruptaki diğer iki hastaya maksimum güvenli rezeksiyon uygulanmış olup, bunlardan birinde kitle motor korteks yerleşimlidir ve diğerinde ise orta hat tutulumu mevcuttur.

Glioblastom grubundaki hastaların %82,4'üne (n=14) gross total rezeksiyon uygulanmış olup, %17,6'sına (n=3) totale yakın rezeksiyon uygulanmıştır.

Oligodendrogliom grubundaki hastaların %30'una (n=3) gross total rezeksiyon, %50'sine (n=5) totale yakın rezeksiyon uygulanmıştır. %20 hastaya (n=2) maksimum güvenli rezeksiyon uygulanmış olup, bu hastalardan birinde kitle insüler lob yerleşimlidir, diğerinde ise orta hat tutulumu mevcuttur.

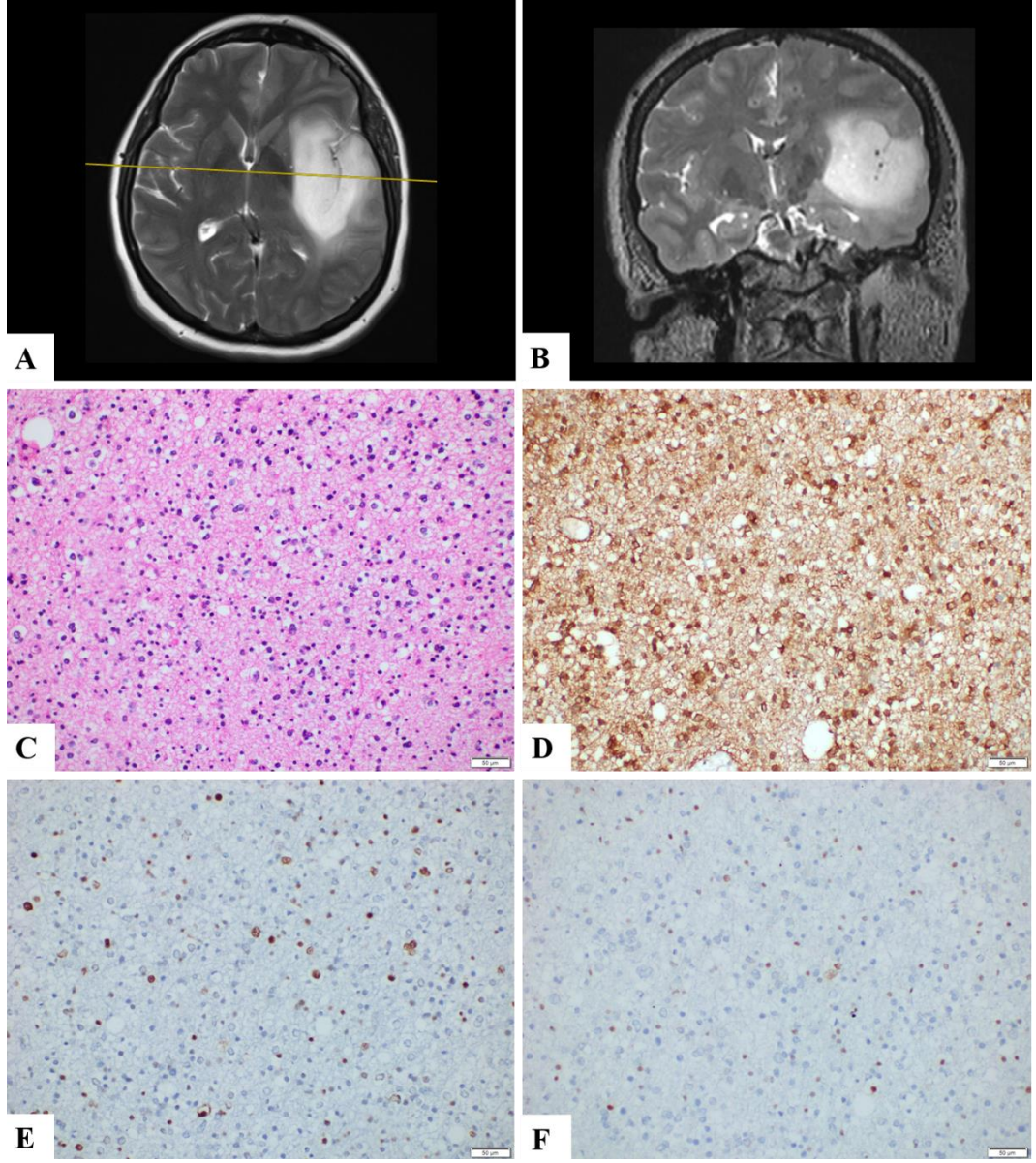
Bulgular Tablo 13'te özetlenmiştir.

Tablo 13. Uygulanan cerrahi rezeksiyon oranları

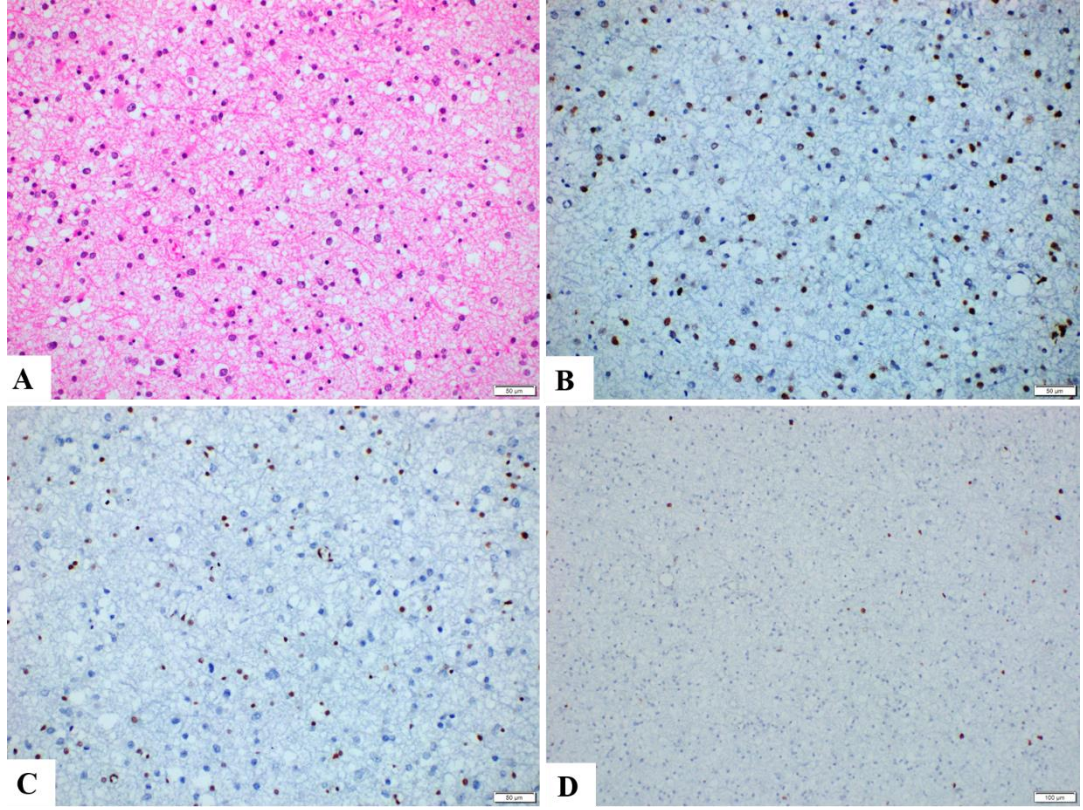
Rezeksiyon oranı	Diffüz astrositom	Anaplastik astrositom	Glioblastom	Oligodendro-gliom	Toplam
<i>Gross total rezeksiyon, n (%)</i>	3 (%21,4)	2 (%33,33)	14 (%82,4)	3 (%30)	22 (%46,8)
<i>Totale yakın rezeksiyon, n (%)</i>	6 (%42,8)	2 (%33,33)	3 (%17,6)	5 (%50)	16 (%34)
<i>Maksimum güvenli rezeksiyon, n (%)</i>	5 (%35,8)	2 (%33,33)	0 (%0)	2 (%20)	9 (%19,2)

4.5. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

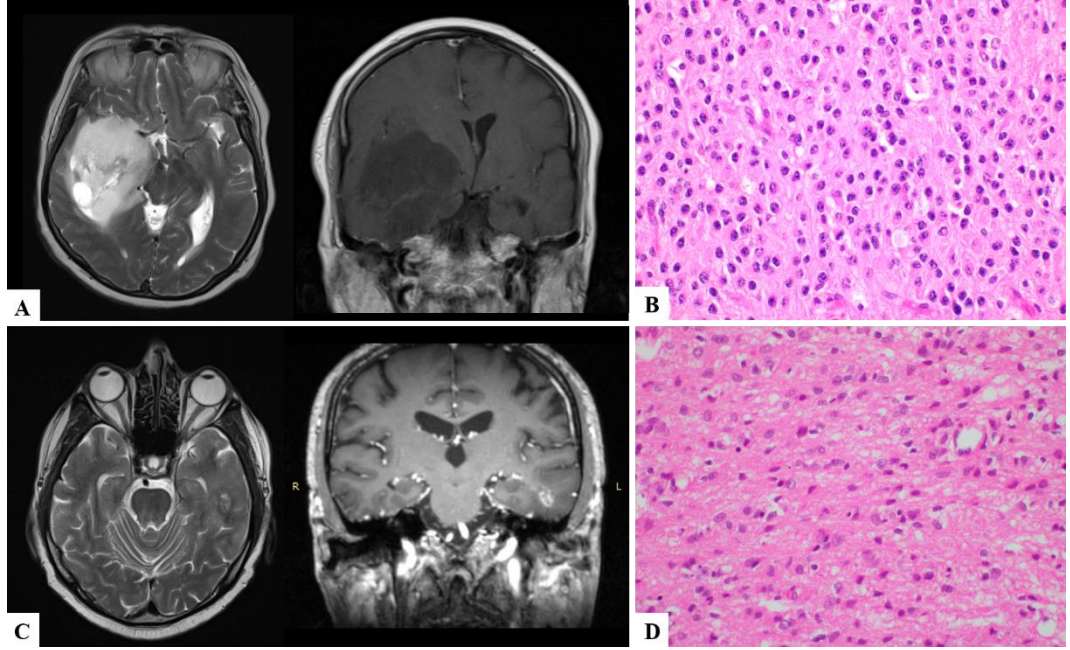
Diffüz astrositom grubundaki hastaların %92,8'inde (n=13) IDH mutasyonu saptanmış olup, 1 hasta IDH-wild tip tespit edilmiştir. Bu olguda ki-67 proliferasyon indeksi %10 saptanmıştır. Diğer hastalarda, ki-67 indeksi 2-4 aralığında olup ortalama 2,8'dir. Hastaların %78,5'inde (n=11) p53 mutasyonu ve %64,2'sinde (n=9) ATRX kaybı mevcuttur. Hastalara ait bulgular Tablo 14'te sunulmuştur. Bu gruptaki hastalara ait olgu örnekleri Şekil 16, 17 ve 18'de sunulmuştur.



Şekil 16. Diffüz astrositom grubundaki bir olguya ait histopatolojik bulgular. Sol insula (A) ve temporal stem (B) tutulumu olan bir hastaya ait Hemotoksilen&Eozin boyalı incelemede astrosit morfolojisindeki hücrelerde mitoz izlenmemektedir (C). IDH antikoru ile pozitif boyanma (D), p53 antikoru ile %30 oranında pozitif boyanma (E) ve ATRX kaybı (F) izlenmektedir.

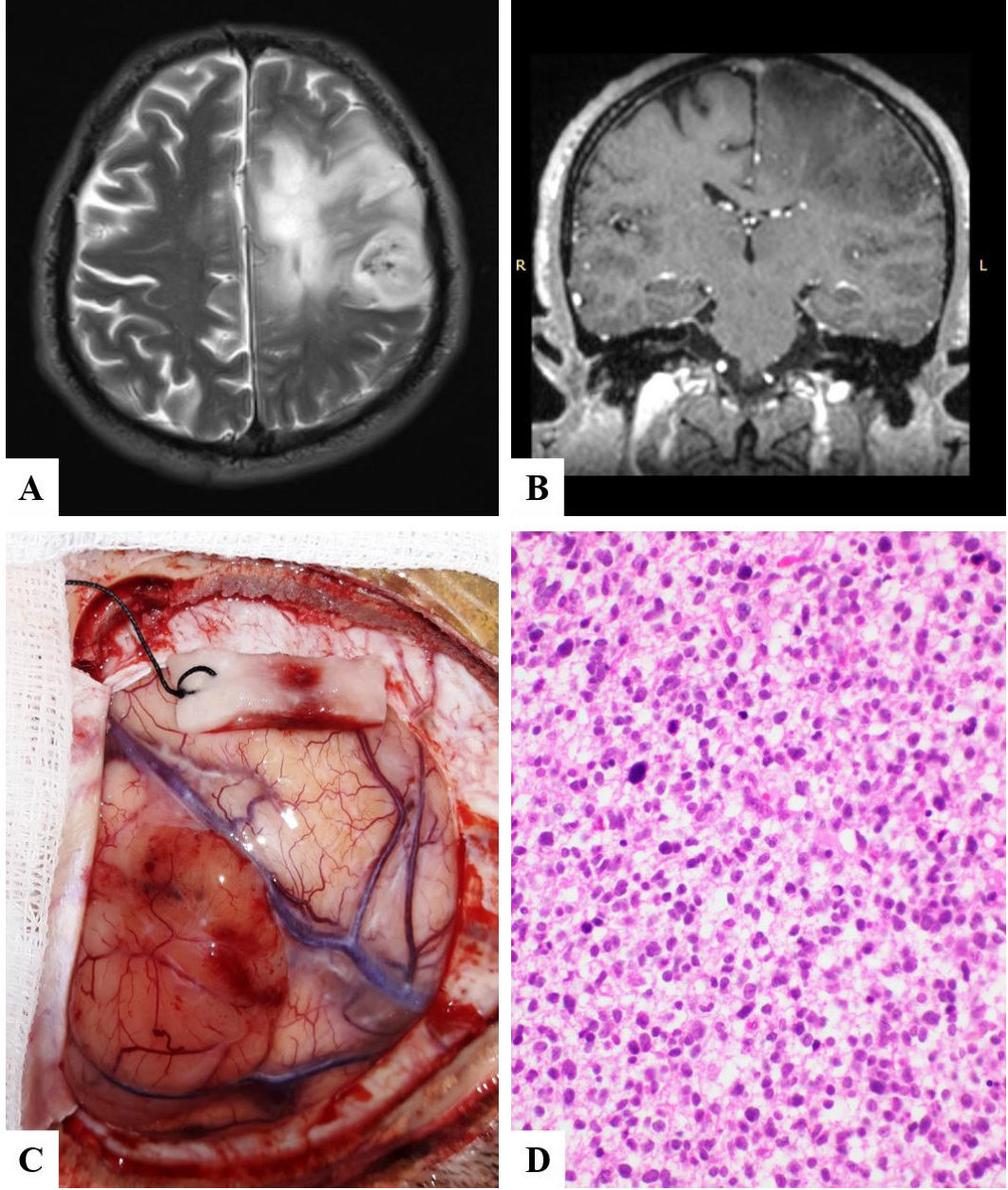


Şekil 17. Diffüz astrositom grubundaki başka bir olguya ait histopatolojik değerlendirme. Astrosit morfolojisindeki hücreler arasında süngerimsi bir görünüm kazandıran mikrokistik görünüm (A) mevcuttur. p53 antikoru ile %50 oranda pozitif boyanma (B) ve ATRX kaybı (C) izlenmektedir. Ki-67 ile proliferasyon indeksi %1 oranındadır. (D)



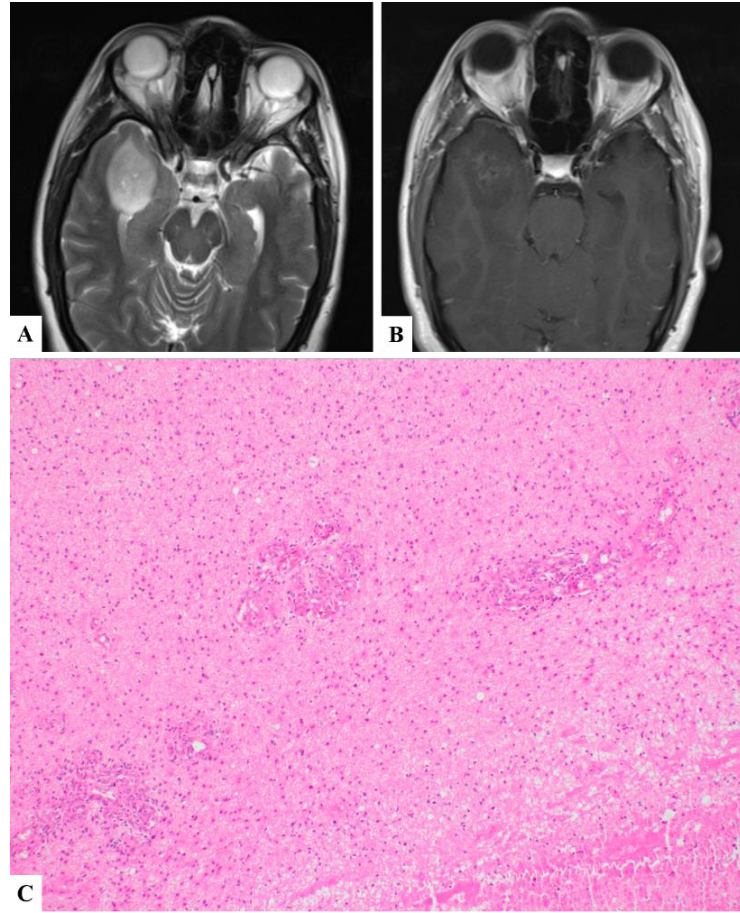
Şekil 18. Diffüz astrositom grubunda dikkate değer olguların histopatolojik incelemeleri. Sağ insula, mediobasal temporal bölge ve temporal stem tutulumu (A) olan ve kraniyal MR incelemesinde kitlesi kontrast tutmayan olguya ait histopatolojik örnekte (B) selülaritesi fazla olan tümörde Grade III morfolojisine benzeyen görünüm olsa da, tümör hücrelerinde mitotik aktivite izlenmemiştir. Diffüz astrositom grubunda IDH negatif olan ve kraniyal MR incelemesinde kitlesi kontrast tutan (C) tek hastaya ait histopatolojik örnekte (D) mitotik aktivite izlenmemiştir.

Anaplastik astrositom grubundaki hastaların %66,66'sında (n=4) IDH mutasyonu saptanmış olup diğer 2 hasta (%33,33) IDH-wild tip'tir. IDH mutasyonu pozitif saptanan hastaların hepsinde p53 mutasyonu da saptanmıştır. Bu grupta ki-67 indeksi 15-35 arasında olup, ortalama 23'tür. Hastalara ait bulgular Tablo 14'te sunulmuştur. Bu gruptaki hastalara ait olgu örneği Şekil 19'da sunulmuştur.

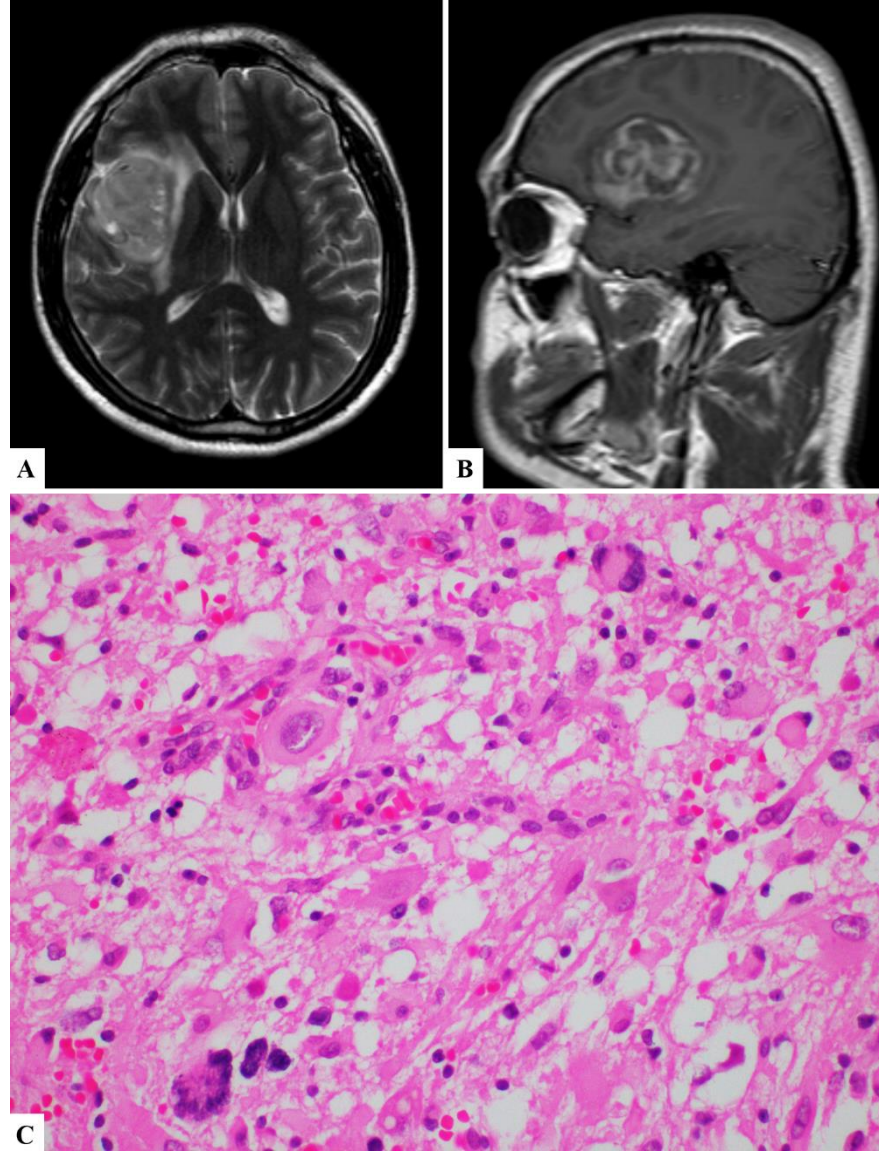


Şekil 19. Anaplastik astrositom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sol motor korteks yerleşimli (A ve B) tümörü olan hastanın intraoperatif olarak sağlıklı beyin dokusundan ayrımı yapılabilen tümör dokusu (C) ve histopatolojik incelemede (D) tümör hücrelerinde belirgin mitoz görülmektedir.

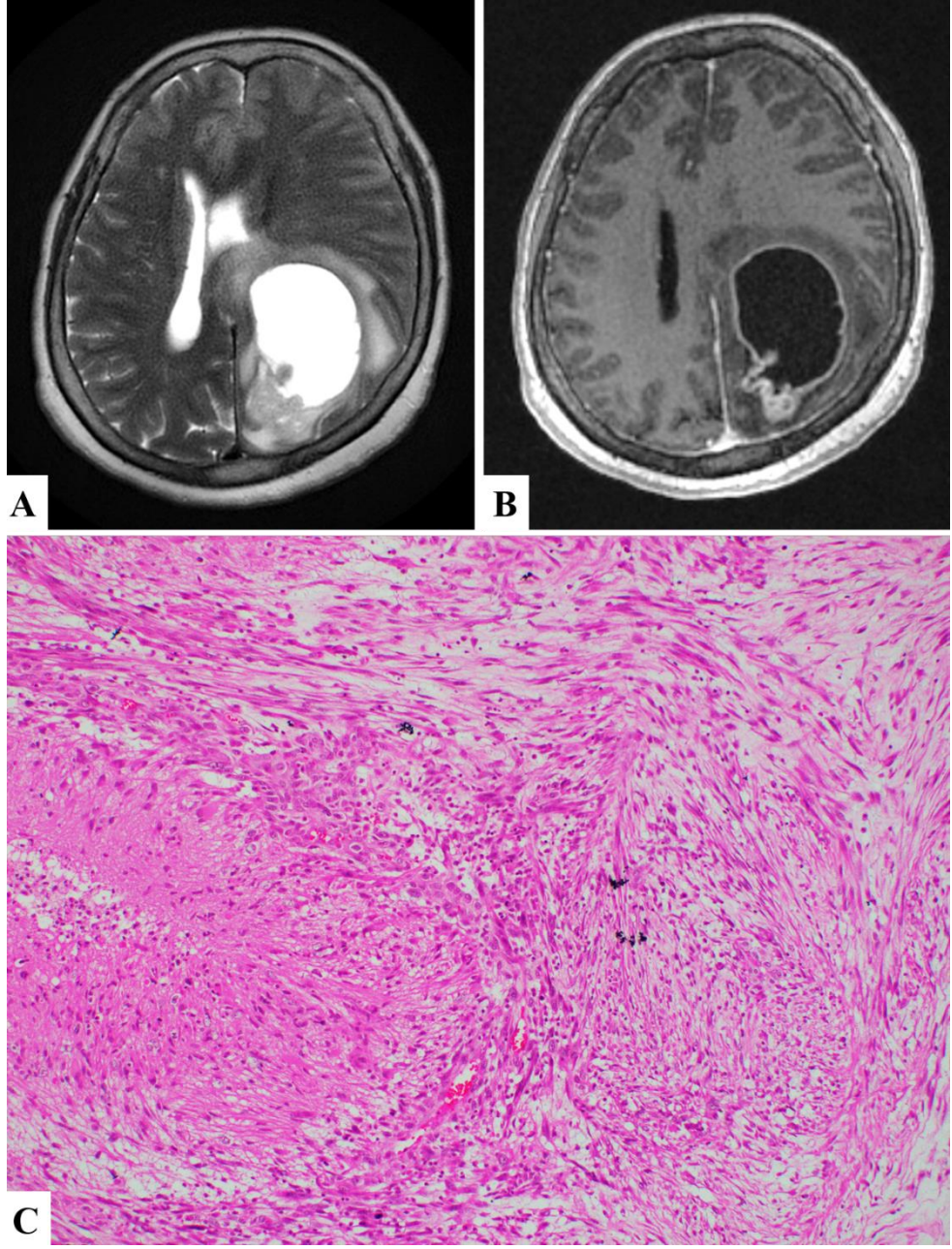
Glioblastom grubundaki hastaların %94,1'inde (n=16) IDH mutasyonu negatif olup, IDH-wild tip tespit edilmiştir. IDH mutasyonu olan tek hasta, glioblastom grubundaki prognozu en iyi olan ve genel sağ kalımı en fazla olan hastadır. Bu gruptaki hastaların %23,5'inde (n=4) p53 mutasyonu saptanmıştır. Ki-67 proliferasyon indeksi 5-80 arasında olup, ortalama 35'tir. Hastalara ait bulgular Tablo 14'te ve olgu örnekleri Şekil 20,21,22 ve 23'te sunulmuştur.



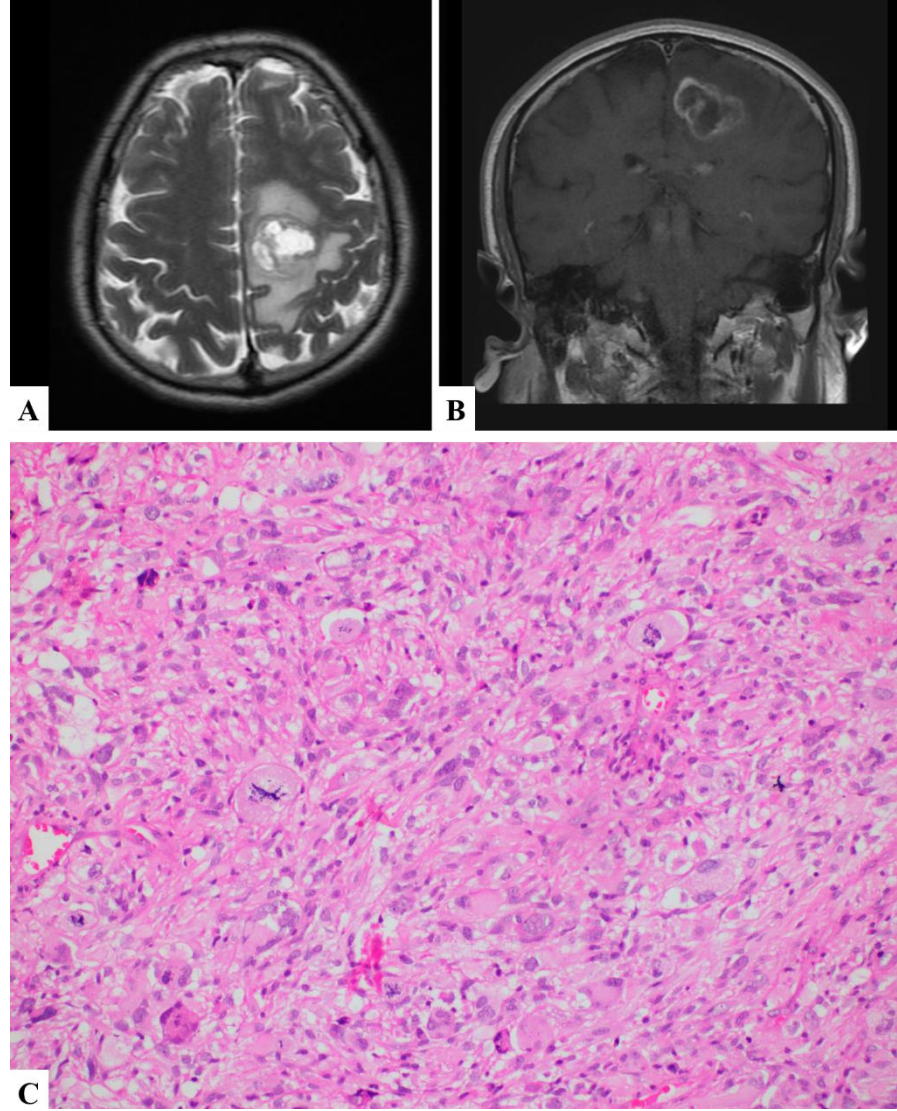
Şekil 20. Glioblastom grubunda IDH mutant tip olan hastaya ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sağ temporal bölge yerleşimli tümörün (A) santralinde kontrast tutan bir kısmının olduğu (B) ve tümör dokusunda her ne kadar sellülarite belirgin olmasa da vasküler proliferasyon olduğu görülmektedir. (C)



Şekil 21. Glioblastom grubunda dev hücreli glioblastom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sağ insuler bölge yerleşimli (A) tümörün belirgin kontrast tuttuğu (B) görülmekte ve histopatolojik incelemede çok çekirdekli dev tümör hücreleri izlenmektedir. (C)

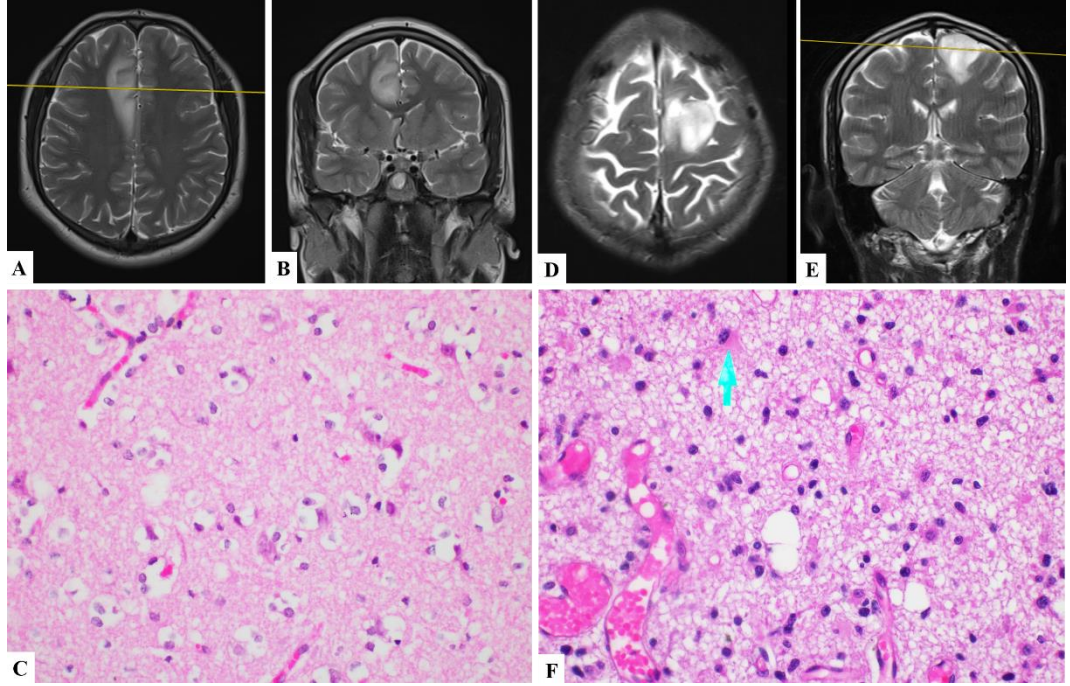


Şekil 22. Glioblastom grubunda gliosarkom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sol parietal bölge yerleşimli (A) tümörün belirgin kontrast tuttuğu (B) görülmekte ve histopatolojik incelemede sağda sarkomatöz alanlar ve solda palizatlanan nekroz izlenmektedir. (C)

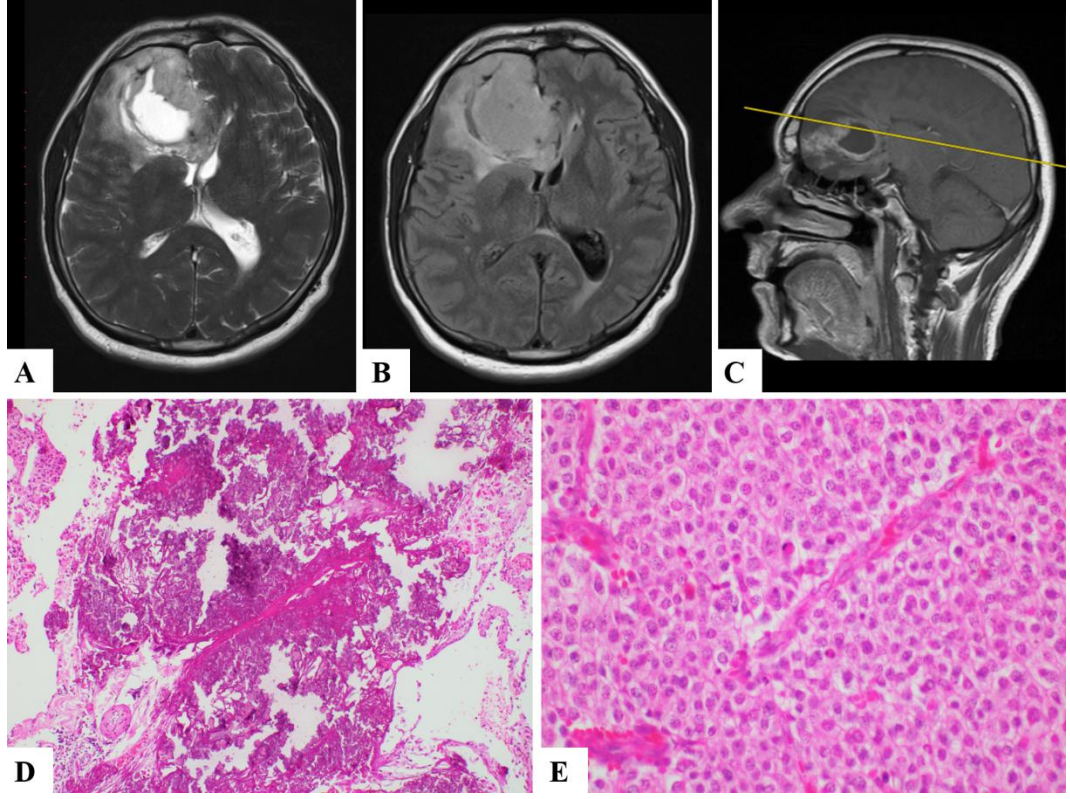


Şekil 23. Glioblastom grubunda atipik mitozların görüldüğü olguya ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sol dorsomedial premotor alan yerleşimli tümörün (A) belirgin kontrast tuttuğu (B) ve tümör hücrelerinde atipik mitozların olduğu izlenmektedir. (C)

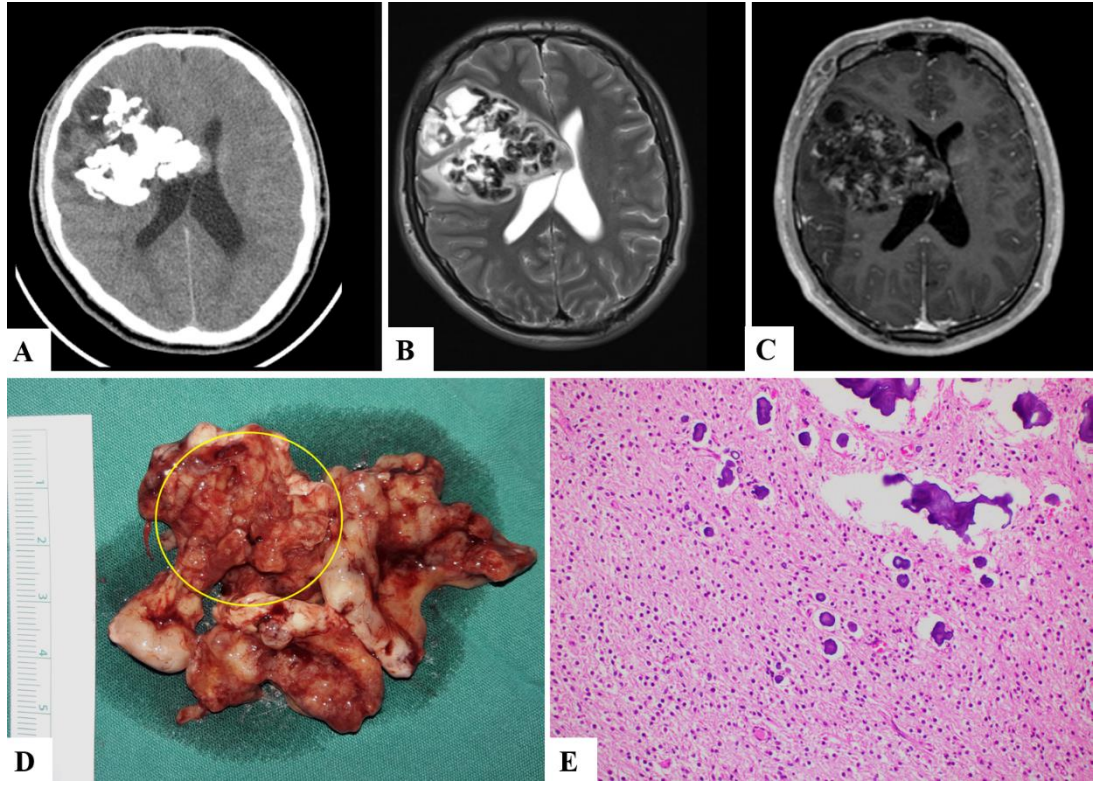
Oligodendrogliom grubuna dahil edilen hastaların %80'i (n=8) Grade II oligodendrogliom, %20'si (n=2) ise Grade III anaplastik oligodendrogliom tanısı almıştır. Hastaların %70'inde (n=7) IDH mutasyonu pozitif saptanmıştır, 3 hasta (%30) IDH-wild tip tespit edilmiştir. Hastaların %90'ında (n=9) Floresan In situ Hibridizasyon ile 1p/19q kodelesyonu tespit edilmiştir. 1p/19q kodelesyonu olmayan tek hastanın histopatolojik bulgularının oligodendrogliom morfolojisi ile (sahanda yumurta görünümü, tavuk teli görünümünde vasküler çatı ve kalsifikasyonlar) uyumlu olduğu görülmüştür. Hastanın 20 yaşında olması, 85x54x58mm boyutunda büyük bir kitlesinin olması; kitlenin uzun sürede büyümüş olduğunu ve pediatrik oligodendrogliom zemininde geliştiğini düşündürmüştür. Anaplastik oligodendrogliom tanısı alan hastalardan birinde ve pediatrik oligodendrogliom kabul edilmiş hastada histopatolojik olarak belirgin kalsifikasyon saptanmıştır. Ayrıca oligodendrogliom grubunda MR görüntülemeye kitlesi kontrast tutan hastalar sadece bu hastalardır. Oligodendrogliom grubundaki hastaların %20'sinde (n=2) p53 mutasyonu mevcuttur. Ki-67 proliferasyon indeksi 1-10 aralığında olup ortalama 5,5'tir. Hastalara ait bulgular Tablo 14'te ve olgu örnekleri Şekil 24, 25 ve 26'da sunulmuştur.



Şekil 24. Oligodendrogliom grubundaki olgulara ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sağ singulum yerleşimli tümörü olan hastada (A ve B) oligodendrogliom morfolojideki tümör hücrelerinin etrafındaki perinükleer halo ve oluşturdıkları sahanda yumurta (“fried egg”) görünümü, bununla birlikte tavuk teli (“chicken wire”) manzarası oluşturan vasküler çatı (C) izlenmektedir. Sol dorsomedial premotor alan yerleşimli (D ve E) tümörü olan hastaya ait histopatolojik örnekte gemistosit morfolojisinde hücreler (F) izlenmektedir. (x400 büyütme)



Şekil 25. Anaplastik oligodendrogliom olgusuna ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sağ frontal bölge yerleşimli (A, B ve C) tümörü olan hastaya ait histopatolojik örneklerde belirgin kalsifikasyon (D) ve perinükleer halosu olan hücrelerde nükleer polimorfizm ve birkaç mitoz izlenmektedir. (E)



Şekil 26. Pediatrik oligodendrogliom kabul edilen olguya ait radyolojik ve histopatolojik incelemeler. Sağ frontal bölge yerleşimli ve radyolojik incelemelerde belirgin kalsifikasyon gözlenen tümör dokusunun (A, B, C) makroskopik incelemesinde (D) kalsifiye bölgeler işaretlenmiştir. Histopatolojik örneklerde (E) oligodendroglial morfolojideki hücrelerin etrafında hematoxilen ile belirgin olarak boyanan kalsifiye alanlar (mor renk) izlenmektedir.

Tablo 14. Olgulara ait histopatolojik bulgular

	Diffüz astrozitom	Anaplastik astrozitom	Glioblastom	Oligodendro- gliom
<i>IDH mutasyonu, n (%)</i>	13 (%92,8)	4 (%66,66)	16 (%94,1)	7 (%70)
<i>p53 mutasyonu, n (%)</i>	11 (%78,5)	4 (%66,66)	4 (%23,5)	2 (%20)
<i>ATRX kaybı, n (%)</i>	9 (%64,2)	-	-	-
<i>Ki-67 indeksi, % dağılım (ortalama)</i>	2-4 (2,8)	15 – 35 (23)	5 – 80 (35)	1 – 10 (5,5)

4.6. GENETİK BULGULAR

Diffüz astrozitom grubundaki hastalarda tümör dokularının Array CGH analizi ile elde edilen kopya sayısı değişiklikleri Tablo 15’te sıralanmıştır. Bu grupta, tümör genomunun NGS analizi ile hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları ise Tablo 16’da sıralanmıştır. Bu gruptaki her hastaya Array CGH analizi uygulanmıştır, ancak DA9 ve DA11 numaralı hastalara NGS analizi uygulanamamıştır. Bu nedenle bu hastaların mutasyon incelemeleri immünohistokimyasal yöntemlerle tamamlanmıştır. Diffüz astrozitom grubunda Array CGH analizinde dikkate değer kopya sayısı değişiklikleri 7.kromozomun uzun kolunun (7q) (6 hastada) ve 8.kromozomun uzun kolunun (8q) (5 hastada) duplikasyonu, 11.kromozomun kısa kolunun (11p) (5 hastada) delesyonu olmuştur. NGS ile hotspot mutasyon analizinde 1 hastada “klinik anlamı belirsiz/olası

patojen?” olarak yorumlanabilecek Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinaz (PIK3CA) mutasyonu saptanmıştır.

Tablo 15. Diffüz astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri

OLGU	DELESYON	DUPLİKASYON
DA1	6q23.3q24.2 (138,180,512-145,079,948) 11p15.4p15.3 (4,209,322-11,472,806)	
DA2	11p15.4 (4,087,243-6,628,701)	7q21.11q36.3 (80,411,532-159,124,131) 8p23.3p11.1 (191,530-43,399,897) 8q11.1q24.3 (47,620,846-142,390,195) 12p13.33p11.21 (230,421-31,988,627)
DA3	Xq21.33q28 (95,498,487-155,103,019)	7q21.11q36.3 (77,676,389-159,128,556)
DA4	11p15.5p11.2 (196,966-48,664,555) 13q12.11q34 (20,407,295-115,092,648) 15q14 (35,492,571-39,113,900 ve 34,553,079-35,072,054)	16q11.2q24.3 (46,505,617-90,148,393) 16p13.3p11.1 (232,626-35,148,939) 20q11.21q13.33 (29,462,044-62,908,674) 20p13p11.1 (60,747-25,678,197)
DA5	2q37.1q37.3 (231,795,526-243,007,359) Xp22.33p11.21 (187,113-57,367,872)	7q11.23q36.3 (76,139,282-159,124,131) 7p22.3p11.2 (54,185-55,662,770) 10p15.3p12.1 (136,361-24,864,194)
DA6	Xp22.33p11.21 (312907-58081470)	7q31.31q36.3 (117,430,118-159,128,556) 8q23.1q24.23 (107,741,074-137,882,966)
DA7	19p13.3p12 (471,624-24,311,394) 19q13.11q13.43 (32,859,462-591,289,983)	9q32q34.3 (116,246,391-141,012,423)
DA8		7q11.23q36.3 (76,557,965-159,124,131) 8q11.1q24.3 (47,456,485-146,118,608)

		8p23.3p11.1 (194,617-43,541,986)
DA9	3p26.3p25.3 (93,949-9,616,678) 12p13.31p12.1 (9,756,369-22,619,496) 12q12q24.33 (38,805,636133,773,528) 12q12q13.2 (44,051,706-55,660,106) 12q14.1q21.2 (62,661,236-76,294,270) 12q21.2q23.1 (76,369,57896,597,411) 12q24.11q24.33 (110,919,739-133,773,528) 15q22.31q26.3 (65,326,625-102,383,473) 20p13p12.2 (92,140-11,893,729) 21q11.2q22.3 (15,485,008-48,084,156)	10p15.3p11.21 (136,361-35,970,537)
DA10	5p14.2p12 (24,551,867-44,866,397) 5q11.2q13.2 (52,548,460-71,586,152) 5q13.3q14.3 (76,272,698-87,957,742) 5q14.3q22.1 (91,402,678-111,194,538) 7q36.3 (155,252,596-159,125,464) 8p23.3p23.1 (191,530-11,805,960) 11p15.4p15.3 (3,153,394-10,749,575) 22q13.32q13.33 (48,944,789-51,063,485)	3q26.1q29 (165,256,150-197,763,885) 5p12p11 (44,924,444-46,115,086) 5q11.1 (50,005,492-50,145,991) 5q13.3 (73,773,187-75,679,678) 5q14.3 (88,062,493-91,271,976) 8q23.2q24.3 (111,047,088-146,274,835) 9q34.2q34.3 (136,510,650-140,999,928) 21q21.1q22.2 (20,233,101-40,558,352) 22q11.1q13.1 (17,550,637-39,722,431)
DA11	5q15q35.3 (96283712-180915260) 11p15.5p11.2 (196,966-48,664,555) 12q12q24.33 (40,604,151-133,773,528) 14q11.2q31.1 (20378218-79693384)	
DA12	6q12q27 (64,147,181-170,921,089) 9p24.3p13.3 (1436068-34704996) 18q11.2q23(19,671,621-78,012,829)	7q11.21q36.3 (66,655,799-159,128,556)
DA13	14q21.2q31.1(46,420,359-80,942,475) 14q11.2q12(20,608,216-27,375,019)	8q21.3q24.21 (87,567,113-128,503,191)
DA14	1p36.32p36.22 (4,458,123-11,893,641) 1p36.13p31.1 (19364432-72663273) 3q13.12q24 (107,853,358-145,126,774) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,651,599-135,349,710) 13q14.2q34 (47,691,722-115,092,648) 17p13.3p11.2 (123,837-22,154,574) 17q11.1q25.3 (25,343,175-81,021,692) 22q12.3q13.31 (34,286,557-47,278,900)	7p22.3p11.2 (101,528-56,992,621) 7q11.21q36.3 (62,461,538-159,128,556)

Tablo 16. Diffüz astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları

HASTA NUMARASI	GEN	TRANSKRİPT	MUTASYON	HOMOZİGOT / HETEROZİGOT (Veya: okuma sayısı/allel yüzdesi)	YORUM (ACMG kriterleri)
DA1	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	543 / %27	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	PIK3CA	NM_006218.4	c.323G>A (p.Arg108His)	44 / %32	Klinik anlamı belirsiz / Olası patojen? ²⁴ (PM2, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.614A>T (p.Tyr205Phe)	218 / %23	Olası patojen ²⁵ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5?)
	TP53	NM_000546.5	c.535C>T (p.His179Tyr)	276 / %30	Olası patojen ²⁶ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5?)
DA2	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	737 / %37	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.578A>G (p.His193Arg)	220 / %57	Olası patojen ²³ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
DA3	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	1404/40	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
DA4	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	1201/53	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_001126115	c.133_150del (p.P45_C50del)	703/41	Olası Patojen ⁵ (PM1, PM2, PM4, BP4)
DA5	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	1366/42	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)

	TP53	NM_000546.5	c.733G>A (p.G245S)	1177/80	Patojen ⁶ (PS1, PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
DA6	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	143/47	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.818G>A (p.Arg273His)	151/47	Patojen ⁹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
DA7	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	494/47	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.536A>T (p.His179Leu)	253/78	Olası patojen ¹⁰ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3)
DA8	IDH2	NM_002168.3	c.515G>A (p.Arg172Lys)	625/32	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
DA10	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	400/%38	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.817C>T (p.Arg273Cys)	399 / %79	Patojen ² (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
DA11	TP53	NM_000546.5	c.841G>C (p.Asp281His)	136 / %34	Olası patojen ²¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
DA13	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	Heterozigot	Patojen ¹
	TP53	NM_000546	c.524G>A (p.Arg175His)	Homozigot (allel frekansı:%82)	Patojen ¹
DA14	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	2000/33	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.817C>T (p.Arg273Cys)	940/84	Patojen ⁴ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)

Anaplastik astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularının Array CGH analizi ile elde edilen kopya sayısı değişiklikleri Tablo 17’de sıralanmıştır. Bu grupta, tümör genomunun NGS analizi ile hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları ise Tablo 18’de sıralanmıştır. Anaplastik astrositom grubunda Array CGH analizinde dikkate değer kopya sayısı değişikliği 7q duplikasyonu (3 hastada) olmuştur. NGS ile hotspot mutasyon analizinde ise 1 hastada “olası patojen” olarak yorumlanan EGFR ve PTEN mutasyonları saptanmıştır. Bu hastada, IDH mutasyonu saptanmamıştır ve anaplastik astrositom grubunda sağ kalım süresi en kısa olan hastadır.

Tablo 17. Anaplastik astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri

OLGU	DELESYON	DUPLİKASYON
AA1	11p15.5p11.2 (2,239,763-48,664,555) 11q12.1q12.2 (57,543,379-60,085,374) 12q12q13.13 (38,805,636-51,739,087) 19q13.11q13.43 (33,050,126-58,962,275) 21q11.2q22.3 (15,538,980-48,084,156)	7q11.23q36.3 (75,061,927-159,124,131) 11q12.2q24.2 (60,135,932-124,965,681) 12p13.33p11.1 (230,421-34,756,209)
AA2	3p24.3p13 (17232486-73464808) 14q23.1q24.3 (61491462-77353579) 18p11.32p11.31 (148963-3389619)	
AA3	6q15q27(88,245,236-170,921,089) 9q33.2q34.3(122,577,175-138,658,848) 10q23.2q26.3(85717424-135534747) 13q12.11q13.3(2069153-37088604) 13q21.33q31.1(69,509,381-83,835,259) 14q11.2q32.33(20,608,216-106,327,993) 16q24.1q24.3 (86,761,551-90,148,393)	3p26.3p11.1(93,949-90,304,700) 3q11.1q29(93,575,285-195,740,416) 7q11.21q36.3(61,831,840-159,128,556) 7p22.3p11.2(54,185-56,992,621)
AA4	2q35q37.3 (216,412,050-243,007,359) 9p24.3p13.2 (220,253-38,309,241)	7q31.32q36.3 (120,837,496-159,138,656)
AA5	10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,830,753-135,377,532) 14q11.2q31.1 (20,644,024-81,094,291)	7p22.3p11.2 (2,149,076-56,992,621) 7q11.21q36.3 (61,831,840-159,128,556) 20p13p11.21 (75,618-25,554,038) 20q11.21q13.33 (29,462,044-61,632,255)
AA6	1p36.33p31.3(422458-68438304) 4q13.1q35.2 (64,332,049-190,896,674) 5q34q35.3 (162,688,104-180,696,806) 7p22.3p14.3 (54,185-31,539,806) 9p24.3p13.2 (204,193-37,991,053) 10q22.1q26.3 (74,702,311-135,434,178) 11p15.5p11.2 (196,966-48,664,555) 9q13.2q13.43 (40,819,547-59,095,418) 20p13p11.1 (60,747-25,678,253) Xp22.33p11.22 (1052681-521077448)	10p15.3p11.1(136,361-38,408,609) 13q22.3q34 (78,477,319-115,077,940)

Tablo 18. Anaplastik astrositom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları

HASTA	GEN	TRANSKRIPT	MUTASYON	HOMOZIGOT / HETEROZIGOT (Veya: okuma sayısı/allel yüzdesi)	YORUM (ACMG kriterleri)
AA1	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	484 / %40	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.536A>T (p.His179Leu)	138 / %68	Olası patojen ²⁷ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3)
AA2	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	278/34	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.542A>G (p.Tyr181Cys)	207/35	Patojen ¹⁵ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.711G>C (p.Met237Ile)	186/30	Patojen ¹⁶ (PS1, PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
AA3	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				
AA4	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	394/37	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.533A>C (p.His178Pro)	154/88	Olası patojen ²⁸ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
AA5	EGFR	NM_005228.5	c.323G>A (p.Arg108Lys)	1680 / %93	Olası patojen ¹⁸ (PM2, PP2, PP3, PP5)
	PTEN	NM_000314.7	c.1037G>A (p.Arg346His)	100 / %39	Olası patojen ¹⁹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
AA6	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	597 / %38	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.707A>G (p.Tyr236Cys)	321 / %78	Patojen ²⁰ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)

Glioblastom grubundaki hastalarda tümör dokularının Array CGH analizi ile elde edilen kopya sayısı değişiklikleri Tablo 19’da sıralanmıştır. Bu grupta, tümör genomunun NGS analizi ile hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları ise Tablo 20’de sıralanmıştır. Bu gruptaki her hastaya Array CGH analizi uygulanmıştır, ancak G6 numaralı hastaya NGS analizi uygulanamamıştır. Bu nedenle bu hastanın mutasyon incelemeleri immünohistokimyasal yöntemlerle tamamlanmıştır. Glioblastom grubunda Array CGH analizinde dikkate değer kopya sayısı değişikliği Trizomi 7 (12 hasta), Monozomi 10 (11 hasta), 9p delesyonu (10 hasta), Trizomi 20 (6 hasta), 19q duplikasyonu (6 hasta), 19p duplikasyonu (5 hasta) ve 14q delesyonu (3 hasta) olmuştur. NGS ile hotspot mutasyon analizinde ise “olası patojen” olarak yorumlanan PTEN (2 hasta), PIK3CA (2 hasta), EGFR (1 hasta) ve FLT3 mutasyonları (1 hasta) saptanmıştır.

Tablo 19. Glioblastom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri

HASTA ADI	DELESYON	DUPLİKASYON
G1	1p36.33p36.22 (2,238,532-10,163,008) 1q32.1q42.13 (205,063,042-227,050,319) 6q23.2q27 (132,996,510-167,373,534) 9p24.3p13.1 (274,517-38,815,475) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,651,599-135,377,532)	7p22.2p11.2 (2,845,372-56,992,621) 7q11.21q36.3 (62,030,070-159,118,566) 20p13p11.21 (60,747-25,352,089) 20q13.32 (57,425,665-57,465,925)
G2	Kromozom Y	7p22.3p11.2 (65,558-55,638,088) Xp22.33p11.21 (60701-58081470) Xq11.1q28 (61931689-155208244)
G3	1p32.3 (51,073,142-51,445,710) 9p23p13.3 (13,454,659-35,228,021) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,890,664-135,354,466) 14q11.2q32.33 (20,608,216-106,327,993) 18q21.2q22.1 (50,439,194-63,857,312)	4q12 (54,181,854-56,744,173) 7p22.3p11.2 (102,404-56,992,621) 7p11.2 (54,799,625-55,435,123) 7q11.21q36.3 (62,030,070-159,124,131)
G4	3q21.1q22.1 (123,477,546-131,738,219) 8p21.3p21.2 (22,355,618-26,877,037) 9p22.3p21.3 (15,896,644-23,777,276) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,890,664-135,434,178) 11q14.3q25 (89,346,772-134,816,320) 19q13.31q13.33 (44,029,494-50,200,872)	3q22.1q29 (132,036,540-197,837,049) 7p22.3p12.3 (54,185-46,805,129) 7q11.21q36.3 (61,831,840-159,124,131) 13q14.11q14.2 (43,332,871-50,427,708) 19p13.3p12 (259,395-24,377,851) 19q11q13.2 (27,853,207-43,354,318) 19q13.41q13.43 (52,062,147-59,095,418)
G5	6q25.2q27 (153,391,116-166,870,570) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,830,753-135,434,178)	2p25.3p11.1 (17,019-92,027,940) 2q11.1q37.3 (95,344,257-243,068,396) 20p13p11.21 (60,747-25,352,089) 20q11.21q13.33 (29,462,044-62,908,674)
G6		1p36.32p12 (3,636,823-120,520,278) 1q21.1q44 (145,418,822-249,180,302) 2p25.3p11.1 (23,938-91,693,454) 2q11.1q37.3 (95,620,503-242,846,555) 6p25.3p11.2 (163,083-57,646,810) 6q11.1q27 (62,058,720-170,921,089) 7p22.3p11.2 (54,185-56,174,888) 7q11.21q36.3 (62,030,070-159,125,464) 8q13.2q24.3 (69,240,355-146,280,020) 10p15.3p11.1 (136,361-38,361,309) 10q11.21q26.3 (42,830,753-135,434,178) 12p13.33p11.1 (230,421-34,217,463) 12q12q24.33 (39,363,979-131,450,432) 14q11.2q32.33 (20,612,704-107,274,384) 16p13.3p11.1 (134,248-35,149,147) 16q11.2q24.3 (46,516,249-90,102,469) 17p13.3p11.1 (11,807-22,205,821) 17q11.1q25.3 (25,300,199-81,025,977) 19p13.3p12 (259,395-24,376,438) 19q11q13.43 (28,265,098-59,038,528) 20p13p11.1 (60,747-25,672,884) 20q11.21q13.33 (29,652,452-62,904,501)

G7	1p36.3p36.22 (834,101-10,567,923) 9p24.3p13.1 (204,193-38,815,475) 9p21.3 (21,252,517-23,933,357) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,890,664-135,354,466) 15q14q15.1 (34,627,016-40,959,506) 17p11.2 (16,060,310-21,433,444)	7p22.3p14.1 (54,185-42,870,235) 7p11.2 (54,841,742-55,569,380) 7q11.21q36.3 (62,030,070-159,124,131) 19p13.3p12 (259,395-24,377,851) 19q11q13.43 (28,237,928-59,081,402) 20p13p11.1 (60,747-25,672,884) 20q11.21q13.33 (29,462,044-62,904,501)
G8	3p12.3p12.2 (75,974,998-80,846,650) 5p13.2p13.1 (34,929,016-38,542,288) 6p21.1 (43,112,641-45,868,395) 8q23.3q24.12 (116,535,858-120,021,371) 9p21.3 (21,708,371-22,125,464) 9p21.3p21.1 (22,915,506-33,071,537) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,890,664-135,372,492) 13q12.11q34 (20,808,544-115,092,648) 15q11.2q26.3 (22,907,326-102,252,128)	7p22.3p11.2 (94,096-56,992,621) 7q11.21q36.3 (62,461,538-159,124,131)
G9	4q32.3q35.1 (168,998,425-186,038,958) 6p25.3p25.1 (163,083-6,539,235) 6q11.1q27 (63,225,782-169,493,400) 9p24.3p24.1 (204,193-5,216,962) 9p23p13.1 (12,941,193-38,529,810) 10q11.22q26.3 (48,637,556-132,263,824)	7p22.3p11.2 (54,185-56,992,621) 7q11.21q36.3 (62,030,070-159,125,464) 20p13p11.1 (60,747-25,672,884) 20q11.21q13.33 (29,462,044-62,908,674)
G10	4p16.3p11 (72,447-48,702,425) 11p15.5p15.3 (222,956-12,660,202)	7q21.11q36.3 (78,054,840-159,128,556)
G11	9p24.3p13.3 (204,193-35,228,021) 3q29 (194,396,656-197,016,624) 10p15.2p15.1 (3,678,704-3,909,992) 11p15.5q13.2 (228824-66359136) 13q12.11q34 (20301132-114974672) 14q11.2q32.33 (20014322-106803696) 15q11.2q26.3 (22,765,628-102,252,128) 16p13.3p11.1 (3,716,036-35,148,003) 16q11.2q24.3 (46,500,741-90,148,393)	3p26.3p11.1 (159,711-90,304,700) 3q11.1q29 (93,677,245-194,202,325) 7p22.3p11.2 (101,528-56,992,621) 7q21.13q22.1 (91,002,398-100,295,137) 8p23.3p11.1 (191,530-43,529,733) 8q11.1q24.3 (47,456,485-146,280,020) 9p13.3p13.1 (35,344,750-38,741,437) 9q21.11q34.3 (71,069,763-140,696,468)
G12	9p21.3p13.1 (19865618-39013204) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,830,753-135,377,532)	7p22.3p11.2 (2,149,076-56,992,621) 7q11.21q36.3 (61,831,840-159,128,556) 19p13.3p13.11 (259,395-19,112,427) 19q11q13.43 (27,853,207-59,095,418)
G13	1p36.32p36.21 (5,334,068-13,782,226) 6q25.3q27 (155,966,487-168,860,913) 9p24.3p13.3 (280,255-35,228,021) 9q22.2q22.32 (91,992,237-97,320,282) 10q11.21q26.3 (42,651,599-135,367,722) 10p15.3p11.1 (291,503-38,408,609) 17q11.2q21.31 (25,939,084-41,831,447)	7q11.21q36.3 (62,690,871-156,684,811) 7p22.3p11.2 (2,781,517-55,662,770) 20p13p11.21 (275,774-24,336,529)
G14	4q31.23q32.2 (148,519,825-163,426,855) 4q34.3q35.2 (181,798,464-189,545,485) 6p12.3p11.2 (49,624,464-57,297,586) 6q11.1q27 (61,971,892-170,911,240) 8q23.1q24.22 (109,639,026-132,329,005) 9p21.3 (21,872,531-22,416,608) 9q33.2 (122,786,722-125,390,573) 9q33.3q34.2 (130,286,562-136,596,200) 10p15.3p11.1 (338,219-38,249,867) 10q11.21q26.3 (42,890,664-135,352,420) 14q11.2q32.33 (20,608,216-107,287,505) 22q11.1q13.33 (17,520,217-51,063,485)	7p22.3p12.1(54,185-53,341,811)x3, 7q11.23q36.3(76,139,282-159,125,464)x3,

G15	2p15p13.2 (64,094,322-71,741,706) 3q13.12q13.2 (106,740,438-112,305,831) 4q21.21q23 (82,082,415-98,969,285) 4q31.3 (153,059,003-155,355,055) 9p21.3p21.2 (22,648,451-26,691,043) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,890,664-135,377,532)	3p26.3p11.1 (159,711-90,304,700) 3q11.1q13.12 (93,575,285-106,675,794) 3q13.2q29 (111786856-198022430) 7p12.2q11.21 (50,284,554-64,399,980) 19p13.3p12 (259,395-24,378,254) 19q11q13.43 (27,853,207-59,095,418) Xp22.3q28 (0-1555270560)
G16	1p33p32.3 (49,959,780-52,733,355) 2p15p13.2 (63,961,667-71,970,931) 9p24.1p22.3 (6,359,593-14,762,410) 9p22.1p13.1 (19,622,892-38,815,475) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,830,753-135,434,178) 14q11.2q21.2 (20,608,216-43,501,311)	7p22.3p11.2 (54,185-55,872,909) 7q11.21q36.3 (61,831,840-159,128,556) 19p13.3p13.11 (259,395-19,112,427) 19q11q13.43 (27,853,207-59,095,418) 20p13p11.1 (60,747-25,678,253) 20q11.21q13.33 (29,462,044-62,908,674)
G17	2p13.3p13.1 (68,883,805-74,433,189) 9p21.3 (21,763,782-22,212,612) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609) 10q11.21q26.3 (42,890,664-135,258,702) 10p15.3p11.1 (136,361-38,408,609)	7p22.3p11.2 (102,404-56,992,621) 7q11.21q36.3 (62,030,070-159,124,131) 19p13.3p12 (296,946-24,378,254) 19q11q13.43 (27,853,207-59,095,418)

Tablo 20. Glioblastom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları

HASTA	GEN	TRANSKRİPT	MUTASYON	HOMOZİGOT / HETEROZİGOT (Veya: okuma sayısı/allel yüzdesi)	YORUM (ACMG kriterleri)
G1	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				
G2	TP53	NM_000546.5	c.584T>C (p.Ile195Thr)	268/67	Patojen ³⁰ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
G3	EGFR	NM_005228.5	c.866C>A (p.Ala289Asp)	3280 / %97	Olası patojen ³⁵ (PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	CDKN2A	NM_000077.4	c.341C>T (p.Pro114Leu)	8 / %63	Olası patojen ³⁶ (PM1, PM2, PP2, PP3)
	TP53	NM_000546.5	c.818G>A (p.Arg273His)	77 / %73	Patojen ³⁷ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
G4					
G5	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				
G7					
G8	TP53	NM_000546.5	c.742C>T (p.Arg248Trp)	140 / %69	Olası patojen ³⁴ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
G9	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				
G10	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	1404/40	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	PTEN	NM_000314.7	c.395G>T	93 / %83	Olası patojen ³¹

			(p.Gly132Val)		(PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
G11	FLT3	NM_004119.2	c.1775T>C (p.Val592Ala)	14 / <u>%21</u>	Olası patojen ³² (PM, PM2, PP2, PP3)
	TP53	NM_000546.5	c.817C>T (p.Arg273Cys)	62 / <u>%95</u>	Patojen ³³ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
G12	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				
G13	PIK3CA	NM_006218	c.263G>A (p.Arg88Gln)	586/13	Olası Patojen ⁷ (PM1, PM2, PP2, PP3, PP5)
G14	PTEN	NM_000314.8	c.511C>G (p.Gln171Glu)	107/68	Olası patojen ²⁹ (PM1, PM2, PP2, PP3)
G15	PIK3CA	NM_006218	c.1633G>A (p.Glu545Lys)	195/38	Olası Patojen ⁸ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
G16	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				
G17					

Oligodendrogliom grubundaki hastalarda tümör dokularının Array CGH analizi ile elde edilen kopya sayısı değişiklikleri Tablo 21’de sıralanmıştır. Bu grupta, tümör genomunun NGS analizi ile hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları ise Tablo 22’de sıralanmıştır. Bu gruptaki her hastaya Array CGH analizi uygulanmıştır, ancak O6 ve O10 numaralı hastalara NGS analizi uygulanamamıştır. Bu nedenle bu hastaların mutasyon incelemeleri immünohistokimyasal yöntemlerle tamamlanmıştır. Oligodendrogliom grubunda Array CGH analizinde dikkate değer kopya sayısı değişikliği 1p ve 19q ko-delesyonu (9 hasta) olmuştur. NGS ile hotspot mutasyon analizinde ise IDH1 ve TP53 mutasyonu haricinde hotspot mutasyon saptanmamıştır.

Tablo 21. Oligodendrogliom grubundaki hastalarda tümör dokularına ait kopya sayısı değişiklikleri

HASTA ADI	DELESYON	DUPLİKASYON
O1	1p36.33p12 (1,023,988-120,470,987) 19q11q13.43 (28,419,185-58,999,843)	
O2	1p36.33p12 (1,023,988-120,470,987) 19q11q13.43 (28,419,185-58,999,843)	
O3	1p36.33p13.2 (779,727-115,469,086) 19q11q13.43(28,246,098-59,095,418)	
O4	1p36.33p12(1,023,988-120,470,987) 19q11q13.43(28,419,185-58,999,843)	
O5	1p36.33p12 (1,023,988-120,470,987) 19q11q13.43 (28,419,185-58,999,843)	
O6	1p36.33p12 (1,023,988-120,470,987) 19q11q13.43 (28,419,185-58,999,843)	
O7	1p36.33p12 (1,023,988-120,470,987) 19q11q13.43 (28,419,185-58,999,843)	
O8	2q37.2q37.3 (236,952,435-243,007,359)	9q21.33q34.3 (87,452,576-141,018,984)
O9	1p36.33p12 (834,101-120,520,278) 9p24.3p21.3 (211,086-23,348,594) 15q11.2q26.3 (22,765,628-102,383,473) 19q11q13.43 (28,265,098-59,065,819)	7q21.12q36.3 (87,889,870-159,128,556) 11q11q25 (55,084,011-134,868,407) 11p15.5p11.2 (1,006,507-45,936,983)
O10	1p36.33p12 (1,023,988-120,470,987) 18p11.32p11.21 18q11.1q23 19p13.3p12 19q13.11q13.43	

Tablo 22. Oligodendrogliom grubundaki hastalarda tümör dokularında hotspot mutasyonlara yönelik tarama sonuçları

HASTA	GEN	TRANSKRİPT	MUTASYON	HOMOZİGOT / HETEROZİGOT (Veya: okuma sayısı/allel yüzdesi)	YORUM (ACMG kriterleri)
O1	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	508/44	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
O2	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	Heterozigot	Patojen ¹
	IDH2	NM_002168	c.436delA (p.Thr146Leufs*14)	Heterozigot	Klinik anlamı belirsiz ²
	TP53	NM_000546	c.C530T (p.Pro177Leu)	Heterozigot	Olası patojen ³
O3	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				
O4	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	1014 / %26	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
O5	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	306 / %47	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
	TP53	NM_000546.5	c.817C>T (p.Arg273Cys)	78 / %24	Patojen ²² (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
O7	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	237 / %38	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
O8	IDH1	NM_005896	c.395G>A (p.Arg132His)	1318/40	Patojen ¹ (PM1, PM2, PM5, PP2, PP3, PP5)
O9	Dizilenen bölgelerde patojen mutasyon saptanmamıştır.				

4.7. AMELİYAT SONRASI BULGULAR

4.7.1. Ameliyat Sonrası Klinik Bulgular

Diffüz astrositom grubundaki (n=14) hastaların %71,4'ünde (n=10) ameliyat sonrasında herhangi bir nörolojik defisit gelişmemiştir. Diğer hastaların (n=4) ikisinde üst kuadriparezi, 1 hastada hemiparezi ve 1 hastada disfazi gelişmiştir. Bu hastalar insüler kitle, temporal bölge yerleşimli kitle ve motor korteks yerleşimli kitle nedeniyle opere edilmiş hastalardır. Hastaların %92,8'inde (n=13) ameliyat sonrasında erken veya geç dönemde herhangi bir komplikasyon (kanama, yara yeri enfeksiyonu, BOS fistülü, hidrosefali ve derin ven trombozu gibi) gelişmemiştir. Bir hastaya ise ameliyat sonrası 15.günde yara yeri akıntısı nedeniyle duraplasti uygulanmıştır. Hastalara ait ameliyat sonrası klinik bulgular Tablo 23'te özetlenmiştir.

Anaplastik astrositom grubundaki hastalarda (n=6), ameliyat sonrasında nörolojik defisitinde değişiklik olan bir hasta vardır. Bu hastada hemiparezi gelişmiş olup, kitlesi parasagittal bölgede frontal lobdadır ve orta hat tutulumu mevcuttur. Hastaların %83,3'ünde (n=5) ameliyat sonrasında erken veya geç dönemde herhangi bir komplikasyon gelişmemiştir, %16,6'sında (n=1) parankimal hematoma gelişmiş olup, kitle rezeksiyonundan 5,5 ay sonra hidrosefali nedeniyle ventriküloperitoneal şant takılmıştır.

Glioblastom grubundaki hastalarda (n=17), ameliyat sonrasında nörolojik defisitinde değişiklik olan 2 hasta vardır. Bu hastalardan birinde geçici hemiparezi gelişmiştir, diğerinde ise ameliyat öncesinde var olan hemiparezi bulgusu

iyilemiştir. Hastaların %88,2'sinde (n=15) ameliyat sonrası erken dönemde herhangi bir komplikasyon gelişmemiştir, iki hasta ameliyat sonrasındaki iki hafta içinde yara yerinde akıntı nedeniyle tedavi edilmiştir. Bir hastanın ise uzun dönem takibinde ventriküloperitoneal şant ihtiyacı gelişmiştir.

Oligodendrogliom grubundaki (n=10) hastaların %80'inde (n=8) ameliyat sonrasında herhangi bir nörolojik defisit gelişmemiştir. İki hastada ameliyat sonrası hemiparezi gelişmiştir. Bu hastalardan birinde kitle motor kortekstedir ve ekstremitte kuvveti erken dönem fizik tedavi desteği ile 4/5 düzeyine ulaşmıştır. Diğer hastada ise kitle frontal lobun büyük bir kısmını işgal etmiştir ve hastanın ilaca dirençli nöbetleri olduğu için kitlesi gross total rezeke edilmiştir. Fizik tedavi desteği ile hastanın motor kuvveti 2/5 düzeyine ulaşmıştır. Oligodendrogliom grubundaki hastaların hiçbirinde ameliyat sonrasında erken veya geç dönemde herhangi bir komplikasyon gelişmemiştir.

Tablo 23. Ameliyat sonrası klinik bulgular

Ameliyat sonrası	Diffüz astrositom	Anaplastik astrositom	Glioblastom	Oligodendrogliom
Nörolojik muayene				
<i>Değişiklik yok, n(%)</i>	10 (%71,4)	5 (%83,3)	15 (%88,2)	8 (%80)
<i>Ek defisit, n(%)</i>				
<i>Kuvvet kaybı</i>	3 (%21,4)	1 (%16,6)	1 (%5,8)	2 (%20)
<i>Disfazi</i>	1 (%7,1)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Komplikasyon, n(%)				
<i>Kanamama</i>	0 (%0)	1 (%16,6)	0 (%0)	0 (%0)
<i>Yara yeri enfeksiyonu</i>	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>BOS fistülü</i>	1 (%7,1)	0 (%0)	2 (%11,7)	0 (%0)
<i>Derin ven trombozu</i>	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>Hidrosefali</i>	0 (%0)	1 (%16,6)	1 (%5,8)	0 (%0)

4.7.2. Adjuvan Tedaviler, Prognoz ve Sağkalım

Diffüz astrositom grubundaki hastaların %71,4'ü (n=10) adjuvan tedavi almıştır. Adjuvan tedavi uygulanmayan hastaların %75'i (n=3) gross total rezeksiyon uygulanan hastalardır. Diğer bir hasta ise vefat etmesi nedeniyle, gross total rezeksiyon uygulanmamasına rağmen adjuvan tedavi alamamıştır. Bu hasta ameliyattan 3 ay sonra vefat etmiştir. Özgeçmişinde psikoz ve antipsikotik ilaç kullanımı mevcuttur. Ölüm nedeni araştırmasında psikotik atak ve nöbet şikayeti ile acil servise başvurduğu saptanmıştır. Anaplastik astrositom grubundaki (n=6) ve glioblastom grubundaki (n=17) hastaların tamamı ameliyat sonrası adjuvan kemoradyoterapi almıştır. Oligodendrogliom grubundaki hastaların %70'i (n=7) ameliyattan sonra adjuvan kemoterapi veya radyoterapi almıştır. (Tablo 24)

Diffüz astrositom grubundaki hastaların %92,8'si (n=13) takip süresinde tekrar ameliyat edilmemiştir. Diğer bir hasta (%7,2) ise, ilk ameliyattan bir sene sonra malign transformasyon nedeniyle ameliyat edilmiştir. Bu hasta, diffüz astrositom grubunda IDH mutasyonu negatif olan ve ameliyat öncesi MR incelemesinde kitlesi kontrast tutan tek hastadır. Yukarıda bahsettiğimiz gibi, diffüz astrositom grubundaki bir hasta psikotik atak ve nöbet nedeniyle vefat etmiştir. Bu grupta çalışmanın takip süresi içinde vefat eden başka hasta olmamıştır.

Anaplastik astrositom grubunda hastalarda (n=6), çalışmanın takip süresi içinde iki hasta vefat etmiştir. Bu hastaların sağ kalım süresi 245 ve 423 gün olup, ortalama 334 gündür. Bu hastalardan sağ kalımı daha kısa olan hastanın orta hat tutulumu mevcuttur. Diğer hasta ise takip süresi içinde glioblastoma transforme

olmuştur. Anaplastik astrositom grubunda yaşayan hastalarda takip süresi 340-1727 gün arasında değişmekte olup ortalama 1007 gündür. En uzun takip süresi olan hasta, ilk ameliyattan üç sene sonra tekrar opere edilmiş olup glioblastoma transforme olmamıştır.

Glioblastom grubundaki hastaların %47'si (n=8) takip süresi içinde vefat etmiştir. Bu hastalarda genel sağ kalım 65-588 gün arasında olup ortalama 288,1 gündür. Vefat etmiş hastalarda %50 oranda (n=4) enfeksiyon ve/veya pnömoni nedeniyle ölüm gerçekleşmiştir. Bunların %75'i (n=3) konkomitan kemoradyoterapi dönemindedir. Ölüm nedenleri araştırmasında diğer nedenler; bilinç ve genel durum bozukluğu (n=2) ve muhtemel kitle etkisine bağlı herniasyondur. (n=2) Glioblastom grubunda yaşamakta olan hastalarda takip süresi 347-800 gün arasında değişmekte olup, ortalama 522,6 gündür.

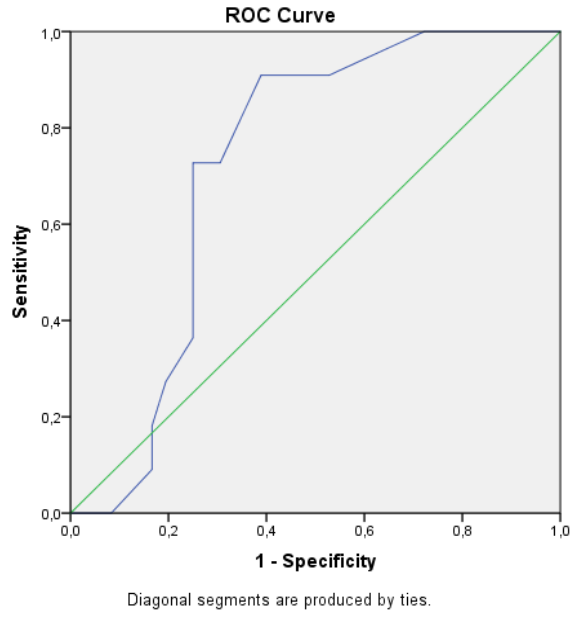
Oligodendrogliom grubundaki hastalardan (n=10) takip süresi içinde vefat eden hasta olmamıştır. Çalışmanın takip süresi içinde iki hastada nüks tespit edilmiş olup, bir hasta tekrar ameliyat edilmiştir. Oligodendrogliom grubundaki hastalarda takip süresi 380-1173 gün arasında değişmekte olup, ortalama 680,4 gündür.

Tablo 24. Adjuvan tedaviler ve sağ kalım

	Diffüz astrositom	Anaplastik astrositom	Glioblastom	Oligodendro- gliom
Adjuvan tedavi, n (%)				
<i>Yok</i>	4 (%28,5)	0 (%0)	0 (%0)	7 (%70)
<i>Sadece Kemoterapi</i>	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>Sadece radyoterapi</i>	1 (%7,1)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
<i>Kemo-radyoterapi</i>	9 (%64,2)	6 (%100)	17 (%100)	3 (%30)
Vefat eden hasta (n)	1	2	8	0
Vefat nedeni				
<i>Enfeksiyon</i>	0	1	2	0
<i>Pnömoni</i>	0	1	2	0
<i>Genel durum bozukluğu</i>	0	0	2	0
<i>Kitle etkisi</i>	0	0	2	0
<i>Diğer</i>	1	0	0	0
Takip süresi (ortalama gün)	86-1384 (720)	1007	522,6	680,4
Ortalama sağ kalım (ortalama gün)	-	334	288,1	-

4.8.ELDE EDİLEN GENETİK BULGULARIN SAĞKALIM İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ

Çalışmadaki hastaların kopya sayısı değişiklikleri kullanılarak ROC analizi ile kötü prognozu öngörecekt cut-off değeri hesaplanmıştır. (Şekil 27) Uygulanan ROC analizi sonucunda kötü prognoz açısından kopya sayısı değişikliği cut off değerleri 0,727 duyarlılık ve 0,750 seçicilik ile 9,500'dür. (Tablo 25)



Şekil 27. Kopya sayısı değişikliği için ROC analizi

Tablo 25. Kopya sayısı değişikliği sayısı için cut off değerlerin belirlenmesi

	Cut Off noktası	Sensitivite	Spesifite	Eğri altında kalan alan	P	95% Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
Kopya Sayısı Değişikliği Sayısı	9.500	0.727	0.750	0.726	0.025*	0.582	0.870

*,<0.05. **,<0.01; ***,<0.001

Çalışmadaki hastaların sağ kalım verileri ile kopya sayısı değişiklikleri ayrı ayrı da değerlendirilmiştir ve Kaplan-Meier methodu kullanılmıştır. (Tablo 26)

Tablo 26. Sağ kalım analizinde değerlendirilen değişkenler ve dağılımlar

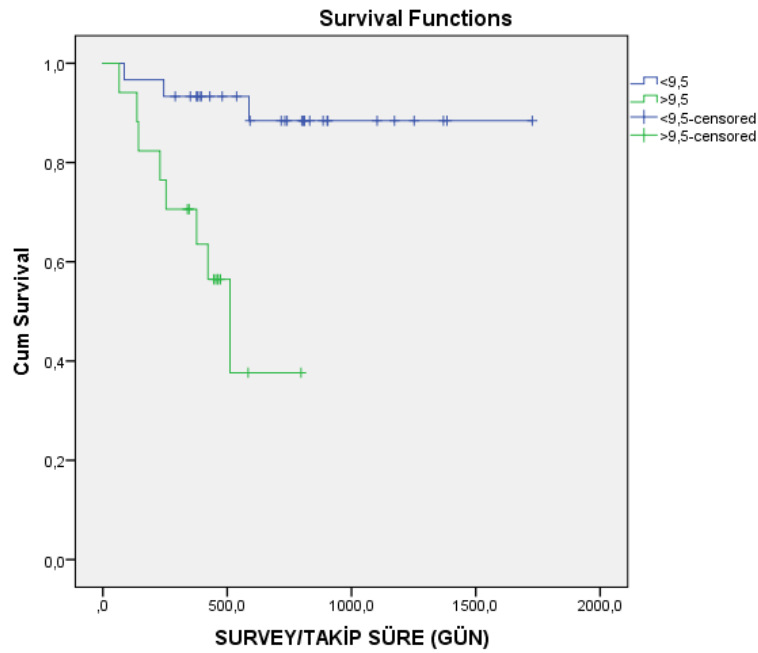
		N	%
Sağ kalım durumu	Vefat	11	23.4
	Yaşayan	36	76.6
Kopya sayısı değişikliği sayısı (ort±ss)		7.47±5.70	
	<9.5	30	63.8
	>9.5	17	36.2
Delesyon 6q	Negatif	39	83.0
	Pozitif	8	17.0
Delesyon 9p	Negatif	30	63.8
	Pozitif	17	36.2
Delesyon 10p	Negatif	32	68.1
	Pozitif	15	31.9
Delesyon 10q	Negatif	30	63.8
	Pozitif	17	36.2
Duplikasyon 7p	Negatif	28	59.6
	Pozitif	19	40.4
Duplikasyon 7q	Negatif	23	48.9
	Pozitif	24	51.1
Duplikasyon 20p	Negatif	39	83.0
	Pozitif	8	17.0
Duplikasyon 20q	Negatif	39	83.0
	Pozitif	8	17.0
IDH mutasyonu	0	21	44.7
	1	26	44.7

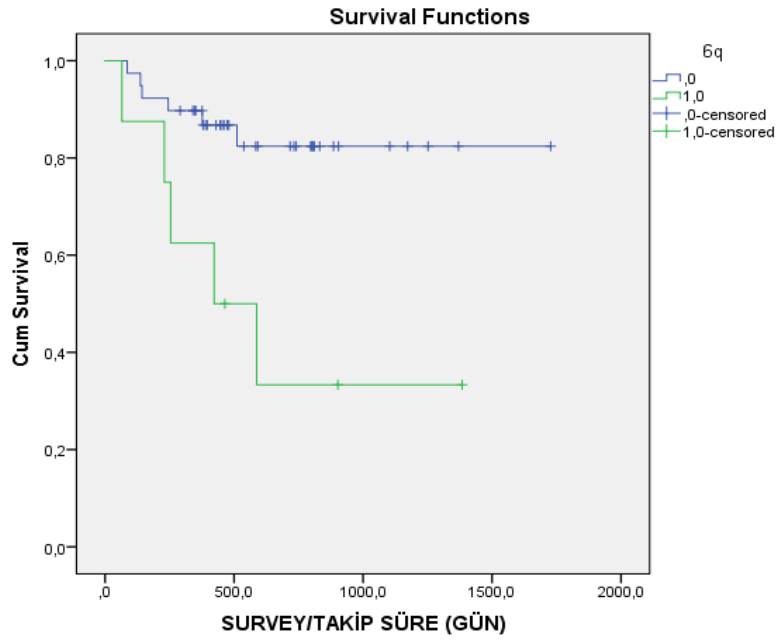
Uygulanan Kaplan-Meier yöntemi ile sağ kalım analizi sonucunda, kopya sayısı değişikliği sayısı, delesyon 6q, delesyon 9p, delesyon 10p, delesyon 10q, duplikasyon 7p, duplikasyon 7q, duplikasyon 20p, duplikasyon 20q ve IDH grupları arasında toplam yaşam süreleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark bulunmaktadır ($p<0.05$). Buna göre, kopya sayısı değişikliği sayısı 9,5 altında olanların yaşam süresi 9,5 üzerinde olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek iken delesyon 6q, delesyon 9p, delesyon 10p, delesyon 10q, duplikasyon 7p, duplikasyon 7q, duplikasyon 20p, duplikasyon 20q negatif olanların yaşam süresi pozitif olanlara göre daha yüksek ve IDH mutasyonu pozitif olanların yaşam süresi negatif olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir. (Tablo 27) (Şekil 28-37)

Tablo 27. Sağ kalım ve genetik değişikliklerin istatistiki analizi

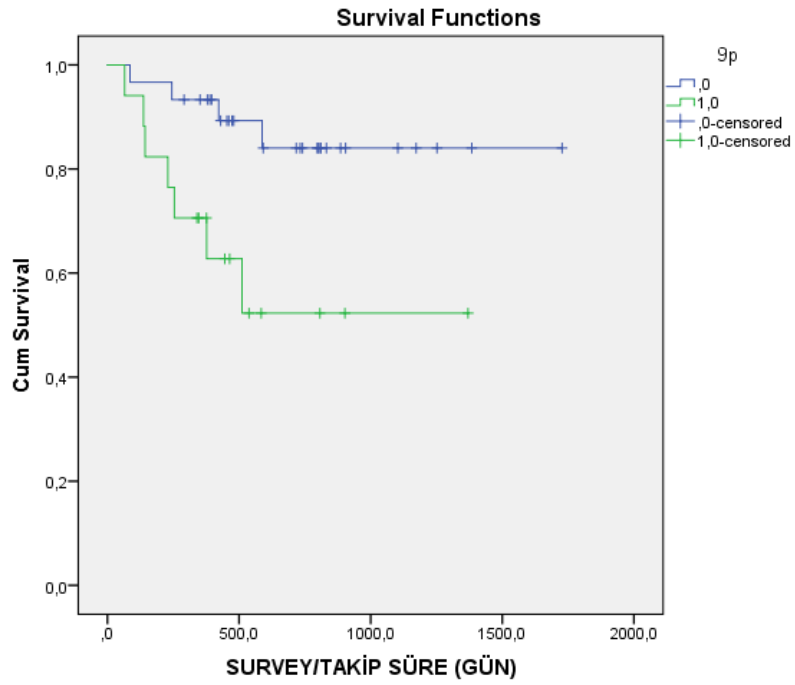
		Ortalama				p
		Tahmini	Std. Hata	95% Güven Aralığı		
				Alt sınır	Üst sınır	
Kopya sayısı değişikliği sayısı	<9.5	1566.949	87.499	1395.451	1738.448	0.001**
	>9.5	501.471	74.200	356.039	646.902	
Delesyon 6q	Negatif	1472.409	95.879	1284.486	1660.331	0.005**
	Pozitif	680.833	191.577	305.343	1056.324	
Delesyon 9p	Negatif	1510.170	100.482	1313.225	1707.114	0.014*
	Pozitif	848.111	148.880	556.307	1139.915	
Delesyon 10p	Negatif	1578.750	81.454	1419.099	1738.401	0.000***
	Pozitif	417.854	54.125	311.769	523.939	
Delesyon 10q	Negatif	1672.300	53.781	1566.890	1777.710	0.000***
	Pozitif	406.926	47.967	312.910	500.943	
Duplikasyon 7p	Negatif	1607.375	81.105	1448.410	1766.340	0.000***
	Pozitif	521.023	68.424	386.912	655.134	
Duplikasyon 7q	Negatif	1271.475	75.386	1123.717	1419.232	0.017*
	Pozitif	1125.885	157.120	817.929	1433.841	
Duplikasyon 20p	Negatif	1510.163	90.264	1333.247	1687.080	0.000***
	Pozitif	376.063	93.279	193.236	558.889	
Duplikasyon 20q	Negatif	1470.280	96.273	1281.585	1658.976	0.003**
	Pozitif	455.958	105.623	248.937	662.980	
IDH	Negatif	517.611	61.159	397.739	637.483	0.000***
	Pozitif	1661.360	64.314	1535.305	1787.415	
Toplam		1340.981	101.672	1141.705	1540.258	

*: <0.05. **: <0.01: ***: <0.001

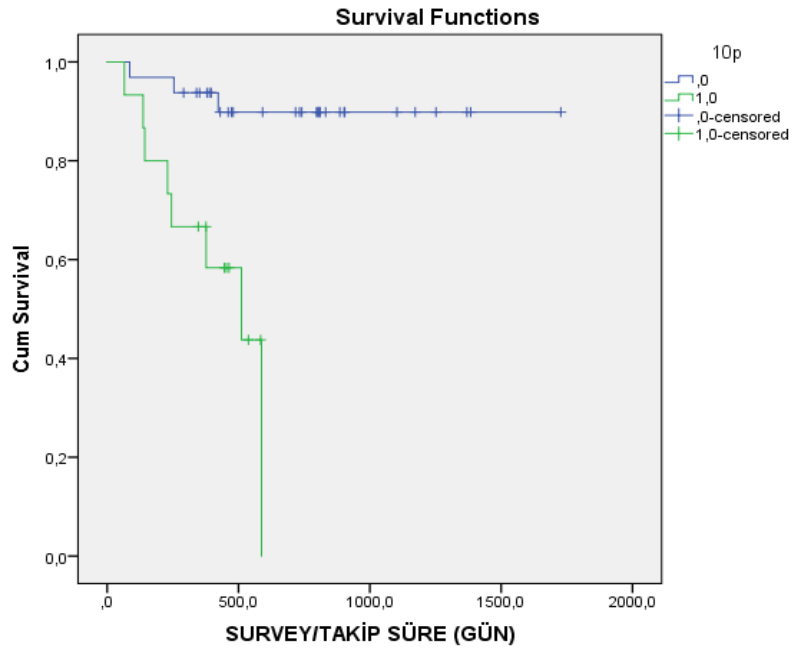
**Şekil 28.** Toplam kopya sayısı değişikliğine göre sağ kalım grafiği



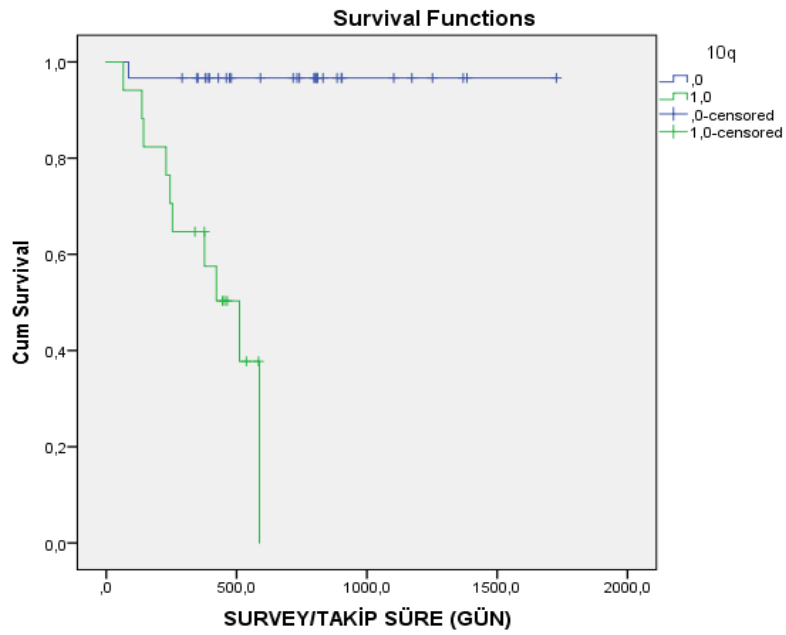
Şekil 29. 6q delesyonuna göre sağ kalım grafiği



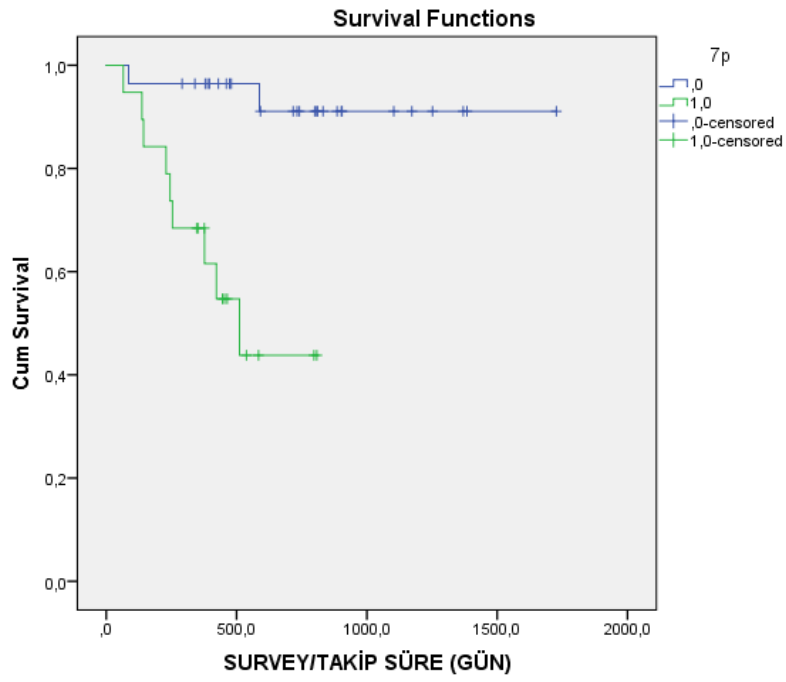
Şekil 30. 9p delesyonuna göre sağ kalım grafiği



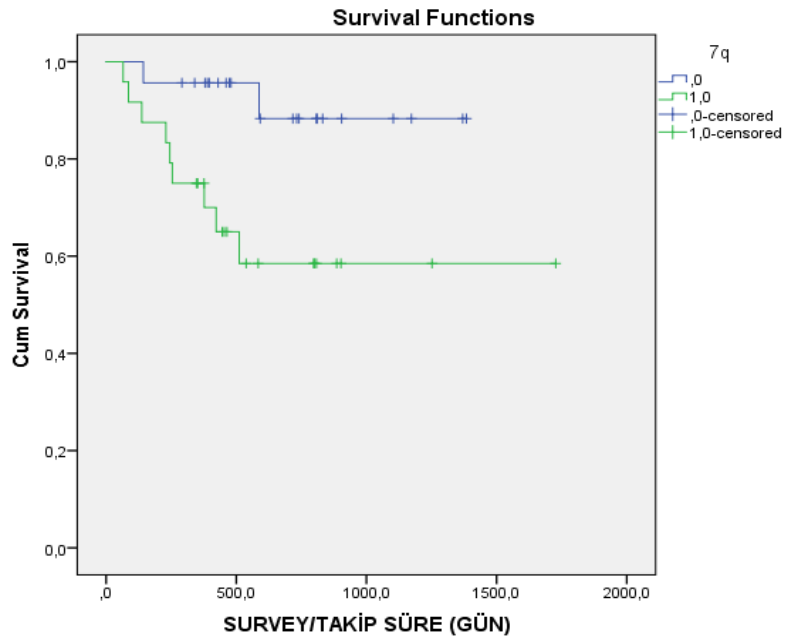
Şekil 31. 10p delesyonuna göre sağ kalım grafiği



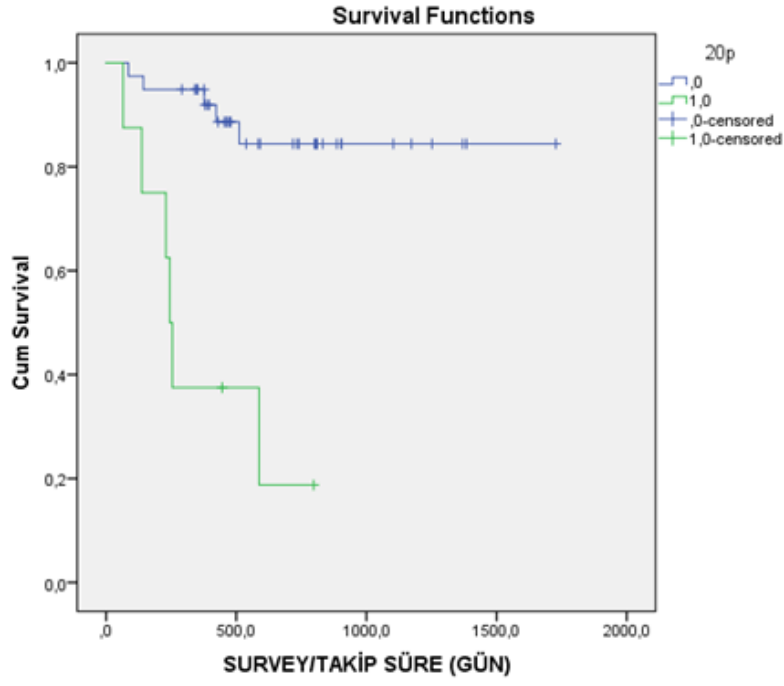
Şekil 32. 10q delesyonuna göre sağ kalım grafiği



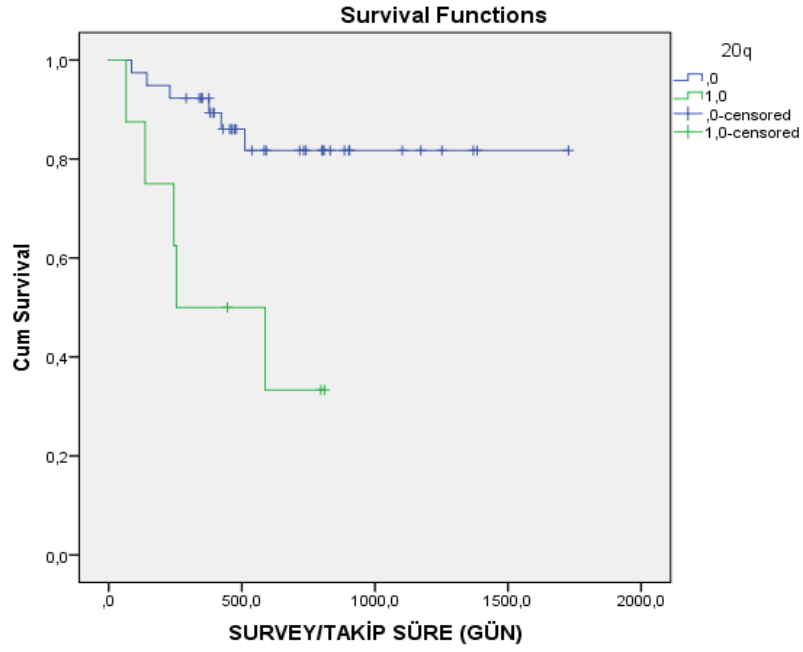
Şekil 33. 7p duplikasyonuna göre sağ kalım grafiği



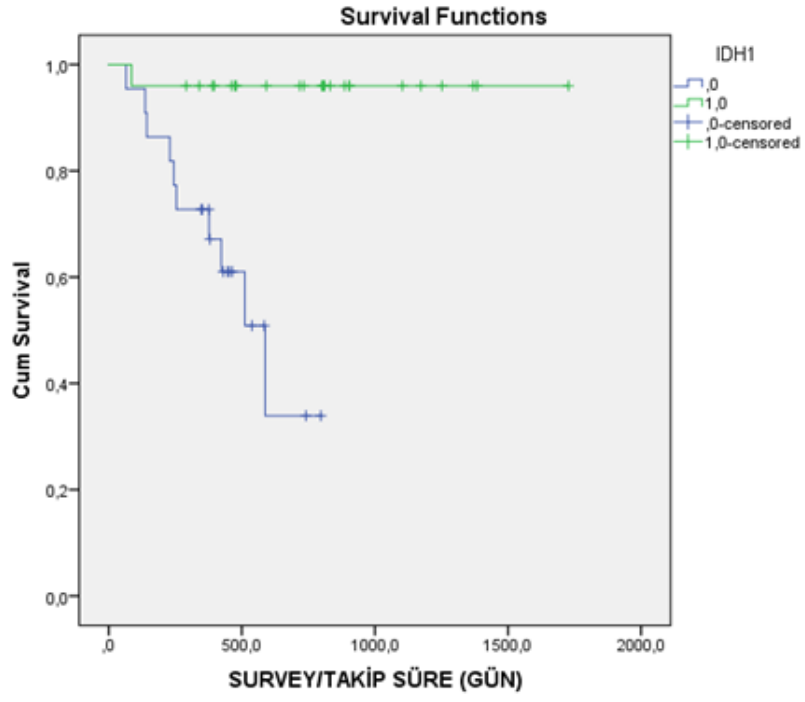
Şekil 34. 7q duplikasyonuna göre sağ kalım grafiği



Şekil 35. 20p duplikasyonuna göre sağ kalım grafiği



Şekil 36. 20q duplikasyonuna göre sağ kalım grafiği



Şekil 37. IDH mutasyonuna göre sağ kalım grafiği

5. TARTIŞMA

Araştırmamızda diffüz gliom tanısı alan hastalarda kopya sayısı değişiklikleri ve hotspot kanser mutasyonları incelenmiştir. Toplam 47 hastanın bulguları değerlendirilmiş olup; 26 hasta IDH mutant, 21 hasta IDH wild tip tespit edilmiştir. Araştırmamız dinamik bir çalışma olup şu an devam etmektedir. Glioblastom olgularında yaşayan 9 hasta mevcuttur. Bu hastaların sağ kalım süresi tamamlandığında bu grup içinde sağ kalıma etki edebilecek genetik farklılıklar ayrıca değerlendirilecektir. Düşük dereceli gliom olgularında ise nüks tespit edilen hasta sayısı takip süresindeki sınırlılık nedeniyle şu anda yeterli değildir. Yeterli sayıda hastada nüks meydana geldiğinde bu grup içinde rekürrens veya malign transformasyona etki edebilecek genetik farklılıklar da ayrıca değerlendirilecektir. Bu nedenle elde edilen genetik bulguları hastalığın oluşumunda etkili olabilecek yönleri ile ele aldık.

Erişkin gliom olgularında kromozom delesyon ve amplifikasyon haritalamaları, onkogenезin özellikle onkogenезle ilişkili tümör supresör gen bölgelerinin tespiti için iyi bir yöntem olmuştur. Bu şekilde yapılan ilk çalışmalarda; glial onkogenезde sıklıkla kayıp olan veya homozigot delesyonu olan bölgeler 9p21'deki Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör 2A/B (CDKN2A/B), 10q23'teki PTEN/MMAC1, 13q14'teki RB1, 17p13'teki TP53 olarak tespit edilmiştir (142). Günümüzde Kanser Genom Atlası veritabanına göre ise glioblastom olgularında sık görülen kopya sayısı değişiklikleri; 9p21 (CDKN2A, CDKN2B, MTAP, TEK genleri), 9p22 (MLLT3 geni), 10q23.3 (PTEN geni), 1p32 (CDKN2C geni), 10q21.4 (FAS geni), 9p23-p24.3 (PTPRD geni), 9p24.1 (NFIB geni), 13q14.2 (RB1

geni) sitobandlarının delesyonu ile; 7p12 (EGFR geni), 12q14 (CDK4 geni), 4q12 (PDGFRA, KIT ve FIP1L1 geni), 4q11 (CHIC2 geni), 4q11-q12 (KDR geni), 1q32 (MDM4 geni), 12q14.3-q15 (MDM2 geni), 12q13.1-q13.2 (DDIT3 geni), 12q13.2-q13.3 (GLI1 geni), 12q14.1 (LRIG geni), 3q26.3-q27 (SOX2 geni), 7q31 (MET geni), 7q21-q22 (CDK6 geni), 3q26.3 (PIK3CA geni) sitobandlarının amplifikasyonudur (143).

IDH mutasyonları, astrosit kökenli gliomların oluşumunda meydana gelen en erken genetik değişikliklerdendir ancak tümör oluşumu için tek başına yeterli değildir. TP53 mutasyonu ve PDGFR aşırı ekspresyonunun astrosit kökenli gliomların oluşumunda ilk genetik değişikliklerden olduğu bilinmektedir (144). TP53 geni, kromozom 17'nin p kolunda yer alan ve P53 proteinini kodlayan bir tümör süpresör gen olup; tamir edilemez DNA hasarı olduğuna apoptoza yönlendirmeden, genomik stabilite ve anjiogenezin inhibisyonundan sorumludur. Anti-kanser görevi bulunmaktadır. Düşük ve yüksek dereceli gliomlarda 17p delesyonu ya da TP53 mutasyonları benzer oranlarda bulunmaktadır. Bu durum, p53'ün gliomagenезin erken evrelerinde rol aldığını düşündürmektedir. ATRX geni ise, ATRX proteinini kodlar ve belirli gen bölgelerini susturmada görev almaktadır. ATRX mutasyonları kromatin remodeling ve telomer uzunluğunun regülasyonunda önemli rolü olan regülatör ATRX'in nükleer ekspresyonunda kayba neden olur (145).

Bazı IDH mutant diffüz astrositomlarda; PDGFRa genini içeren 4q12 lokusunun, bir hücre siklusu regülatörü olan Siklin Bağımlı Kinaz 4'ü (CDK4) kodlayan 12q14'ün ve MYC'i içeren geniş bir amplikon olan 8q24'nın fokal

kazanımları görülmüştür (31). Bu bulgular, önceki çalışmalar ile elde edilen IDH mutant (MYC amplifikasyonu ile ilgili) ve IDH wild tip (CDK4 ve PDGFRA amplifikasyonu ile ilgili) pronöral glioblastom ile uyumlu saptanmıştır. PDGFRA, Ras/Raf/MAPK sinyal yolağını aktive eder. Böylece hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptozis süreçleri etkilenir. Özellikle pronöral glioblastom olgularında PDGFRA amplifikasyonu oldukça sıktır (146).

IDH mutant astrositomlar arasında histolojik ve genetik prognostik belirteçleri araştırmak için 211 hastada yapılan bir araştırmaya göre, genel sağkalım ile en çok ilişkili faktör CDKN2A homozigot delesyonudur (147). Bunun ardından genel sağkalım ile ilişkili faktörler nekroz ve toplam kopya sayısı değişikliğidir. Mitotik indeks de bunlardan sonra gelen faktör olarak bulunmuştur.

Araştırmamızdaki diffüz astrositom olgularında birden fazla hastada tespit ettiğimiz değişikliklerden biri 11p delesyonu olup; kayıp olan bölgeler 3 olguda 11p15.4 bölgesi, 2 olguda ise 11p15.5'ten 11p11.2 bandına kadar olan bölgedir. Literatürde gliom olgularında 11p15 bölgesinin kayıpları dikkat çekmiş ve bu bölge onkogenezele ilişkili tümör supresör genleri barındırabilmesi açısından değerlendirilmiştir (148). Bir çalışmada 11p15.4 sitobandında lokalize TRIM3 geninin glial onkogenezele ilişkili tümör supresör genlerden biri olabileceği bildirilmiştir (149). Çalışmamızın genelinde 11p15.4 bölgesinin kayıplarını gördüğümüz hastaların neredeyse tamamı IDH-mutant olgulardır. IDH-mutant diffüz astrositomların 5'inde, anaplastik astrositomların 2'sinde (IDH-mutant) ve 2 glioblastom olgusunda tespit edilmiştir. Glioblastomların biri IDH-mutant ve biri wild-tiptir. Bu bölgeye dair yapılmış çalışmalar IDH mutasyonunun keşfinden önce

yayınlandığı için, IDH-mutant veya wild tip olgulardaki sıklığına dair net bir bilgi yoktur. Ancak yakın dönemde yapılan çalışmalarda bu bölgenin kayıpları Grade IV olgularda bildirilmiştir (150,151). Bizim çalışmamızda ise aksine IDH-mutant ve düşük dereceli gliom olgularında daha sık görülmüştür.

Çalışmamızdaki IDH-mutant olgularda sık görülen bir diğer değişiklik de 7q duplikasyonudur. Diffüz astrositom grubunda 6 olguda, anaplastik astrositom grubunda 2 olguda ve glioblastom grubunda da IDH-mutant olan tek olguda saptanmıştır. 7q34 bölgesinin kazanımları pilositik astrositomlarda BRAF mutasyonu ile ilişkilendirilmiştir, ancak bu durum düşük dereceli gliomlarda görülmemektedir (152). Çalışmamızdaki hastalarda amplifiye olan bölgelerin hepsi (n=6) 7q31-34 bölgesini içermektedir. Beş olgu ise 7q21-36 bölgesini içermektedir. IDH-wild tip tümörlerde 7q21.2'deki CDK6 ve 7q31.2'deki MET protoonkogenin amplifiye olmuş olabileceği bildirilmiştir (153). Ancak bizim çalışmamızda izole 7q duplikasyonu saptadığımız olgular IDH-mutant olgulardır.

IDH wild tip diffüz astrositomlar, IDH wild tip glioblastomlar (primer glioblastom) ile klinik ve genomik benzerlik gösterirler. Kanser Genom Atlası Çalışma Grubunun araştırmasına göre, bu tümörlerde %23 PTEN, %27 EGFR, %20 NF1, %14 TP53, %9 PIK3CA, %7 Protein Tirozin Fosfataz Nonreseptör 11 (PTPN11) ve %5 Fosfolipaz C gamma 1 (PLCG1) mutasyonu saptanmıştır. Kopya sayısı değişiklikleri açısından; %56 Kromozom 7 kazancı ve %63 Kromozom 10 kayıpları saptanmıştır. Bu kromozomlardaki değişiklikler IDH mutant tümörlerde saptanmamıştır. IDH wild tip glioblastomlarla benzer olarak; %38 EGFR, %13

MDM4 ve %7 CDK4 fokal amplifikasyonları ile %63 CDKN2A ve %25 RB fokal delesyonları görülür.

Astrositik öncü hücreden *de novo* olarak primer glioblastom gelişmesine neden olan genetik değişiklikler: EGFR amplifikasyonu (7.kromozomda), 9.kromozomun kısa kolundaki p16 lokusunun homozigot delesyonu, hücre döngüsünde “Murine Double Minutes” proteinlerinin (MDM2) TP53 etkisini azaltması, kromozom 10’un uzun ve kısa kolunda olan kayıplar, PTEN ve TERT mutasyonlarıdır (154). Erişkin hastalarda kromozom 7 kazanımı, monozomi 10, PTEN delesyonu; ayrıca EGFR, CDK4-6, MET gen ve MDM2- 4 amplifikasyonu IDH wild tip glioblastom ile ilişkilendirilmiştir (155). Kromozom 7’deki kopya sayısı kazanımıyla HOXA genlerinin hipermetilasyonunun GBM için bir belirteç olabileceği gösterilmiştir (156). 10.kromozomun q kolunda tümör süpresör genler (PTEN, Mxi1, DMBT1, MMAC1) mevcuttur, 10q delesyonu GBM’lerin %90’ından fazlasında olduğu için moleküler bir belirteç olduğu gösterilmiştir (157). 22q heterozigosite kaybı ise sekonder GBM’de (%82) primer GBM’e göre (%41) daha sıktır (158).

Primer glioblastomda en sık gözlenen değişiklik %60-80 oran ile 10q23’te kayıplardır (159). 10q23.3-26.3 sitobandi özellikle PTEN, FGFR2, MKI67 ve MGMT genlerini barındırması bakımından gliomlarda önemli bir bölgedir (160). Çalışmamızda 10.kromozomda kayıp olan olguların tamamı bu bölgeyi de içermektedir. Birçok heterozigosite kaybı (LOH) çalışmasında 3 benzer lokusun delesyonu tanımlanmıştır: 10p14-p15, 10q23-24 (PTEN) ve 10q25-qter ve birçok tümör süpresör genin glioblastoma patogenezinde önemli rol oynadığı sonucuna

varılmıştır (161). IDH-mutant bir anaplastik astrositom olgusu dışında 10q delesyonunun görüldüğü tüm olgular IDH-wild tiptir. Çalışmamızda 10 q kaybı 17 hastada saptanmış olup bunların tamamı IDH wild-tiptir. 15 hastada beraberinde 10p kaybı da (monozomi 10) mevcuttur.

10.Kromozom üzerinde yer alan PTEN geni, iyi bilinen bir tümör baskılayıcı gendir. PTEN, hücre içerisindeki konumuna göre farklı aktivite gösterir. Sitoplazmada bulunan PTEN, fosfataz aktivitesi ile PI3K/AKT yolağının en önemli negatif düzenleyicisidir (162). Nukleustaki PTEN ise kromozom stabilitesinin düzenlenmesinde, DNA tamirinde ve apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesinde görevlidir (75,163). PTEN mutasyonları beyin tümörleri, prostat kanseri, meme kanseri gibi çeşitli kanserlerde görülmektedir (164). Mutasyonlar sonucu PTEN'in fosfataz aktivitesinin kaybolması, hücre zarında Fosfatidilinositol 3,4,5-Trifosfat (PIP3) birikimine yol açar. Bunun sonucunda aktifleşen AKT/mTOR sinyal iletim yolu, hücre büyümesi ve hücre çoğalmasını tetikler. PTEN mutasyonları olan kanserlerin tedavilerinde, AKT/mTOR sinyal iletim yolunda görevli çeşitli proteinleri hedef alan stratejiler geliştirilmektedir. PTEN tümör supresör geni 10q23 kromozomal bölgesinde yerleşimlidir. PTEN inaktivasyonu çok farklı şekillerde ortaya çıkabilir. Düşük gradeli tümörlerde, PTEN metilasyonla susturulur (165). GBM onkogenezinde en sık ve en erken ortaya çıkan temel değişiklik ise 10.kromozom kopyalarından birinin (heterozigot) kaybıdır (166). Bu kayıp sadece PTEN geninde olabileceği gibi, PTEN'in yerleştiği kromozomal bölgede ya da 10.kromozomun tamamında olabilir (167). Kayıp bölgede başka tümör supresör genlerinin de kaybının onkogeneze katkısı olduğu düşünülmektedir. PTEN tümör

supresör geninin iki kopyasından birinin kaybı, diğer kopya sağlam olmasına rağmen kansere yatkınlık oluşturur. (“haploinsufficiency”) GBM’de, PTEN kaybının en erken genetik değişiklik olduğu konusunda fikir birliği vardır.

Glioblastomda sık rastlanan genetik değişikliklerden biri de EGFR’nin aşırı aktivasyonudur. EGFR aşırı ekspresyonu (amplifikasyonu), primer glioblastomlu hastaların yaklaşık %40-50’sinde görülür. Ligandın reseptöre bağlanmasıyla intrasellüler tirozin kinaz fosforlanır ve PI3K/AKT/mTOR yoluyla aktive olur (168). EGFR ve EGFR-ilişkili hücresel yollarda meydana gelen değişimler, tümör büyümesini, migrasyonu ve anjiogenezi artırıcı etki gösterir. EGFR amplifikasyonu, 7.kromozomda EGFR geninin yerleştiği bölgenin (7p11.2) ya da 7. kromozomun kopya sayısı artışı şeklinde olabilir. EGFR amplifikasyonu, glioblastoma için kötü bir prognostik faktördür ve daha kısa genel sağ kalımla ilişkilidir (169). EGFR’yi hedefleyen tedaviler GBM’de de denenmiştir. Ancak akciğer kanserinde görülen etkilere benzer bir klinik yarar sağlanamamıştır (170). EGFR amplifikasyonu saptanmamış glioblastomda genellikle bir başka reseptör tirozin kinazın amplifikasyonu (genellikle PDGFRa) vardır.

Glioblastomlar, mRNA-ekspresyonu analizine göre pronöral, nöral, klasik ve mezenşimal olmak üzere 4 alt türe ayrılmıştır (171). Daha sonraki yıllarda tek bir glioblastom hastasından elde edilen primer tümörden 4 farklı alt klon elde edilmiştir ve bu klonlar karşılaştırılmıştır (172). Buna göre her bir klon farklı hücre popülasyonlarından oluşur ve büyüme hızları farklıdır. Klonların tümör oluşturma kapasiteleri ve EGFR inhibitörü duyarlılıkları da farklıdır. Yani bu transkriptomal alt tiplerin tedaviye yanıtı da farklıdır. Örneğin mezenşimal alt tür, radyorezistan

ve kötü sağ kalım ile ilişkilidir. Pronöral alt türün antianjiogenik tedaviden fayda görebileceği bildirilmiştir (173).

IDH-wild tip herhangi bir diffüz gliom; TERT promotor mutasyonu, EGFR amplifikasyonu, Kromozom 7 kazanımı ve Kromozom 10 kaybı olduğunda glioblastom benzeri klinik seyir göstermektedir (88–90). WHO 2016’ya göre bunlardan herhangi biri varsa “Glioblastom moleküler özellikleri gösteren diffüz gliom, WHO Grade IV” olarak kabul edilmesi önerilmiştir (27,90).

Çalışmamızda tüm kromozomu içeren en sık değişiklik trizomi 7’dir ve 16 hastada tespit edilmiştir. Trizomi 7, gliom olgularında sıklıkla rapor edilen bir bulgudur (31). 10q kaybı ile kombinasyonunun, IDH-wild tip glioblastom onkogenezinde erken bir olay olduğu ve IDH-wild tip Grade II-III gliomlarda da kötü prognoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir (88,174). Glioblastom olgularında sık görülen değişiklikler parsiyel veya total kromozom 9 ve 10 kayıpları; kromozom 7, 19 ve 20’nin polizomileri; CDKN2A/B lokusunun (9p21.3) fokal delesyonu; ve EGFR lokusunun (7p11.2) fokal amplifikasyonlarıdır (175). Trizomi 7 tespit ettiğimiz hastalardan biri IDH-mutant Grade II’dir. Diğer olguların tamamı IDH-wild tip gliomdur; bir olgu Grade II, iki olgu Grade III, diğerleri (n=13) ise Grade IV’tür.

Grade III ve IV gliomlarda 9p delesyonunun özellikle 9p21.3 bölgesinin kötü prognozla ilişkili olduğu daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (176). 2002-2013 yıllarında yayınlanmış 13 farklı araştırmayı içeren bir meta-analize göre; çoğu araştırmada IDH1/2 mutasyonu gibi faktörler hesaplanmamış olsa da,

subgrup analizinde 9p kaybının özellikle glioblastom olgularında genel sağ kalıma etkisi olduğu saptanmıştır (177). Güncel bir çalışmada ise, Grade II ve III gliomlarda da 9p kaybının IDH'dan bağımsız bir prognostik faktör olduğu görülmüştür (178). Başka bir çalışmada 9p kaybı, anaplastik oligodendrogliomlarda zayıf prognostik faktör olarak saptanmıştır (179). Bizim çalışmamızda, 9p21.3 bölgesi kaybı gözlenen 6 hasta ve buna ek olarak 9p'nin diğer bölgelerinin veya tamamının kaybının gözlemlendiği 17 hasta mevcut olup, bu olguların 13'ü glioblastom olgularıdır ve IDH mutasyonu negatiftir. Diğer olgular ise IDH mutant diffüz astrositom ve anaplastik astrositom olgularıdır.

Çalışmamızda trizomi 20 saptanan 8 hasta mevcuttur. Bir hasta IDH-mutant, diğer hastalar ise IDH-wild tiptir. 20p amplifikasyonu primer glioblastom oluşumunda meydana gelen değişikliklerden biri olarak bildirilmiştir (180). Ancak 20p duplikasyonu veya trizomi 20'ye yönelik bilgiler literatürdeki çalışmalarda detaylandırılmamıştır. Bir başka dikkat çeken bulgu 14q11.2 bölgesinin delesyonudur. IDH-mutant 2 hastada ve IDH-wild tip 6 hastada tespit edilmiştir. Literatürde bu bölgedeki NDRG2 geninin, gliom onkogenezinde aday bir tümör supresör gen olabileceği bildirilmiştir (181,182). Çalışmamızda 6q delesyonu 8 hastada bildirilmiştir. Bunların ikisi IDH-mutant, diğer altısı ise IDH-wild tip olgulardır. 6q delesyonu, glioblastom olgularında sıklıkla olmasa da literatürde daha önceden bildirilmiş değişiklikler arasındadır (142,183).

Çalışmamızdaki oligodendrogliom olgularında patognomonik olan 1p ve 19q delesyonu izlenmiştir. Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada bu bölgelerde aday kanser genler ve mekanizmaları açıklanmıştır. ELTD1, SDHB, SEPW1,

SLC17A7, SZRD1, THAP3, ZBTB17 genlerinin oluşuma öncül olduğunu, CAP1, HBXIP, KLK6, PARK7, PTAFR genlerinin ise oligodendrogliom oluşumunu engellediği bildirilmiştir (184).

Genomdaki toplam CNV yükü açısından yapılmış çalışmalara baktığımızda, bu bulgunun IDH-wild tip olgularda kötü prognoz ile ilişkili olduğu görülmüştür (185). Güncel çalışmalarda da, toplam CNV düzeyi astrositomlarda prognostik bir faktör olarak kabul edilmiştir (150,186). Buna yönelik, IDH mutant Grade II ve III astrositomlarda bir eşik değeri belirlemeyi amaçlayan bir çalışma da yapılmıştır (187). Ancak bu çalışmada IDH-wild tip astrositomlar veya IDH-mutant glioblastom olgularında toplam CNV düzeyinin prognostik faktör olamayacağı belirtilmiştir. Çalışmamızdaki IDH-wild tip olgularda ise kopya sayısı değişiklikliği 3 ile 27 bölge arasında değişmekte olup, ortalama 11,5 bölgedir. IDH mutant olgularda 2-17 bölge arasında ve ortalama 5,7 bölgedir. Yani çalışmamızda yüksek dereceli gliom olgularında CNV düzeyi daha fazla saptanmıştır. Ancak düşük dereceli gliom olgularının hemen hemen hepsinde IDH mutasyonu olması ve yüksek dereceli olgularda ise wild tip tespit edilmiş olması nedeniyle, bu durumun IDH ile ilişkili olup olmadığı araştırılamamıştır.

Array CGH yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda hasta sayısını incelediğimizde; ülkemizde yapılmış bir çalışmada 20 glioblastom olgusunda kopya sayısı değişikliklerinin araştırıldığını gördük (188). Yakın zamanda yayınlanan yurtdışı kaynaklı bir araştırmada ise farklı histopatolojik derecedeki 14 astrositom olgusu değerlendirilmiştir (189). Yine yurtdışı kaynaklı bir araştırmada 9 pediatrik glioblastomlu olguda kopya sayısı varyasyonları araştırılmıştır (190).

Başka bir araştırmada 78 glioblastom olgusunda kopya sayısı değişiklikleri incelenmiştir (183). Literatüre göre araştırmamızdaki hasta sayısının yeterli olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda sınırlayıcı olabilecek bir faktör glioblastom olgularında subtiplendirme yapamamız olabilir. Özellikle yakın dönemde yapılan genetik çalışmalarda glioblastom olgularında 4 klona göre subtiplendirme yapıldığını ve intratümöral heterojenitenin değerlendirildiğini görmekteyiz (191). Bir diğer nokta; gliomlarda prognoza etkisi kanıtlanan mutasyonun yalnızca IDH mutasyonu olması nedeniyle, çalışmamızda glial tümörlere yönelik bir mutasyon paneli oluşturmamamızdır. Üretici firmaların COSMIC'e göre oluşturduğu hotspot mutasyon panelinde her ne kadar TP53, EGFR, PTEN, CDKN2A, PDGFRA genleri bulunsun da TERT mutasyonu bulunmamaktaydı. Bu nedenle çalışmamızda TERT mutasyonu çalışılamamıştır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, diffüz gliom olgularında moleküler karyotipleme yapılarak tümör dokularının kayıp ve kazanç bölgeleri değerlendirilmiş, gliom olgularında 1p/19q kodelesyonuna ek olarak iyi veya kötü prognoz ile ilişkili olabilecek genetik nedenler araştırılmıştır. Ayrıca, sık görülen somatik kanser mutasyonlarını içeren tarama yapılarak, IDH mutasyonuna ek olarak literatüre katkı sağlayabilecek ve iyi veya kötü prognoz ile ilişkilendirilebilecek mutasyon yönünden araştırma yapılmıştır. Gruplar içinde farklılık oluşturan olgular tek tek ele alınarak tartışılmıştır. Bununla beraber, birden fazla hastada var olduğu görülen değişiklikler incelenmiştir. Diffüz astrositom ve oligodendrogliom grubundaki hastalarda araştırmamızın takip süresi içinde prognoz yönünden istatistiki olarak anlamlı olabilecek bir farklılık tespit edilmemiştir. Anaplastik astrositom grubunda malign transformasyon gözlenen ve vefat eden hastalar ile glioblastom grubunda vefat eden hastalar olması nedeniyle, elde edilen genetik bulgular sağ kalım süreleri ile karşılaştırılmıştır. Buna göre araştırmamızdaki diffüz gliom olgularında IDH mutasyonu ve kopya sayısı yükünün az olmasının iyi prognoz ile; 6q delesyonu, 9p delesyonu, monozomi 10, trizomi 7, trizomi 20 varlığının düşük sağ kalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, Liu M, Blanda R, Kromer C, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro Oncol* [Internet]. 2015 Oct;17(suppl 4):iv1–62. Available from: <http://neuro-oncology.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/neuonc/nov189>
2. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2016 Jun 9;131(6):803–20. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-016-1545-1>
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2018;68(6):394–424. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30207593>
4. T.C. Sağlık Bakanlığı HSGM. 2015 Türkiye Kanseri istatistikleri. In Ankara; 2018. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2015.pdf
5. Ostrom QT, Gittleman H, Truitt G, Boscia A, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol* [Internet]. 2018 Oct 1;20(suppl_4):iv1–86. Available from: https://academic.oup.com/neuro-oncology/article/20/suppl_4/iv1/5090960
6. Chang SM, Mehta MP, Vogelbaum MA, Taylor MD, Ahluwalia MS. Neoplasms of the central nervous system. In: DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology. 11th ed. Wolters-Kluwer; 2018. p. 1568–616.

7. Preston DL. Tumors of the Nervous System and Pituitary Gland Associated With Atomic Bomb Radiation Exposure. *CancerSpectrum Knowl Environ* [Internet]. 2002 Oct 16;94(20):1555–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12381708>
8. Ron E, Modan B, Boice JD, Alfandary E, Stovall M, Chetrit A, et al. Tumors of the Brain and Nervous System after Radiotherapy in Childhood. *N Engl J Med* [Internet]. 1988 Oct 20;319(16):1033–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3173432>
9. Minniti G, Traish D, Ashley S, Gonsalves A, Brada M. Risk of second brain tumor after conservative surgery and radiotherapy for pituitary adenoma: Update after an additional 10 years. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2005 Feb;90(2):800–4. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2004-1152>
10. Neglia JP, Robison LL, Stovall M, Liu Y, Packer RJ, Hammond S, et al. New primary neoplasms of the central nervous system in survivors of childhood cancer: A report from the childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2006 Nov 1;98(21):1528–37. Available from: <http://academic.oup.com/jnci/article/98/21/1528/2521865/New-Primary-Neoplasms-of-the-Central-Nervous>
11. Carlberg M, Hardell L. Evaluation of Mobile Phone and Cordless Phone Use and Glioma Risk Using the Bradford Hill Viewpoints from 1965 on Association or Causation. *Biomed Res Int* [Internet]. 2017;2017:1–17. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/9218486/>
12. Amirian ES, Zhou R, Wrensch MR, Olson SH, Scheurer ME, Il'yasova D, et al. Approaching a Scientific Consensus on the Association between Allergies and Glioma Risk: A Report from the Glioma International Case-Control Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2016 Feb 1;25(2):282–90. Available from: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1055-9965.EPI-15-0847>

13. Kinnersley B, Kamatani Y, Labussire M, Wang Y, Galan P, Mokhtari K, et al. Search for new loci and low-frequency variants influencing glioma risk by exome-array analysis. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2016 May 12;24(5):717–24. Available from: <http://www.nature.com/articles/ejhg2015170>
14. Malmer B, Iselius L, Holmberg E, Collins A, Henriksson R, Grönberg H. Genetic epidemiology of glioma. *Br J Cancer* [Internet]. 2001 Feb 5;84(3):429–34. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1054/bjoc.2000.1612>
15. Melin B. Genetic causes of glioma: New leads in the labyrinth. *Curr Opin Oncol* [Internet]. 2011 Nov;23(6):643–7. Available from: <http://journals.lww.com/00001622-201111000-00014>
16. Mark S. Greenberg. Primary Tumors of the Nervous and Related Systems. In: *Handbook of Neurosurgery*. 9th ed. Thieme; 2019. p. 589–736.
17. Scherer HJ. The Forms of Growth in Gliomas and Their Practical Significance. *Brain* [Internet]. 1940;63(1):1–35. Available from: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/63.1.1>
18. Selby R. The surgical treatment of cerebral glioblastoma multiforme: an historical review. *J Neurooncol* [Internet]. 1994 Oct;18(3):175–82. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF01328951>
19. Eastman FC. A Classification of the Tumors of the Glioma Group on a Histogenetic Basis With a Correlated Study of Prognosis. Vol. 84, *Annals of Surgery*. JB Lippincott Company; 1926. 143–144 p.
20. BEAHRs OH. Surgery of the head and neck. In: Keen WW, editor. *Surgery, gynecology & obstetrics*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1961. p. 748–9.
21. Dandy W. Treatment of non-encapsulated brain tumors by extensive resection of contiguous brain tissue. III. Cerebral ventriculotomy. *Johns*

Hopkins Hosp Bull. 1922;33:189.

22. Scherer HJ. a Critical Review: the Pathology of Cerebral Gliomas. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1940;3(2):147–77.
23. A classification of the tumours of the glioma group on a histogenetic basis, with a correlated study of prognosis. By Percival Bailey and Harvey Cushing. Medium 8vo. Pp. 175, with 108 illustrations. 1926. Philadelphia, London, and Montreal: J. B. Lippincott. Br J Surg [Internet]. 1927 Jan;14(55):554–5. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/bjs.1800145540>
24. Zuelch KJ. Principles of the new WHO classification of brain tumors. In: Journal of Neurosurgical Sciences [Internet]. 1978. p. 1–5. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-67028-2_56
25. Daumas-Duport C, Scheithauer B, O’Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas: A simple and reproducible method. Cancer [Internet]. 1988 Nov 15;62(10):2152–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3179928>
26. Avşar T, Kılıç T. Yüksek Gradeli Gliomların Moleküler Biyolojisi. Türk Nöroşirürji Derg. 2017;27(2):162–8.
27. Danyeli AE. Santral Sinir Sistemi Tümörlerinin Sınıflaması - Geçmişten Güncele. Türk Nöroşirürji Derg. 2019;29(3):217–25.
28. Louis DN, Wesseling P, Paulus W, Giannini C, Batchelor TT, Cairncross JG, et al. cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). Acta Neuropathol [Internet]. 2018 Mar 25;135(3):481–4. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-018-1808-0>
29. Ostrom QT, Gittleman H, Farah P, Ondracek A, Chen Y, Wolinsky Y, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2006-2010. Neuro Oncol

- [Internet]. 2013 Nov 1;15(suppl 2):ii1–56. Available from:
<https://academic.oup.com/neuro-oncology/article-lookup/doi/10.1093/neuonc/not151>
30. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2002 Mar 1;61(3):215–25. Available from: <https://academic.oup.com/jnen/article-lookup/doi/10.1093/jnen/61.3.215>
 31. Brat DJ, Verhaak RGW, Aldape KD, Yung WKA, Salama SR, Cooper LAD, et al. Comprehensive, integrative genomic analysis of diffuse lower-grade gliomas. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Jun 25;372(26):2481–98. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1402121>
 32. Tandon A, Schiff D. Therapeutic Decision Making in Patients with Newly Diagnosed Low Grade Glioma. *Curr Treat Options Oncol* [Internet]. 2014 Dec 20;15(4):529–38. Available from:
<http://link.springer.com/10.1007/s11864-014-0304-6>
 33. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Vecchione-Koval T, Wolinsky Y, Kruchko C, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014. *Neuro Oncol* [Internet]. 2017 Nov 6;19(5):v1–88. Available from:
http://academic.oup.com/neuro-oncology/article/19/suppl_5/v1/4596648
 34. Sihoe ADL. Role of Surgery in the Diagnosis and Management of Tuberculosis. In: Apuzzo MLJ, editor. *Microbiology Spectrum*. Park Ridge, Illinois: American Association of Neurological Surgeons; 2017. p. 293–307.
 35. Schiff D. Low-grade Gliomas. *Contin Lifelong Learn Neurol* [Internet]. 2015 Apr;21:345–54. Available from: <http://journals.lww.com/00132979-201504000-00009>

36. van den Bent MJ, Chang SM. Grade II and III Oligodendroglioma and Astrocytoma. *Neurol Clin* [Internet]. 2018 Aug;36(3):467–84. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733861918312027>
37. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JCH, Leary RJ, Angenendt P, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* (80-) [Internet]. 2008 Sep 26;321(5897):1807–12. Available from: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1164382>
38. Yen KE, Bittinger MA, Su SM, Fantin VR. Cancer-associated IDH mutations: Biomarker and therapeutic opportunities. *Oncogene* [Internet]. 2010 Dec 25;29(49):6409–17. Available from: <http://www.nature.com/articles/onc2010444>
39. Zhang C, Moore LM, Li X, Yung WKA, Zhang W. IDH1/2 mutations target a key hallmark of cancer by deregulating cellular metabolism in glioma. *Neuro Oncol* [Internet]. 2013 Sep;15(9):1114–26. Available from: <https://academic.oup.com/neuro-oncology/article-lookup/doi/10.1093/neuonc/not087>
40. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* [Internet]. 2009 Dec 22;462(7274):739–44. Available from: <http://www.nature.com/articles/nature08617>
41. Turcan S, Rohle D, Goenka A, Walsh LA, Fang F, Yilmaz E, et al. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature* [Internet]. 2012 Mar 15;483(7390):479–83. Available from: <http://www.nature.com/articles/nature10866>
42. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Feb 19;360(8):765–73. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa0808710>

43. Watanabe K, Peraud A, Gratas C, Wakai S, Kleihues P, Ohgaki H. p53 and PTEN gene mutations in gemistocytic astrocytomas. *Acta Neuropathol* [Internet]. 1998 Jun 15;95(6):559–64. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s004010050840>
44. Babu R, Bagley JH, Park JG, Friedman AH, Adamson C. Low-grade astrocytomas: The prognostic value of fibrillary, gemistocytic, and protoplasmic tumor histology. *J Neurosurg* [Internet]. 2013 Aug;119(2):434–41. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/119/2/article-p434.xml>
45. Broniscer A, Baker SJ, West AN, Fraser MM, Proko E, Kocak M, et al. Clinical and molecular characteristics of malignant transformation of low-grade glioma in children. *J Clin Oncol* [Internet]. 2007 Feb 9;25(6):682–9. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2006.06.8213>
46. Shafqat S, Hedley-Whyte ET, Henson JW. Age-dependent rate of anaplastic transformation in low-grade astrocytoma. *Neurology* [Internet]. 1999 Mar 1;52(4):867–9. Available from: <http://www.neurology.org/cgi/doi/10.1212/WNL.52.4.867>
47. Bai H, Harmanci AS, Erson-Omay EZ, Li J, Coşkun S, Simon M, et al. Integrated genomic characterization of IDH1-mutant glioma malignant progression. *Nat Genet* [Internet]. 2015 Jan 30;48(1):59–66. Available from: <http://www.nature.com/articles/ng.3457>
48. Özdoğan K, Pamir MN. Düşük Gradelı Gliomların Moleküler Biyolojisi. *Türk Nöroşirürji Derg*. 2017;27(2):150–61.
49. Batista R, Cruvinel-Carlioni A, Vinagre J, Peixoto J, Catarino TA, Campanella NC, et al. The prognostic impact of TERT promoter mutations in glioblastomas is modified by the rs2853669 single nucleotide polymorphism. *Int J Cancer* [Internet]. 2016 Jul 15;139(2):414–23. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.30057>

50. Jakola AS, Skjulsvik AJ, Myrmel KS, Sjøvik K, Unsgård G, Torp SH, et al. Surgical resection versus watchful waiting in low-grade gliomas. *Ann Oncol* [Internet]. 2017 Aug;28(8):1942–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419321611>
51. Jakola AS, Myrmel KS, Kloster R, Torp SH, Lindal S, Unsgård G, et al. Comparison of a strategy favoring early surgical resection vs a strategy favoring watchful waiting in low-grade gliomas. *JAMA - J Am Med Assoc* [Internet]. 2012 Nov 14;308(18):1881–8. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2012.12807>
52. Capelle L, Fontaine D, Mandonnet E, Taillandier L, Golmard JL, Bauchet L, et al. Spontaneous and therapeutic prognostic factors in adult hemispheric World Health Organization Grade II gliomas: A series of 1097 cases. *J Neurosurg* [Internet]. 2013 Jun;118(6):1157–68. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/118/6/article-p1157.xml>
53. Van Den Bent MJ, Snijders TJ, Bromberg JEC. Current treatment of low grade gliomas. *Memo - Mag Eur Med Oncol* [Internet]. 2012 Sep 5;5(3):223–7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12254-012-0014-3>
54. Pignatti F, van den Bent M, Curran D, Debruyne C, Sylvester R, Therasse P, et al. Prognostic Factors for Survival in Adult Patients With Cerebral Low-Grade Glioma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2002 Apr 15;20(8):2076–84. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2002.08.121>
55. Smith JS, Chang EF, Lamborn KR, Chang SM, Prados MD, Cha S, et al. Role of Extent of Resection in the Long-Term Outcome of Low-Grade Hemispheric Gliomas. *J Clin Oncol* [Internet]. 2008 Mar 10;26(8):1338–45. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2007.13.9337>
56. De Benedictis A, Moritz-Gasser S, Duffau H. Awake Mapping Optimizes the Extent of Resection for Low-Grade Gliomas in Eloquent Areas. *Neurosurgery* [Internet]. 2010 Jun 1;66(6):1074–84. Available from:

<https://academic.oup.com/neurosurgery/article/66/6/1074/2556793>

57. De Witt Hamer PC, Robles SG, Zwinderman AH, Duffau H, Berger MS. Impact of Intraoperative Stimulation Brain Mapping on Glioma Surgery Outcome: A Meta-Analysis. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012 Jul 10;30(20):2559–65. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2011.38.4818>
58. Terakawa Y, Yordanova YN, Tate MC, Duffau H. Surgical management of multicentric diffuse low-grade gliomas: Functional and oncological outcomes. *J Neurosurg* [Internet]. 2013 Jun;118(6):1169–75. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/118/6/article-p1169.xml>
59. McGirt MJ, Chaichana KL, Attenello FJ, Weingart JD, Than K, Burger PC, et al. Extent of Surgical Resection is Independently Associated with Survival in Patients with Hemispheric Infiltrating Low-Grade Gliomas. *Neurosurgery* [Internet]. 2008 Oct 1;63(4):700–8. Available from: <https://academic.oup.com/neurosurgery/article/63/4/700/2558343>
60. Patel SH, Bansal AG, Young EB, Batchala PP, Patrie JT, Lopes MB, et al. Extent of surgical resection in lower-grade gliomas: Differential impact based on molecular subtype. *Am J Neuroradiol* [Internet]. 2019 Jul;40(7):1149–55. Available from: <http://www.ajnr.org/lookup/doi/10.3174/ajnr.A6102>
61. Shaw EG, Berkey B, Coons SW, Bullard D, Brachman D, Buckner JC, et al. Recurrence following neurosurgeon-determined gross-total resection of adult supratentorial low-grade glioma: Results of a prospective clinical trial - Clinical article. *J Neurosurg* [Internet]. 2008 Nov;109(5):835–41. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/109/5/article-p835.xml>
62. Donovan LE, Lassman AB. Chemotherapy Treatment and Trials in Low-Grade Gliomas. *Neurosurg Clin N Am* [Internet]. 2019 Jan;30(1):103–9. Available from:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S104236801830888X>

63. Geurts M, van den Bent MJ. On high-risk, low-grade glioma: What distinguishes high from low? *Cancer* [Internet]. 2019 Jan 15;125(2):174–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.31834>
64. Van Den Bent MJ, Afra D, De Witte O, Ben Hassel M, Schraub S, Hoang-Xuan K, et al. Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: The EORTC 22845 randomised trial. *Lancet* [Internet]. 2005 Sep;366(9490):985–90. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673605670705>
65. Karim ABMF, Maat B, Hatlevoll R, Menten J, Rutten EHJM, Thomas DGT, et al. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low-grade cerebral glioma: European organization for research and treatment of cancer (EORTC) study 22844. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* [Internet]. 1996 Oct;36(3):549–56. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360301696003525>
66. Shaw E, Arusell R, Scheithauer B, O’Fallon J, O’Neill B, Dinapoli R, et al. Prospective randomized trial of low-versus high-dose radiation therapy in adults with supratentorial low-grade glioma: Initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *J Clin Oncol* [Internet]. 2002 May 1;20(9):2267–76. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2002.09.126>
67. Buckner JC, Shaw EG, Pugh SL, Chakravarti A, Gilbert MR, Barger GR, et al. Radiation plus procarbazine, CCNU, and vincristine in low-grade glioma. *N Engl J Med* [Internet]. 2016 Apr 7;374(14):1344–55. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1500925>
68. Baumert BG, Hegi ME, van den Bent MJ, von Deimling A, Gorlia T, Hoang-Xuan K, et al. Temozolomide chemotherapy versus radiotherapy in

- high-risk low-grade glioma (EORTC 22033-26033): a randomised, open-label, phase 3 intergroup study. *Lancet Oncol* [Internet]. 2016 Nov;17(11):1521–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204516303138>
69. Chang EF, Smith JS, Chang SM, Lamborn KR, Prados MD, Butowski N, et al. Preoperative prognostic classification system for hemispheric low-grade gliomas in adults: Clinical article. *J Neurosurg* [Internet]. 2008 Nov;109(5):817–24. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/109/5/article-p817.xml>
 70. Narayan P, Olson JJ. Management of Anaplastic Astrocytoma. *Contemp Neurosurg* [Internet]. 2001;23(24). Available from: https://journals.lww.com/contempneurosurg/Fulltext/2001/12010/Management_of_Anaplastic_Astrocytoma.1.aspx
 71. Chang S, Zhang P, Cairncross JG, Gilbert MR, Bahary J-P, Dolinskas CA, et al. Phase III randomized study of radiation and temozolomide versus radiation and nitrosourea therapy for anaplastic astrocytoma: results of NRG Oncology RTOG 9813. *Neuro Oncol* [Internet]. 2016 Dec 18;now236. Available from: <https://academic.oup.com/neuro-oncology/article-lookup/doi/10.1093/neuonc/now236>
 72. Ruff MW, Uhm J. Anaplastic Glioma: Treatment Approaches in the Era of Molecular Diagnostics. *Curr Treat Options Oncol* [Internet]. 2018 Dec 25;19(12):61. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11864-018-0579-0>
 73. Ichimura K, Schmidt EE, Miyakawa A, Goike HM, Collins VP. Distinct patterns of deletion on 10p and 10q suggest involvement of multiple tumor suppressor genes in the development of astrocytic gliomas of different malignancy grades. *Genes, Chromosom Cancer* [Internet]. 1998 May;22(1):9–15. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291098->

2264%28199805%2922%3A1%3C9%3A%3AAID-
GCC2%3E3.0.CO%3B2-1

74. Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D, Capper D, Hovestadt V, Kratz A, et al. IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2015 Jun 12;129(6):867–73. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-015-1438-8>
75. van den Bent MJ, Baumert B, Erridge SC, Vogelbaum MA, Nowak AK, Sanson M, et al. Interim results from the CATNON trial (EORTC study 26053-22054) of treatment with concurrent and adjuvant temozolomide for 1p/19q non-co-deleted anaplastic glioma: a phase 3, randomised, open-label intergroup study. *Lancet* [Internet]. 2017 Oct;390(10103):1645–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617314423>
76. Ostrom QT, Gittleman H, Stetson L, Virk S, Barnholtz-Sloan JS. Epidemiology of Intracranial Gliomas. In 2018. p. 1–11. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/464374>
77. 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 Neuropathol* [Internet]. 2007 Jul 12;114(2):97–109. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-007-0243-4>
78. TAMIMI AF, JUWEID M. Epidemiology and Outcome of Glioblastoma. In: *Glioblastoma* [Internet]. Codon Publications; 2017. p. 143–53. Available from: <https://exonpublications.com/index.php/exon/article/view/130>
79. Marenco-Hillebrand L, Wijesekera O, Suarez-Meade P, Mampre D, Jackson C, Peterson J, et al. Trends in glioblastoma: outcomes over time and type of intervention: a systematic evidence based analysis. *J Neurooncol* [Internet]. 2020 Mar 9;147(2):297–307. Available from:

<http://link.springer.com/10.1007/s11060-020-03451-6>

80. Kopelson G, Linggood R. Infratentorial glioblastoma: the role of neuraxis irradiation. *Int J Radiat Oncol* [Internet]. 1982 Jun;8(6):999–1003. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0360301682901675>
81. Wipfler K, Cornish AS, Guda C. Comparative molecular characterization of typical and exceptional responders in glioblastoma. *Oncotarget* [Internet]. 2018 Jun 19;9(47):28421–33. Available from:
<http://www.oncotarget.com/fulltext/25420>
82. Furnari FB, Fenton T, Bachoo RM, Mukasa A, Stommel JM, Stegh A, et al. Malignant astrocytic glioma: Genetics, biology, and paths to treatment. *Genes Dev* [Internet]. 2007 Nov 1;21(21):2683–710. Available from:
<http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.1596707>
83. Gorovets D, Kannan K, Shen R, Kastenhuber ER, Islamdoust N, Campos C, et al. IDH mutation and neuroglial developmental features define clinically distinct subclasses of lower grade diffuse astrocytic glioma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2012 May 1;18(9):2490–501. Available from:
<http://clincancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1078-0432.CCR-11-2977>
84. Margison GP, Kleihues P. Chemical carcinogenesis in the nervous system. Preferential accumulation of O6-methylguanine in rat brain deoxyribonucleic acid during repetitive administration of N-methyl-N-nitrosourea. *Biochem J* [Internet]. 1975 Jun 1;148(3):521–5. Available from:
<https://portlandpress.com/biochemj/article/148/3/521/9931/Chemical-carcinogenesis-in-the-nervous-system>
85. Qian XC, Brent TP. Methylation hot spots in the 5' flanking region denote silencing of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene. *Cancer Res* [Internet]. 1997 Sep 1;57(17):3672–7. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9288770>

86. Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, Hamou M-F, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. *N Engl J Med* [Internet]. 2005 Mar 10;352(10):997–1003. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa043331>
87. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2013 Feb 15;19(4):764–72. Available from: <http://clincancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1078-0432.CCR-12-3002>
88. Aibaidula A, Chan AK-Y, Shi Z, Li Y, Zhang R, Yang R, et al. Adult IDH wild-type lower-grade gliomas should be further stratified. *Neuro Oncol* [Internet]. 2017 Oct;19(10):1327–37. Available from: <http://academic.oup.com/neuro-oncology/article/19/10/1327/3855695/Adult-IDH-wildtype-lowergrade-gliomas-should-be>
89. Stichel D, Ebrahimi A, Reuss D, Schrimpf D, Ono T, Shirahata M, et al. Distribution of EGFR amplification, combined chromosome 7 gain and chromosome 10 loss, and TERT promoter mutation in brain tumors and their potential for the reclassification of IDHwt astrocytoma to glioblastoma. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2018 Nov 5;136(5):793–803. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-018-1905-0>
90. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Holland EC, Louis DN, Jenkins RB, et al. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for “Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV.” *Acta Neuropathol* [Internet]. 2018 Nov 26;136(5):805–10. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-018-1913-0>
91. Nakamura M. Promoter methylation of the DNA repair gene MGMT in astrocytomas is frequently associated with G:C -> A:T mutations of the TP53 tumor suppressor gene. *Carcinogenesis* [Internet]. 2001 Oct

- 1;22(10):1715–9. Available from: <https://academic.oup.com/carcin/article-lookup/doi/10.1093/carcin/22.10.1715>
92. Bello MJ, Alonso ME, Amiñoso C, Anselmo NP, Arjona D, Gonzalez-Gomez P, et al. Hypermethylation of the DNA repair gene MGMT: Association with TP53 G:C to A:T transitions in a series of 469 nervous system tumors. *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen* [Internet]. 2004 Oct;554(1–2):23–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0027510704000752>
 93. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* [Internet]. 2005 Mar 10;352(10):987–96. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa043330>
 94. Grabowski MM, Recinos PF, Nowacki AS, Schroeder JL, Angelov L, Barnett GH, et al. Residual tumor volume versus extent of resection: Predictors of survival after surgery for glioblastoma. *J Neurosurg* [Internet]. 2014 Nov;121(5):1115–23. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/121/5/article-p1115.xml>
 95. Keles GE, Anderson B, Berger MS. The effect of extent of resection on time to tumor progression and survival in patients with glioblastoma multiforme of the cerebral hemisphere. *Surg Neurol* [Internet]. 1999 Oct;52(4):371–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090301999001032>
 96. Brown TJ, Brennan MC, Li M, Church EW, Brandmeir NJ, Rakszawski KL, et al. Association of the extent of resection with survival in glioblastoma a systematic review and meta-Analysis. *JAMA Oncol* [Internet]. 2016 Nov 1;2(11):1460–9. Available from: <http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2016.1373>
 97. Kreth F-W, Thon N, Simon M, Westphal M, Schackert G, Nikkhah G, et al.

Gross total but not incomplete resection of glioblastoma prolongs survival in the era of radiochemotherapy. *Ann Oncol* [Internet]. 2013 Dec;24(12):3117–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419367328>

98. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2006 May;7(5):392–401. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204506706659>
99. 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. *Lancet Oncol* [Internet]. 2009 May;10(5):459–66. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204509700257>
100. Roldán Urgoiti GB, Singh AD, Easaw JC. Extended adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* [Internet]. 2012 May 2;108(1):173–7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11060-012-0826-3>
101. Weller M, Le Rhun E, Preusser M, Tonn J-C, Roth P. How we treat glioblastoma. *ESMO Open* [Internet]. 2019 Jun 17;4(Suppl 2):e000520. Available from: <http://esmoopen.bmj.com/lookup/doi/10.1136/esmoopen-2019-000520>
102. Westphal M, Ram Z, Riddle V, Hilt D, Bortey E. Gliadel® wafer in initial surgery for malignant glioma: Long-term follow-up of a multicenter controlled trial. *Acta Neurochir (Wien)* [Internet]. 2006 Mar 17;148(3):269–75. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00701-005-0707-z>
103. Hart MG, Grant R, Garside R, Rogers G, Somerville M, Stein K.

Chemotherapeutic wafers for high grade glioma. In: Hart MG, editor. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2008. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD007294>

104. Brandes AA, Tosoni A, Spagnolli F, Frezza G, Leonardi M, Calbucci F, et al. Disease progression or pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy treatment: Pitfalls in neurooncology. *Neuro Oncol* [Internet]. 2008 Jun 1;10(3):361–7. Available from: <http://academic.oup.com/neuro-oncology/article/10/3/361/1095464/Disease-progression-or-pseudoprogression-after>
105. Brandsma D, Stalpers L, Taal W, Sminia P, van den Bent MJ. Clinical features, mechanisms, and management of pseudoprogression in malignant gliomas. *Lancet Oncol* [Internet]. 2008 May;9(5):453–61. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204508701256>
106. Macdonald DR, Cascino TL, Schold SC, Cairncross JG. Response criteria for phase II studies of supratentorial malignant glioma. *J Clin Oncol* [Internet]. 1990 Jul;8(7):1277–80. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.1990.8.7.1277>
107. Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, Cloughesy TF, Sorensen AG, Galanis E, et al. Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. *J Clin Oncol* [Internet]. 2010 Apr 10;28(11):1963–72. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2009.26.3541>
108. Choucair AK, Levin VA, Gutin PH, Davis RL, Silver P, Edwards MSB, et al. Development of multiple lesions during radiation therapy and chemotherapy in patients with gliomas. *J Neurosurg* [Internet]. 1986 Nov;65(5):654–8. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/65/5/article-p654.xml>

109. Harsh IV GR, Levin VA, Gutin PH, Seager M, Silver P, Wilson CB. Reoperation for recurrent glioblastoma and anaplastic astrocytoma. *Neurosurgery* [Internet]. 1987 Nov 1;21(5):615–21. Available from: <https://academic.oup.com/neurosurgery/article/21/5/615/2745723>
110. Kong DS, Lee J Il, Park K, Jong HK, Lim DH, Nam DH. Efficacy of stereotactic radiosurgery as a salvage treatment for recurrent malignant gliomas. *Cancer* [Internet]. 2008 May 1;112(9):2046–51. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.23402>
111. Hart MG, Grant R, Garside R, Rogers G, Somerville M, Stein K. Temozolomide for high grade glioma. In: Hart MG, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2008. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD007415>
112. Perry JR, Bélanger K, Mason WP, Fulton D, Kavan P, Easaw J, et al. Phase II Trial of Continuous Dose-Intense Temozolomide in Recurrent Malignant Glioma: RESCUE Study. *J Clin Oncol* [Internet]. 2010 Apr 20;28(12):2051–7. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2009.26.5520>
113. Fleischmann DF, Jenn J, Corradini S, Ruf V, Herms J, Forbrig R, et al. Bevacizumab reduces toxicity of reirradiation in recurrent high-grade glioma. *Radiother Oncol* [Internet]. 2019 Sep;138:99–105. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167814019329457>
114. Cohen MH, Shen YL, Keegan P, Pazdur R. FDA Drug Approval Summary: Bevacizumab (Avastin®) as Treatment of Recurrent Glioblastoma Multiforme. *Oncologist* [Internet]. 2009 Nov 6;14(11):1131–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1634/theoncologist.2009-0121>
115. Kreisl TN, Kim L, Moore K, Duic P, Royce C, Stroud I, et al. Phase II Trial of Single-Agent Bevacizumab Followed by Bevacizumab Plus

Irinotecan at Tumor Progression in Recurrent Glioblastoma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2009 Feb 10;27(5):740–5. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2008.16.3055>

116. Yang P, Zhang W, Wang Y, Peng X, Chen B, Qiu X, et al. IDH mutation and MGMT promoter methylation in glioblastoma: results of a prospective registry. *Oncotarget* [Internet]. 2015 Dec 1;6(38). Available from: <http://www.oncotarget.com/fulltext/5683>
117. Bello MJ, Vaquero J, De Campos JM, Kusak ME, Sarasa JL, Saez-Castresana J, et al. Molecular analysis of chromosomal 1 abnormalities in human gliomas reveals frequent loss of 1p in oligodendroglial tumors. *Int J Cancer* [Internet]. 1994 Apr 15;57(2):172–5. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.2910570207>
118. Stupp R, Brada M, van den Bent MJ, Tonn JC, Pentheroudakis G. High-grade glioma: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2014 Sep;25:93–101. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419340773>
119. Louis DN, Giannini C, Capper D, Paulus W, Figarella-Branger D, Lopes MB, et al. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2018 Apr 1;135(4):639–42. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-018-1826-y>
120. Mørk SJ, Lindegaard K-F, Halvorsen TB, Lehmann EH, Solgaard T, Hatlevoll R, et al. Oligodendroglioma: incidence and biological behavior in a defined population. *J Neurosurg* [Internet]. 1985 Dec;63(6):881–9. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/63/6/article-p881.xml>
121. Shaw EG, Wang M, Coons SW, Brachman DG, Buckner JC, Stelzer KJ, et al. Randomized trial of radiation therapy plus procarbazine, lomustine, and

- vincristine chemotherapy for supratentorial adult low-grade glioma: Initial results of RTOG 9802. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012 Sep 1;30(25):3065–70. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2011.35.8598>
122. Zhang X, Zhang Y, Tang H, He J. EGFR gene copy number as a predictive/biomarker for patients with non-small-cell lung cancer receiving tyrosine kinase inhibitor treatment: A systematic review and meta-analysis. *J Investig Med* [Internet]. 2017 Jan;65(1):72–81. Available from: <http://jim.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jim-2016-000252>
 123. Liu SJ, Yao L, Ding DL, Zhu HZ. CCL3L1 copy number variation and susceptibility to HIV-1 infection: A meta-analysis. Unutmaz D, editor. *PLoS One* [Internet]. 2010 Dec 30;5(12):e15778. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0015778>
 124. Yuan J, Zhao D, Wu L, Xu X, Pang Y, Zhang J, et al. FCGR3B copy number loss rather than gain is a risk factor for systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: A meta-analysis. *Int J Rheum Dis* [Internet]. 2015 May;18(4):392–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/1756-185X.12342>
 125. Lee C, Scherer SW. The clinical context of copy number variation in the human genome. *Expert Rev Mol Med* [Internet]. 2010 Mar 9;12:e8. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1462399410001390/type/journal_article
 126. Stranger BE, Forrest MS, Dunning M, Ingle CE, Beazley C, Thorne N, et al. Relative Impact of Nucleotide and Copy Number Variation on Gene Expression Phenotypes. *Science* (80-) [Internet]. 2007 Feb 9;315(5813):848–53. Available from: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1136678>
 127. Lupski JR. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet* [Internet].

1998 Oct;14(10):417–22. Available from:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168952598015558>

128. Kirchhoff M, Rose H, Lundsteen C. High resolution comparative genomic hybridisation in clinical cytogenetics. *J Med Genet* [Internet]. 2001 Nov 1;38(11):740–4. Available from:
<http://jmg.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jmg.38.11.740>
129. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Hamosh A. Principles of Clinical Cytogenetics. In: Robert Nussbaum; Roderick McInnes; Huntington Willard, editor. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. 8th ed. Elsevier; 2007. p. 59–88.
130. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2015 Mar 3;16(3):172–83. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrg3871>
131. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2010 May;86(5):749–64. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929710002089>
132. Zacher A, Kaulich K, Stepanow S, Wolter M, Köhrer K, Felsberg J, et al. Molecular Diagnostics of Gliomas Using Next Generation Sequencing of a Glioma-Tailored Gene Panel. *Brain Pathol* [Internet]. 2017 Mar;27(2):146–59. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bpa.12367>
133. Liu YT, Lee YC, Soong BW. What we have learned from the next-generation sequencing: Contributions to the genetic diagnoses and understanding of pathomechanisms of neurodegenerative diseases. *J Neurogenet* [Internet]. 2015 Jul 3;29(2–3):103–12. Available from:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/01677063.2015.1060972>

134. Catani M. The anatomy of the human frontal lobe. In: Handbook of Clinical Neurology [Internet]. 2019. p. 95–122. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128042816000069>
135. Caspers S, Zilles K. Microarchitecture and connectivity of the parietal lobe. In 2018. p. 53–72. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444636225000036>
136. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med [Internet]. 2015 May 5;17(5):405–24. Available from: <http://www.nature.com/articles/gim201530>
137. PubMed [Internet]. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed
138. GnomAD [Internet]. Available from: <https://gnomad.broadinstitute.org/>
139. ClinVar [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>
140. The International Cancer Genome Consortium Somatic Mutation Database [Internet]. Available from: <https://icgc.org/>
141. The International Agency for Research on Cancer [Internet]. 2008. p. 1–7. Available from: <https://www.iarc.fr/>
142. Miyakawa A, Ichimura K, Schmidt EE, Varmeh-Ziaie S, Collins VP. Multiple deleted regions on the long arm of chromosome 6 in astrocytic tumours. Br J Cancer [Internet]. 2000 Feb;82(3):543–9. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1054/bjoc.1999.0961>
143. The Cancer Genome Atlas Glioblastoma Multiforme [Internet]. Available from: <https://portal.gdc.cancer.gov/projects/TCGA-GBM>
144. Ohgaki H, Kleihues P, Schäuble B, zur Hausen A, von Ammon K. Genetic alterations associated with the evolution and progression of astrocytic brain

tumours. *Virchows Arch* [Internet]. 1995 Sep;427(2):113–8. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF00196514>

145. Masui K, Mischel PS, Reifenberger G. Molecular classification of gliomas. In 2016. p. 97–120. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128029978000062>
146. McLendon R, Friedman A, Bigner D, Van Meir EG, Brat DJ, Mastrogianakis GM, et al. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* [Internet]. 2008 Oct 4;455(7216):1061–8. Available from: <http://www.nature.com/articles/nature07385>
147. Shirahata M, Ono T, Stichel D, Schrimpf D, Reuss DE, Sahm F, et al. Novel, improved grading system(S) for IDH-mutant astrocytic gliomas. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2018 Jul 23;136(1):153–66. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-018-1849-4>
148. Sonoda Y, Iizuka M, Yasuda J, Makino R, Ono T, Kayama T, et al. Loss of heterozygosity at 11p15 in malignant glioma. *Cancer Res*. 1995 May;55(10):2166–8.
149. Boulay JL, Stiefel U, Taylor E, Dolder B, Merlo A, Hirth F. Loss of heterozygosity of TRIM3 in malignant gliomas. *BMC Cancer* [Internet]. 2009 Dec 27;9(1):71. Available from: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-9-71>
150. Cohen A, Sato M, Aldape K, Mason CC, Alfaro-Munoz K, Heathcock L, et al. DNA copy number analysis of Grade II-III and Grade IV gliomas reveals differences in molecular ontogeny including chromothripsis associated with IDH mutation status. *Acta Neuropathol Commun* [Internet]. 2015 Dec 20;3(1):34. Available from: <https://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40478-015-0213-3>

151. Sato M, Aldape KD, Mason CC, Diefes K, Heathcock L, Abegglen L, et al. Use of DNA copy number analysis of grade 2-4 gliomas to reveal differences in molecular ontogeny associated with IDH mutation status. *J Clin Oncol* [Internet]. 2013 May 20;31(15_suppl):2026–2026. Available from: http://ascopubs.org/doi/10.1200/jco.2013.31.15_suppl.2026
152. Bar EE, Lin A, Tihan T, Burger PC, Eberhart CG. Frequent gains at chromosome 7q34 involving BRAF in pilocytic astrocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2008 Sep 1;67(9):878–87. Available from: <https://academic.oup.com/jnen/article-lookup/doi/10.1097/NEN.0b013e3181845622>
153. Velázquez Vega JE, Brat DJ. Molecular-genetic classification of gliomas and its practical application to diagnostic neuropathology. In: Duffau H, editor. *Diffuse Low-Grade Gliomas in Adults*. Springer; 2017. p. 73–100.
154. Halatsch ME, Schmidt U, Unterberg A, Vougioukas VI. Uniform MDM2 overexpression in a panel of glioblastoma multiforme cell lines with divergent EGFR and p53 expression status. *Anticancer Res* [Internet]. 2006;26(6 B):4191–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17201132>
155. Aldape K, Zadeh G, Mansouri S, Reifenberger G, von Deimling A. Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2015 Jun 6;129(6):829–48. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-015-1432-1>
156. Di Vinci A, Casciano I, Marasco E, Banelli B, Ravetti GL, Borzi L, et al. Quantitative methylation analysis of HOXA3, 7, 9, and 10 genes in glioma: association with tumor WHO grade and clinical outcome. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2012 Jan 27;138(1):35–47. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00432-011-1070-5>
157. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WKA, Lin H, Ligon AH, et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at

chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* [Internet]. 1997 Apr;15(4):356–62. Available from: <http://www.nature.com/articles/ng0497-356>

158. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol* [Internet]. 2007 May;170(5):1445–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944010613582>
159. Rasheed BKA, McLendon RE, Friedman HS, Friedman AH, Fuchs HE, Bigner DD, et al. Chromosome 10 deletion mapping in human gliomas: A common deletion region in 10q25. *Oncogene* [Internet]. 1995 Jun 1;10(11):2243–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7784070>
160. Alekseeva E, Tanas A, Prozorenko E, Zaytsev A, Kirsanova O, Strelnikov V, et al. Molecular pathology of the 10q23.3-26.3 chromosome region in glioblastoma. *Ann Oncol* [Internet]. 2016 Oct;27:vi41. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419437630>
161. Krakstad C, Chekenya M. Survival signalling and apoptosis resistance in glioblastomas: opportunities for targeted therapeutics. *Mol Cancer* [Internet]. 2010;9(1):135. Available from: <http://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-4598-9-135>
162. Zhang Z, Hou SQ, He J, Gu T, Yin Y, Shen WH. PTEN regulates PLK1 and controls chromosomal stability during cell division. *Cell Cycle* [Internet]. 2016 Sep 16;15(18):2476–85. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15384101.2016.1203493>
163. Bassi C, Ho J, Srikumar T, Dowling RJO, Gorrini C, Miller SJ, et al. Nuclear PTEN Controls DNA Repair and Sensitivity to Genotoxic Stress. *Science* (80-) [Internet]. 2013 Jul 26;341(6144):395–9. Available from: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1236188>
164. Li J. PTEN, a Putative Protein Tyrosine Phosphatase Gene Mutated in

- Human Brain, Breast, and Prostate Cancer. *Science* (80-) [Internet]. 1997 Mar 28;275(5308):1943–7. Available from:
<https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.275.5308.1943>
165. Wiencke JK, Zheng S, Jelluma N, Tihan T, Vandenberg S, Tamgüney T, et al. Methylation of the PTEN promoter defines low-grade gliomas and secondary glioblastoma. *Neuro Oncol* [Internet]. 2007 Jul 1;9(3):271–9. Available from: <http://academic.oup.com/neuro-oncology/article/9/3/271/1051048/Methylation-of-the-PTEN-promoter-defines-lowgrade>
 166. Frattini V, Trifonov V, Chan JM, Castano A, Lia M, Abate F, et al. The integrated landscape of driver genomic alterations in glioblastoma. *Nat Genet* [Internet]. 2013 Oct 5;45(10):1141–9. Available from:
<http://www.nature.com/articles/ng.2734>
 167. Özdoğan K, Hacıhanefioğlu M, Pamir MN. Glioblastom. *Türk Nöroşirürji Derg*. 2019;29(3):305–34.
 168. Cloughesy TF, Cavenee WK, Mischel PS. Glioblastoma: From Molecular Pathology to Targeted Treatment. *Annu Rev Pathol Mech Dis* [Internet]. 2014 Jan 24;9(1):1–25. Available from:
<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-pathol-011110-130324>
 169. Shinojima N, Tada K, Shiraishi S, Kamiryo T, Kochi M, Nakamura H, et al. Prognostic Value of Epidermal Growth Factor Receptor in Patients with Glioblastoma Multiforme. *Cancer Res* [Internet]. 2003 Oct 15;63(20):6962–70. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14583498>
 170. Westphal M, Maire CL, Lamszus K. EGFR as a Target for Glioblastoma Treatment: An Unfulfilled Promise. *CNS Drugs* [Internet]. 2017 Sep 8;31(9):723–35. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40263-017-0456-6>

171. Verhaak RGW, Hoadley KA, Purdom E, Wang V, Qi Y, Wilkerson MD, et al. Integrated Genomic Analysis Identifies Clinically Relevant Subtypes of Glioblastoma Characterized by Abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* [Internet]. 2010 Jan;17(1):98–110. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1535610809004322>
172. Soeda A, Hara A, Kunisada T, Yoshimura SI, Iwama T, Park DM. The evidence of glioblastoma heterogeneity. *Sci Rep* [Internet]. 2015 Jul 27;5(1):7979. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep07979>
173. Sandmann T, Bourgon R, Garcia J, Li C, Cloughesy T, Chinot OL, et al. Patients with proneural glioblastoma may derive overall survival benefit from the addition of bevacizumab to first-line radiotherapy and temozolomide: Retrospective analysis of the AVAglio trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2015 Sep 1;33(25):2735–44. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2015.61.5005>
174. Wijnenga MMJ, Dubbink HJ, French PJ, Synhaeve NE, Dinjens WNM, Atmodimedjo PN, et al. Molecular and clinical heterogeneity of adult diffuse low-grade IDH wild-type gliomas: assessment of TERT promoter mutation and chromosome 7 and 10 copy number status allows superior prognostic stratification. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2017 Dec 19;134(6):957–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-017-1781-z>
175. LOMBARDI MY, ASSEM M. Glioblastoma Genomics: A Very Complicated Story. In: *Glioblastoma* [Internet]. Codon Publications; 2017. p. 3–25. Available from: <https://exonpublications.com/index.php/exon/article/view/123>
176. Feng J, Kim S-T, Liu W, Kim JW, Zhang Z, Zhu Y, et al. An integrated analysis of germline and somatic, genetic and epigenetic alterations at 9p21.3 in glioblastoma. *Cancer* [Internet]. 2012 Jan 1;118(1):232–40. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.26250>

177. Huang T, Li S, Yang Z, Liu J, Han Y. Loss of Heterozygosity of 9p Is Associated with Poorer Survival in Patients with Gliomas. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2016 Nov 19;53(9):6407–12. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-015-9523-5>
178. Roy DM, Walsh LA, Desrichard A, Huse JT, Wu W, Gao J, et al. Integrated Genomics for Pinpointing Survival Loci within Arm-Level Somatic Copy Number Alterations. *Cancer Cell* [Internet]. 2016 May;29(5):737–50. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1535610816301088>
179. Alentorn A, Dehais C, Ducray F, Carpentier C, Mokhtari K, Figarella-Branger D, et al. Allelic loss of 9p21.3 is a prognostic factor in 1p/19q codeleted anaplastic gliomas. *Neurology* [Internet]. 2015 Oct 13;85(15):1325–31. Available from: <http://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/WNL.0000000000002014>
180. Kresak J, Shan YF. Molecular pathology and diagnostics of gliomas. In: Coppola D, editor. *Molecular Pathology and Diagnostics of Cancer*. Springer; 2014. p. 1–17.
181. Deng Y, Yao L, Chau L, Ng SSM, Peng Y, Liu X, et al. N-Myc downstream-regulated gene 2 (NDRG2) inhibits glioblastoma cell proliferation. *Int J Cancer* [Internet]. 2003 Sep 1;106(3):342–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.11228>
182. Tepel M, Roerig P, Wolter M, Gutmann DH, Perry A, Reifenberger G, et al. Frequent promoter hypermethylation and transcriptional downregulation of the NDRG2 gene at 14q11.2 in primary glioblastoma. *Int J Cancer* [Internet]. 2008 Nov 1;123(9):2080–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.23705>
183. Nord H, Hartmann C, Andersson R, Menzel U, Pfeifer S, Piotrowski A, et al. Characterization of novel and complex genomic aberrations in glioblastoma using a 32K BAC array. *Neuro Oncol* [Internet]. 2009 Dec

1;11(6):803–18. Available from: <http://academic.oup.com/neuro-oncology/article/11/6/803/1454884/Characterization-of-novel-and-complex-genomic>

184. Gladitz J, Klink B, Seifert M. Network-based analysis of oligodendrogliomas predicts novel cancer gene candidates within the region of the 1p/19q co-deletion. *Acta Neuropathol Commun* [Internet]. 2018 Dec 11;6(1):49. Available from: <https://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40478-018-0544-y>
185. Buchwald ZS, Tian S, Rossi M, Smith GH, Switchenko J, Hauenstein JE, et al. Genomic copy number variation correlates with survival outcomes in WHO grade IV glioma. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Dec 30;10(1):7355. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-020-63789-9>
186. Mirchia K, Sathe AA, Walker JM, Fudym Y, Galbraith K, Viapiano MS, et al. Total copy number variation as a prognostic factor in adult astrocytoma subtypes. *Acta Neuropathol Commun* [Internet]. 2019 Dec 10;7(1):92. Available from: <https://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40478-019-0746-y>
187. Mirchia K, Snuderl M, Galbraith K, Hatanpaa KJ, Walker JM, Richardson TE. Establishing a prognostic threshold for total copy number variation within adult IDH-mutant grade II/III astrocytomas. *Acta Neuropathol Commun* [Internet]. 2019 Dec 26;7(1):121. Available from: <https://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40478-019-0778-3>
188. Arslantas A, Artan S, Öner Ü, Müslümanoğlu H, Durmaz R, Cosan E, et al. The importance of genomic copy number changes in the prognosis of glioblastoma multiforme. *Neurosurg Rev* [Internet]. 2004 Jan 1;27(1):58–64. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10143-003-0279-4>

189. Pećina-Šlaus N, Kafka A, Gotovac Jerčić K, Logara M, Bukovac A, Bakarić R, et al. Comparable Genomic Copy Number Aberrations Differ across Astrocytoma Malignancy Grades. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Mar 12;20(5):1251. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/5/1251>
190. Giunti L, Pantaleo M, Sardi I, Provenzano A, Magi A, Cardellicchio S, et al. Genome-wide copy number analysis in pediatric glioblastoma multiforme. *Am J Cancer Res* [Internet]. 2014;4(3):293–303. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24959384>
191. Lee E, Yong RL, Paddison P, Zhu J. Comparison of glioblastoma (GBM) molecular classification methods. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2018 Dec;53:201–11. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044579X18300415>

8. ÖZET

Bu çalışmada, kliniğimizde diffüz gliom nedeniyle opere edilen olguların tümör genomunda kopya sayısı değişikliklerinin ve hotspot kanser mutasyonlarının saptanması amaçlanmıştır. Çalışmada, Ocak 2015 – Mart 2019 tarihleri arasında supratentorial gliom nedeniyle ameliyat edilen 47 olgu araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara, yüksek kopya sayısı değişikliği düzeylerinin diffüz gliom olgularında kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Özellikle 6q, 9p, 10p, 10q delesyonu ile 7p, 7q, 20p, 20q duplikasyonları varlığında sağ kalım süresinin kısa olduğu istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir. Uygulanan hotspot mutasyon paneli taramasına göre IDH mutasyonuna ek olarak, iyi prognoz ile ilişkilendirilebilecek bir mutasyon saptanmamıştır. Kliniğimizde daha önce yapılmamış olan bu çalışmada elde edilen bulgular mevcut literatürdeki bulguları desteklemekte ve literatüre katkı sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: gliom, DNA kopya sayısı değişiklikleri, mutasyon, izositrat dehidrogenaz, prognoz

9. SUMMARY

Clinical Evaluation of Copy Number Variations and Cancer Mutations in Glioma Cases

In this study our aim was to detect copy number variations and hotspot cancer mutations in tumor genome of diffuse glioma cases which were operated at our clinic. 47 patients who were operated between January 2015 and March 2019 for supratentorial glioma were investigated. At the result of this research, high copy number variation levels were found to be associated with poor prognosis in diffuse glioma cases. Especially in the presence of 6q, 9p, 10p, 10q deletions and 7p, 7q, 20p, 20q duplications, short survival was found to be statistically significant. According to the applied hotspot cancer mutation panel screening, any mutation that could be associated with good prognosis was not detected, in addition to the IDH mutation. The findings of this study, which has not been done before in our clinic, support and contribute to the findings in the current literature.

Keywords: glioma, DNA copy number variations, mutation, isocitrate dehydrogenase, prognosis

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Münibe Büşra Erdem

Doğum Yeri ve Tarihi: Antalya, 24 Mayıs 1990

Eğitimi:

Orta Öğrenim:

2004 – 2008 Ankara Atatürk Anadolu Lisesi, Ankara

Yüksek Öğrenim:

2008 – 2014 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

Uzmanlık Eğitimi:

2015 – 2020 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi

Anabilim Dalı, Ankara

Yabancı Dili: İngilizce, e-YDS Şubat 2020: 75 puan

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

Bilimsel Etkinlikleri:

Yayınlar:

1. Cerebral cavernous malformation presenting in childhood: a single-centered surgical experience of 29 cases. Aslan A, Börcek AÖ, Demirci H, **Erdem MB**. Clin Neurol Neurosurg. 2020 Apr

10;194:105830. doi: 10.1016/j.clineuro.2020.105830. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 32302787.

2. In Reply to the Letter to the Editor Regarding "Two-Dimensional Video of Surgery on Trochlear Schwannoma". **Erdem MB**, Kara E, Yaman ME, Aykol Ş. World Neurosurg. 2020 Apr;136:430. doi: 10.1016/j.wneu.2020.01.158. PubMed PMID:32204285.
3. 2-D Video of Surgery on Trochlear Schwannoma. **Erdem MB**, Kara E, Yaman ME, Aykol S. World Neurosurg. 2019 Dec 12. pii: S1878-8750(19)32968-7. doi: 10.1016/j.wneu.2019.11.128. PubMed PMID: 31838238.
4. Pharyngeal Perforation after Anterior Cervical Fusion Surgery. **Erdem MB**, Celtikci E, Aydil U, Yaman ME, Emmez H (2019) Neurosurg Cases Rev 2:025. doi.org/10.23937/2643-4474/1710025.
5. Trigeminal Nevraljide Sterotaktik Radyocerrahi. Aykol S., **Erdem B.**, 2019. Editör: Biceroglu, Tonge, Seckin, Adiguzel, Gurvit, Hanci. Fonksiyonun Cerrahi Anatomisi. Izmir: Usakademi Yayınları, sayfa.1783-1798.
6. Posterior Genişletme Teknikleri, **Erdem M.B**, Borcek A.O, Türk Nöroşir Derg 27(3):336-344, 2017.
7. Gastrointestinal Hastalıklarda Tarama Yöntemleri, **Erdem M.B**, Isık B, Turkish Clinics Family Medicine, J Fam Med-Special Topics 2015;6(4):90-8.