



**T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**GLİOBLASTOMA MULTİFORME OLGULARINDA
İZOSİTRAT DEHİDROGENAZ 1, İZOSİTRAT
DEHİDROGENAZ 2 GEN MUTASYONLARININ
PROGNOSTİK ÖNEMİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. AYNUR LALE

KAYSERİ 2012



**T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİMDALI**

**GLİOBLASTOMA MULTİFORME OLGULARINDA
İZOSİTRAT DEHİDROGENAZ 1, İZOSİTRAT
DEHİDROGENAZ 2 GEN MUTASYONLARININ
PROGNOSTİK ÖNEMİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. AYNUR LALE

**Tez Yürütücüsü
Doç. Dr. OĞUZ GALİP YILDIZ**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSU-11-3812 kodlu proje ile desteklenmiştir**

KAYSERİ 2012

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada ve uzmanlık eğitimim süresince bana emeği geçen başta tez danışmanım Doç.Dr. Oğuz Galip YILDIZ'a, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Serdar SOYUER'e, öğretim üyelerinden Prof. Dr. Bünyamin KAPLAN'a, Yard. Doç. Dr. Okan ORHAN'a, Yard. Doç. Dr. Celalettin EROĞLU' na, Öğr. Gör. Dr. Mete GÜNDOĞ'a, Rad. Fiz. Uz. Dr. Kadir YARAY' a, Radyasyon Onkolojisi Uzmanı Dr. Dicle ASLAN'a, Rad. Fiz. Uz. Mustafa Tarkan AKSÖZEN'e, Genetik AnaBilim Dalı'ndan Prof. Dr. Munis DÜNDAR'a, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Özlem CANÖZ'e, tez çalışmamdaki özverili çalışmalarından dolayı Tıbbi Biyolog Hilal AKALIN ve Öğr. Gör. Yagut AKBEROVA' ya, istatistik hesaplamalarında yardımcı olan Yard. Doç. Dr. Ferhan ELMALI'ya ve Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime, manevi olarak desteklerini yüreğimde hissettiğim canım kızım Ceylin ve canım oğlum Ahmet Efe'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET.....	x
SUMMARY	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Santral Sinir Sistemi Tümörleri	3
2.2.Glioblastoma	5
2.2.1. Etyoloji ve Epidemiyoloji	5
2.2.2. Biyolojik Özellikler ve Moleküler Biyoloji	5
2.2.2.1. Major Yolaklar	6
2.2.3. Patoloji	7
2.2.3.1. Makroskopi	7
2.2.3.2. Histopatoloji.....	7
2.2.4. Gradlandırma.....	7
2.2.5. Klinik Tablo.....	8
2.2.6. Tanı Metodları	8
2.2.7. Prognostik Faktörler.....	9
2.2.7.1. Klinik Prognostik Faktörler	9
2.2.7.2. Moleküler Prognostik Faktörler	11
2.2.8.1. İzositrat dehidrogenaz enzimleri (IDHs)'nin yapısı ve normal biyokimyasal fonksiyonu.....	12
2.2.8.2.IDH gen mutasyonlarının sıklığı.....	13
2.2.8.3.IDH gen mutasyonlarının karakteristiği.....	15
2.2.8.4.IDH gen mutasyonlarının diğer malignansilerle ilişkisi	15
2.2.8.5. IDH gen mutasyonlarının fonksiyonel özellikleri.....	16
2.2.8.6. IDH gen mutasyonları sonucu oluşan metabolitler	16
2.2.8.6.1. α -KG.....	16
2.2.8.6.2. NADPH	16

2.2.8.6.3. 2-HG.....	17
2.2.8.6.4. HIF	17
2.2.8.7. IDH mutasyonlarının yaş ve prognozla ilişkisi.....	17
2.2.8.8.IDH mutasyonlarının ölçümü.....	18
2.2.9. TEDAVİ	18
2.2.9.1. Cerrahi.....	19
2.2.9.2. Radyoterapi	19
2.2.9.2.1. İki Boyutlu (Konvansiyonel) External Radyoterapi	19
2.2.9.2.2. Radyoterapide Hedef Volümler	20
2.2.9.2.3. Üç Boyutlu Konformal Radyoterapi	21
2.2.9.2.4. Yoğunluk Ayarlı Radyoterapi (IMRT).....	21
2.2.9.2.5. Simülasyon ve Planlama	22
2.2.9.3. Glioblastomada Sistemik Tedavi.....	23
2.2.9.3.1. Steroid	23
2.2.9.3.2. Temozolamide (TMZ)	23
2.2.9.3.3. Diğer Kemoterapotik Ajanlar	24
3. GEREÇLER VE YÖNTEM.....	25
3.1. GEREÇLER	25
3.1.1. Demirbaş Malzemeler	25
3.1.2.Sarf Malzemeleri	26
3.1.3.Primerler.....	26
3.2. YÖNTEM.....	26
3.2.1 Hasta Gruplarının Belirlenmesi.....	26
3.2.2 Preparat Hazırlanması	27
3.2.2.1. Doku Kesiti Alınması (Mikrotom Cihazı).....	27
3.2.2.2. Genomik DNA İzolasyonu	27
3.2.2.3.PCR	28
3.2.2.3.1. PCR reaksiyon miks kompozisyonu:	29
3.2.2.3.2.PCR protokolü:	29
3.2.2.4.Pyrosequencing	29
3.2.2.4.1.Assay dosyalarının hazırlanması.....	30
3.2.2.4.2.Run dosyası oluşturma	30
3.2.2.4.3. PCR Ürünlerinin Streptavidin Sepharose bilyelerine immobilizasyonu.....	31

3.2.2.5. Pyrosequencing için örnek hazırlama	31
3.2.2.6. Pyromark Q24 Sistemin Çalıştırılması.....	32
3.2.2.7. Sonuçların Analizi.....	33
3.2.3. İstatistiksel Yöntem.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. GENEL BULGULAR.....	35
4.1.1. Genel Sağkalım Sonuçları ve Prognostik Faktörler	37
4.2. IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgulara Göre Genel Bulgular	39
4.2.1. Sağkalım Bulguları	40
4.2.2 Prognostik Faktörler.....	42
4.3. IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeyen Olgulara Göre Genel Bulgular	43
4.3.1. Sağkalım Bulguları	45
4.2.2 Prognostik Faktörler.....	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	49
6. KAYNAKÇA	55
ONAY.....	67

TABLO LİSTESİ

Tablo 1:	WHO santral sinir sistemi tümörleri histolojik sınıflandırması	4
Tablo 2:	Rekursif bölümlleme Analizi (RPA) Prognostik İndeksleri	10
Tablo 3:	132. Kodondaki IDH 1 ve 172. Kodondaki IDH 2 mutasyonlarının sıklığı	15
Tablo 4 :	Olguların genel özellikleri.....	35
Tablo 5:	Olguların sağkalım tablosu.....	36
Tablo 6:	Genel prognostik faktörler tablosu	37
Tablo 7:	IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgulara Göre Genel Bulgular	39
Tablo 8:	IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgularda GS ve HS	40
Tablo 9:	IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgularda Prognostik Faktörler	41
Tablo 10:	IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeven Olgulara Göre Genel Bulgular.....	42
Tablo 11:	IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeven Olgularda GS ve HS	44
Tablo 12:	IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeven Olgularda Prognostik Faktörler	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	IDH enzimlerinin enzimatik aktivitesi	13
Şekil 2.	IDH 1 geninde, direk sekans yöntemiyle 132. kodonda mutasyon	14
Şekil 3.	Normal (wild tip) IDH 1 geni bulunduran hasta	32
Şekil 4.	Mutasyona uğramış (mutant tip) IDH 1 geni bulunduran hasta.....	33
Şekil 5.	IDH 1 gen mutasyonu görülen olgularda GS Eğrisi	37
Şekil 6.	IDH 1 gen mutasyonu görülen olgularda HS Eğrisi	38
Şekil 7.	IDH 1 gen mutasyonu görülen; RT+TMZ ve yalnız RT alan olgularda GS eğrisi	41
Şekil 8.	Wild tip IDH 1 görülen; RT+TMZ ve yalnız RT alan olgularda GS eğrisi	45
Şekil 9.	Wild tip IDH 1 görülen; RT+TMZ ve yalnız RT alan olgularda HS eğrisi	45
Şekil 10.	Bizim çalışmamıza göre m IDH1+ RT+TMZ, m IDH1+ RT, w IDH 1+ RT+TMZ ve w IDH 1+ RT uygulanan olguların genel sağkalımı	47
Şekil 11.	Uno ve ark.'nın çalışmasında GS eğrisi	50

KISALTMALAR

AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrom (Edinilmiş bağışıklık eksikliği sendromu)
AKT	: Protein kinaz B
ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
AML	: Akut myeloid lösemi
ark.	: Arkadaşları
α –KG	: Alfa ketoglutarat
BCNU	: 1,3-bis-kloroetil-1-nitrozüre
BSC	: Best Supportive Care(En iyi destek tedavi)
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BTSG	: Brain Tumor Study Group (Beyin Tümörü Çalışma Grubu)
CDK4	: Siklin-bağımlı Kinaz
CDKN2A	: Siklin-bağımlı Kinaz İnhibitörü 2A
cGy	: Santi-Gray (Işınlanan maddenin 1 gramında 100 erg’lik enerji absorpsiyonu oluşturan radyasyon miktarıdır.)
CTV	: Klinik Hedef Volüm
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ECOG	: The Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
EORTC	: European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FAK	: Focal Adhesion Kinase
FDG	: Fluorodeoxyglukoz
FFPE	: Formalin-fixed, Paraffin-embedded (Formalinle fixe parafine gömülü)
G2	: Bölünmeye hazırlık evresi

GFAP	: Glial Fibrillary Acidic Protein
GS	: Genel Sağkalım
GTV	: Gros Tümör Volüm
Gy	:Gray (Işınlanan maddenin 1 kilogramında 1 Joule’lük enerji absorpsiyonu oluşturan radyasyon miktarıdır.)
2-HG	: 2 hidroksiglutarat
HIF-1α	:Hipoksi-indüklenen faktör subünit 1 alfa
HS	: Hastalıksız Sağkalım
IHC	: Immunohistochemistry (İmmünohistokimya)
IDHs	: Izositrat dehidrogenaz enzimleri
IDH 1	: Izositrat dehidrogenaz enzim 1
IDH 2	: Izositrat dehidrogenaz enzim 2
IDH 3	: Izositrat dehidrogenaz enzim 3
IMRT	: Intensity-modulated Radiation Therapy (Yoğunluk Ayarlı Radyoterapi)
KPS	: Karnofsky Performance Status (Karnofsky Performans Durumu)
KT	: Kemoterapi
LOH	: Loss of heterozygosity
M	: Mitoz Fazı
MDM2	: Murine double minute oncogene
MGMT	: O6-metilguanin DNA metiltransferaz
MMAC1	: Mutated in multiple advanced cancer
MRG	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
MRS	: Magnetik Rezonans Spektroskopi
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NCIC	: National Cancer Institute of Canada
O2	: Oksijen
OR	: Odds Ratio (Göreceli Olasılıklar Oranı)
OS	: Overall Survival (Genel Sağkalım)
p16	: Siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 2A
p53	: Protein 53
PCR	: Polimeraz Chain Reaksiyonu
PCV	: Prokarbazin, lomustin (CCNU), vinkristin
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PHDs	: Piroly Hidroksilazlar
PFS	: Progresyon-free Survival (Hastalıksız Sağkalım)
PTEN	: Phosphatase and tensin homolog
PTV	: Planlanan Hedef Volüm
RNA	: Ribonükleik asit
RTOG	: Radiation Therapy Oncology Group
sPNET	: Supra tentoriyal primitif nöroendokrin tümör
SPECT	: Single-photon Emission Computed Tomography
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TCA	: Trikarboksilik asit
TP53	: Tümör protein 53
TMZ	: Temozolomide
USB	: Universal Serial Bus
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
WBRT	: Whole Brain Radiation Therapy (Tüm Beyin Radyoterapisi)

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; primer glioblastoma (GBM) olgularında, izositrat dehidrogenaz 1 (IDH 1) ve izositrat dehidrogenaz 2 (IDH 2) gen mutasyonlarının bulunma sıklığı, tedavi cevabına etkisi ve prognostik önemi araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: 2000-2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mehmet Kemal Dedeman Onkoloji Hastanesi' nde GBM tanısı alıp RT+Temozolamide (TMZ) ve yalnız RT alan 93 olgunun parafinle bloklanmış doku örneğinden genomik DNA izole edilip, kontrol DNA' larla karşılaştırıldı. Mutasyon olan/olmayan primerlerle hedef bölgenin amplifikasyonu için PCR yapıldı. Örnekler PCR'dan sonra *pyrosequencing* dizi analizine yüklendi. Mutasyon tespiti için dizi analizi yapıldı. Mutasyon olan ve olmayan olgular gruplandırılıp, IDH mutasyonlarının prognostik önemi ile genel sağkalım (GS) ve hastalıksız sağkalıma (HS)'a katkısı tek değişkenli ve çok değişkenli istatistiksel analizlerle incelendi.

Bulgular: Olguların 63 (% 67.7)' ü 60 yaş altında iken, 30 (% 32.3) olgu 60 yaş ve üzeri idi. IDH 1 gen mutasyonu (R132H) görülen olgu sayısı 9 (% 9.7) iken, mutasyon görülmeyen olgu sayısı 84 (% 90.3) idi. IDH 2 gen mutasyonuna (R172K) ise rastlanmadı.

Mutasyon görülen olgularda medyan GS; 22 (3-67) ayken, HS; 8 (3-57) aydı ($p = 0.07$). Mutant IDH 1 görülen olgular normal (wild tip) IDH 1 görülen olgulardan daha gençti (medyan yaş sırasıyla; 38 ve 55, $p = 0.003$).

Mutant IDH 1 taşıyan olguların 5 (% 55.6)' ine sadece radyoterapi, 4 (%44.4)'üne ise radyoterapi ve TMZ uygulandı. Kaplan-Meier analizi (Log Rank) ile RT+TMZ ve yalnız RT alan grup arasında GS ve HS karşılaştırıldı. RT+TMZ alan grupta medyan GS 44 ± 25.20 ay iken yalnız RT alan grupta 8 ± 2.73 ay bulundu ve istatistiksel olarak anlamlılık saptandı ($p = 0.002$). Medyan HS, RT+TMZ alan grupta 17 ± 17.66 ay iken yalnız RT alan grupta 5 ± 2.19 ay idi ve anlamlı bulunmadı ($p = 0.07$).

IDH 1 gen mutasyonu görülmeyen olgularda medyan GS; 10 (2-84) ayken, HS; 6 (2-33) aydı ($p = 0.08$). Olguların 50 (% 59.5)' sine sadece radyoterapi, 34 (% 40.5)'üne ise radyoterapi ve TMZ uygulandı. RT+TMZ alan grupta medyan GS 12 ± 1.32 ay iken yalnız RT alan grupta 8 ± 1.74 ay bulundu ve istatistiksel olarak anlamlılık

saptandı ($p = 0.009$). Medyan HS, RT+TMZ alan grupta 7 ± 0.78 ay iken yalnız RT alan grupta 6 ± 0.22 ay idi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.01$).

Sonuç: Literatürde IDH 1 ve IDH 2 gen mutasyonları sekonder GBM' ler ile grade II-III gliomalarda, primerlerden daha sıktır, genç yaşta ortaya çıkar ve iyi prognoz göstergesidir. Bizim çalışmamıza ait 93 olguluk retrospektif serimizde, primer GBM olguları incelendi. IDH 1 mutasyonu olan olgularda medyan sağkalım olmayanlara göre daha uzun olmasına rağmen (22 aya karşı; 10 ay), istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı. Bu duruma hasta sayısının az olması ve sadece R132H mutasyonunun araştırılmasının neden olabileceği düşünüldü. Literatürde standart tedavi (radyoterapi ile eşzamanlı TMZ ve ardından adjuvan TMZ tedavisi) yaklaşımı ile tedavi edilen primer GBM olgularında, IDH mutasyonlarının prognostik önemi ile ilgili çalışmalar vardır. Bazı çalışmalarda mutasyonların genel ve hastalıksız sağkalımda uzamaya neden olan bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilmesine rağmen bazı çalışmalarda gösterilememiştir. Bizim çalışmamızda Mutant IDH 1 olgularında tedaviye TMZ eklenmesinin sağkalım üzerine etkisi araştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu haliyle IDH mutasyonlarının tedavi cevabını tahmin etmede prediktif bir faktör olması tartışılması gereken bir konudur.

Anahtar Kelimeler: Glioblastoma, izositrat dehidrogenaz (IDH) Radyoterapi, Temozolamide

SUMMARY

Purpose: In this study; we investigated the frequency of isocitrate dehydrogenase 1 (IDH 1) and isocitrate dehydrogenase 2 (IDH 2) mutations, the effect on treatment response and prognostic value on glioblastoma (GBM) cases.

Materials and Methods: Genomic DNA isolated from paraffin embedded tissue samples of 93 GBM cases, treated by RT+TMZ and RT alone between 2000-2010 years, at Erciyes University Medical Faculty Mehmet Kemal Dedeman Oncology Hospital. Genomic DNA compared with control DNA. PCR was applied for amplification of target region with mutation specific or not specific primers and samples were loaded from PCR to *pyrosequencing* chain analysis. Analysis was done for mutant-normal (wild) type IDH 1 and IDH 2 distinctions. Mutant and wild type cases were grouped and then the prognostic value of IDH mutations and contribution to overall survival (OS) and progression free survival (PFS) was demonstrated with univariate-multivariate analysis.

Results: 63 (% 67.7) cases were under 60 years and 30 (% 32.3) cases were 60 years of age and over. The presence of IDH 1 mutation (R132H) was demonstrated in 9 (%9.7) cases and the rest of 84 (% 90.3) cases weren't. No mutations were found in IDH 2 (R172K). Median OS and PFS for group with mutant were 22 (3-67) months and 8 (3-57) months, respectively ($p = 0.07$). Cases with mutant IDH were younger than the cases with wild type. Median year 38 and 55, respectively, $p = 0.003$).

In the mutant group, 5 (% 55.6) cases were applied RT+TMZ and 4 (% 44.4) cases were applied RT alone. OS and PFS were compared between RT+TMZ and RT alone group with Kaplan-Meier (Log Rank) Analysis. Median OS for RT+TMZ and RT group was 44 ± 25.20 months and 8 ± 2.73 months, respectively and a statistically significant difference was demonstrated ($p = 0.002$). Median PFS for RT+TMZ and RT group was 17 ± 17.66 months and 5 ± 2.19 months, respectively. There wasn't statistically significant difference between two groups ($p = 0.07$).

Median OS and PFS for group with wild type IDH 1 were 10 (2-84) months and 6 (2-33) months, respectively. In this group, 50 (% 59.5) cases were administered RT+TMZ and 34 (% 40.5) of them was applied RT alone. Median OS for RT+TMZ and RT group was 12 ± 1.32 months and 8 ± 1.74 months, respectively. There was statistically significant difference between two groups ($p = 0.009$). Median PFS for RT+TMZ and RT alone group was 7 ± 0.78 months and 6 ± 0.22 months, respectively and there was statistically significant difference ($p = 0.01$).

Conclusion: Both IDH1 and IDH2 mutations are more frequent in grade II-III gliomas and secondary GBM than in primary GBM, are present at higher frequencies in younger patients, and are associated with a favourable prognosis in literature. In our retrospective trial on 93 cases with primery GBM was researched. Although median OS for group with mutand IDH 1 was long than the group of wild type (22 months and 8 months respectively,), but statistically significant difference wasn't demonstrated. In this situation, on the small number of patients and only investigated R132H mutation thought to be caused. In literature, it has been shown that the prognostic value of IDH mutations of primary GBM patients treated with standard regimen (combined chemoradiotherapy with TMZ with adjuvant TMZ). In some studies, mutations are an independent prognostic factor to prolongation of OS and PFS, although some studies show not to be demonstrated. In this study the addition of TMZ to treatment for cases with mutand IDH 1 improved OS and a statistically significant difference was demonstrated. In this state, IDH mutations are controversial as predictive factor to estimate the treatment response.

Key Word: Glioblastoma, isocitrate dehydrogenase (IDH), Radiotherapy, Temozolomide.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Yeni tanı almış tüm kanser olgularının % 1.4' ünü primer santral sinir sistemi tümörleri oluşturur. Amerika' da yılda yaklaşık 18.000 kişide primer santral sinir sistemi tümörü tespit edilmekte ve bunların % 60' ı glioma tanısı almaktadır. En sık görülen ve en agresif seyreden primer beyin tümörü WHO grade IV olan glioblastomadır (1-11). Sıklıkla de novo olarak görülmesine rağmen, az bir kısmı düşük gradlı astrositom (WHO grade II) ya da anaplastik astrositomdan (WHO grade III) transformasyon ile sekonder olarak ortaya çıkar.

Glioblastoma, kötü diferansiye astrositlerden oluşur, genellikle serebral hemisferleri tutar ve erişkinlerde daha sıktır (1,8,9,10). Standart tedavi geniş sınırlı cerrahi rezeksiyon ve postoperatif radyoterapi ile eş zamanlı ve idame temozolomide (TMZ) tedavisidir(1-13).

Standart tedaviye rağmen olguların % 70' inde bir yıl içinde progresyon görülür (13). Son yıllarda, prognozun iyileştirilmesine yönelik, gliomaların moleküler özelliklerinin incelenmesi ve spesifik genetik özelliklerin belirlenmesiyle ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

Kromozom 2q.33.3'de lokalize izositrat dehidrogenaz (IDH) geni tarafından kodlanan izositrat dehidrogenaz enzimleri (IDHs), Trikarboksilik asit siklusu (TCA)'nda görev alırlar.

İzositratın, α - ketoglutarata (α –KG) oksidatif dekarboksilasyonunu katalizlerler ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) veya nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

(NADP⁺)'ı, NADH veya NADPH'a indirgerler (14,15). Enzimler lipid ve glukoz metabolizması gibi hücrel metabolik olaylarda anahtar role sahiptir. Bunun yanında reaktif oksijen radikalleri ve radyasyona karşı hücrel defans mekanizmalarında da görev alırlar (16-18,19). Mutasyonlarla enzim aktivitesi azalır. Bunun sonucunda ortaya çıkan metabolitlerin, kanser oluşumuna katkısı ve IDH geninin tümör supresör veya onkogen olduğu henüz net olarak anlaşılamamıştır (20,21). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mutasyonlarının progostik faktör olduğu gösterilmiştir (14,22-24).

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında 2000-2010 tarihleri arasında primer glioblastoma tanısı almış yalnız radyoterapi ve radyoterapi ile eşzamanlı ve ardından idame temozolomide alan olgularda IDH mutasyonlarının durumu incelendi. Mutasyonların bulunma sıklığı, sağkalım ile hastalıksız sağkalıma etkisi ve prognostik önemi değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Santral Sinir Sistemi Tümörleri

Santral sinir sistemi (SSS) beyin, spinal kord ve onları koruyan yapılardan oluşur. Primer santral sinir sistemi tümörlerinin etyolojisi bilinmemektedir. Ancak medikal sebepler (toksoplazma gibi viral ve parazitik enfeksiyonlar, AIDS, immünsupresyon, kafa travması), mesleki veya çevresel atıklar (organik çözücüler, sentetik kauçuk, formaldehit, polivinil klorid, pestisid, herbisid, iyonize radyasyon ve elektromanyetik alan), hayat tarzı ve beslenme (cep telefonu, nitrat ve N-nitroso bileşikler, kolesterol, yüksek sosyal sınıf, saç spreyleri ve sigara) etyolojik faktörler içinde sayılabilir (25). Bazı SSS tümörlerinin ise nörofibromatozis Tip 1, nörofibromatozis Tip 2 ve Li-Fraumeni Sendromu ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (26). Bununla birlikte bazı yayınlarda A, C ve E vitamini, astım, alerjik bünye ve sık grip olmanın SSS tümörlerine karşı koruyucu olabileceği söylenmiştir (1).

Amerika’da tüm kanserlerin % 1.4’ ünü SSS tümörleri oluşturur ve kansere bağlı ölümlerin % 2.2’ sinden sorumludur (26).

WHO histolojik sınıflaması SSS tümörlerini orjin aldığı embriyonik dokuya göre gruplamıştır (Tablo 1) (27). SSS tümörlerinin % 82’ sini astrositom, anaplastik astrositom ve glioblastoma oluştururken; % 14’ ünü medullablastom, oligodendrogliom, epandimom ve pilositik astrositom ve miks oligoastrositom oluşturur (28,29).

Tablo 1. WHO Santral Sinir Sistemi Tümörleri Histolojik Sınıflandırması

1. Astrositik tümörler
a. Diffüz astrositoma 1. Fibriler astrositoma 2. Protoplazmik astrositoma 3. Gemiositik astrositoma b. Anaplastik astrositoma c. Glioblastoma 1. Dev hücreli glioblastoma 2. Gliosarkom d. Pilositik astrositoma e. Pleomorfik ksantroastroitom f. Subependimal dev hücreli astroitom
2. Oligodendroglial tümörler
a. Oligodendrogliom b. Anaplastik oligodendrogliom
3. Mixed gliomalar
a. Oligoastroitom b. Anaplastik oligoastroitom
4. Ependimal tümörler
a. Ependimoma a. Sellüler b. Papiller c. Clear cell d. Tanisitik b. Anaplastik ependimoma c. Miksopapiller ependimoma d. Subependimoma
5. Koroid plexus tümörleri
a. Koroid pleksus papillomu b. Koroid pleksus karsinomu
6. Nöronal ve mixt nöroglial tümörler
a. Gangliositom b. Serebellumun displastik gangliositomu c. Desmoplastik infantil astrositomu d. Disembriyoplastik nöroepitelyal tümör e. Gangliogliom f. Anaplastik gangliogliom g. Santral nörositom h. Serebellar liponörositom i. Filum terminalenin paragangliomu
7. Nöroblastik tümörler
a. Olfaktor nöroblastom (estesionöroblastom) b. Olfaktor nöroepitelyom c. Adrenal gland ve sempatik sinir sistemi nöroblastomu

8. Pineal parenkimal tümörler
a. Pineasitom b. Pineablastom c. Orta derecede differansiyasyon gösteren pineal parenkimal tümör
9. Embriyonal tümörler
a. Medullaepitelyom b. Ependimoblastom c. Medullablastom 1. Desmoblastik medullablastom 2. Large cell medulloblastom 3. Medullomyoblastom 4. Melanositik medulloblastom d. Supratentoryel primitif nöroektodermal tümörler 1. Nöroblastom 2. Ganglionöroblastom e. Atipik teratoid/rabdoid tümör
10. Orijini belirsiz glial tümörler
1. Astroblastom 2. Gliamatosis serebri 3. Ventrikül koroid gliomu

2.2.Glioblastoma

2.2.1. Etyoloji ve Epidemiyoloji

Tüm malign beyin tümörlerinin % 77'sini yüksek dereceli gliomalar oluşturur (30). Glioblastoma ise tüm malign beyin tümörlerinin % 82'ni oluşturur. Erkeklerde kadınlardan daha sıktır ve 65-75 yaş arası insidansı daha yüksek olup, ortanca sağkalım artan yaşla azalır (30). Etyolojide çevresel faktörlerin rolü tartışmalı olmakla birlikte nörofibromatozis Tip 1 ve Li-Fraumeni Sendromu gibi genetik faktörler glioblastoma oluşumunda etkili olabilir (31-33).

2.2.2. Biyolojik Özellikler ve Moleküler Biyoloji

Yüksek gradlı gliomalar, sinyal transdüksiyon yolları, hücre döngüsü, hücre büyüme kontrolü, apoptoz ve diferansiyasyonu değiştiren çeşitli gen ekspresyon değişiklikleri gösterir. En sık görülen değişiklikler anormal büyüme faktörü reseptör ekspresyonu ve hücre siklusunda kontrol kaybıdır.

Focal Adhesion Kinase (FAK) aşırı ekspresyonu tümör gelişimi ve progresyonuna katkıda bulunan büyüme-uyaran değişikliğidir ve bu değişiklik sinyal yolları ile bağlantılıdır. FAK aşırı ekspresyonu, astrositom ile glioblastomalarda olur ve bu aşırı ekspresyonun hem invivo hem de invitro hücre proliferasyonuna katkıda

bulunduğu gösterilmiştir. *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) ve onların reseptörlerinin amplifikasyonu veya aktif hale gelen mutasyonlar da gözlenmektedir (33-35).

Phosphatase and tensin homolog (PTEN) (MMAC1) ve Protein 53 (p53) gibi tümör supresör genler ile *Murine double minute oncogene* (MDM2) ve hücre siklüs regülasyonunda önemli genler mutasyona uğrarlar (37,38). Yüksek gradlı gliomalarda genelde Protein kinaz B (AKT) fosforilasyonun baskılanmasını destekleyerek hücre büyümesiyle sonuçlanan PTEN delesyonu görülür (39). PTEN kaybı olan astrositlerde hızlanmış proliferasyonun temelini bu olduğu düşünülür (40). Yapılan çalışmalarda, astrositlerin diferansiyasyonunda anahtar role sahip büyüme faktörlerinin en çok etkilenen faktörler olduğu ve astrositlerin diferansiyasyon yolakları ile glioma transformasyonu arasındaki bağlantıda rol oynadığı gösterildi (40).

Siklin-bağımlı Kinaz İnhibitörü 2A (CDKN2A) (p16) ve Retinoblastoma 1 (RB1) gibi diğeri tümör supresör genlerin mutasyonu da sıktır (42,43). Bu tümör supresör genler, CDKN2A- Siklin-bağımlı Kinaz (CDK4) / cyclin D1-RB1 hücre siklus düzenleyici yollaklarda anahtar role sahiptir.

2.2.2.1. Major Yolaklar

Astrositik hücreden glioblastomaya progresyon da ayırt edici yolaklar, gliomaların moleküler özelliklerinin incelenmesi ile göstermiştir (1).

Sürekli olmayan EGFR ve MDM2 aşırı ekspresyonu, mutasyonu veya PTEN, RB1 veya CDKN2A kaybı içeren de novo glioblastomalar yaşlı hastalarda daha sıktır. CDKN2A delesyonu yüksek proliferasyon oranlarıyla bağlantılıdır ve EGFR amplifikasyonu olan tümörlerde gözlenir (44). Yaşlı hastalarda prognoz daha kötü olmasının nedeni EGFR amplifikasyonu ve p16/CDKN2A delesyonudur (45). PTEN inaktivasyonu en sık de novo glioblastoma yolağında görülür (46).

İkinci yolakta PDGFR ile ligandlarının aşırı ekspresyonu ve Tümör protein 53 (TP53) mutasyonu anahtar basamağı oluşturur. Bu hastalar daha gençtir ve tümörleri malign progresyona götüren ardarda genetik değışimler gösterirler. Başlangıçta düşük gradlı astrositom olarak başlayan yapılardan daha yüksek gradlı tümöral yapılar meydana gelir (1).

Spesifik genetik özelliklerin prognostik önemi kesin bilinmemesine rağmen bu moleküler değişiklikler yolları etkilemektedir (1). Ancak glial tümörlerde EGFR geninin artmış ekspresyon ve amplifikasyonu iyi belirlenmiştir (47). Anormal EGFR amplifikasyon / aşırı ekspresyonun veya genin kendi içinde değişikliklerin anaplastik astrositom ve glioblastomada kötü prognoza işaret ettiğine dair kanıtlar vardır (48,49).

2.2.3. Patoloji

2.2.3.1. Makroskopi

Makroskopik incelemede çevre normal dokudan iyi sınırla ayrılan glioblastomalar, mikroskopik olarak kitleden uzakta normal doku içine infiltrasyon gösterir. İnvaziv tümör olduklarından çevre normal beyin dokusunda ödem ve ekspansiyona yol açarlar. Kesit yüzeylerinde kist formasyonları, hemoraji ve nekroz alanları görülür (1,50). Kelebek paterni terimi, orta hattı geçip karşı serebral hemisferi de infiltre eden tümörler için kullanılır (1,2).

Bu sebeplerden tümörün geniş sınırlarla rezeksiyonu genellikle iyi prognozla ilişkiliyken, dar sınırla rezeksiyon normal beyin dokusuna diffüz ve geniş infiltrasyondan dolayı küratif değildir. Tümör doğrudan ventriküler sistem ve subaraknoid aralığa yayılabilir, geç evrelerde spinal veya spinal subaraknoid metastaz gelişebilir. Hematojen metastaz ise oldukça nadirdir (1).

2.2.3.2. Histopatoloji

Glial fibriler asidik protein (GFAP) ve küçük yuvarlak çekirdekten oluşan filamentler, astrositlerin yapısını oluşturur. Tümör kesitleri genelde yoğun ve uzun sitoplazmik içerik ve genişlemiş hücre ihtiva eden reaktif astrositler veya gemistosislerden oluşur. Yüksek gradlı tümörler normal astrosite benzeyen diffüz hücre infiltrasyonu gösterir. Artmış sellülarite, mitoz, küçük damar ve endotelial hücre proliferasyonu, nükleer ve sitoplazmik pleomorfizm ve nekroz malignensi tanısını destekleyen spesifik bulgulardır (51).

2.2.4. Gradlandırma

Derecelendirme, WHO klasifikasyon sistemine göre yapılır ve prognostik belirleyici olması nedeniyle önemlidir. WHO klasifikasyon sistemi St. Anne-Mayo sistemi ile uyumlu kriterleri kullanır. St. Anne-Mayo sistemi ise malign özelliklerin sayılarının skorlanması temel alır. (52).

St. Anne-Mayo;

- Mitotik aktivite
- Sellüler pleomorfizm
- Vasküler endotelyal proliferasyon ve
- Nekroz özelliklerine bakar.

Glioblastomda dört malign özellik bir aradadır ve grade IV olarak adlandırılır (52).

2.2.5. Klinik Tablo

Olguların yarısından fazlasında baş ağrısı, epileptik nöbet ve hemiparezi triadı mevcuttur. Baş ağrısı sıklıkla bölgesel olma özelliği taşır ve genellikle tümörün yerleşimi hakkında bilgi verir. Tümörün basıya neden olabilecek geniş hacime ulaşması sonucu, intrakranial basıncın artışı ile ilişkili olarak ortaya çıkabileceği gibi, meninkslerdeki kan damarlarıyla ilişkili olan, ağrıya duyarlı sinir uçlarının irritasyonu ve lokal gerilimi sonucu da gelişebilir. Nöral dokudaki irritasyonu gösteren epileptik nöbetler ise frontal ve temporal yerleşimli tümörlerde daha siktir ve genellikle grand mal ve fokal tip nöbetler görülür. Nörolojik defisitler yerleşim bölgesine bağlı olarak meydana gelir. İntrakranial basınç artışı semptomları (baş ağrısı, kusma, bilinç bozuklukları, 3 ve 6. sinir tutulumlarına bağlı olarak diplopi, fasial paralizi v.s.) sık görülür. Mental değişiklikler frontal ve temporal lob tümörlü hastalarda çok sık görülen bir bulgudur (2,53).

2.2.6. Tanı Metodları

Beyin tümörlü olgularda öncelikle ayrıntılı bir anamnez alınmalı ve iyi bir fizik muayene yapılmalıdır. Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve Bilgisayarlı Tomografi (BT); beyinin anatomik tanımlamasını yaparak kontrastın yoğunlaştığı hacimle ilişkili olarak, bir bölgede gelişen tümöral yapıyı gösterirken tümörün lokalizasyonu, yayılımı, gradı, tek veya çok odaklı olması, tek yada çift taraflı yerleşimi ile birlikte; ödem, nekroz ve kalsifikasyon gibi ayrıntıları hakkında da bilgi verir.

Glioblastomalar MRG’de nekroz ve/veya kist oluşumuna bağlı heterojen kitleler halinde görülürler. T1A görüntülerde genellikle santral yerleşimli hipointens alan mevcuttur. Bu hipointens alanı çevreleyen kalın, düzensiz duvar ve solid nodüller,

parankime göre izointens veya hafif hipointens sinyal paternine sahiptir. T2A görüntülemelerde çevresel ödem alanı belirgindir, değişik sinyalli heterojen hiperintens görünüm vardır. İntravenöz gadolinyum sonrası yapılan incelemelerde opaklaşma saptanır (2,26).

Single photon emisyon tomography (SPECT) ve Pozitron emisyon tomografi (PET), tümör metabolizmasını anlamak ve radyasyon nekrozundan, neoplaziyi ayırt etmekte kullanılmaktadır. PET, malign büyüme nedeniyle gelişen nekroza bağlı olarak, metabolizma hızı farklı alanların doku değişkenliğini saptamaya yardımcı olan bir tanı yöntemidir (2,54). Glukoz'un malign hücrelerde normal dokudan daha fazla kullandığı belirlenince, 18F-florodeoksiglukoz (FDG), PET çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır. FDG-PET kullanılarak malignensinin derecesi, biyopsi alanının lokalizasyonu, tedavi sonrası tümör nüksünün tespiti ve tümör nüksünün radyasyon nekrozundan ayırt edilebilmesi mümkün hale gelmiştir. PET'de 11-C (karbon) ile işaretli metyonin kullanılarak aminoasit metabolizması incelenebilir ve FDG-PET'e göre tümör tespitinde daha sensitiftir.

Glioma metabolizmasını anlamada kullanılan diğer bir yöntem ise Manyetik rezonans spektroskopisi (MRS)'dir. MRS ile fosfor 31 ve hidrojen ölçümleri yapılarak, enerji metabolizması haritası çıkarılabilir ve hücre zarının lipid metabolizması ile diğer hücre unsurları tanımlanabilir. Fosfolipid hücre zarı içeriğinde bulunan kolin seviyesi, kronik radyasyon nekrozunda azalır. Kolin seviyesinin ölçümü ile, tedaviye cevap değerlendirmesi yapılabilir.

Postoperatif değişiklikler, radyolojik tetkiklerde kontrast maddeyi tutar. Bu nedenle rezidüel tümör ile ayırdedilmeleri zordur. Yapılan çalışmalarda, postoperatif değişikliklerin, en erken üçüncü günden itibaren kontrast maddeyi tutmaya başladığı ve tutulumun 45 gün kadar süreceği saptanmıştır. Bundan dolayı cerrahi sonrası tümör boyutunu tespit etmek için ilk 24 saat (en geç üç gün içinde) veya 45 gün sonra MRG yapmak gerekir (55).

2.2.7. Prognostik Faktörler

2.2.7.1. Klinik Prognostik Faktörler

Glioblastomalı hastalarda sağkalım ortalama 1 yıldır. Curran ve ark. RTOG verilerini kullanarak yaptığı çalışmada 1974-1989 arası tanı alan 1578 olguyu inceledi.

Rekursif bölümlleme analizini (RPA) kullanılarak 6 prognostik grup oluşturulup hastalar bu gruplara ayrıldı. Gruplarda medyan sağkalım 4.6 ay ile 58.6 ay arasında değişmekteydi. Yaşın 50' nin üzerinde olması, histolojinin glioblastoma olması, Karnofsky performans durumu (KPS)' nun 90' ın altında olması, semptomların başlangıcı ile tanı konulması arasındaki sürenin 3 aydan kısa olması, total rezeksiyon yapılamaması ve 54.4 Gy' den daha düşük doz uygulanması kötü prognostik faktörler olarak değerlendirildi (Tablo 2) (56). Ayrıca bazı çalışmalarda oligodendrogial komponentin varlığının sağkalımı ortalama 5 yıla kadar uzatabileceği ve 60 yaş üstünün kötü prognostik faktör olduğu saptandı (59).

Tablo 2. Rekursif Partitasyon Analizi (RPA) Prognostik İndeksleri

Sınıf 1	Yaş<50, Anaplastik Astrositoma, normal mental durum
Sınıf 2	Yaş>50, Karnofsky Performans Skoru (KPS) 70-100, Anaplastik Astrositoma, semptom süresi >3 ay
Sınıf 3	Yaş<50, Anaplastik Astrositoma ve anormal mental durum ya da Yaş<50, Glioblastoma ve KPS 90-100
Sınıf 4	Yaş<50, Glioblastoma, KPS<90 ya da Yaş≥50, KPS 70-100, Anaplastik Astrositoma, semptom süresi < 3 ay ya da Yaş>50, Glioblastoma, cerrahi rezeksiyon, ve iyi nörolojik fonksiyon
Sınıf 5	Yaş≥50, KPS 70-100, Glioblastoma, cerrahi rezeksiyon ve işi engelleyen nörolojik bozukluk veya biyopsi ve takiben en az 54.4 Gy radyoterapi
Sınıf 6	Yaş≥50, KPS<70, anormal mental durum ya da Yaş≥50, KPS 70-100, Glioblastoma, sadece biyopsi, <54.4 Gy radyoterapi

2.2.7.2. Moleküler Prognostik Faktörler

Prognostik faktörlerin belirlenebilmesi için moleküler düzeyde pek çok çalışma yapılmıştır. 1p/19q heterozigotisite kaybı (LOH) tüm glioblastomalı olguların % 60-90'ında mevcuttur. LOH, oligodendrogial fenotip ile birlikte, KT ve RT'ye iyi cevap ve daha iyi sağkalımla ilişkiliyken, 10q' da heterozigotisite kaybı kötü prognozu işaret eder. (58).

P53 mutasyonu da iyi prognoz göstergesidir. Olguların % 25-40'ında olup genç olgular ve sekonder glioblastomada daha sık görülür (59).

MDM2 amplifikasyon veya aşırı ekspresyonu olguların % 10-15' inde görülür ve kötü prognostik faktördür (60). PTEN (MMAC) mutasyonu da olguların % 30' unda görülür ve kötü prognozla ilişkilidir (46,48).

EGFR mutasyonu veya aşırı ekspresyonu sıklıkla 10. kromozom kaybı nadiren de p53 mutasyonu ile birliktelik gösterir. De novo glioblastomalarda görülür. EGFRVIII; kinaz inhibitörleri, immunotoksinler ve peptid aşılarında hedeftir (47,48).

O6-metil guanin metil transferaz (MGMT), temozolomide (TMZ) alan hastalarda özel öneme sahiptir. MGMT promoter metilasyonu BCNU ve TMZ gibi alkilleyici ajanlara duyarlılık ile bağlantılıdır. Eğer metilasyon yoksa, MGMT TMZ'e bağlı DNA hasarını hızlıca onarır. MGMT promoter metilasyonu iyi prognoz göstergesidir (61).

2008 yılında yapılan geniş kapsamlı bir genom sekans çalışmasında, 149 GBM tanılı hastanın 18'inde (% 12) İzositrat dehidrogenaz 1 (IDH1) geni somatik mutasyonu tespit edildi (14). Daha sonra IDH1 gen mutasyonu olmayan diğer GBM olgularında sıklıkla İzositrat dehidrogenaz 2 (IDH 2) gen mutasyonunun varlığı ortaya çıkarıldı (22). IDH gen mutasyonları primer glioblastomalarda %5 sıklıkla görülürken grade II-III gliomalar ve sekonder glioblastomalarda %70-75 sıklıktaydı (23). Mutasyonların genç hastalarda daha sık görüldüğü ve iyi prognozla ilişkili olduğu saptandı (22,24).

2.2.8.1.İzositrat dehidrogenaz enzimleri (IDHs)'nin yapısı ve normal biyokimyasal fonksiyonu

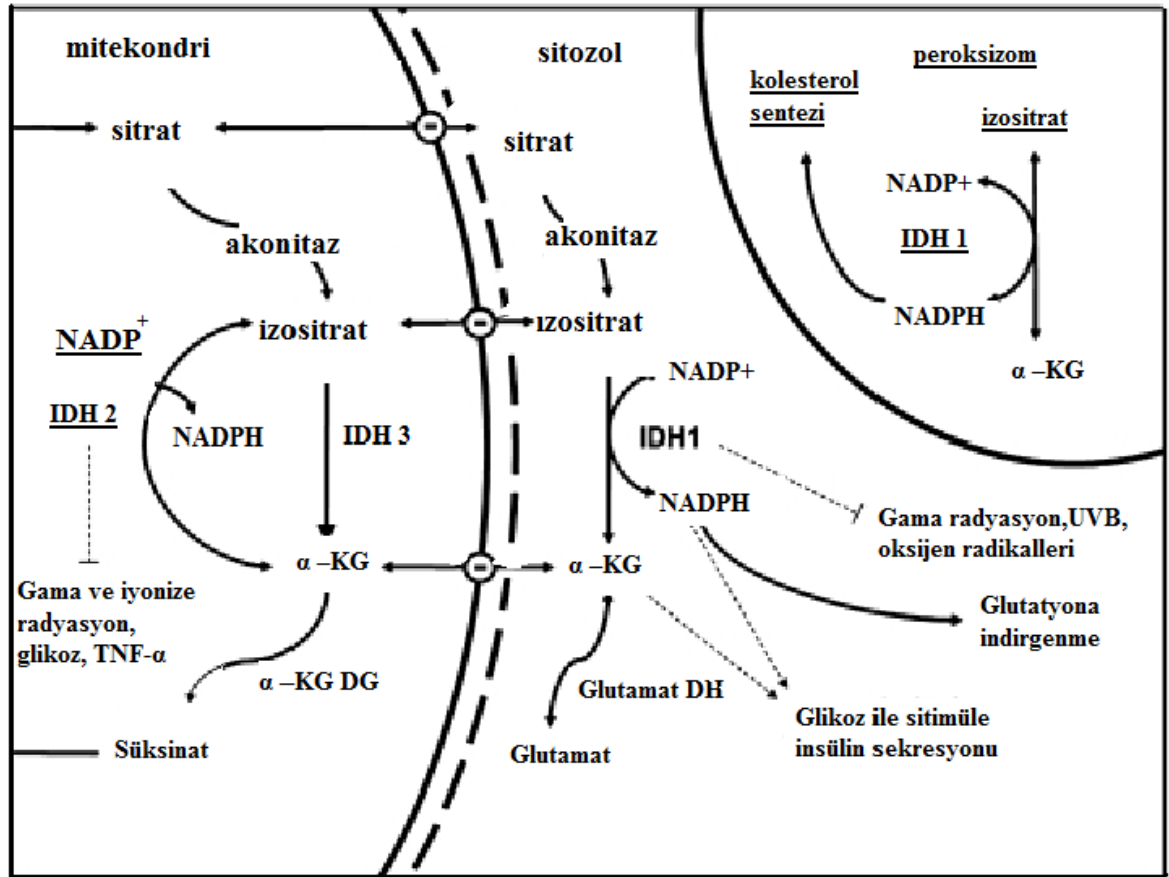
IDHs, izositratın α -KG'a oksidatif dekarboksilasyonunu katalizlerler ve NAD^+ ile NADP^+ , NADH veya NADPH 'a indirger (Şekil 1). IDH 1 ve IDH 2 homodimerik yapıda olup NADP^+ bağımlı enzimlerdir. Önemli ölçüde sekans benzerlikleri olup, neredeyse aynı protein yapıya sahiptirler. IDH 3 ise NAD^+ bağımlı enzimdir ve 2 α , 1 β ve 1 γ subünitlerinden oluşan heterotetramer yapıdadır (15).

IDH 1 ve IDH 2, 94. pozisyonundaki serin ve 279. pozisyonundaki aspartik asit aminoasitleri arasında oluşan intramoleküler bağlantı sayesinde kapalı ve aktif konuma geçen dimerize enzimlerdir. Enzim dimerleri açıkken inaktif yapıdadırlar. Homodimerler kapalı-aktif iken, izositrat metal iyon kompleksin aktif alana girmesine izin vermez. Buna ek olarak aktif alanlar çözücülere maruz kalabilir, substrat ve kofaktörlerle muamele edilebilir. Ortamda α -KG ve NADPH arttığında enzim açık-inaktif duruma gelir. Sonuç olarak IDH 1 ve IDH 2 enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar geri dönüşümlüdür (15).

IDH 1 stoplazma ve peroksisomlarda lokalizedir, yüksek oranda karaciğerden daha az olarak diğer dokulardan salınır. İzositratı α -ketoglutarata katalizlemenin yanı sıra lipid ve glikoz metabolizması gibi hücrel metabolik olaylarda rol alır (16,17). IDH 1'in reaktif oksijen radikalleri ve radyasyona karşı hücrel defans mekanizmalarında da görev aldığı gösterilmiştir (18,19).

IDH 2, mitokondride lokalizedir ve yüksek oranda kalp, çizgili kas ve lenfositlerden daha az olarak diğer dokulardan salınır (71). TCA siklusunda anahtar role sahiptir ve IDH 1 gibi oksidatif strese karşı korunmada görev alır (19,62).

IDH 3 de mitokondride lokalizedir. TCA siklusunda tamamlayıcı role sahiptir, aerobik enerji üretiminden sorumludur. IDH1 ve IDH 2'nin katalizlediği reaksiyonlar geri dönüşümlü iken IDH 3'ün katalizlediği reaksiyon ise geri dönüşümsüzdür (15,63).



Şekil 1. IDH enzimlerinin enzimatik aktivitesi

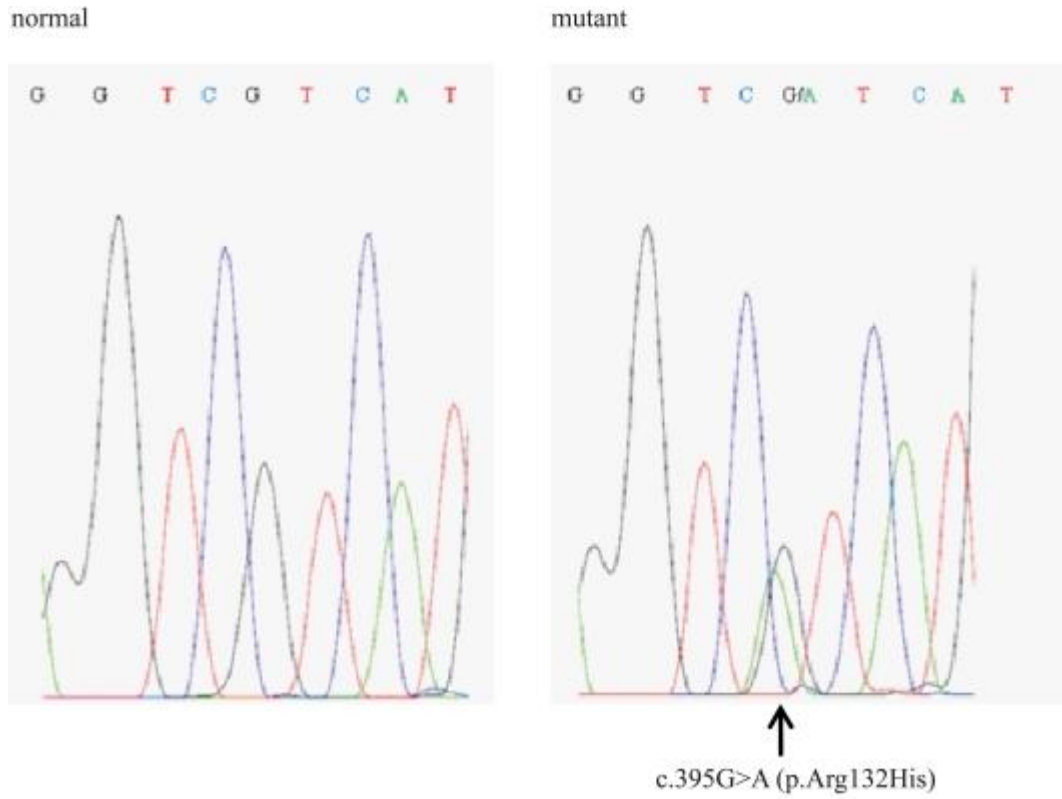
2.2.8.2.IDH gen mutasyonlarının sıklığı

Son yıllarda genomik teknolojinin gelişmesiyle, GBM gibi ciddi malignansilerde genom araştırmaları yapılmaya başlandı. İlk olarak 2008’de Parson ve ark. tarafından yapılan geniş kapsamlı bir genom sekans çalışmasında, GBM olgularının % 12’sinde IDH 1 gen mutasyonu tespit edildi (Şekil 2) (14). Daha sonra IDH1 gen mutasyonu olmayan diğer glioma olgularında sıklıkla İzositrat dehidrogenaz 2 (IDH 2) gen mutasyonunun varlığı ortaya çıkarıldı (22). Sonraki çalışmalarda GBM; primer (de novo), sekonder (düşük gradlı gliomalardan transformasyon) şeklinde gruplandırıldı. Sekonder GBM’lerde IDH1 ve IDH 2 gen mutasyonlarının primer GBM’ den daha sık olduğu bildirildi (22-24,64-66).

IDH mutasyonlarının sekonder GBM’lerde daha sık tespit edilmesinin ardından,düşük gradlı gliomlarda da çalışmalar yapıldı. IDH mutasyonları grade II,III astrositomlarda %65-80 (67-69,80-82), grade II,III oligodendrogliom ve

oligoastrositomlarda %70-85, pilositik astrositomlarda %5'in altında iken epandimomlarda tespit edilemedi (22,64,66).

İlk çalışmalarda, pediatrik GBM olgularında IDH mutasyonlarına nadiren rastlanırken (22,64,67,68), Pollack ve ark.'nın 2011'de yaptığı çalışmada, 14 yaş üzeri pediatrik hastalarda önemli oranda mutasyon tespit edildi (20 hastadan 7'sinde) ve bu durumun genç erişkinlerdeki gibi iyi prognoz göstergesi, yüksek gradlı gliomların ise genç pediatrik hastalarda farklı bir antite olabileceği öne sürüldü (69). Sekans çalışmalarında IDH 3 mutasyonuna ise rastlanmadı (67,70).



Şekil 2. Krell ve ark. yaptığı çalışmada IDH 1 geninde,
direk sekans yöntemiyle 132. kodonda mutasyon

2.2.8.3.IDH gen mutasyonlarının karakteristiği

Parson ve ark. 20,661 adet proteini kodlayan geni inceledi ve %12 oranında kromozom 2q.33.3’de lokalize IDH 1 geni mutasyonu saptadı (14). Genom sekans çalışmaları IDH mutasyonlarının, kodonda tek nükleotid değişikliği şeklinde heterozigot olarak ortaya çıktığını gösterdi. IDH 1 mutasyonu exon 4’de 132. kodonda kodlanan (R132) arjininin yüksek oranda histidine (R132H) (%92) daha az olarak da serin (R132S) ve diğer aminoasitlere, IDH 2 mutasyonu ise exon 4’de 172. (R172) kodonda kodlanan arjininin sıklıkla lizine (R172K) (%61), daha az oranda da metyonin (R172M) (%22) ve diğer aminoasitlere dönüşümü şeklindeydi. En sık görülen mutasyonlardaki baz değişimi ise 395. pozisyonadaki adeninin guanine dönüşümüydü (Tablo 3)(22,24,64,65,71).

Tablo 3: 132. Kodondaki IDH 1 ve 172. Kodondaki IDH 2 mutasyonlarının sıklığı

IDH 1 TİP	KODON 132	A.A	MUTASYON SIKLIĞI	IDH 2 TİP	KODON 172	A.A	MUTASYON SIKLIĞI
normal IDH1	C.G.T	Arg	-	normal IDH2	A.G.G	Arg	-
R132S	A.G.T	Ser	% 1.7	R172G	G.G.G	Gly	% 4.9
R132G	G.G.T	Gly	% 1.5	R172W	T.G.G	Trp	% 12.2
R132C	T.G.T	Cys	% 3.8	R172K	A.A.G	Lys	% 61
R132H	C.A.T	His	% 92	R172M	A.T.G	Met	%22
R132L	C.T.T	Leu	% 0.9				
R132V	G.T.T	Val	% 0.1				

2.2.8.4.IDH gen mutasyonlarının diğer malignansilerle ilişkisi

IDH 1 ve IDH 2 mutasyonlarının malign gliomalarda tespit edilmesinin ardından diğer malignansilerde de sekans çalışmaları yapılmaya başlandı.Geniş kapsamlı çalışmalara rağmen, glioma dışı solid tümörlerde mutasyona düşük oranda rastlandı. Prostat kanseri ve metastatik melanomda IDH1 mutasyonu tespit edildi (72,73). Kang ve ark. B-cell ALL’de IDH 1 mutasyonuna rastladı (73). Konjenital primer AML tanılı hastalarda R132, R172 ve R140Q (arjinin yerine glutamin) mutasyonları görüldü (74). Seiz ve ark.’nın direk sekans çalışmasında 35 gliomatozis

cerebri tanılı olguda %42 (10/34) oranında IDH 1 mutasyonu tespit edildi (75). Supra tentoriyal primitif nöroendokrin tümör (sPNET) tanısı alan olgularda da sırasıyla %33 ve %6 oranında IDH 1 mutasyonu görüldü (64,76).

2.2.8.5. IDH gen mutasyonlarının fonksiyonel özellikleri

IDH gen mutasyonlarının tespit edilmesiyle kanserlerdeki rolü tartışma konusu olmuştur. Zahoo ve ark. mutasyonla IDH 1 normal fonksiyonunun kaybı ve tümör hücrelerinde artmış hipoksi-indüklenen faktör subünit 1 alfa (HIF-1 α) seviyelerini göstererek IDH 1'in tümör supresör gen olduğu sonucuna vardı (20).

Dang ve ark. ise IDH 1 mutasyonu olan tümör hücrelerinde 2-hidroksiglutarat (2-HG)'in artmış miktarlarını, in vivo gliom oluşumu ve malign progresyonuna katkısını göstererek, IDH 1'in tümör supresör değil onkogen olduğunu raporladı (21).

IDH mutasyonu ile izositratın α -KG'a oksidatif dekarboksilasyonu azalmaktadır. Bunun sonucunda oluşan metabolitlerin (α -KG, NADPH, 2-HG and HIF-1 α) kanser oluşumuna katkısı ve IDH'nin tümör supresör mü yoksa onkogen mi olduğu henüz netlik kazanmamıştır.

2.2.8.6. IDH gen mutasyonları sonucu oluşan metabolitler

2.2.8.6.1. α -KG

IDH mutasyonu enzimin substratına affinitesini bozar. Sonuç olarak α -KG miktarı düşer. Bununla birlikte mutant enzim yeni bir aktivasyonla α -KG'ın, 2-HG'a dönüşümünü sağlar.

Aynı zamanda NADPH, NADP⁺ dönüşümü de artar (21). Başka bir çalışmada ise normal (wild-tip) ile mutant IDH görülen tümörler arasında α -KG seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır (77). Bu durum TCA'nın diğer metabolitlerini araştırma konusu yapmıştır.

2.2.8.6.2. NADPH

NADPH üretimi, apoptozun inhibisyonu, hücre gelişimi ve büyümesi için gereklidir. NADPH glutatyon sentezinde kullanılır. Glutatyon ise hücreleri oksidatif stresden korur ve apoptozun inhibisyonunda görev alır. Ayrıca sitozolik NADPH, membran bağımlı NADPH oksidazların substratıdır. Hidrojen peroksit burada protein tirozin kinazlarla indirgenir. Tirozin kinazların aktivasyonu ile hücrenin yaşaması ve

mitozu için sinyal oluşur (78-80-98). Bu süreçte IDH 1 ve daha az olarak IDH 2 rol oynar. Glioblastomada total NADPH yapım kapasitesinin %65'i IDHs tarafından sağlanır. Mutasyonda bu oran %38'e geriler. Tümör hücrelerinde NADPH'nin azalmış oranları ve uzamış sağkalımda ki rolü de tartışmalıdır (81).

2.2.8.6.3. 2-HG

2-HG, α -KG'nin NADPH bağımlı oksidazlarla (2-HG dehidrogenaz) geri oksidasyonu sonucu oluşur. Normal hücrelerdeki fonksiyonu net açıklanamamıştır. 2-HG toksik etkisini, glutamatın transaminazlar (glutamatın nitrojenini amino veya nükleik asit biosentezinde kullanan enzimler) gibi α -KG bağımlı enzimlerin kompetitif inhibitörü olarak gösterir. Kanseri hücreleri de normal hücreler gibi enerji üretimlerinin çoğunu sitozoldeki aerobik glikoliz yoluyla sağlar. 2-HG, tümör mikroçevresini değiştirerek enerji üretiminin mitokondride, pürivatın oksidasyonu ile anaerobik olmasına neden olur. (21,77). 2-HG, IDH 1 mutasyonu olan kanserli dokularda normalden 100 kat daha fazla tespit edilmiştir.

Birbirinin ayna görüntüsü olan iki enantiomer formu vardır. (L-2-HG ve D-2-HG) . L-2-HG ve D-2-HG gen mutasyonları ise tespit edilememiştir. L-2-HG'nin patolojik artmış seviyeleri progresif nöronal hasar ve gliomalarıda içeren artmış beyin tümörü oluşumuyla bağlantılı iken, D-2-HG için bu durum tespit edilememiştir (77).

2.2.8.6.4. HIF

IDH mutasyonları sonucu α -KG'nin düşen seviyeleri, pirolidhidroksilazlar (PHDs)'in aktivasyonuna neden olur. Böylece α -KG, HIF'a indirgenir. HIF, HIF-1 α ve HIF-1 β alt ünitelerinden oluşur. Mutasyon ile artan HIF-1 α transkripsiyon için nükleusa taşınır (81). HIF-1 α , düşük oksijen seviyeleri ile aktive olan ve glukoz metabolizması, anjiyogenez, hücre motilite ile invazyon ve tümör gelişimi için gerekli olan diğer sinyal değişikliklerini sağlayan genlerin regülatörüdür. IDH 1 mutasyonu olan gliomalı hastalarda artmış HIF-1 α seviyeleri tespit edilmiştir ama tümörögenezdeki rolü net değildir (20).

2.2.8.7. IDH mutasyonlarının yaş ve prognozla ilişkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, IDH 1 ve IDH 2 mutasyonlarının uzun yaşam süresi, tedaviye iyi cevap ve multivaryant analizlerde de IDH 1 mutasyonunun bağımsız prognostik faktör olduğu gösterildi. Mutasyonlar genellikle genç hastalarda

ortaya çıkarken pediatrik grupta nadiren rastlandı. Pediatrik grupta mutasyon gözlenen olgular, görülmeyenlerden daha büyük yaşa sahipti (14,22,64,69).

Ichimura ve ark.'nın çalışmasında ise IDH 1 mutasyonunun multivaryant analizlerde tümör tipi, grade ve yaştan bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilemedi (82).

2.2.8.8.IDH mutasyonlarının ölçümü

IDH mutasyonları çeşitli yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Yöntemlerden biri mutant IDH proteinlerinin belirlenmesidir. Spesifik antikorlar, tümör hücre lizatlarında western blot yada tümör dokusunda immünohistokimyasal (IHC) olarak gösterilebilir. Bu yöntemle sadece IDH 1'in R132H ve R132S mutasyonları tespit edildi (83,84).

Tümör dokusundan DNA veya RNA izolasyonu, PCR yöntemi kullanılarak yapılan direk sekans ve pyrosekans yöntemleriyle IDH 1'in R132, IDH 2'nin R172, R140 mutasyonları teorik olarak %100 tespit edilebilir. Takano ve ark.yaptığı çalışmada IHC olarak tespit edilen, 12 adet R132H mutasyonunun sadece 9'unda sekans yöntemiyle mutasyon saptadı ve bu durumun tümör DNA'sının normal beyin doku DNA'sıyla kontaminasyonun sonucu olduğunu ve IHC'nin R132H mutasyonunu tespit etmede direk sekans yönteminden daha sensitif olabileceğini açıkladı. Yöntemin dezavantajı ise sadece R132H ve 132S mutasyonlarının tespit edilebilmesiydi (85).

Setty ve ark.'nın çalışmasında pyrosekans ve direk sekans yöntemi karşılaştırıldı. 33 primer GBM tanıli pediatrik olgunun 6'sında (%18) her ikli yöntemle de mutasyon tespit edildi ve pyrosekans yöntemin daha hızlı ve direk sekans kadar sensitif olduğu bildirildi (86).

Son olarak D-2-HG'nin mutasyonlu hücrelerde artmış miktarı gaz kromatografi/mass spektrometri veya likit kromatografi/mass spektrometri yöntemleriyle tespit edilebilir. Bu yöntemler kan veya plazmada 2-hidroksiglutarik asitüri tanısında kullanılmaktadır. Tümör lizatlarında mutasyon tayini için kullanımı henüz standart hale gelmemiştir.

2.2.9. TEDAVİ

Uzun yıllar glioblastomada standart tedavi cerrahi rezeksiyonu takiben adjuvan radyoterapi idi. Daha sonra nitrozüreler tedaviye eklendi. Temozolomide ile

ilgili çalışmaya kadar RTOG glioblastomada RT ile etkin alternatif ajanı bulmak için pek çok faz iki çalışma yürüttü.

Radyasyon duyarlaştırıcılar ve değişik fraksiyonlar, farklı dozlar veya teknikler (stereotaktik radyocerrahi, brakiterapi) ile ilgili çalışmalar yapıldı. Bununla birlikte hiçbirinde sağkalıma anlamlı bir katkı elde edilemedi ve standart tedavi olarak kabul görmedi (4). Son çalışmalar cerrahinin ardından uygulanan radyoterapi ve radyoterapi ile birlikte TMZ kullanımının standart tedavi olduğu gösterdi. Hedefe yönelik ajanlar ise halen araştırılmaktadır (3).

2.2.9.1. Cerrahi

Glioblastomada standart tedavinin temelini cerrahi oluşturur. Cerrahide amaç tanı için biyopsi, definitif yaklaşım için rezeksiyon, kitle etkisine bağlı semptomların azaltılması için palyatif yaklaşım ve kafa içi basınç veya hidrosefaliye bağlı semptomları rahatlatmak için şant yapmaktır (4, 55).

Subtotal rezeksiyon ve biyopsiye göre total rezeksiyonun, glioblastomada sağkalım ve hastalıksız sağkalıma katkısının daha fazla olduğu gösterilmiştir. MRG değerlendirmesine göre tümörün %97' sinden fazlasının rezeksiyonu daha uzun sağkalım ile ilişkilidir (87).

Stereotaktik biyopsi yaşlı ve genel durumu kraniotomiye elverişsiz hastalarda, derin lokalizasyonlu ve kritik alanlarda lokalize lezyonlarda, lezyon birden çok veya asemptomatik ise doku tanısı amacıyla kullanılabilir (87).

Rezeksiyon ve biyopsisinin sağ kalıma etkisini değerlendirmek amacıyla 1997-2001 arasında Kuzey Amerika' da 52 klinikte 413 glioblastomalı hasta karşılaştırıldı. Rrezeksiyonun sağkalım süresini anlamlı şekilde uzattığı çok değişkenli analizlerle saptandı. KPS skoru 70'in altında, multifokal tümörlü ve 60 yaş üstü hastalar çalışmadan çıkarıldıktan sonra da rezeksiyonun yine sağ kalımı uzattığı gösterildi (88).

2.2.9.2. Radyoterapi

2.2.9.2.1. İki Boyutlu (Konvansiyonel) External Radyoterapi

Radyoterapi glioblastomanın tedavisinde yaklaşık 60 yıldır kullanılmaktadır. Beyin Tümörü Çalışma Grubu (BTSG) tarafından 1976'da radyoterapinin en iyi destekleyici tedaviye (Best Supportive Care=BSC) karşı sağkalım avantajını gösteren

ilk randomize çalışma yapıldı (89). Çalışmadaki olguların % 90'ı GBM tanısı almıştı. Sadece RT alanlarda ortalama sağkalım 37,5 hafta iken klasik bakım yapılan ve BCNU alan hastalarda ortalama sağkalım sırasıyla 17 ve 25 hafta idi. BCNU ve RT uygulanmasında ise sağkalım 40,5 hafta olarak bulundu. Bu çalışmayla GBM de postoperatif RT standart hale geldi (89).

2.2.9.2.2. Radyoterapide Hedef Volümler

Glioblastomalı hastalarda RT' nin rolü araştırılırken olgulara tüm kranial içeriği alacak şekilde tüm beyin radyoterapisi (Whole Brain Radiation Therapy=WBRT), geniş paralel karşılıklı alanlar ile 50-60 Gy dozda uygulandı (89). 1989'da bir intergrup çalışması tüm beyin radyoterapisi ile parsiyel beyin radyoterapisini karşılaştırdı. Çalışmada, daha küçük RT volümlerinde eşit sağkalım, benzer nüks paternleri ve parsiyel beyin RT'sinde daha iyi KPS skorları saptandı (90). Parsiyel beyin radyoterapisi uygulanan hastalarda nükslerin % 90' ının ilk tümör alanının 2 cm çevresinde olduğunu gösteren çalışmalar vardır (90,91).

Glioblastomalı olgularda MRG'de T2 veya FLAIR görüntülerde ödem olarak görülen bölge mikroskopik tümör yayılımı için riskli alandır. Bu nedenle bu volüme 45-50 Gy doz uygulanırken, MRG'de T1 ağırlıklı görüntülerde gros tümör olarak değerlendirilen alana 60 Gy RT uygulanır. MR spektroskopide multivoksel tekniği kullanılarak kolin ve N-asetil aspartatdan alınan sinyal değerlerinin cerrahi sonucu elde edilen histopatolojiyle korele olduğu belirtilmiştir. MR spektroskopi tümör sınırını belirlemede daha spesifiktir ve tümörü gliosis, ödem, nekroz ve normal dokudan ayırt etmede spesifitesi %86, sensitivitesi %90'dır (51).

1979'da yapılan 2 çalışmada 50 Gy civarı dozların yeterli olabileceği iddia edildi (63, 64). BTSG tarafından yapılan 3 randomize çalışmada (BTSG 66-01, BTSG 69-01, BTSG 72-01), 45 Gy' den 60 Gy'e doğru doz arttırıldıkça sağkalımda da dozla orantılı artış gözlemlendi (60). Yapılan çalışmalarda 60-70 Gy arası dozun güvenli olduğunu bildirilse de randomize çalışmalarda 60 Gy üstü dozun faydası gösterilemedi (51,59).

Standart fraksiyone radyoterapide, tedavi günde bir kez haftada 5 gün (hafta sonları hariç) ve fraksiyon dozu 1,8-2 Gy olacak şekilde uygulanır (51).

RTOG' nin prospektif, randomize faz I-II çalışması olan 83-02 doz eskalasyon çalışmasında olgulara günde 2 fraksiyon her fraksiyonda 1.2 Gy doz olacak şekilde hiperfraksiyone (günde birden fazla radyoterapi uygulaması) radyoterapi BCNU ile eşzamanlı olarak uygulandı. Hiperfraksiyone rejimlerde 64.8, 72.8, 81.6 Gy her fraksiyonda 1.2 Gy doz olacak şekilde 2 kez uygulanırken akselere hiperfraksiyone rejimlerde 48 ve 54.4 Gy, her fraksiyonda 1.6 Gy doz olacak şekilde 2 kez uygulandı. RTOG 90-06, faz III çalışmasında ise gruplardan ilkinde 60 Gy doz 30 fraksiyonda uygulanırken, diğer gruba 72 Gy doz günde 2 fraksiyon ve her fraksiyonda 1.2 Gy olacak şekilde uygulandı. Ancak çalışmaların hiçbirinde sağkalıma katkı saptanamadı (51, 92).

2.2.9.2.3. Üç Boyutlu Konformal Radyoterapi

Postoperatif 60 Gy radyoterapi sonrası lokal relapslar genellikle tümör yatağında olmaktadır. Üç boyutlu planlama ile tümör yatağına verilen dozun artırılması mümkün hale gelmektedir (53). Lee ve ark. nın yaptığı doz eskalasyon çalışmasında 70 Gy'den 90 Gy'ye kadar doz artırıldı. 90 Gy' de toksisite görülmemekle birlikte dozun artırılması ile genel sağkalım avantajı gösterilemedi. Takip görüntülemelerinde, 90 Gy uygulanan olguların dahi %91' inde nüksler eski tümör alanı veya tedavi alanı içinde bulundu (93).

2.2.9.2.4. Yoğunluk Ayarlı Radyoterapi (IMRT)

Bir bilgisayar programı ve klasik lineer akseleratörün modifikasyonu ile gross tümör alanı ve potansiyel mikroskopik yayılım alanına simultane olarak farklı dozların uygulanması mümkün hale gelmiştir (51).

Doz dağılımını daha iyi optimize etmeye izin veren bir yöntem olan IMRT ile, SSS' nde çok sayıda bulunan kritik organa uygulanan doz azaltılarak daha uygun doz dağılımı sağlanabilir. Beyin tümörleri için doz sınırlaması olan yapılar; optik kiazma, optik sinirler, gözler, beyin sapı, iç kulak, area postrema, tutulmamış beyin, optik korteks ve temporal loblardır. Geç yan etkiler tedavi bitiminden sonraki 6 aydan sonra ortaya çıkacağı için nihai karar hastanın beklenen hayat süresi değerlendirilerek verilmelidir (3). IMRT heterojen volümler içindeki farklı hücre popülasyonlarına farklı dozların optimizasyonuna izin vermektedir ve bu sayede hedef volume uygulanan dozu arttırmak IMRT ile mümkün olabilmektedir. Hedef volume uygulanan dozu arttırmanın yanı sıra WHO grade IV gliomalar gibi heterojen hücre popülasyonundan oluşan,

düzensiz şekilli tümörleri hedef volümü daha iyi sararak daha konformal bir şekilde tedavi edebilmek IMRT'nin en önemli avantajıdır (2, 3).

2.2.9.2.5. Simülasyon ve Planlama

Kişiye özel immobilizasyon aletleri planlama ve tedavi sırasında kullanılmalıdır. Tedavi planlanmasında kullanılacak BT, tedavi pozisyonu ile aynı olacak şekilde ayarlanmalıdır. Baş pozisyonu tümörün yerine göre değişir. Kalın kesitler optik sinir, kiazma, kohlea gibi yapıların yeterli görüntülenmesini engelleyeceğinden kesitler 1.25 mm' den daha kalın olmamalı ve başın üstünden omuzlara kadar görüntüleme yapılmalıdır. MR ile füzyon yapılan, BT temel alınarak gross tümör volümü (GTV) ve planlanan hedef volüm (PTV) belirlenerek tedavi planlanması tavsiye edilir. (4,51).

GBM standart RT' sinde GTV1 kontrast tutan lezyon, cerrahi rezeksiyon kavitesi ve ödem alanını içermelidir. GTV2 ise kontrast tutan lezyondur (ödem alanı hariç). GTV hem GTV1 hem de GTV2'yi kapsamalıdır. PTV1 oluşturmak için GTV1'e 2 cm marj verilir. PTV2 ise GTV2+2,5 cm'dir. Serebellum, karşı hemisfer, ventriküller, tentorium cerebri gibi mikroskopik tümör yayılımını engelleyen doğal bariyerlerin olduğu bölgelerde sınırlar modifiye edilebilir. PTV1'e 46 Gy doz 23 fraksiyonda uygulanır, ardından PTV2'ye 14 Gy doz 7 fraksiyonda uygulanır.

Alanların preoperatif görüntülemeye göre planlanması en sık kullanılan protokol olmasına rağmen postoperatif görüntülemeye göre planlama yapılmasını öngören bir görüş de vardır. Kritik yapılar alan dışına çıkarılmalı ve tolerans dozları geçilmemelidir. MRG' de T2 görüntüsündeki değişikliğe marj verilerek tedavi alanına dahil edilmesinin önerilme nedeni, glioma hücrelerinin beyin parankimi boyunca taşınıp tümör alanına yakın çevre dokuyu infiltre etmesidir. Tedavi alanları, tedavi volümünde homojeniteyi sağlamak ve tutulmamış beyinin o bölgesini alan dışına çıkarmak için çok alanlı olmalıdır. Bu da 3D konformal (Üç boyutlu tedavi planlama yöntemi) veya IMRT ile mümkündür. Tümör orta hattı geçmişse ilk PTV için paralel alanlar kullanılabilir. IMRT'de kritik yapıları sakınmak için karşılaştırmalı dozimetrik analizler önerilir (3,5).

2.2.9.3. Glioblastomada Sistemik Tedavi

2.2.9.3.1. Steroid

Glioblastomada ilk sistemik tedavi kortikosteroidlerdir. Radyoterapinin de katkı sağladığı serebral ödeme bağlı semptomları azaltmak için kullanılırlar. Kronik steroid kullanımı dispepsi, oral ve özofageal kandidiazis, myopati ve immünosupresyon gibi önemli toksisitelere yol açar. Klineberg ve arkadaşlarının bir çalışmasında oral steroid ve RT alan hastaların % 25'inde CD4 sayısı 200'ün altına düşmüştür (Sağlıklı insanda $CD4=450-1600/mm^3$). Bu da hastalarda pnömosistis karini pnömonisi gibi fırsatçı enfeksiyonlara yatkınlığı arttırır (4,51).

2.2.9.3.2. Temozolamide (TMZ)

Bir prodrug olan TMZ, 1980' lerde İngiltere' de Stevens ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. TMZ ikinci kuşak tek fonksiyonlu alkilleyici bir nitroimidazol türevidir. Yanyana bağlı üç nitrojen atomu içeren bir tetrazinon halkasıyla birleşen imidazol halkasıdır. Aynı zamanda anti-tümör ilaç olan mitozolomidin 3-metil türevidir.

Nötröl pH'da spontan hidrolize uğrayarak, aktif formu monometil triazenoimidazole karboksamidi'e (MTIC) dönüşerek etkisini gösteren TMZ, oral alkilleyici bir ajandır. MTIC ise hemen inaktif metabolit olan 5-aminoimidazol 4-karboksamid (AIC)' e ve ileri derecede reaktif metil diazonyum iyonuna parçalanır. Metil diazonyum, aktif metilleyici bir ajandır ve kan-beyin bariyerini kolayca geçer (94). Plazmada gözlenenin %40'ı merkezi sinir sistemine ulaşır. Biyoyararlanımı ise %100'e yakındır. Yarılanma ömrü 1,8 saattir ($t_{1/2} = 1,8$ saat). Oral uygulamadan 0,5-1,5 saat sonra maximum plazma konsantrasyonuna ulaşır ($t_{max}:0,5-1,5$ saat). Oral uygulamadan sonra dozun %5-10'u 24 saat içinde değişmeden idrarla atılırken, geri kalan 5-aminoimidazol-4-karboksamid ve tayin edilemeyen polar metabolitler şeklinde atılır (95).

Preklinik çalışmalarda TMZ 'in hücre siklusunun radyosensitif fazı olan G2/M fazını bloke ettiği ve glioblastoma hücre dizisinde radyoterapiyle eşzamanlı uygulandığı takdirde hücre gelişimini doza-bağımlı inhibe ettiği görüldü. Stupp ve ark tarafından yapılan 60 Gy/30 fr. doz ve radyoterapi ile eşzamanlı 75 mg/m²/gün TMZ ardından 6 siklus, 28 günde bir, 5 gün süreyle 150-200 mg/m²/gün TMZ uygulanan 64 olguluk faz

II çalışmasında medyan sağkalım 16 ay ve 24 aylık sağkalım % 31 olarak bulundu ve sağkalımı uzattığı saptandı (96).

2.2.9.3.3. Diğer Kemoterapotik Ajanlar

BCNU (1,3-bis-kloroetil-1-nitrozüre) 1960’larda yaygın olarak kullanılmasına rağmen günümüzde standart tedavi içinde yer almamaktadır. Nitrozüre ve karmustin kombine rejimlerinde önceleri sıkça kullanılmıştır. Karmustine karşı belirgin bir üstünlük sağlamasa da PCV (prokarbazin, lomustin, vinkristin) de sıklıkla uygulanmıştır. Ancak TMZ uygulanmaya başladığından beri bu ajanlar yerini TMZ ‘e bırakmıştır (96).

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Genetik Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiş olup aşağıdaki gereçler kullanıldı.

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Demirbaş Malzemeler

1. Pyromark Q 24 Cihazı (QIAGEN)
2. Pyromark Q 24 Vakum Workstation
3. Santrifüj Cihazı Mikro 22 (Hettich Zentrifugen)
4. Termal Cycle PCR Cihazı CG1-96 (Corbett)
5. Soğutmalı Santrifüj Cihazı (Sigma)
6. Vorteks Cihazı (Heidolph)
7. Isıtıcı Blok TH21 (HLC Biotech)
8. Mikropipet (Gilson Eppendorf)
9. T-Shaker (Eurolone)
10. Distile Su Cihazı (Diret-Q.UV Millipore)
11. Mikrotom (Leica RM 2155)

3.1.2.Sarf Malzemeleri

1. DNA FFPE Tissue Kit (QIAamp)
2. PCR Control DNA Set (EpiTect)
3. PCR Kit (PyroMark)
4. Gold Q24 Reagents (PyroMark)
5. Binding Buffer (PyroMark)
6. Denaturasyon Solusyonu (PyroMark)
7. Konsantre Wash Buffer (PyroMark)
8. Annealing Buffer (PyroMark)
9. Q24 Plate (PyroMark)
10. 96'lık PCR plate(Costar)

3.1.3.Primerler

1. IDH 1 F, IDH 1 R, IDH 1 S
2. IDH 2 F, IDH 2 R, IDH 2 S

3.2. YÖNTEM

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda Radyoterapi ile eşzamanlı TMZ ve ardından adjuvan TMZ alan veya yalnız radyoterapi alan glioblastoma tanılı 93 olgu ele alındı.

3.2.1 Hasta Gruplarının Belirlenmesi

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Genetik Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. 2000-2010 tarihleri arasında Patoloji Anabilim Dalı'nda glioblastoma tanısı almış ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda tedavisini tamamlamış 93 olgu çalışmaya dâhil edilmiştir.

Çalışmaya dâhil olan olgulara yalnız radyoterapi veya RT ile eşzamanlı ve sonrasında adjuvan TMZ tedavisi uygulandı.

RT volümü için ameliyat öncesi MRG’de T2-ağırlıklı kesitlerdeki peritümöral ödeme 1,5-2 cm marj verilerek klinik hedef volüm (CTV) belirlendi. Planlanan hedef volüm (PTV) için de klinik hedef volüme 5 mm ‘lik güvenlik marjı verildi. Simülasyon ve tedavi sırasında termoplastik sabitleyici baş maskesi kullanıldı.

Total doz 60 Gy olacak şekilde 30 fraksiyonda 5 gün/hafta, 2 Gy/gün dozunda planlandı. TMZ uygulanan olgulara, radyoterapi ile eşzamanlı ve RT’den 1 saat önce 75mg/m²/gün dozunda TMZ uygulandıktan sonra radyoterapinin bitiminden 4 hafta sonra başlayacak şekilde 6 kür ilave TMZ uygulandı (150-200 mg/m²/gün, 28 günde bir, 1. günden itibaren 5 gün süreyle).

Hastaların parafin bloklanmış tümör doku örnekleri Patoloji Anabilim Dalı arşivinden sağlandı.

3.2.2 Preparat Hazırlanması

3.2.2.1. Doku Kesiti Alınması (Mikrotom Cihazı)

Mikrotom cihazı blok tutucu yuvasına parafin blok kesitleri yerleştirildi. Dokunun ön yüzü bir miktar traşlanarak ana dokuya ulaşıldı. Dört mikron kalınlığında 5 kesit alınıp 2 ml’lik ependorf tüplerine yerleştirildi. Bu işlem Erciyes Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilip geri kalan işlemler Genetik Anabilim Dalında yapıldı.

3.2.2.2. Genomik DNA İzolasyonu

Parafinli doku kesitlerinden Genomik DNA elde edilmesi için OIAamp DNA FFPE tissue kiti ve bu kite ait prosedür kullanılmıştır. DNA izolasyonu kritik bir prosedür olup aşağıda kısaca özetlenmiştir.

Prosedür:

1. Kesitlerin alındığı ependorf tüpüne 1 ml xylene eklendi ve 10 sn vortekslendi.
2. Oda sıcaklığında 2 dk 14000 rpm’de ependorf tüp santrifüj edildi.
3. Santrifüj sonrası pelet (çökeltinin) üstünde yüzen kısım (süpernatant) pipetle uzaklaştırıldı. Ancak pelete dokunulmadı.
4. Pelet üzerine 1ml saf (% 96-100) ethanol eklendi, yeniden vortekslendi.

5. Oda ısısında karışım 14000 rpm’de 1dk santrifüj edildi. Tekrar süpernatant atıldı.
6. Pelet oda ısısında (15 °-25° C) 10 dk inkübasyona bırakıldı.
7. Pelet üzerine 180 µl ATL buffer, 20 µl proteinaz-K eklendi ve vortekslendi.
8. 56°C de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
9. Ardından 90°C de 1saat daha inkübasyona bırakıldı. Süpernatantdan kurtulmak için yeniden 14 000 rpm de 1dk santrifüj edildi.
10. Pelet üzerine 200 µl buffer AL eklenip vortekslendi. Ardından 200 µl saf ethanol eklenip yeniden vortekslendi.
11. Tüm lizat dikkatlice QIAamp MinElute kolona transfer edilip kapağı kapatıldı ve 6000 x g (8000 rpm) de 1 dk santrifüj edildi. Ardından kolon temiz bir 2 ml’lik toplama tüpüne alındı. Bu aşamada Genomik DNA kolona tutunduğundan diğer hücre lizatları kolondan süzülerek toplama tüpünde birikti ve süzüntüyü içeren toplama tüpü değiştirildi.
12. QIAamp MinElute kolonu dikkatle açıp 500 µl Buffer AW1 eklendi. 8000 rpm de 1dk santrifüj edildi. Amaç kolona tutunan DNA nın daha temiz olması olduğu için yıkama işlemleri yapıldı. Her işlemde membrandan lizatın tamamen süzülmesine dikkat edildi. Her santrifüj sonrası toplama tüpü değiştirildi.
13. Kolona 500 µl buffer AW 2 eklendi. 14000 rpm’de 3dk santrifüj edilerek membranın tamamen kuruması sağlandı.
14. Bu işlemin ardından kolonda tutulu DNA üzerine 20-100 µl buffer ATL eklendi.
QIAamp MinElute column tüpün kapağı kapatıldı. Oda sıcaklığında 1 dk inkübasyona bırakıldı ve son kez 14000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi. Artık DNA kolondan süzülerek toplama tüpünde birikmişti.

3.2.2.3.PCR

PCR reaksiyonu için Pyromark PCR kiti kullanıldı. Her bir mutasyon için aynı PCR protokolü uygulandı. Reaksiyonu hazırlamaya başlamadan önce bütün bileşenler hafifçe vortekslendi ve santrifüjlendi. Her PCR yapılışında DNA’sız negatif kontrol yapıldı. Bunun için aynı miktarda su kullanıldı.

Prosedür:

1. DNA hariç bütün bileşenleri içeren bir reaksiyon miks hazırlandı.
2. Reaksiyon miksleri hazırladıktan sonra 20 µl PCR tüplerine dağıtıldı.
3. Her bir PCR tüpüne, konsantrasyonu yaklaşık 2 ng/µl'ye ayarlanmış DNA örneğinden 5'er µl koyuldu. Bu şekilde ilgili DNA örneğinden 25 µl'lik reaksiyon başına yaklaşık 10 ng konulmuş oldu.
4. Reaksiyon PCR protokolüne göre uygulandı.

3.2.2.3.1. PCR reaksiyon miks kompozisyonu:

Pyromark PCR mastermix 12.5 µl,

PCR primer F 0.5 µl,

PCR primer R 0.5 µl,

H₂O 6.5 µl,

Template DNA 5µl toplam 25 µl.

3.2.2.3.2. PCR protokolü:

Aktivasyon basamağı 95°C'de 15 dakika

3 aşamalı döngü:

Denaturation 94°C'de 30 saniye

Annealing 60°C'de 30 saniye

Extension 72°C'de 30 saniye, döngü sayısı 45

Final extension 72°C'de 10 dakika

3.2.2.4. Pyrosequencing

Pyrosequencing işlemine başlamadan önce;

Kartuşu ultra saf su ile bir kere yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Filter prob el ünitesi ultra saf su içeren kaba daldırılarak vakum pompası ve ünitenin vakum anahtarını açıldı. Bu şekilde kaptaki 70 ml su çektilererek ünite yıkandı. Isı bloğu 80°C'ye ayarlandı ve üzerine plate holder yerleştirildi. Solüsyonlar, nükleotitler, enzim ve substratı, sekans primerleri ve PCR reaksiyonları oda sıcaklığına çıkarıldı.

3.2.2.4.1.Assay dosyalarının hazırlanması

IDH paneli pyrosequencing testinin ilk kullanımında, assay dosyalarının hazırlanması gereklidir. Sonraki kullanımlarda ilk kullanımda hazırlanmış olan assay dosyaları kullanıldı. Example Files klasörü içerisinde yeni bir klasör açılıp“IDH” ismi verildi. Bu şekilde hazırlanmış olan assay dosyaları Q24 software’in sol tarafında “Example Files” altında görüldü.

Prosedür:

IDH1

1) Pyromark Q24 software araç çubuğunda ”New AQ Assay” ’i seçildi.

2) “Sequence to analyze” kısmına aşağıdaki dizilim yazıldı.

TGAYGACCTATGATGATAGGTTTTACCCA

3) “Dispensation order” kısmına aşağıdaki dizilim yazıldı.

GTGCTACTGAC

4) Araç çubuğunda “kaydet”e tıklanarak assay IDH1 olarak kaydedildi.

IDH2

1) Pyromark Q24 software araç çubuğunda ”New AQ Assay” seçildi.

2) “Sequence to analyze” kısmına aşağıdaki dizilim yazıldı.

GCARGCACGCCCATGGCGACCAGGTAGGC

3) “Dispensation order” kısmına aşağıdaki dizilim yazıldı.

CGTCAGCAC

4) Araç çubuğunda “kaydet”e tıklanarak assay IDH2 olarak kaydedildi.

3.2.2.4.2.Run dosyası oluşturma

Prosedür:

1. Pyromark Q24 software araç çubuğundan “New run” ikonuna tıklandı.

2. “Instrument Method” olarak kutucuga tıkladığında karşımıza çıkan tek alternatif seçildi. (Pyromark Q24 Method 001 Rev. A).

3. Plate setup hazırlandıktan sonra Q24 software araç çubuğunda “Tools” kısmına tıklayıp “Pre Run Information”ı seçildi. Açılan sayfada, enzim, substrat, nükleotit miktarları ve plate setup’ı görüldü.
4. Hazırlamış olduğumuz run dosyasını bilgisayarda uygun bir yere kaydedildi ve dosya kapatıldı. Daha sonra run dosyası Q24 cihazında kullanılmak üzere USB’ye kaydedildi.

3.2.2.4.3. PCR Ürünlerinin Streptavidin Sepharose bilyelerine immobilizasyonu

Bu protokol DNA’nın PyroMark Q24’te analizi yapabilir hale gelmesi için streptavidin sepharose bilyeleriyle immobilizasyonunu sağlamaktır.

Prosedür:

1. Streptavidin Sepharose bilyelerini içeren şişe nazik bir şekilde çalkalanarak homojen bir solüsyon elde edildi.
2. Daha önce anlatıldığı şekilde hazırlanan mastermix miktarı, toplam reaksiyon sayısı için gereken miktardan yaklaşık %10 daha fazla olacak şekilde hazırlandı.
3. 24 kuyucuklu PCR plate’i veya strip kullanılarak her bir kuyucuğa 70 µl mastermix koyuldu.
4. Run dosyasında tanımlandığı şekilde her bir kuyucuğa 10 µl ilgili PCR ürününü eklendi.
5. PCR plate’inin veya striplerin kapağı sızdırma olmayacak şekilde kapatıldı.
6. Plate veya stripler birkaç kere ters-yüz ettikten sonra çalkalayıcıya koyuldu ve oda sıcaklığında 1400 rpm’de 5-10 dakika çalkandı.

3.2.2.5. Pyrosequencing için örnek hazırlama

Prosedür:

1. Q24 Plate’in her bir kuyucuğuna run dosyasında hazırlandığı şekilde 0.8 µl sekans primeri ve 24.2 µl annealing buffer koyuldu.
2. PCR plate veya stripleri ve Q24 plate’i aynı oriyantasyonda olmasına dikkatedilerek vakum çalışma alanında ilgili yerlere yerleştirildi.
3. Vakum pompasının düğmesi ve el ünitesinin üstündeki vakum anahtarı açıldı.

4. Filtre problemleri PCR plate'in veya striplerin dikkatlice üstüne getirilerek tüplerin içine daldırıldı ve 15 saniye kadar tutularak bilyeler yakalandı.
5. El ünitesi %70 etanol kabına daldırılarak 5 saniye bekletildi.
6. El ünitesi "Denaturation Solution" içeren kaba daldırılarak 5 saniye bekletildi.
7. El ünitesi "Washing Buffer" içeren kaba daldırılarak 10 saniye bekletildi.
8. El ünitesi dikey biçimde 90°'yi geçkin bir açıyla 5 saniye tutularak filtre problemlerinden sıvının uzaklaştırılması sağlandı.
9. El ünitesi Q24 plate üzerine getirilip orda tutularak ünitenin üstündeki vakumanahtarı ve vakum pompasının düğmesini kapatıldı.
10. El ünitesinin problemleri Q24 plate kuyucuklarına daldırılıp hafifçe sallanarak bilyeler sekans primerini içeren buffer'a bırakıldı.
11. El ünitesi su içeren kaba daldırılarak 10 saniye çalkalandı.
12. El ünitesi su içeren diğer kaba daldırılarak vakum pompası ve ünitenin vakum anahtarı açıldı. Bu şekilde kaptaki 70 ml su çektilirdi.
13. El ünitesi dikey biçimde 90°'yi geçkin bir açıyla 5 saniye tutularak filtre problemlerinden sıvının uzaklaştırılması sağlandı.
14. El ünitesi vakum anahtarının ve vakum pompasının düğmesini kapatıldı.
15. Q24 plate'i önceden 80°C'ye getirilmiş plate holder üzerine konarak 80°C'de 2 dakika tutuldu.
16. Q24 plate'i plate holder üzerinden kaldırılarak oda sıcaklığında en az 5 dakika bekletildi.

3.2.2.6. Pyromark Q24 Sistemin Çalıştırılması

Bu protokol Pyromark gold Q24 ayıracın Pyromark Q24 Sistemine yüklenip sonuçları almamıza yardımcı olur.

Prosedür:

1. Pre Run information report'da yazan miktarlardaki nükleotitler, enzim ve susbtratu kartuşa konuldu.
2. Kartuş ve Q24 plate'i cihaza yerleştirildi.
3. Run dosyasını içeren USB'yi cihaza takıldı.
4. Menüden ok tuşları yardımıyla "Run" komutunu seçildi.
5. Run işlemi yaklaşık 25 dakika sürdü. Run bittikten sonra ve cihaz run dosyasının USB'ye kaydedildiğini doğruladıktan sonra "Close"a basıldı.

3.2.2.7. Sonuçların Analizi

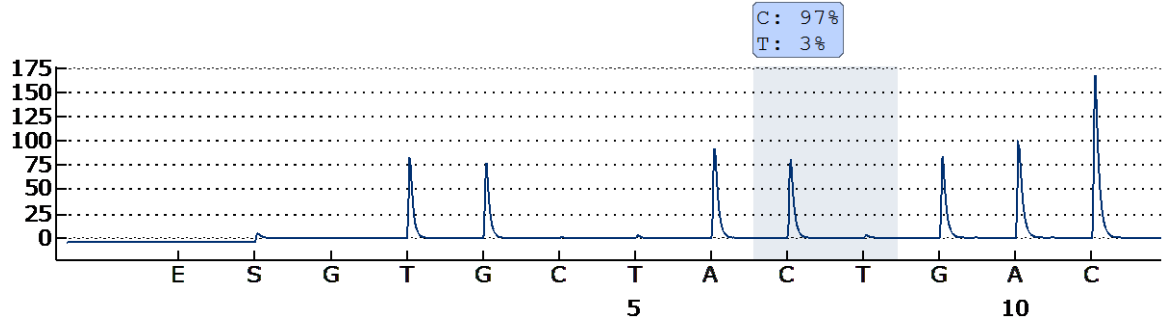
Prosedür:

1. Pyromark Q24'te çalışılmış run dosyasını içeren USB'yi bilgisayara takılarak run dosyası bilgisayara 'Analizler' adlı klasöre kopyalandı.
2. Dosya açıldıktan sonra run dosyasını analiz etmek için 'Analyze' bölümünden 'Analyze all wells' butonuna tıklanarak sonuçlar alındı.

Sonuçların değerlendirilmesinde her dokuz hasta için bir kontrol DNA örneği kullanıldı. Kontrol DNA örneği için sağlıklı donör kanı kullanıldı. Olguların R132H ve R172K mutasyon durumu incelendi. % 10'un üzerinde baz değişimi olması mutasyon pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 3 ve Şekil 4).

Sample ID 13

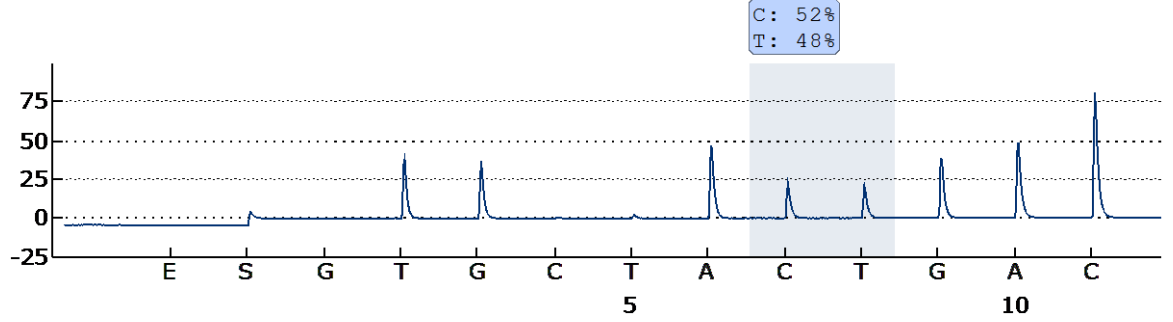
A8: TGAYGACCTATGATGATAGGTTTTACCCA



Şekil 3. Normal (wild tip) IDH 1 geni bulunduran hasta

Sample ID 10

A6: TGAYGACCTATGATGATAGGTTTTAOCOA



Şekil 4. Mutasyona uğramış (mutant tip) IDH 1 geni bulunduran hasta

3.2.3. İstatistiksel Yöntem

Veriler IBM SPSS Statistik 20 (Statistical Package for the Social Sciences) istatistik paket programında değerlendirildi. Sayısal değişkenlerin normal dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiye bakarken Ki-kare testinin exact yöntemi kullanıldı. Grup içinde genel sağkalımlar ve progresyona kadar geçen süreler Kaplan Meier Testi (log-rank) ile karşılaştırıldı. Gruplara göre yaşlar arasındaki farka Mann-Whitney U testi ile bakıldı. Tekli ve çoklu Cox regresyon analizi ise genel ve progresyonsuz sağkalımlar için bağımsız değişkenlerin belirlenmesi için yapıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ değeri olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. GENEL BULGULAR

Toplam 93 olgunun 59 (% 63.4)' u erkek, 34 (% 36.6)' ü kadın idi. Olguların 63 (% 67.7)' ü 60 yaş altında iken, 30 (% 32.3) olgu 60 yaş ve üzeri idi. Olguların medyan yaşı 53 (19-73) olarak bulundu.

Tümör yerleşimi 16 (% 17.2) olguda frontal lob, 24 (% 25.8) olguda parietal lob, 15 (% 16.1) olguda temporal lob, 2 (% 2.2) olguda oksipital lob, 2 (% 2.2) olguda bazal ganglia, 2 (% 2.2) olguda beyin sapı, 5 (% 5.4) olguda serebellum ve 27 (% 29) olguda multilobar idi. Olguların 90 (% 96.8)'ında kitle tek iken, 3 (% 3.2)' ünde multipl kitle mevcuttu. Tüm olguların 73 (% 78.5)' üne total rezeksiyon, 17 (% 18.3)' sine subtotal rezeksiyon ve 3 (% 3.2)' üne biyopsi yapıldı.

Olguların 54 (% 58.1)' üne radyoterapi ve TMZ uygulanırken, 39 (% 41.9)' una sadece radyoterapi uygulandı.

Olguların tamamında nüks görüldü. Nüks yeri 40 (% 43) olguda radyoterapi alanı içinde, 39 (% 41.9) olguda radyoterapi alanı dışındaydı ve 14 (% 15) olguda hem alan içinde hem de alan dışındaydı. Nüks sonrası ikinci seri tedavide; 19 (% 20.4) olguya sadece TMZ, 2 (% 2.2) olguya sadece RT, 3 (% 3.2) olguya RT + TMZ uygulanırken, 69 (% 74.2) olguya herhangi bir tedavi uygulanmadı (Tablo 3).

Olgulara ait DNA örnekleri incelendiğinde IDH 1 gen mutasyonu (R132H) görülen olgu sayısı 9 (% 9.7) iken, mutasyon görülmeyen olgu sayısı 84 (% 90.3) idi. IDH 2 gen mutasyonuna (R172K) ise rastlanmadı.

Tablo 4 : Olguların genel özellikleri

ÖZELLİKLER	n (%)
Hasta sayısı	93 (%100)
Cinsiyet Erkek Kadın	59 (% 63.4) 35 (% 35)
Yaş < 60 ≥ 60	67 (% 67) 30 (% 32.3)
IDH 1 Mutasyonu Görülen Görülmeyen	9 (% 9.7) 84 (% 90.3)
Tümör yerleşimi Frontal lob Parietal lob Temporal lob Oksipital lob Bazal ganglion Beyin sapı Serebellum Multilobar	16 (% 17.2) 24 (% 25.8) 15 (% 16.1) 2 (% 2.2) 2 (% 2.2) 2 (% 2.2) 5 (% 5.4) 27 (% 29)
Tümör sayısı Tek Multipl	90 (% 96.8) 3 (% 3.2)
Cerrahi Total rezeksiyon Subtotal rezeksiyon Biyopsi	73 (% 78.5) 17 (% 18.3) 3 (% 3.2)
Tedavi Radyoterapi ± Temozolomide Radyoterapi	54 (% 58.1) 39 (% 41.9)
Nüks yeri Alan içi Alan dışı Alan içi + alan dışı	40 (% 43) 39 (% 41.9) 14 (% 15)
İkinci seri tedavi Temozolomide Radyoterapi Radyoterapi + temozolomide Uygulanmadı	19 (% 20.4) 2 (% 2.2) 3 (% 3.2) 69 (% 74.2)

4.1.1. Genel Sağkalım Sonuçları ve Prognostik Faktörler

Tüm olgularda medyan genel sağkalım (GS) 10 ayken, hastalıksız sağkalım (HS) 6 ay olarak bulundu (Tablo 4). Cox Regresyon Testi ile sağkalımı etkileyen yaş, cinsiyet, tedavi ve IDH 1 gen mutasyonunun prognostik önemi araştırıldı.

Hastaların 60 yaşın altında olmasının, 60 yaşın üzerinde olmasına göre GS’de iyi prognostik özellik olduğu gösterildi (OR: 1,72, %95 GA: 1,09-2,71, $p = 0.01$). Ancak yaşın HS’de iyi prognostik özellik olduğu gösterilemedi (OR: 1,12, %95 GA: 0,72-1,74, $p = 0.6$). IDH 1 gen mutasyonu bulunan olgularda medyan yaş 38 (30-57) iken mutasyon görülmeyenlerde medyan yaş 55 (19-73) idi ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p = 0.003$). Cinsiyetin GS ve HS’de prognoza etkili olmadığı görüldü (GS; OR: 0,96, % 95 GA: 0,62-1,48, $p = 0.8$, HS; OR: 1,12, % 95 GA: 0,72-1,74, $p = 0.7$). Cerrahinin (total rezeksiyon), GS ve HS’de prognoza etkisi anlamlı bulundu (GS; OR: 1,67, % 95 GA: 1,00-2,77, $p = 0.04$, HS; OR: 1,77, % 95 GA: 1,05-2,97, $p = 0.02$). Tedaviye TMZ eklenmesinin GS ve HS’de prognostik önemi olduğu saptandı (GS; OR: 1,94, % 95 GA: 1,25-3,01, $p = 0.03$, HS; OR: 1,75, % 95 GA: 1,13-2,71, $p = 0.01$).

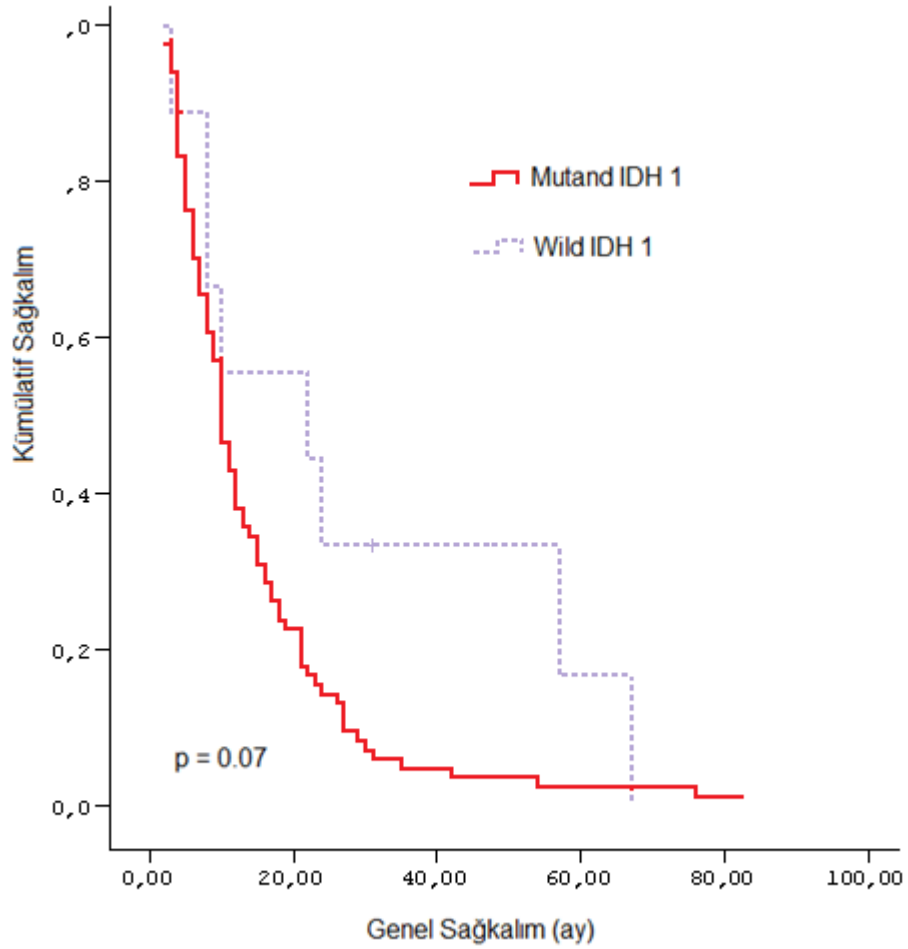
IDH 1 gen mutasyonu bulunan olgularda medyan GS; 22 (3-67) ayken, HS; 8 (3-57) aydı. Ancak GS ve HS’de prognoza etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildi (GS; OR: 1,64, % 95 GA: 0,78-3,45, $p = 0.07$, HS; OR: 1,76, % 95 GA: 0,80-3,86, $p = 0.1$) (Tablo 5) (Şekil 5 ve Şekil 6)

Tablo 5: Olguların sağkalım tablosu

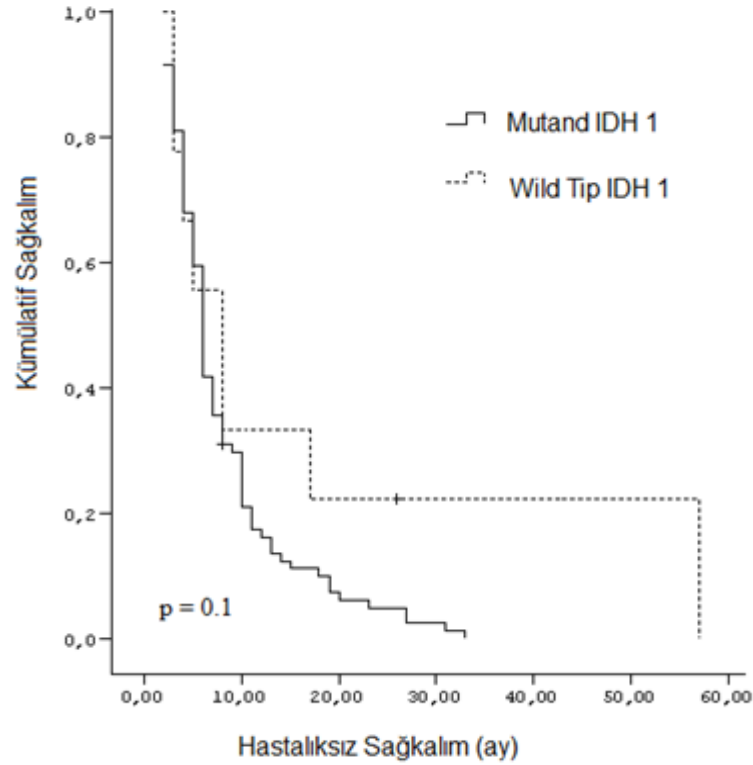
SAĞKALIMLAR	MEDYAN (ay)
Genel sağkalım	10
Hastalıksız sağkalım	6

Tablo 6: Genel prognostik faktörler tablosu

ÖZELLİKLER	GENEL SAĞKALIM p	HASTALIKSIZ SAĞKALIM p
Yaş (< 60)	p = 0.01	p = 0.6
Cinsiyet	p = 0.8	p = 0.7
Cerrahi (total rezeksiyon)	p = 0.04	p = 0.02
Radyoterapiye TMZ ilavesi	p = 0.03	p = 0.01
IDH 1 gen mutasyonu	p = 0.07	p = 0.1



Şekil 5. IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgularda GS Eğrisi



Şekil 6. IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgularda HS Eğrisi

4.2. IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgulara Göre Genel Bulgular

IDH 1 gen mutasyonu görülen 9 (%9.7) olgunun 7 (% 77.8)' si erkek, 2 (% 22.2)' si kadın idi. Olguların tamamı (% 100) 60 yaş altında iken, medyan yaşı 38 (30-57) idi.

Tümör yerleşimi 1(%11.1) olguda frontal lob, 1(% 11.1) olguda parietal lob, 1 (%11.1) olguda temporal lob, 6 (% 66.7) olguda multilobar idi. Olguların 9 (% 100)'ında kitle tek idi. Olguların 8 (% 88.9)'ine total rezeksiyon, 1(% 11.1)'ine subtotal rezeksiyon yapıldı.

Olguların 5 (% 55.6)' ine sadece RT, 4 (%44.4)'üne ise RT ve TMZ uygulandı. Nüks yeri 4 (% 44.4) olguda radyoterapi alanı içinde, 4 (% 44.4) olguda radyoterapi alanı dışındaydı ve 1 (% 11.1) olguda hem alan içinde hem de alan dışındaydı. Nüks sonrası ikinci seri tedavide; 4 (% 44.4) olguya sadece TMZ uygulanırken 5 (% 55.6) olguya herhangi bir tedavi uygulanmadı (Tablo 6).

Tablo 7: IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgulara Göre Genel Bulgular

ÖZELLİKLER	n (%)
Hasta sayısı	9 (%100)
Cinsiyet Erkek Kadın	7 (% 77.8) 2 (% 36.6)
Yaş < 60 ≥ 60	9 (% 100) 0 (% 0)
Tümör yerleşimi Frontal lob Parietal lob Temporal lob Multilobar	1(%11.1) 1(%11.1) 1(%11.1) 6 (% 66.7)
Tümör sayısı Tek Multipl	9 (% 100) 0 (% 0)
Cerrahi Total rezeksiyon Subtotal rezeksiyon	8 (% 88.9) 1(% 11.1)
Tedavi Radyoterapi ± Temozolomide Radyoterapi	4 (%44.4) 5 (% 55.6)
Nüks yeri Alan içi Alan dışı Alan içi + alan dışı	4 (% 44.4) 4 (% 44.4) 1 (% 11.1)
İkinci seri tedavi Temozolomide Radyoterapi Radyoterapi + temozolomide Uygulanmadı	4 (% 44.4) 0 (% 0) 0 (% 0) 5 (% 55.6)

4.2.1. Sağkalım Bulguları

IDH 1 gen mutasyonu görülen 9 olguda medyan genel sağkalım 22 (3-67) ay ve hastalıksız sağkalım 8 (3-57) ay olarak bulundu. (GS; OR: 1,64, % 95 GA: 0,78-3,45, p = 0.07, HS; OR: 1,76, % 95 GA: 0,80-3,86, p = 0.1)

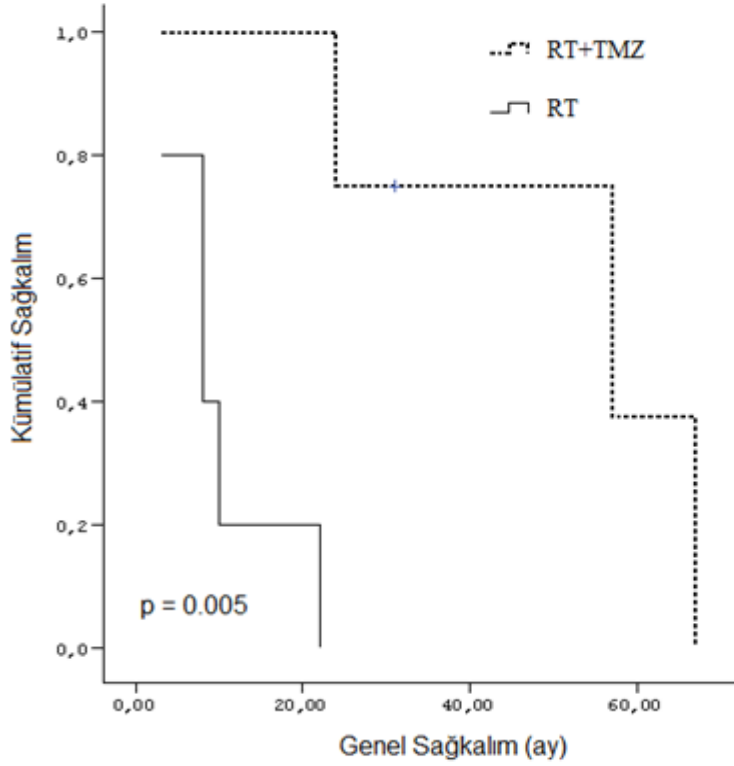
Mutasyon görülen olgulardan radyoterapi ile TMZ uygulanan ve sadece radyoterapi uygulanan grupların genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım

değerlendirilmesi Kaplan-Meier Metodu ile yapıldı. RT ile TMZ uygulanan ve sadece RT uygulanan grupta medyan genel sağkalım 44 (% 95 GA: 7.60-106.42) aya karşın 8 (% 95 GA: 2.63-13.32) ay olarak bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p = 0.002$) (Şekil 7).

Radyoterapi ile TMZ uygulanan ve sadece RT alan grupta medyan hastalıksız sağkalım 17 (% 95 GA: 0.0-42.62) aya karşın 5 (% 95 GA: 0.70-9.29) ay olarak bulundu ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p = 0.07$) (Tablo 7).

Tablo 8: IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgularda GS ve HS

TEDAVİ	GS	% 95 GA	p	HS	% 95 GA	p
RT + TMZ	44 ay	7.60-106.42	$p = 0.002$	17 ay	0.0-42.62	$p = 0.07$
RT	8 ay	2.63-13.32		5 ay	0.70-9.29	



Şekil 7. IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen; RT+TMZ ve Yalnız RT Alan Olgularda GS Eğrisi

4.2.2 Prognostik Faktörler

Prognostik faktörler istatistiksel olarak değerlendirilirken Cox Regresyon Testi kullanıldı. IDH 1 gen mutasyonu görülen olgularda GS yönünden RT'ye eklenen TMZ 'in prognostik önemi olduğu saptandı (OR:3.40, %95 GA: 1,66-6,98, $p = 0.001$). Hastaların tamamı 60 yaş altında olduğu için yaşı prognostik önemi değerlendirilemedi. Cinsiyetin ise prognozda etkili olmadığı görüldü (OR: 0,78, % 95 GA: 0,40-1,52, $p = 0.4$) (Tablo 8).

Tablo 9: IDH 1 Gen Mutasyonu Görülen Olgularda Prognostik Faktörler

ÖZELLİKLER	OR	% 95 GÜVEN ARALIĞI	p
Radyoterapiye Temozolomide ilavesi	3.40	1,66-6,98	0.001
Cinsiyet	0,78	0,40-1,52	0.4

4.3. IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeyen Olgulara Göre Genel Bulgular

IDH 1 gen mutasyonu görülmeyen 84 (% 90.3) olgunun, 52 (% 61.9)' si erkek, 32 (% 38.1)' si kadındı. Olguların 54 (% 64.3)' ü 60 yaş altında iken, 30 (% 35.7)' u 60 yaş ve üzeriydi. Olguların medyan yaşı 55 (19-73) idi.

Tümör yerleşimi 15 (% 17.9) olguda frontal lob, 23 (% 27.4) olguda parietal lob, 14 (% 16.7) olguda temporal lob, 2 (% 2.4) olguda oksipital lob, 2 (% 2.4) olguda bazal ganglia, 2 (% 2.4) beyin sapı, 5 (% 6.0) olguda serebellum ve 21 (% 25.0)' inde multilobar idi. Olguların 81 (% 96.4)' inde kitle tek iken, 3 (% 3.6)' ünde multipl kitle mevcuttu. Tüm olguların 65 (% 77.4)' ine total rezeksiyon, 16 (%19)' sine subtotal rezeksiyon ve 3 (% 3.6)' üne de biyopsi yapıldı.

Mutasyon görülmeyen olguların 50 (% 59.5)' sine RT ve TMZ, 34 (% 40.5) olguya sadece RT uygulandı.

Nüks yeri 36 (% 42.8) olguda radyoterapi alanı içinde, 24 (% 28.5) olguda radyoterapi alanı dışında ve 14 (% 16.6) olguda hem alan içinde hem de dışındaydı. Nüks sonrası ikinci seri tedavide; 15 (% 17.9) olguya sadece TMZ, 2 (% 2.4) olguya sadece RT, 3 (% 3.6) olguya RT + TMZ uygulanırken, 64 (% 76.2) olguda herhangi bir tedavi uygulanmadı (Tablo 9).

Tablo 10: IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeyen Olgulara Göre Genel Bulgular

ÖZELLİKLER	n (%)
Hasta sayısı	84 (% 90.3)
Cinsiyet	
Erkek	52 (% 61.9)
Kadın	32 (% 38.1)
Yaş	
< 60	54 (% 64.3)
≥ 60	30 (% 35.7)
Tümör yerleşimi	
Frontal lob	15 (% 17.9)
Parietal lob	23 (% 27.4)
Temporal lob	14 (% 16.7)
Oksipital lob	2 (% 2.4)
Bazal ganglion	2 (% 2.4)
Beyin sapı	2 (% 2.4)
Serebellum	5 (% 6.0)
Multilobar	21 (% 25.0)
Tümör sayısı	
Tek	81 (% 96.4)
Multipl	3 (% 3.6)
Cerrahi	
Total rezeksiyon	65 (% 77.4)
Subtotal rezeksiyon	16 (%19)
Tedavi	
Radyoterapi ± Temozolomide	50 (% 59.5)
Radyoterapi	34 (% 40.5)
Nüks yeri	
Alan içi	36 (% 42.8)
Alan dışı	24 (% 28.5)
Alan içi + alan dışı	14 (% 16.6)
İkinci seri tedavi	
Temozolomide	15 (% 17.9)
Radyoterapi	2 (% 2.4)
Radyoterapi + temozolomide	3 (% 3.6)
Uygulanmadı	64 (% 76.2)

4.3.1. Sağkalım Bulguları

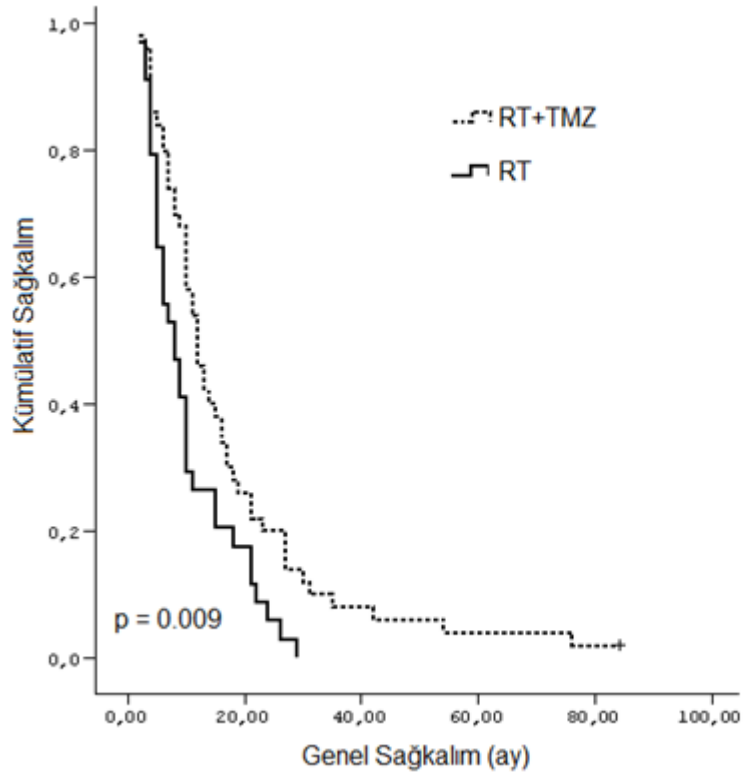
IDH 1 gen mutasyonu görülmeyen 84 olguda medyan genel sağkalım 10 (2-84) ay ve hastalıksız sağkalım 6 (2-22) ay olarak bulundu ve istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ($p = 0.08$).

Mutasyon görülmeyen olgulardan RT ile TMZ uygulanan ve sadece RT uygulanan grupların genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım değerlendirilmesi Kaplan-Meier Metodu ile yapıldı. RT ile TMZ uygulanan ve sadece RT uygulanan grupta medyan genel sağkalım 12 (% 95 GA: 9.41-14.59) aya karşın 8 (% 95 GA: 4.57-11.42) ay olarak bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı idi ($p = 0.009$) (Şekil 8).

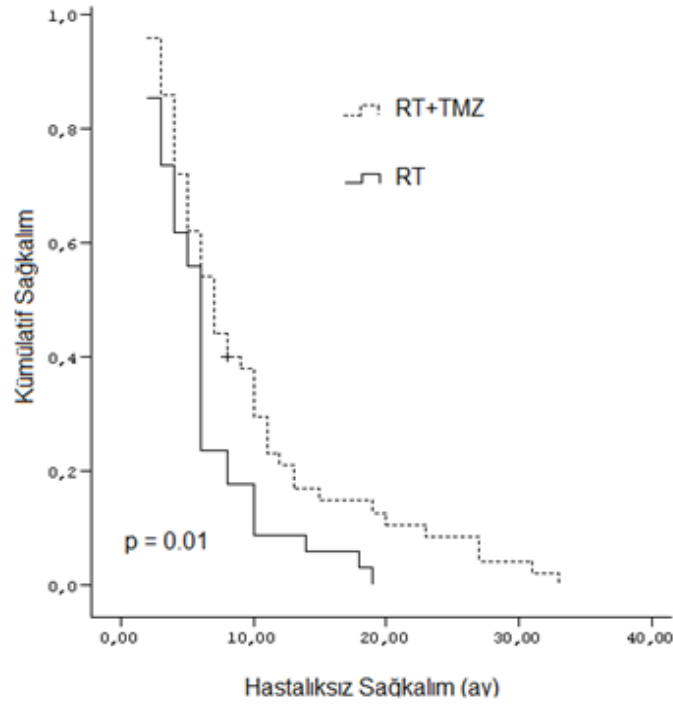
RT ile TMZ uygulanan ve sadece radyoterapi alan grupta medyan hastalıksız sağkalım 7 (% 95 GA: 5.47-8.52) aya karşın 6 (% 95 GA: 5.55-6.44) ay olarak bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p = 0.01$) (Tablo 10) (Şekil 9).

Tablo 11: IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeyen Olgularda GS ve HS

TEDAVİ	GS	% 95 GA	p	HS	% 95 GA	p
RT + TMZ	12 ay	9.41-14.59	0.009	7 ay	5.47-8.52	0.01
RT	8 ay	4.57-11.42		6 ay	5.55-6.44	



Şekil 8. Wild Tip IDH 1 Görülen; RT+TMZ ve Yalnız RT Alan Olgularda GS Eğrisi



Şekil 9. Wild Tip IDH 1 Görülen; RT+TMZ ve Yalnız RT Alan Olgularda HS Eğrisi

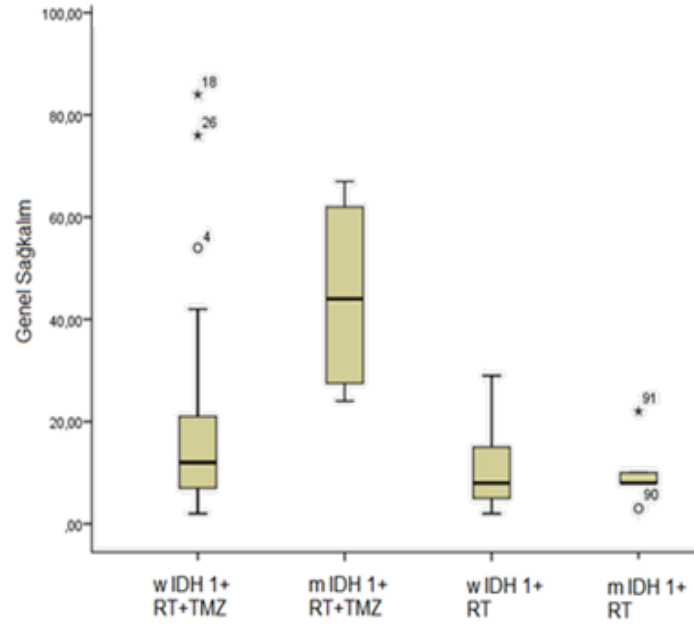
4.2.2 Prognostik Faktörler

Prognostik faktörler istatistiksel olarak değerlendirilirken Cox Regresyon Testi kullanıldı. Mutasyon görülmeyen olgularda GS ve HS’da radyoterapiye eklenen temozolomidin prognostik önemi olduğu saptandı (OR:1.78, %95 GA: 1.13-2.81, $p = 0.01$). Bu olguların sağkalımında 60 yaşın altının 60 yaş ve üzerine göre iyi prognostik özellik olduğu gösterildi (OR: 1.66, % 95 GA: 1.04-2.63, $p = 0.03$). Cinsiyetin ise prognozda etkili olmadığı görüldü (OR: 1.01, % 95 GA: 0.65-1.59, $p = 0.9$) (Tablo 11).

Tablo 12: IDH 1 Gen Mutasyonu Görülmeyen Olgularda Prognostik Faktörler

ÖZELLİKLER	OR	% 95 GÜVEN ARALIĞI	p
Radyoterapiye Temozolomide ilavesi	1.78	1.13-2.81	0.01
Yaş (< 60)	1.66	1.04-2.63	0.03
Cinsiyet	1.01	0.65-1.59	0.9

Ayrıca mutant IDH 1+ RT+TMZ, mutant IDH 1+ RT, wild tip IDH 1+ RT+TMZ ve wild tip IDH 1+ RT uygulanan gruplar genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım açısından Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. Mutant IDH 1+RT+TMZ uygulanan grupla diğer gruplar arasında GS’ da istatistiksel fark saptanırken ($p = 0.002$), HS’ da anlamlı fark saptanmadı ($p = 0.07$) (Şekil 10).



Şekil 10. Bizim çalışmamıza göre m IDH1+ RT+TMZ, m IDH1+ RT, w IDH 1+ RT+TMZ ve w IDH 1+ RT uygulanan olguların genel sağkalımı

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Yüksek dereceli gliomalar tüm malign beyin tümörlerinin % 77'sini oluşturur. GBM, en sık görülen ve en agresif seyreden primer beyin tümörüdür (5). Hastaların % 70' inde bir yıl içinde nüks gelişmektedir (12). Standart tedavi yaklaşımı, mümkün olan en geniş rezeksiyon ve radyoterapi ile eşzamanlı TMZ ve ardından adjuvan TMZ tedavisidir (12,13).

Yüksek gradlı gliomalar, çeşitli gen ekspresyon değişiklikleri gösterir. Prognostik faktörlerin belirlenebilmesi için moleküler düzeyde pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalara göre; EGFR ve MDM2 aşırı ekspresyonu, mutasyonu veya PTEN, RB1 veya CDKN2A kaybı içeren de novo glioblastomalar yaşlı hastalarda daha siktir ve kötü prognoz göstergesidir (45,46,48). Her-2/neu aşırı ekspresyonu da kötü prognoz göstergesidir (2). 1p/19q heterozigotisite kaybı iyi sağkalımla ilişkiliyken, 10q' da heterozigotisite kaybı kötü prognoza neden olur (58). PDGFR ile ligandlarının aşırı ekspresyonu ve TP53 mutasyonu genç hastalarda siktir ve iyi prognoza işaret eder (59). MGMT promoter metilasyonu iyi prognoz göstergesidir (61).

Kromozom 2q.33.3'deki IDH 1 geni tarafından kodlanan IDHs, izositratın α – KG'a oksidatif dekarboksilasyonunu katalizlerler. Mutasyonlar sonucu enzim aktivitesi azalır ve bunun sonucu ortaya çıkan metabolitlerin kanser oluşumuna katkısı ve IDH'nın tümör supresör veya onkogen olduğu henüz net olarak anlaşılamamıştır (20,21).

IDH mutasyonu ilk kez 2008 yılında Parson ve ark. tarafından tespit edildi. Çalışmada toplam 149 GBM tanılı olgunun 18'inde (%12) IDH 1 mutasyonu saptandı. Mutasyonların çoğu R132H şeklindeyken, iki hastada R132S mutasyonu bulundu. Mutant IDH 1 görülen hastaların ortalama yaşı 33 iken, wild tip IDH 1 görülen hastaların ortalama yaşı 53 idi ($p < 0.001$, T testi). Mutasyon görülen olgularda medyan genel sağkalımın artmış olduğu saptandı (3.8 yıla karşı 1.1 yıl, $p < 0.001$, Log Rank testi). Mutasyonların sekonder GBM'lerde primerlerden daha sık görüldüğü bildirildi ($p < 0.001$, Binomial testi) (14).

Yan ve ark. IDH1 gen mutasyonu olmayan diğer glioma olgularında sıklıkla IDH 2 gen mutasyonunun varlığı ortaya çıkardı. IDH 2 mutasyonu, (sıklıkla R172K) düşük gradlı gliomalarda nadiren görülürken, primer glioblastomalarda rastlanmadı. Mutasyonlar sekonder GBM'de primer GBM'den daha sıkı. IDH 1 veya IDH 2 mutasyonu taşıyan olgular diğerlerinden daha gençti (32'ye karşı 59 yaş, $P < 0.001$). Medyan genel sağkalım ise 65 aya karşı 20 aydı ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0.001$, Long Rank testi) (22).

IDH mutasyonlarının sekonder GBM'lerde daha sık tespit edilmesinin ardından, düşük gradlı gliomlarda da çalışmalar yapıldı. IDH mutasyonları grade II,III astrositomlarda %65-80 (67-69,80-82), grade II,III oligodendrogliom ve oligoastrositomlarda %70-85, pilositik astrositomlarda %5'in altında iken ependimomlarda tespit edilemedi (22,64,66).

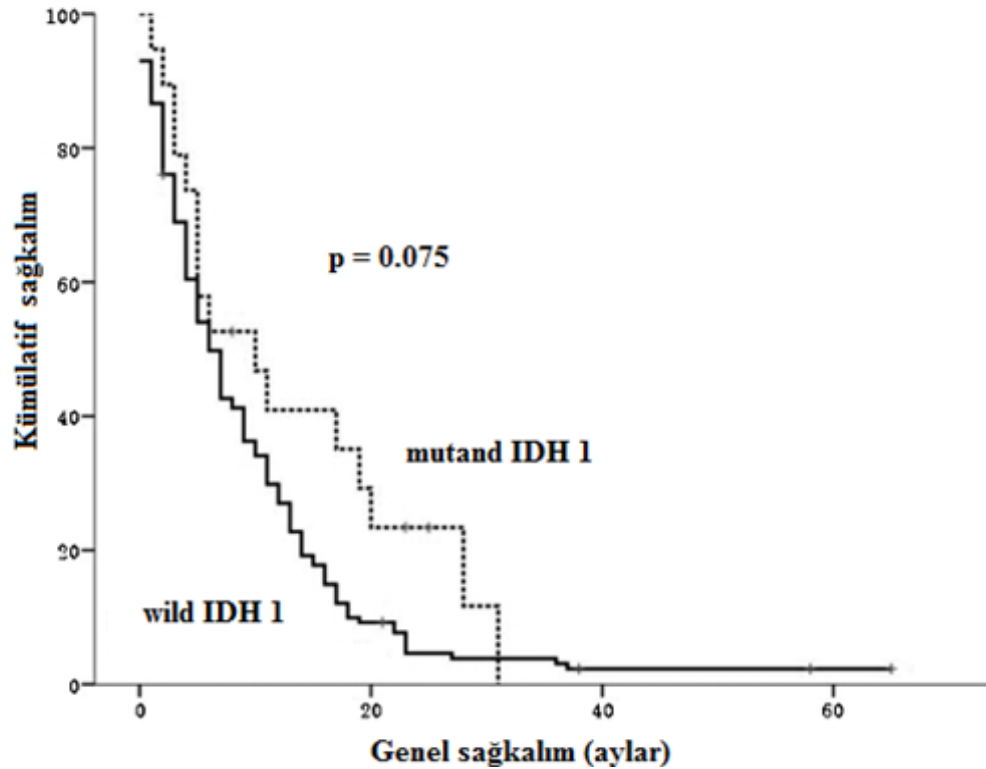
Krell ve ark. yaptığı çalışmada 47 primer GBM olgusunda %12 oranında (6/47) IDH 1 mutasyonu (R132H) bulurken, IDH 2 ve IDH 3 mutasyonuna rastlanmadı (70).

Hilmani ve ark.'nın yaptığı çalışmada, Faslı 34 primer GBM olgusunda IDH 1 ve IDH 2 mutasyonuna rastlanmadı. Mutasyonların primer ve sekonder GBM ayırımı için kullanılabileceği ve operasyon öncesi KPS skorunun primer GBM için önemli prognostik faktör olduğu bildirildi (97).

Bizim çalışmamızda 93 primer GBM olgusu incelendi ve 9 (%9.7) olguda IDH 1 (R132H) mutasyonu bulundu. IDH 2 mutasyonu ise bulunamadı. IDH 1 mutasyonu bulunan hastaların hepsi 60 yaş altındaydı ve medyan yaşı 38 idi. Mutasyon görülmeyenlerde medyan yaş 55' di ve istatistiksel anlamlılık saptandı ($p = 0.003$).

Sanson ve ark.'nın 404 olguluk (100 grade 2, 121 grade 3, 183 grade 4 glioma) çalışmasında IDH 1 mutasyonu primer GBM olgularında %6 bulundu. Hastaların sağkalımı sırasıyla 27,4 aya karşı 14 aydı ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.01$). Mutasyonun yaş, grade, genomik profil, MGMT metilasyonu ve tedaviden bağımsız prognostik faktör olduğu çok değişkenli analizlerle gösterildi (65).

Uno ve ark.'nın Birezilyalı 161 olguluk (155 primer, 6 sekonder GBM) çalışmasında, primer GBM olgularında % 9.7 (15/155), sekonder GBM olgularında % 66.7 (4/6) oranında IDH 1 mutasyonu saptandı. Bütün mutasyonlar R132H mutasyonuydu. Mutasyon görülen hastalar diğerlerinden gençti. Mutasyon kadınlarda erkeklerden fazla tespit edildi ($p = 0.041$). Tüm GBM olgularında medyan sağkalım mutant grupta 19 ay mutasyonsuz grupta ise 9 aydı fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p = 0.07$). Bu duruma hasta sayısının yetersiz oluşu ve sekonder GBM olgularında mutasyona literatürden daha az rastlanmasının neden olabileceği bildirildi (98).



Şekil. Uno ve ark.'nın çalışmasında GS eğrisi

Bizim çalışmamızda da primer GBM olgularında % 9.7 sıklıkta R132H mutasyonu saptandı. Cinsiyet açısından fark saptanmadı ($p = 0.08$). Medyan sağkalım 22 aya karşı 10 aydı fakat istatistiksel fark saptanmadı ($p = 0.07$). Hastalıksız sağkalım 8 aya karşı 6 aydı ve istatistiksel fark saptanmadı ($p = 0.1$). Medyan sağkalımın uzamış olmasına rağmen, istatistiksel fark saptanmamasına Uno ve ark.'nın çalışmasında olduğu gibi hasta sayısının yetersiz oluşu ve çalışmamızda sadece IDH 1 (R132H) mutasyonunun araştırılmasının neden olabileceği düşünüldü.

Setty ve ark. 2010 yılında yaptıkları çalışmada 47 hastada pyrosekans ve direk sekans yöntemleri karşılaştırıldı. 33 primer pediatrik GBM olgusunun 6 (%18)'sında ve 14 grade III astrositom olgusunun 5 (%35)'inde her iki yöntemle R132H mutasyonu saptandı. Pyrosekans yönteminin sensitivitesi, mutant ve wild tip plazmidler dilüe edilerek değerlendirildi. Yöntemin % 5 mutasyonu dahi saptayabildiği, direk sekans kadar sensitif olduğu açıklandı (86).

Yan ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 118 primer GBM olgusu pyrosekans yöntemi ile incelendi. 19 olguda (%16) IDH 1 mutasyonu (%89.5 R132H, %10.5 R132S) bulundu. Mutasyon olanlar olmayanlara göre daha gençti (ortalama yaş 40.3'e karşı 48.6, $p = 0.002$, T testi). Tümör lokalizasyonu, mutant tipte %84.2 oranında frontal lob iken, wild tipte bu oran %36.4 idi ($P < 0.001$). Medyan hastalıksız sağkalım 497 güne karşı 342 gün iken ($p = 0.026$, Log Rank testi) medyan genel sağkalım 568 güne karşı 457 gündü ($p = 0.029$ Log Rank testi). IDH 1 mutasyonunun prognostik önemi olduğu bildirildi. Ancak cinsiyet, yaş, operasyon öncesi KPS skoru, rezeksiyon şekli, temozolamid kemoterapisi gibi faktörlerden bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilemedi. Çalışmada mutasyonun batı ülkelerinden daha sık görülme nedeninin, Çin toplumunda düşük gradlı gliomaların daha sık görülmesi ve cerrahi öncesi mutasyonla yüksek grade transformasyon olabileceği belirtildi. Ayrıca IDH 1 mutasyonu ve frontal lob tümörü birlikteliği için ise daha fazla çalışmaya gereksinim olduğu vurgulandı (99).

Bizim çalışmamızda da primer GBM olgularında, mutasyon analizi için pyrosekans yöntemi kullanıldı. Mutant grupta, tümör lokalizasyonu açısından anlamlı fark saptanmadı.

Yaş (< 60), cerrahi (total rezeksiyon), ve tedaviye TMZ eklenmesi, bağımsız iyi prognostik faktörler olarak belirlenirken, cinsiyet ve IDH1 mutasyonunun bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilemedi.

Aslan ve ark.'nın yaptığı çalışmada 100 primer GBM olgusu incelendi. MGMT metilasyonunun olması iyi prognostik faktör olarak saptandı ($p = 0.02$). Tedaviye TMZ eklenmesinin de prognostik önemi olduğu saptandı ($p = 0.002$). Ayrıca metile grupta tedaviye TMZ eklenmesinin, GS ve HS'da uzamaya neden olduğu bildirildi ($p < 0.001$).

Standart tedavi yaklaşımı (RT ile eşzamanlı TMZ ve ardından adjuvan TMZtedavisi) ile tedavi edilen olgularda ilk çalışma Bujko ve ark. tarafından yapıldı. 58 olgunun incelendiği çalışmada %14 (8/58) R132H mutasyonu tespit edildi. Mutasyon tespit edilen hastaların 6'sı sekonder GBM'di. Mutasyonun medyan hastalıksız sağkalım ve medyan genel sağkalımda uzamaya neden oluşu istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0.001$). Buna ek olarak mutant IDH 1 taşıyan olgular, MGMT metilasyonlu grupta daha fazlaydı fakat istatistiksel anlamlılık saptanmadı (100).

Song Tao ve ark.'nın çalışmasında 79 sekonder GBM tanılı olgunun 58'inde (%73) IDH 1 veya IDH 2 mutasyonu tespit edildi. IDH mutasyonu, MGMT metilasyonu ve 1p19q delesyonunun, tek değişkenli analizlerde (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p = 0.0039$) ve çok değişkenli analizlerde de (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p = 0.035$) uzamış hastalıksız sağkalıma neden olduğu gösterildi. Sekonder GBM olgularında, IDH mutasyonu ($p = 0.001$) ve MGMT metilasyonu ($p = 0.011$)'nun temozolamide iyi yanıtı neden olduğu saptandı.

Sekonder GBM olgularında TMZ' e en iyi yanıtın ise, IDH mutasyonu ve MGMT metilasyonunun her ikisinde bulunduğu olgularda olduğu bildirildi (101).

Bu çalışmada, mutasyon bulunan ile bulunmayan primer GBM olguları, standart tedavi rejimi (RT ile eşzamanlı TMZ ve ardından adjuvan TMZ) veya yalnız RT uygulananlar olmak üzere dört gruba ayrıldı. RT'ye TMZ eklenen mutant grupta GS, 44 aydı ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde uzadığı saptandı ($p = 0.002$). HS ' de ise fark saptanmadı ($p = 0.07$).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda IDH 1 ve IDH 2 gen mutasyonlarının sıklığı ırklar arası farklılık göstermekle birlikte; sekonder GBM' ler ile grade II-III gliomalarda, primerlerden daha siktir, genç yaşta ortaya çıkar ve iyi prognoz göstergesidir. Düşük gradeden yüksek grade transformasyonda prediktif önemi vardır. Primer GBM olgularında prognostik önemi halen tartışmalıdır. Literatürde sekonder GBM ve düşük gradlı gliomalarda mutasyon görülen olgularda, tedaviye TMZ eklenmesinin, mekanizması bilinmemekle birlikte prognoza olumlu etkisi gösterilmiştir.

Sekonder GBM' ler tüm olguların sadece % 5'ini oluşturmasına rağmen primer GBM olgularında mutasyonun tedavi cevabına etkisini gösteren çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda mutant grupta tedaviye eklenen TMZ'nin prognozu artırdığı gösterilmiştir. Fakat tedavi yanıtı belirlenmesi için prospektif geniş olgu sayısı olan çalışmalara ve klinik sonucu iyileştirmek için de alternatif tedavi rejimleri uygulamalarına ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKÇA

1. Shaw EG, Debinski W, Robbins ME. Central Nervous System Tumors, In. Gunderson LL, Tepper JE, eds Clinical Radiation Oncology, 2' nd edition. Philadelphia; Elsevier Churchill Livingstone, 2007; 457-493
2. Siker ML, Donahue BR, Vogelbaum MA, Tome WA, Gilbert ML, Mehta MP. Primer Intracranial Neoplasms, In. Halperin EC, Perez CA, Brady LW, eds Principles and Practice of Radiation Oncology, 5' th edition. Philadelphia; Wolters-Lippincott, 717-751; 2008
3. Stieber VW, McMullen KP, Munley MT, Shaw E. Central Nervous System Tumors, In. Levitt SH, Purdy JA, Perez CA, Vijayakumar S, eds Technical Basis of Radiation Therapy, 4' th edition. Berlin; Springer, 425-453; 2006
4. Donahue BR. Adult Gliomas, In. Lu JJ, Brady LW, eds Radiation Oncology An-Evidence Based Approach, 1' th edition. Berlin; Springer, 483-501; 2008
5. Woo SY. Central Nervous System, In. Cox JD, Ang KK, eds Radiation Oncology, 9' th edition. Philadelphia; Mosby Elsevier, 835-875; 2010
6. [Jemal A](#), [Siegel R](#), [Xu J](#), [Ward E](#) : [CA Cancer J Clin](#). 2010 Sep-Oct;60(5):277-300; 2010
7. Shaw EG, Seiferheld W, Scott C, et al: Ethnic Differences in Survival of Glioblastoma (GBM): A Secondary Analysis of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) Recursive Partitioning Analysis (RPA) Database. Neurooncology 5:296; 2003

8. Winger MJ, Macdonald DR, Cairncross JG. Supratentorial anaplastic gliomas in adults. The prognostic importance of extent of resection and prior low-grade glioma. *J Neurosurg.* 71(4):487-93; 1989
9. Black PM. Brain tumor. Part 2. *N Engl J Med.* 324(22):1555-64; 1991
10. Black PM. Brain tumors. Part 1. *N Engl J Med.* 324(21):1471-6; May 23 1991
11. Eoli M, Menghi F, Bruzzone MG, et al. Methylation of O6-methylguanine DNA methyltransferase and loss of heterozygosity on 19q and/or 17p are overlapping features of secondary glioblastomas with prolonged survival. *Clin Cancer Res.* 13:2606–2613; 2007
12. Sanai N, Berger MS (2009) Operative techniques for gliomas and the value of extent of resection. *Neurotherapeutics* 6: 478–486.
13. Walker MD, Green SB, Byar DP, Alexander E, Batzdorf U, et al. (1980) Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *The New England Journal of Medicine* 303: 1323–1329
14. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 321: 1807–1812;2008
15. Xu X, Zhao J, Xu Z, Peng B, Huang Q, et al. Structures of human cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenase reveal a novel self-regulatory mechanism of activity. *J Biol Chem* 279:33946–33957; 2004
16. Haselbeck RJ, McAlister-Henn L. Function and expression of yeast mitochondrial NAD- and NADP-specific isocitrate dehydrogenases. *J Biol Chem.* 268:12116–12122;1993
17. Joseph JW, Jensen MV, Ilkayeva O, Palmieri F, Alarcon C, et al. The mitochondrial citrate/isocitrate carrier plays a regulatory role in glucose-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem.* 281:35624–35632;2006
18. Minard KI, McAlister-Henn L. Dependence of peroxisomal beta-oxidation on cytosolic sources of NADPH. *J Biol Chem.* 274:3402–3406;1999

19. Lee SH, Jo SH, Lee SM, Koh HJ, Song H, et al. Role of NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase (NADP⁺-ICDH) on cellular defence against oxidative injury by gamma-rays. *Int J Radiat Biol.* 80:635–642;2004
20. Zhao S, Lin Y, Xu W, Jiang W, Zha Z, Wang P, et al. Glioma-derived mutations in *IDH1* dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 α . *Science* 324: 261-265;2009
21. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* .462: 739-744,2009
22. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 360: 765–773;2009
23. Kloosterhof NK, Bralten LB, Dubbink HJ, French PJ, van den Bent MJ Isocitrate dehydrogenase-1 mutations: a fundamentally new understanding of diffuse glioma? *Lancet Oncol*; 2010
24. Hartmann C, Meyer J, Balss J, Capper D, Mueller W, et al. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 118: 469–474;2009
25. Bohnen NI, Radhakrishnan K, O’Neill BP, Kurland LT: Descriptive and analytic epidemiology of brain tumors. In Black PM, Loeffler JS eds: *Cancer of Nervous System*. Oxford, Blackwell Scientific Publications,1997.
26. Kleihues P, Cavanee WK: *Pathology and Genetics of Tumours of the Nervous System*. Lyon, France, International Agency for Research on Cancer,1998.
27. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW: *Histological Typing of Tumours of Central Nervous System*. 2 nd ed. Berlin, Springer, 1993.
28. Polednak AP, Flannery JT: Brain, other central nervous system and eye cancer. *Cancer* 75: 330-337; 1995.
29. Scheithauer BW, Okazaki H: *Atlas of Neuropathology*. New York, JB Lippincott, 1988

30. CBTRUS: Central Brain Tumor Registry of the United States Statistical Report: Primary Brain Tumors in the United States
31. [Thomas TL](#), [Stewart PA](#), [Stemhagen A](#), [Correa P](#), [Norman SA](#), [Bleecker ML](#), [Hoover RN](#): Risk of astrocytic brain tumors associated with occupational chemical exposures. A case-referent study. [Scand J Work Environ Health](#). 13(5):417-23; 1987.
32. Wrench M, Minn Y, Chew T, Bondy M, Berger MS. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neuro-oncol* 4:278–299; 2002.
33. Jensen, S., Paderanga, D. C., Chen, P., Olson, K., Edwards, M., Iavorone, A., Israel, M. A. and Shannon, K. (1995), Molecular analysis at the *NF1* locus in astrocytic brain tumors. *Cancer*, 76: 674–677;1995.
34. Dongyan Wang, J. Robert Grammer, Charles S. Cobbs, p125 focal adhesion kinase promotes malignant astrocytoma cell proliferation in vivo *Journal of Cell Science* 113, 4221-4230; 2000.
35. Zagzag D, Friedlander DR, Margolis B, Grumet M, Semenza GL, Zhong H, Simons JW, Holash J, Wiegand SJ, Yancopoulos GD. Molecular events implicated in brain tumor angiogenesis and invasion. *Pediatr Neurosurg*. 33:49-55; 2000
36. [Haskell H](#), [Natarajan M](#), [Hecker TP](#), [Ding Q](#), [Stewart J Jr](#), [Grammer JR](#), [Gladson CL](#). Focal adhesion kinase is expressed in the angiogenic blood vessels of malignant astrocytic tumors in vivo and promotes capillary tube formation of brain microvascular endothelial cells. *Clin Cancer Res*. 9(6):2157-65; 2003.
37. *Fulci G, Labuhn M, Maier D, et al. p53 gene mutation and ink4a-arf deletion appear to be two mutually exclusive events in human glioblastoma. Oncogene* 19: 3816–22; 2000
38. [Henson JW](#), [Schnitker BL](#), [Correa KM](#), [von Deimling A](#), [Fassbender F](#), [Xu HJ](#), [Benedict WF](#), [Yandell DW](#), [Louis DN](#). The retinoblastoma gene is involved in malignant progression of astrocytomas. [Ann Neurol](#). 36(5):714-21; 1994

39. [Stambolic V](#), [Suzuki A](#), [de la Pompa JL](#), [Brothers GM](#), [Mirtsos C](#), [Sasaki T](#), [Ruland J](#), [Penninger JM](#), [Siderovski DP](#), [Mak TW](#). Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. [Cell](#). 2;95(1):29-39; 1998.
40. [Fraser MM](#), [Zhu X](#), [Kwon CH](#), [Uhlmann EJ](#), [Gutmann DH](#), [Baker SJ](#). Pten loss causes hypertrophy and increased proliferation of astrocytes in vivo. [Cancer Res](#). 1;64 (21):7773-9; 2004.
41. [Dai C](#), [Holland EC](#). Astrocyte differentiation states and glioma formation. [Cancer J](#). 9(2):72-81; 2003.
42. **T Moulton, G Samara, WY Chung, L Yuan, R Desai, M Sisti, J Bruce and B Tycko** MTS1/p16/CDKN2 lesions in primary glioblastoma multiforme. *American Journal of Pathology*, Vol 146, 613-619; 1995.
43. [Ueki K](#), [Ono Y](#), [Henson JW](#), [Efird JT](#), [von Deimling A](#), [Louis DN](#) . CDKN2/p16 or RB alterations occur in the majority of glioblastomas and are inversely correlated. [Cancer Res](#). 1;56 (1):150-3; 1996.
44. [Ono Y](#), [Tamiya T](#), [Ichikawa T](#), [Kunishio K](#), [Matsumoto K](#), [Furuta T](#), [Ohmoto T](#), [Ueki K](#), [Louis DN](#). Malignant astrocytomas with homozygous CDKN2/p16 gene deletions have higher Ki-67 proliferation indices. [J Neuropathol Exp Neurol](#). 55(10):1026-31; 1996.
45. [Hayashi Y](#), [Ueki K](#), [Waha A](#), [Wiestler OD](#), [Louis DN](#), [von Deimling A](#). Association of EGFR gene amplification and CDKN2 (p16/MTS1) gene deletion in glioblastoma multiforme. [Brain Pathol](#). 7(3):871-5; 1997.
46. [Tohma Y](#), [Gratas C](#), [Biernat W](#), [Peraud A](#), [Fukuda M](#), [Yonekawa Y](#), [Kleihues P](#), [Ohgaki H](#). PTEN (MMAC1) mutations are frequent in primary glioblastomas (de novo) but not in secondary glioblastomas. [J Neuropathol Exp Neurol](#). 57(7):684-9.
47. [Libermann TA](#), [Nusbaum HR](#), [Razon N](#), [Kris R](#), [Lax I](#), [Soreq H](#), [Whittle N](#), [Waterfield MD](#), [Ullrich A](#), [Schlessinger J](#). Amplification, enhanced expression and possible rearrangement of EGF receptor gene in primary human brain tumours of glial origin. [Nature](#). 313(5998):144-7; 1985.

48. [Smith JS](#), [Tachibana I](#), [Passe SM](#), [Huntley BK](#), [Borell TJ](#), [Iturria N](#), [O'Fallon JR](#), [Schaefer PL](#), [Scheithauer BW](#), [James CD](#), [Buckner JC](#), [Jenkins RB](#). PTEN mutation, EGFR amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. [J Natl Cancer Inst](#). 93(16):1246-56; 2001.
49. [Newcomb EW](#), [Cohen H](#), [Lee SR](#), [Bhalla SK](#), [Bloom J](#), [Hayes RL](#), [Miller DC](#). Survival of patients with glioblastoma multiforme is not influenced by altered expression of p16, p53, EGFR, MDM2 or Bcl-2 genes. [Brain Pathol](#). 8(4):655-67; 1998.
50. Oh D, Prayson RA. Evaluation of epithelial and keratin markers in glioblastoma multiforme. An immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med*. 123:917–920; 1999.
51. Fiveash JB, Nordal RS, Markert JM, Ahmed RS, Nabors LB. High Grade Gliomas, In. Gunderson LL,Tepper JE, eds Clinical Radiation Oncology, 2' nd edition. Philadelphia; Elsevier Churchill Livingstone, 457-493; 2007
52. [Kleihues P](#), [Louis DN](#), [Scheithauer BW](#), [Rorke LB](#), [Reifenberger G](#), [Burger PC](#), [Cavenee WK](#). The WHO classification of tumors of the nervous system. [J Neuropathol Exp Neurol](#). 61(3):215-25; 2002.
53. Levin A, Leibel SA, Gutin PH, Neoplasms of the Central Nervous. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA Cancer Principles and Practice of Oncology. 5th ED., Philadelphia: J.B Lippincot-Raven Publishers, 1997:2022-2083.
54. Brat DJ, Scheithauer BW, Medina-Flores R, Rosenblum MK, Burger PC. Infiltrative astrocytomas with granular cell features (granular cell astrocytomas). A study of histopathologic features, grading, and outcome. *Am J Surg Pathol*. 26:750–757; 2002
55. Weingart J, Brem H. Brain Tumors and Cancers of the Central Nervous System. Neiderhuber JE. Current Therapy. Fhirst ED., Decker: Mosby- Year Book Inc, 1993: 538-546.

56. [Curran WJ Jr](#), [Scott CB](#), [Horton J](#), [Nelson JS](#), [Weinstein AS](#), [Fischbach AJ](#), [Chang CH](#), [Rotman M](#), [Asbell SO](#), [Krisch RE](#), et al. Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials. [J Natl Cancer Inst.](#) 85(9):704-10; 1993.
57. [Donahue B](#), [Scott CB](#), [Nelson JS](#), [Rotman M](#), [Murray KJ](#), [Nelson DF](#), [Banker FL](#), [Earle JD](#), [Fischbach JA](#), [Asbell SO](#), [Gaspar LE](#), [Markoe AM](#), [Curran W](#). Influence of an oligodendroglial component on the survival of patients with anaplastic astrocytomas: a report of Radiation Therapy Oncology Group 83-02. [Int J Radiat Oncol Biol Phys.](#) 38(5):911-4; 1997.
58. [Bello MJ](#), [Vaquero J](#), [de Campos JM](#), [Kusak ME](#), [Sarasa JL](#), [Saez-Castresana J](#), [Pestana A](#), [Rey JA](#). Molecular analysis of chromosome 1 abnormalities in human gliomas reveals frequent loss of 1p in oligodendroglial tumors. [Int J Cancer.](#) 57(2):172-5; 1994.
59. Watanabe K, Sato K, Biernat W, et al. Incidence and timing of p53 mutations during astrocytoma progression in patients with multiple biopsies. *Clin Cancer Res.* Apr 3(4):523-30; 1997
60. Korkolopoulou P, Christodoulou P, Kouzelis K, Hadjiyannakis M, Priftis A, Stamoulis G, et al. MDM2 and p53 expression in gliomas: a multivariate survival analysis including proliferation markers and epidermal growth factor receptor. *Br J Cancer.* 75(9):1269-78; 1997
61. [Hegi ME](#), [Diserens AC](#), [Godard S](#), [Dietrich PY](#), [Regli L](#), [Ostermann S](#), [Otten P](#), [Van Melle G](#), [de Tribolet N](#), [Stupp R](#). Clinical trial substantiates the predictive value of O-6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. [Clin Cancer Res.](#) 10(6):1871-4. 2004.
62. Yang ES, Park JW. Regulation of ethanol-induced toxicity by mitochondrial NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase. *Biochimie.* 91:1020–1028; 2009
63. Mailloux RJ, Beriault R, Lemire J, Singh R, Chenier DR, Hamel RD, et al. The tricarboxylic acid cycle, an ancient metabolic network with a novel twist. *2:e690*; 2007

64. Balss, J., Meyer, J., Mueller, W., Korshunov, A., Hartmann, C., & von Deimling, A. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol*, Vol. 116, pp. 597-602;2008
65. Sanson, M., Marie, Y., Paris, S., Idbaih, A., Laffaire, J., Ducray, F., et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol*, Vol. 27, pp. 4150-4154;2009
66. Watanabe, T., Nobusawa, S., Kleihues, P., & Ohgaki, H. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol*, Vol. 174, pp. 1149-1153;2009
67. Antonelli, M., Buttarelli, F.R., Arcella, A., Nobusawa, S., Donofrio, V., Ohgaki, H., et al. Prognostic significance of histological grading, p53 status, YKL-40 expression, and IDH1 mutations in pediatric high-grade gliomas. *J Neurooncol*, Vol.99, pp. 209-215;2010
68. Paugh, B.S., Qu, C., Jones, C., Liu, Z., Adamowicz-Brice, M., Zhang, J., et al. Integrated molecular genetic profiling of pediatric high-grade gliomas reveals key differences with the adult disease. *J Clin Oncol*, Vol. 28, pp. 3061-3068;2010
69. Pollack, I.F., Hamilton, R.L., Sobol, R.W., Nikiforova, M.N., Lyons-Weiler, M.A., Laframboise, W.A., et al. IDH1 mutations are common in malignant gliomas arising in adolescents: a report from the Children's Oncology Group. *Childs Nerv Syst*, Vol. 27, pp. 87-94;2011
70. Krell D, Assoku M, Galloway M, Mulholland P, Tomlinson I, Bardella C . [Screen for IDH1, IDH2, IDH3, D2HGDH and L2HGDH mutations in glioblastoma.](#)6(5):e19868;2011
71. Sonoda, Y., Kumabe, T., Nakamura, T., Saito, R., Kanamori, M., Yamashita, Y., et al. Analysis of IDH1 and IDH2 mutations in Japanese glioma patients. *Cancer Sci*, Vol.100, pp;2009
72. Bleeker, F.E., Lamba, S., Leenstra, S., Troost, D., Hulsebos, T., Vandertop, W.P., et al. IDH1 mutations at residue p.R132 (IDH1(R132)) occur frequently in high-grade gliomas but not in other solid tumors. *Hum Mutat*, Vol. 30, pp. 7-11;2009

73. Kang, M.R., Kim, M.S., Oh, J.E., Kim, Y.R., Song, S.Y., Seo, S.I., et al. Mutational analysis of IDH1 codon 132 in glioblastomas and other common cancers. *Int J Cancer*, Vol. 125, pp. 353-355;2009
74. Marcucci, G., Maharry, K., Wu, Y.Z., Radmacher, M.D., Mrozek, K., Margeson, D., et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol*, Vol. 28, pp. 2348-2355;2010
75. Seiz M, Tuettenberg J, Meyer J, Essig M, Schmieder K, Mawrin C, et al. Detection of *IDH1* mutations in gliomatosis cerebri, but only in tumors with additional solid component: evidence for molecular subtypes. *Acta Neuropathol* .120: 261-267;2010
76. Hayden JT, Fruhwald MC, Hasselblatt M, Ellison DW, Bailey S, Clifford SC. Frequent *IDH1* mutations in supratentorial primitive neuroectodermal tumors (sPNET) of adults but not children. *Cell Cycle* .8: 1806-1807;2009
77. Garber K. Oncometabolite? IDH1 discoveries raise possibility of new metabolism targets in brain cancers and leukemia. *J Natl Cancer Inst* .102: 926-928;2010
78. Kil IS, Kim SY, Lee SJ, Park JW. Small interfering RNA-mediated silencing of mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase enhances the sensitivity of HeLa cells toward tumor necrosis factor- α and anticancer drugs. *Free Radic Biol Med* 43: 1197-1207;2007
79. Lee JK, Edderkaoui M, Truong P, Ohno I, Jang KT, Berti A, et al. NADPH oxidase promotes pancreatic cancer cell survival via inhibiting JAK2 dephosphorylation by tyrosine phosphatases. *Gastroenterology* 133: 1637-1648;2007
80. Kil IS, Huh TL, Lee YS, Lee YM, Park JW. Regulation of replicative senescence by NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase. *Free Radic Biol Med* 40: 110-119; 2006
81. Bleeker FE, Atai NA, Lamba S, Jonker A, Rijkeboer D, Bosch KS, et al. The prognostic IDH1 (R132) mutation is associated with reduced NADP⁺-dependent IDH activity in glioblastoma. *Acta Neuropathol* 119: 487-494;2010

82. Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, Backlund LM, Chan R, Jones DT, et al. *IDH1* mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol* 11: 341-347;2009
83. Capper, D., Zentgraf, H., Balss, J., Hartmann, C., & von Deimling, A. Monoclonal antibody specific for IDH1 R132H mutation. *Acta Neuropathol*, Vol. 118, pp
84. M.K., Tian, W., Takano, S., Suzuki, H., Sawa, Y., Hozumi, Y., et al. Establishment of a novel monoclonal antibody SMab-1 specific for IDH1-R132S mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, Vol. 406, pp. 608-613;2010
85. Takano, S., Tian, W., Matsuda, M., Yamamoto, T., Ishikawa, E., Kaneko, M.K., et al. Detection of IDH1 mutation in human gliomas: comparison of immunohistochemistry and sequencing. *Brain Tumor Pathol*, Vol. 28, pp. 115-123;2010
86. [Setty P](#), [Hammes J](#), [Rothämel T](#), [Vladimirova V](#), [Kramm CM](#), [Pietsch T](#), [Waha A](#) A pyrosequencing-based assay for the rapid detection of IDH1 mutations in clinical samples. *J Mol Diagn.*; Epub 201012(6):750-6;2010
87. American Cancer Society, Cancer Facts and figures 2002 Surveillance Research, Atlanta, 2002.
88. [Laws ER](#), [Parney IF](#), [Huang W](#), [Anderson F](#), [Morris AM](#), [Asher A](#), [Lillehei KO](#), [Bernstein M](#), [Brem H](#), [Sloan A](#), [Berger MS](#), [Chang S](#); Survival following surgery and prognostic factors for recently diagnosed malignant glioma: data from the Glioma Outcomes Project. *J Neurosurg.* 99(3):467-73; 2003
89. [Walker MD](#), [Alexander E Jr](#), [Hunt WE](#), [MacCarty CS](#), [Mahaley MS Jr](#), [Mealey J Jr](#), [Norrell HA](#), [Owens G](#), [Ransohoff J](#), [Wilson CB](#), [Gehan EA](#), [Strike TA](#). Evaluation of BCNU and/or radiotherapy in the treatment of anaplastic gliomas. A cooperative clinical trial. *J Neurosurg.* 49(3):333-343; 1978
90. [Sharma RR](#), [Singh DP](#), [Pathak A](#), [Khandelwal N](#), [Sehgal CM](#), [Kapoor R](#), [Ghoshal S](#), [Patel FD](#), [Sharma SC](#). Local control of high-grade gliomas with limited volume irradiation versus whole brain irradiation. *Neurol India.* 51(4):512-7; 200

91. [Hochberg FH](#), [Pruitt A](#). Assumptions in the radiotherapy of glioblastoma. [Neurology](#);30(9):907-11; 1980
92. [Werner-Wasik M](#), [Scott CB](#), [Nelson DF](#), [Gaspar LE](#), [Murray KJ](#), [Fischbach JA](#), [Nelson JS](#), [Weinstein AS](#), [Curran WJ Jr](#). Final report of a phase I/II trial of hyperfractionated and accelerated hyperfractionated radiation therapy with carmustine for adults with supratentorial malignant gliomas. Radiation Therapy Oncology Group Study 83-02. [Cancer](#). 15;77(8):1535-43; 1996
93. [Lee SW](#), [Fraass BA](#), [Marsh LH](#), [Herbort K](#), [Gebarski SS](#), [Martel MK](#), [Radany EH](#), [Lichter AS](#), [Sandler HM](#). Patterns of failure following high-dose 3-D conformal radiotherapy for high-grade astrocytomas: a quantitative dosimetric study. [Int J Radiat Oncol Biol Phys](#).43(1):79-88; 1999
94. [Mirimanoff RO](#). The evolution of chemoradiation for glioblastoma: a modern success story. [Curr Oncol Rep](#).8 (1):50-3; 2006
95. Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, Hamou M-F, de Tribolet N, et al. (2005) MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. The New England Journal of Medicine 352: 997–1003.
96. [Stupp R](#), [Dietrich PY](#), [Ostermann Kraljevic S](#), [Pica A](#), [Maillard I](#), [Maeder P](#), [Meuli R](#), [Janzer R](#), [Pizzolato G](#), [Miralbell R](#), [Porchet F](#), [Regli L](#), [de Tribolet N](#), [Mirimanoff RO](#), [Leyvraz S](#). Promising survival for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme treated with concomitant radiation plus temozolomide followed by adjuvant temozolomide. [J Clin Oncol](#). 1;20(5):1375-82; 2002
97. Hilmani S, Abidi O, Benrahma H, Karkouri M, Sahraoui S, El Azhari A, Barakat A. Clinicopathological Features and Molecular Analysis of Primary Glioblastomas in Moroccan Patients. *J Mol Neurosci*; 2012
98. Uno M, Oba-Shinjo SM, Silva R, Miura F, Clara CA, Almeida JR, Malheiros SM, Bianco AM, Brandt R, Ribas GC, Feres H, Dzik C, Rosemberg S, Stavale JN, Teixeira MJ, Marie SK. IDH1 mutations in a Brazilian series of Glioblastoma. 66(1):163-5; 2011

99. Yan W, Zhang W, You G, Bao Z, Wang Y, Liu Y, Kang C, You Y, Wang L, Jiang T. Correlation of IDH1 mutation with clinicopathologic factors and prognosis in primary glioblastoma: a report of 118 patients from China. *7(1):e30339*; Jan 23 2012
100. Bujko M, Kober P, Matyja E, Nauman P, Dytus-Cebulok K, Czeremczyńska B, Bonicki W, Siedlecki JA. Prognostic value of IDH1 mutations identified with PCR-RFLP assay in glioblastoma patients. *Mol Diagn Ther. Jun 1;14(3):163-9*; 2010
101. Song Tao Q, Lei Y, Si G, Yan Qing D, Hui Xia H, Xue Lin Z, Lan Xiao W, Fei Y. IDH mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma. *Cancer Sci. 103(2):269-73*; 2012

T.C.

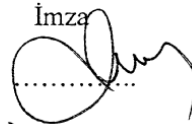
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Aygün Çelebi ait "6 tipten birinde izostatik duvarlar ile izostatik duvarlar arasındaki farklılıklar" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında Tıpta uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 07.07/2012

ONAY

Başkan : Prof. Dr. Sertan Söğüt 
Üye : Prof. Dr. Binyamin Kaya 
Üye : Doç. Dr. Aygün Çelebi 