

T.C.
AKDEN Z ÜN VERS TES
SA LIK B L MLER ENST T ÜS Ü
Ç HASTALIKLARI ANAB L M DALI

**GBM (GL OBLASTOMA MULT FORME)TANILI,
BEVAC ZUMAB TEDAV S N ALAN HASTALARDA
TP53 MUTASYONU VE MGMT MET LASYONUNUN
PRED KT F DE ER N N ARA TIRILMASI**

Zehra BOZTEPE

YÜKSEK L SANS TEZ

2017-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SALIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ÇEVRE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**GBM (GLİOMASTOMA MULTİFORME) TANILI,
BEVACİZUMAB TEDAVİSİNİN ALAN HASTALARDA
TP53 MUTASYONU VE MGMT METİLASYONUNUN
PREDİKTİF DEĞERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zehra BOZTEPE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hasan GENELİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2015-218 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2017-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne;

Bu alışma j¼rimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı T¼m¼r Biyolojisi ve İmm¼nolojisi Programında Y¼ksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 07/02/2017

İmza

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Hasan şenol COřKUN
(Akdeniz ¼niversitesi)

¼ye : Doç.Dr.Sema SEZGİN G¼KSU
(Akdeniz ¼niversitesi)

¼ye : Doç.Dr.Murat KOÇER
(S¼leyman Demirel ¼niversitesi)

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri ¼yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Narin DERİN

Enstit¼ M¼d¼r¼

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmamın kendi çalışmam oldu unu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Zehra BOZTEPE



Prof.Dr.Hasan Enol CO KUN



TE EKKÜR

Bu çalı maya ba ladı ım ilk günden itibaren; bilimselli ini, ekip ruhunu ve sabrını örnek aldı ım, her türlü deste i ve yardımı ile yanımda olan, saygıde er danı man hocam Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Ba kanı Prof.Dr.Hasan enol CO KUN'a,

Tezimin patoloji a amalarında bana içtenli iyle yardımcı olan de erli hocam Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Ba kanı Prof.Dr.Elif nanç GÜRER'e,

Tüm laboratuvar a amalarında beni destekleyen, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan sevgili meslekta ım Uzm.Dr.Mualla ÖZCAN'a,

Yüksek lisans ö renimim boyunca bana destek olan Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda görev yapmakta olan ekip arkada larıma,

Çalı manın yapılması için gerekli maddi deste i sa layan Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (Proje No: TYL-2015-218)

Ve son olarak, her daim bana inanıp, destekleyen, attı ım her adımda yanımda olan sevgili aileme,

Sonsuz te ekkürlerimi ve minnettarlı ımı sunarım.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada kapsamında GBM tanısı alıp, Bevacizumab kullanan hastalarda p53 mutasyonu, MGMT metilasyonunun anti-anjiyogenik tedaviyi belirlemedeki prediktif önemini de erlendirme amaçlanmaktadır.

Yöntem: 2008-2015 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Glioblastoma multiform histopatolojik tanısını alan, Tıbbi Onkoloji Poliklini ine ba vuran ve Irinotekan ile kombine Bevacizumab tedavisi gören olgular retrospektif olarak gözden geçirildi, 27 olgu dahil edildi. Hastaların ya , cinsiyet ve sa kalım süreleri ara tırıldı. Pyrosekans yöntemi ile MGMT metilasyonu ara tırıldı. Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi ile TP53 mutasyonu tarandı. Bulgular SPSS ver.18 programı ile de erlendirildi.

Bulgular: Olguların 12 (% 44,4)'sinde metile MGMT, 15 (% 55,6)'inde unmetile MGMT DNA'sı saptandı. Metile olguların unmetile olgulara göre daha uzun süre ya adı ı gözlendi (p=0,047). Olguların 10'unda TP53 mutasyonu saptandı. Mutasyonlu ve mutasyonsuz olguların sa kalım süreleri arasında bir farklılık saptanmadı (p=0,080).

Sonuç: Bu çalışmada Bevacizumab kullanan GBM hastalarında MGMT metilasyonu tespitinin prediktif olarak önem ta ıdı ı saptandı. Ancak TP53 mutasyonu bulgularına göre, prognostik veya prediktif olarak bir fark ortaya çıkarmadı ı görüldü.

Anahtar Kelimeler: gbm, bevacizumab, glioblastoma multiform, p53, mgmt

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to evaluate the mutation of TP53, methylation of MGMT for predictive value anti-angiogenic treatment to patient with GBM diagnosis and used Bevacizumab.

Method: The glioblastoma multiforme cases which were diagnosed in Akdeniz University Faculty of Medicine Department between 2008- 2015 and Irinotekan with Bevacizumab combine treatment taken were reviewed retrospectively. 27 cases were included for the study. All cases were evaluated for age, gender and survival time. MGMT methylation researched with Pyrosequencing. TP53 mutation scanned with High Resolution Melting Analysis. All data evaluated with SPSS ver.18 programme.

Results: The presence of MGMT methylation was demonstrated in 12 (% 44,4) cases and the rest of 15 (% 55,6) cases weren't. The patients without methylated MGMT DNA had taller survival compared to methylated group ($p= 0,047$). TP53 mutation detected to 10 cases. There was no statistically significant difference between mutation and no mutation groups survey ($p=0,080$).

Conclusion: It was concluded that in order to demonstrate the expected predictive and prognostic factors in glioblastoma patients, evaluating the presence of methylation of MGMT. Although mutation of TP53 was not prognostic or predictive difference due to our results.

Key Words: gbm, bevacizumab, glioblastoma multiform, p53, mgmt

Ç NDEK LER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
Ç NDEK LER	iii
S MGELER ve KISALTMALAR	v
EK LLER	vi
TABLolar	ix
1. G R	1
2. GENEL B LG LER	
2.1. Sinir Sistemi Hücreleri	2
2.1.1. Makroglialar	5
2.1.2. Mikroglialar	7
2.1.3. Schwann Hücreleri	7
2.1.4. Satelit Hücreleri	8
2.2. Beyin Tümörleri	9
2.2.1. Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması	10
2.2.2. Glioblastoma Multiforme (GBM)	13
2.2.3. Glioblastoma Multiforme'nin Genetik Özellikleri	15
2.2.4. GBM Tedavisi	20
2.3. Bevacizumab	21
3. GEREÇ ve YÖNTEM	
3.1. Materyal seçimi	22
3.2. MGMT Geni Metilasyon Analizi	22
3.2.1. Ffpe Doku Örneklerinden DNA Eldesi ve Bisülfid Dönü ümü	22
3.2.2. MGMT Metilasyonunu Belirlemek için Pyrosekans Analizi	24
3.2.3. Pyrosekans A aması	26
3.3. P53 Geni Dizi Analizi	27
3.3.1. Parafine Gömülü Dokudan DNA zolasyonu	27
3.3.2. Yüksek Çözünürlüklü Erime (High resolution melting) Analizi ile TP53 Ekson 5-8 Mutasyon Taraması	29
3.4. statistiksel Analizler	30

4. BULGULAR	
4.1.Hastaların Demografik Özellikleri	31
4.2.MGMT Metilasyon Analizi Bulguları	33
4.3.TP53 Mutasyonu Analizi Bulguları	37
5. TARTI MA	43
6. SONUÇ VE ÖNER LER	47
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇM	57

S İMGELER ve KISALTMALAR

AA	:Anaplastik Astrositom
BOS	:Beyin Omurilik Sıvısı
BVC	:Bevacizumab
CBTRUS	:Amerika Beyin Tümörü Kayıt Merkezi (Central Brain Tumor Registry Of The United States)
CDKN2	:Siklin Ba ımlı Kinaz nhibitörü 2
CSF	:Serebrospinal Sıvı
DCC	:Deleted in colorectal cancer
DMBT1	:Malign Beyin Tümörlerinde Silinen 1 Geni
DNA	:Deoksiribonükleik asit
dNTP	:Deoksinükleotit
EGFR	:Epidermal Büyüme Reseptörü Faktörü
FDA	:US Food and Drug Administration
FFPE	:Formalin ile sabitlenmiş parafinli doku
GBM	:Glioblastoma Multiforme
IDH1	: İzositrat dehidrogenaz 1
K⁺	:Potasyum
kDa	:Kilodalton
LOH	:Heterozigosite Kaybı
MDM2	:Mouse Double Minute 2 Homolog
MGMT	:O-6-Metilguanin DNA metiltransferaz
MSS	:Merkezi Sinir Sistemi
PDGFR	:Platelet Kökenli Büyüme Faktörü Reseptörü
PDGFRA	:Platelet Kökenli Büyüme Faktörü Reseptörü A

PNET	:Primitif Nöroektodermal Tümörler
PFS	:Progresyonsuz Sağ Kalım
PSS	:Periferik Sinir Sistemi
PTEN	:Fosfataz ve Tensin Homoloğu
RB	:Retinoblastoma
RT	:Radyoterapi
SPSS	:Sosyal bilimler için istatistik programı (Statistical Package for Social Sciences)
TMZ	:Temozolomid
TP53	:Tümör Baskılayıcı Protein 53
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü

EK LLER D Z N

ekil 2.1. Nöronların sınıflandırılmasının kavramsal görünümü	2
ekil 2.2. Uzantılarının sayısına göre nöronların basitle tirilmi gösterimleri	3
ekil 2.3. Astrosit ve oligodentrositlerin genel gösterimi	6
ekil 2.4. Ependimal hücrelerin mikroskop görüntüsü	6
ekil 2.5. Mikroglialar A) Genel yapısı B) Mikroskop görüntüsü	7
ekil 2.6. Schwann Hücresinin genel yapısı	8
ekil 2.7. Periferik Sinir Sistemi. Miyenterik pleksus (H&E.X400) n: Ganglion Hücresi, s: Satellite Hücresi	8
ekil 2.8. En Sık Görülen 10 Kanser Türünün Toplam Kanser içindeki Da ılımı, (%) 2014, Türkiye A) Kadınlarda, B) Erkeklerde	10
ekil 2.9. CBTRUS'un verilerine göre malign primer beyin tümörlerinin ve MSS tümörlerinin histolojik gruplarına göre da ılımı	13
ekil 2.10. Primer ve Sekonder GBM'de görülen ana genetik de i iklikler	16
ekil 3.1. Pyromark cihazının bölümleri ve içerikleri	27
ekil 4.1. Metile olan 3 no'lu olguya ait Pyrosekans Analizi sonucu	34
ekil 4.2. Unmetile olan 17 no'lu olguya ait Pyrosekans Analizi sonucu	35
ekil 4.3. Metile ve unmetile MGMT'li olguların Kaplan-Meier sa kalım süreleri grafi i	37
ekil 4.4. Metile ve unmetile MGMT'li olguların BVC sonrası progresyonsuz sa kalım grafi i	37
ekil 4.5. HRM mutasyon sonuçları A) Ekzon 5a bölgesi B) Ekzon 6 bölgesi C) Ekzon 7 bölgesi	39
ekil 4.6. TP53 mutasyonuna göre grupların Kaplan-Meier sa kalım grafi i	40
ekil 4.7. TP53 mutasyonuna göre grupların BVC sonrası progresyonsuz sa kalım grafi i	41

TABLolar D Z N

Tablo 2.1. Merkezi Sinir Sistemi tümörlerinin sınıflandırması	11
Tablo 2.2. Merkezi sinir sistemi tümörlerinin derecelendirilmesi	12
Tablo3.1. HRM analizi annealing ko ullaı ve HRM primerleri	30
Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri ve sa kalım süreleri	31
Tablo 4.2. Olguların ya gruplarına göre da ılımları	32
Tablo 4.3. Tanı ya ı ile ilgili Cox Regresyon analizi sonuçları	32
Tablo 4.4. 27 olguya ait Pyrosekans tekni i ile elde edilen metilasyon sonuçları	33
Tablo.4.5. GBM tümör örneklerindeki MGMT geninin metilasyon oranları ve sa kalım süreleri ile ortalama ya ları	36
Tablo 4.6. HRM Analizi sonucu 5-8 ekzon bölgesinde TP53 mutasyonuna sahip olgular	38
Tablo.4.7. HRM Analizine göre olguların sa kalım süreleri, Bevacizumab kullanım süreleri ve ortalama ya ları	39
Tablo 4.8. Genel Sa kalım çin Cox Regresyon Analizi Sonuçları	41
Tablo 4.9. PFS çin Cox Regresyon Analizi Sonuçları	42

1.G R

Glioblastoma Multiforme (GBM) kötü diferansiye astrositlerden olu an en malign astrositik tümördür. Glioblastoma multiforme eri kin ya grubunun en sık görülen ve en malign olan beyin tümörüdür. Tüm intrakranial tümörlerin %12-15'ini ve tüm astrositik tümörlerin %50-60'ını olu turur. GBM, kendi kendine ço alma, kontrolsüz geli me, dokuya invazyon yapabilme, apoptotik uyarıma direnç gösterme ve yeni kan damarı olu turabilme (anjiyogenez) gibi malign fenotipik özelliklere sahiptir. Anjiogenez kronik inflamasyon, ateroskleroz, tümör büyümesi ve metastazı, diyabetik retinopati gibi birçok patolojik durumun varlı ndan sorumlu tutulmaktadır. Anjiogenez ekstrasellüler matriks, solubl ve hücreler arasındaki etkile im sonucu endotel hücrelerin diferansiyasyonu, migrasyonu ve proliferasyonu ile seyreden kompleks bir i lemdir.

Bevacizumab, hümanize mürin antikorunun komplementer determinant bölgeleri VEGF'e ba lanan, insan antikoru temel bölgelerini içeren, 214 amino asitten olu an, molekül a ırlı ı yakla ık 149.000 dalton olan bir ilaçtır. Rekombinant insan anti-VEGF-A monoklonal antikor olan Bevacizumab'ın, faz I çalı malarında kemoterapi ile birlikte kullanıldı nda serum VEGF seviyelerini ölçülemeyecek seviyelere kadar dü ürdü ü ve farklı tümörlerde büyümeyi inhibe etti i saptanmı tır. Sa kalımı uzattı ı çe itli faz III çalı malarda klinik olarak kanıtlanmı ve kanser tedavisinde kullanılmak üzere onay almı ilk antianjiogenik ajandır. Bevacizumab VEGF'e ba lanarak endotel hücre yüzeyinde VEGF ile reseptörleri (Flt-1 ve KDR) arasındaki etkile imi engeller.

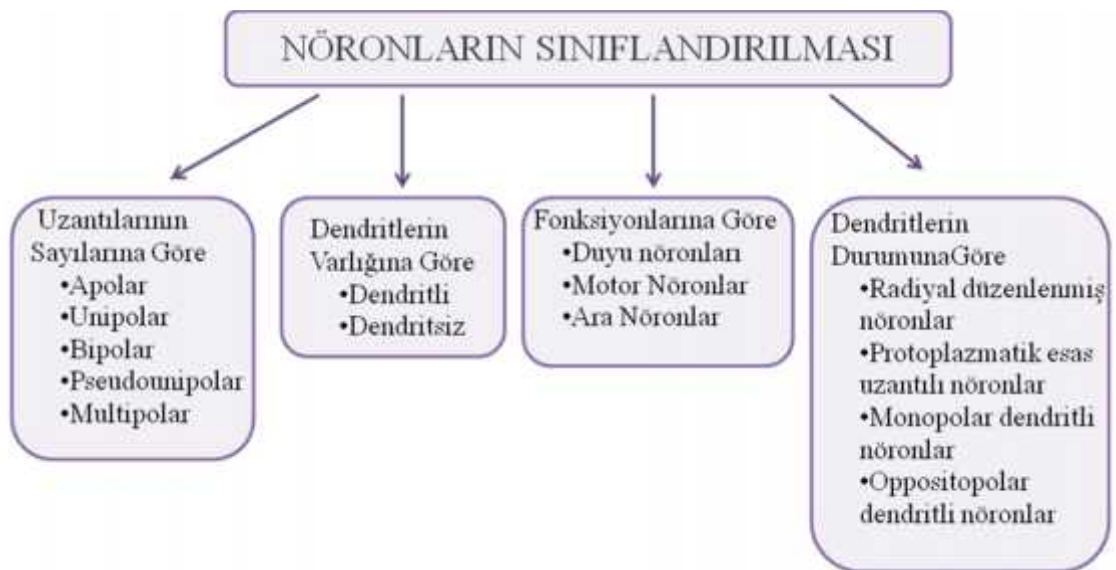
Bu tez projesi kapsamında GBM tanısı alıp, Bevacizumab kullanan hastalarda p53 mutasyonu, MGMT metilasyonunun anti-anjiyogenik tedaviyi belirlemedeki prediktif önemini de erlendirme amaçlanmaktadır.

2.GENEL B LG LER

2.1. Sinir Sistemi Hücreleri

nsan vücudunun en karma ık yapısı, 100 milyondan fazla sinir hücresinin (**nöron**) biraraya gelmesiyle olu an *sinir sistemidir*. Sinir sistemi bir ileti im a ı halinde vücuda da ılımı durumdadır ve en önemli görevi, farklı bedensel aktiviteleri kontrol etmektir. Sinir sistemi anatomik olarak incelendi inde, beyin ve medulla spinalisten olu an *Merkezi Sinir Sistemi (MSS)* ve sinir gangliyonlarından olu an *Periferik Sinir Sistemi (PSS)* olmak üzere ikiye ayrılır.

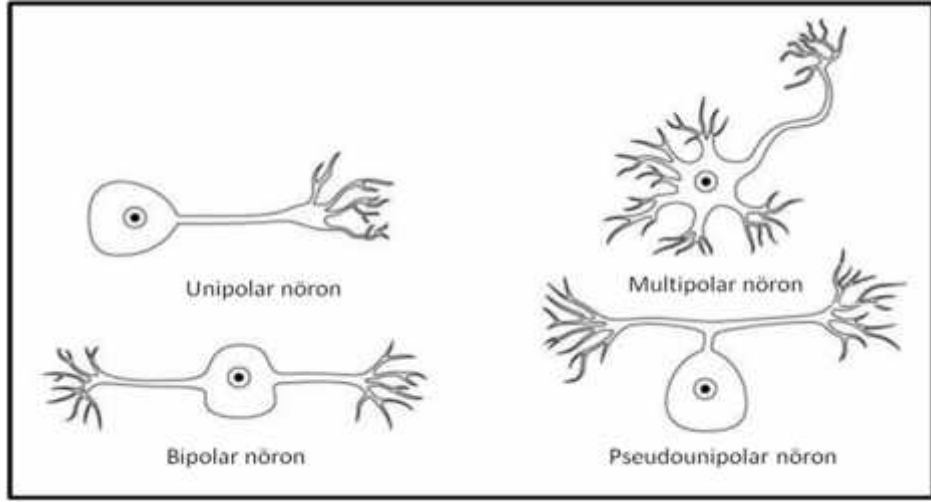
Embriyonal evrede ektodermden köken alan sinir dokuları yapısal olarak 2 hücre tipi içerir; *nöronlar* ve *glia (nöroglia) hücreleri*. Sinir dokusunun esas hücrelerini olu turan nöronlar; **soma (perikaryon), dendritler, akson** olmak üzere üç temel bölümden olu ur. Dendritler; uyarıyı çevreden, duyu epitel hücrelerinden, di er nöronlardan almak üzere özelle mi çok sayıda uzantılardır. Soma;tüm hücrenin beslenmesinden sorumlu olan kısımdır ve uyarıları alır. Akson ise sinir uyarısını di er hücelere (sinir hücresi, kas hücresi, bez hücresi) yaymak üzere özelle en tek bir uzantıdır (Junqueira ve Carneiro, 2003). Nöronlar ekil, büyüklük ve fonksiyon bakımından oldukça farklılık gösterirler. Nöronların sınıflandırılması u ekildedir (ekil 2.1):



ekil 2.1. Nöronların sınıflandırılmasının kavramsal görünümü (Baka, 2013)

Uzantılarının Sayısına Göre Nöronlar:

- I. *Apolar nöronlar* sadece embriyonal gelişimin ilk devresinde izlenen nöroblastlardır. Yeti kin insanın sinir sisteminde uzantsız (apolar) nöron yoktur.
- II. *Unipolar nöronlar* gelişimini tamamlamış olan sinir sisteminde, nadiren gözün retina kısmında bulunur nörogenezis sırasında saptanır.
- III. *Bipolar nöronlar* sadece iktme ve dengeden sorumludur. Bir akson ve bir dendritten oluşurlar.
- IV. *Pseudounipolar nöronlar* tek bir uzantıya sahiptir. Uzantı perikaryondan çıktıktan kısa bir süre sonra (T) eğikliğini alır, bir dal çevresel uca uzanır, diğeri merkezi sinir sistemine gider (ekil 2.2).



ekil 2.2. Uzantılarının sayısına göre nöronların basitleştirilmiş gösterimleri

Dendritlerin Varlığına Göre Nöronlar:

Nöronlar dendritsiz (adendritik) ve dendritli (dendritik) nöronlar olarak da sınıflandırılır (Baka, 2013):

- I. Unipolar olan bir nöron, daima adendritik ve *mononöritikdir*.
- II. Bipolar bir nöron, ya mononöritik veya *dinöritik* olur.
- III. Multipolar olan bir nöron ise, *monodi-ve polinöritik* olabilir.

Fonksiyonlarına Göre Nöronlar:

Nöronlar fonksiyonlarına göre üç grupta incelenir:

- I. *Duyu (afferent) Nöronları* dendritik uçlarıyla duyuları alır ve aksonlarıyla MSS'ye impulsları iletir.

II. *Motor (efferent)Nöronları* MSS’ den köken alarak uyarıları kaslara, salgı bezlerine ve diğer nöronlara iletirler.

III. *Ara(internöronlar) Nöronlar* yalnızca MSS’ de bulunurlar. Duyu, motor nöronlar ve diğer ara nöronlar arasında nöronal devrelerden oluşan bir ağ kurarak, ara bağlantı ve/veya ara düzenleyici olarak işlev görürler.

J) **Dendritlerin Pozisyonlarına Göre Nöronlar:**

I. *Dendritleri protoplazmik radyal düzenlenmiş nöronlarda* perikaryonun çevresinden 1 insal yayılan dendritler çıkmaktadır.

II. *Protoplazmatik esas uzantılı nöronlarda* konikal ekilli, perikaryonun tepesinden çıkan esas uzantı oldukça uzun bir boyadendritten sonra ucu, sık oldukça yoğun dallara bölünür.

III. *Monopolar dendritli nöronlarda* genellikle aksonun çıktığı tarafa karşı kutuptan gelişen esas dendritik uzantı ardışık olarak bir çalılışı andıran ince dallanmış gittikçe incelen kollara ayrılır.

IV. *Oppositopolar dendritli nöronlar* karışıklı duran veya zıt istikametlerde uzanan dendritli nöronlardır. Perikaryonun eğer kutuplarından püskül tarzında iki kalın dendrit demeti çıkar (Baka, 2013).

Nöronların aksine *glial hücreler* elektriksel uyarıları iletmezler, aksine nöronları koruyan, destekleyen, oksijen temin eden, nöron beslenmesi ve merkezi sinir sisteminin savunmasını sağlayan hücrelerdir (Barres, 2008). Glial hücrelerin sayısı, memelilerin beyinde nöronlara oranla on kat daha fazla bulunmaktadır. Sinir dokusunun hücrelerarası maddesi çok azdır ancak nöron etkinliği için gereken uygun mikroçevreyi glia hücreleri oluşturur (Junqueira ve Carneiro, 2003). Glial hücrelerin sınıflandırılması morfolojilerine, işlevlerine ve sinir sistemindeki yerleşimlerine göre yapılmaktadır (Verkhratsky ve Butt, 2007). MSS’de yer alan hücrelere “Makroglia” ve “Mikroglia”, PSS’de yer alan glia hücrelere ise “Schwann hücreleri” denilmektedir.

Makroglia hücreleri, MSS’de yer alan glia hücrelerinin %85-90’nını, mikroglialar ise %10-15’ini oluşturur. Embriyonik köken açısından değerlendirildiğinde mikroglialar hematopoietik hücrelerden köken alırken, diğer tüm glialar ektodermal dokudan gelişmektedir. MSS’de yer alan glia hücrelerinden oligodendrosit,

ependimal ve astrositler nöral tüpün ventriküler zonundan geli irken, PSS'de yer alan schwann hücreleri ve satellit hücreleri nöral krestten geli ir.

2.1.1. Makroglialar

MSS'deki glial hücreler "makroglia" veya "nöroglia" olarak tanımlanır ve bu terim astrositleri (%80), oligodendrositleri (%15) ve ependimal hücreleri (%5) kapsar (Verkhatsky ve Butt, 2007).

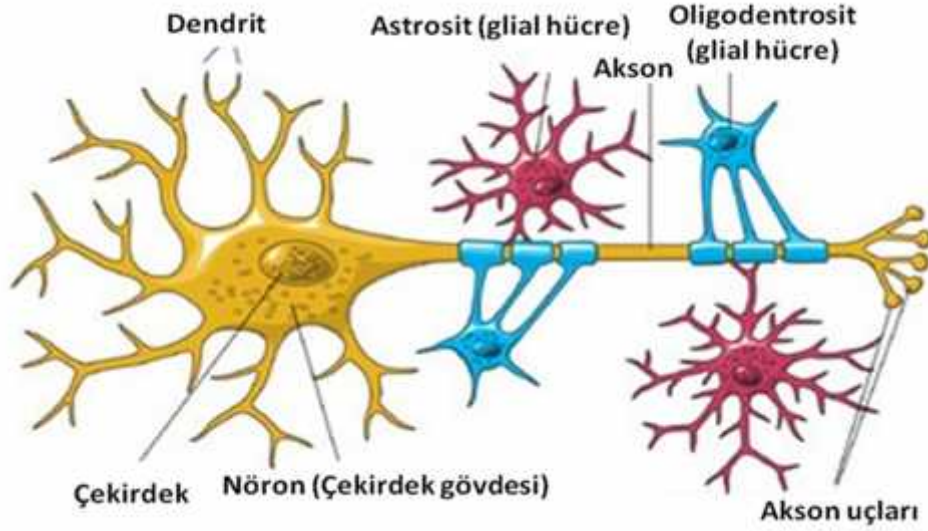
Astrositler

Makrogliaların en büyük grubunu oluşturan astrositler (ekil 2.3), uzantılarının durumuna göre kısa uzantılı, sitoplazmatik (protoplazmik) astrosit ve uzun uzantılı lifsel (fibröz) astrosit olmak üzere 3'e ayrılırlar. *Kısa uzantılı astrositler* pek çok kısa ve dallanmış, Golgi preparatlarında ince dikencikler benzeri yan çıkıntıları bulunan sitoplazmik uzantılara sahiptirler. *Protoplazmik astrositler*, özellikle gri cevherde (Substantia grisea) bulunurlar. Uzun uzantılı astrositler, yaklaşık 20-40 adet, uzun, ince, az dallanmış veya hiç dallanmamış, düz konturlu uzantılara sahiptirler. Uzun uzantılı, yani *fibröz astrositler* ise çoğunlukla beyaz cevherde (Substantia alba) bulunurlar (Junqueira ve Carneiro, 2003; Baka, 2013).

Astrositler destekleme işlevine ek olarak, nöronların iyonik ve kimyasal ortamını kontrol etmektedirler (Junqueira ve Carneiro, 2003). Akson gelişimi boyunca nöronların doğru yerleşimi için rehberlik yaparlar ve beyinde homeostaziyi sağlarlar. Astrositler, birçok nörotransmitter ekspres edebilmelerinin yanı sıra, bilinen ve bilinmeyen birçok nöroaktif maddenin de salınımını yaparlar. Hücreler arası alanda nörotransmitter ve K⁺ (Potasyum) gibi bazı iyonların düzeylerini kontrol ederler. Aksonların yalıtımında görev alırlar (Junqueira ve Carneiro, 2003; Barres, 2008).

Oligodendrositler

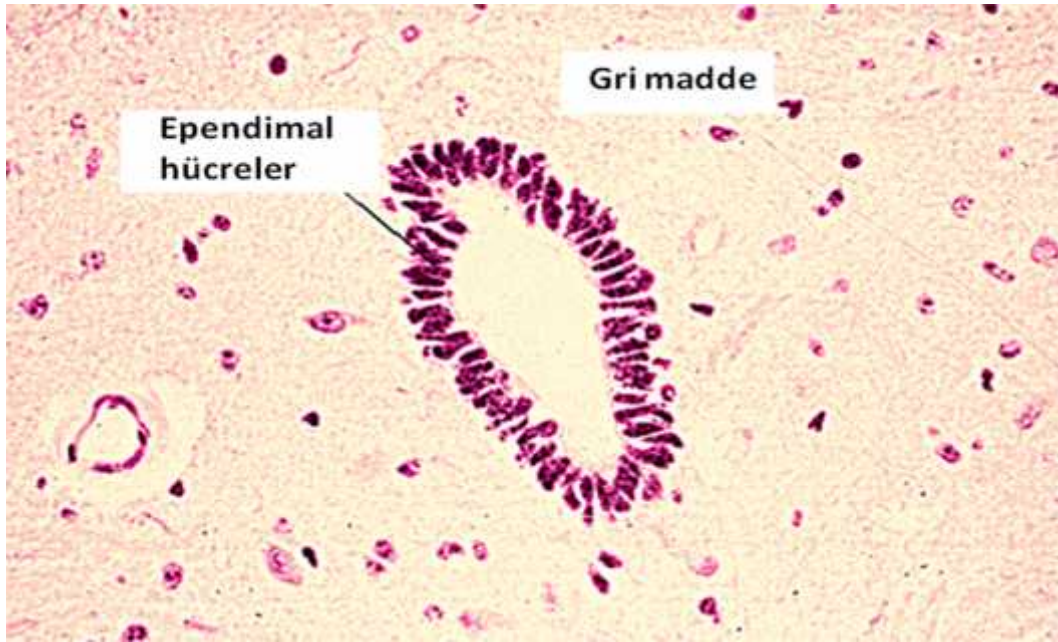
MSS'deki nöronların elektriksel yalıtımını sağlayan miyelin kılıfı yapmaktadırlar. Myelin, oligodendrositlerde sıkıca birbirine yapışmış hücre membranlarının oluşturduğu çoklu tabakalardan meydana gelir. Myelinizasyon akson üzerindeki iyon kanallarının kümelemesine neden olur ve böylece sinyal iletim hızını artırır. Oligodendrositlerin hasarı, myelinizasyonun bozulmasına ve dolayısıyla multipl skleroz ve Krabbe hastalığı gibi hastalıkların gelişmesine neden olur (Barres, 2008; Kumar ve ark., 2013).



ekil 2.3. Astrosit ve oligodentrositlerin genel gösterimi

Ependimal Hücreler

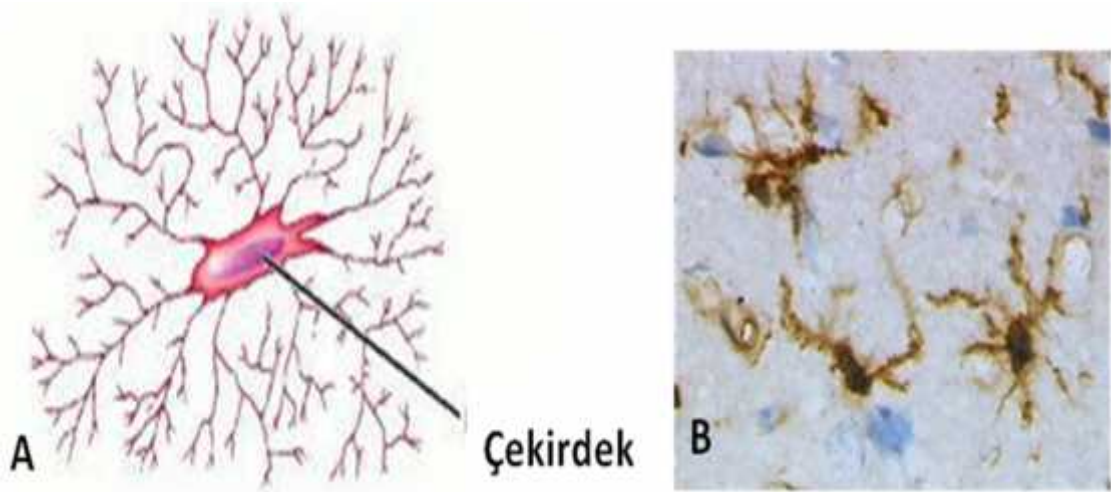
Erken erişim evresindeki konumlarını en çok koruyan hücreler olan ependimal hücreler, MSS'nin tüm boğluklarını doldururlar ve ventrikül duvarlarının düzenlenmesinde görev alırlar (ekil 2.4). Bu hücreler, beyin omurilik sıvısını (BOS) üretir ve bunun salınımını yapar, serebrospinal sıvı (CSF) ve MSS arasında ayrıcı tabaka görevi görür, iki kısım arasında madde alışverişini, CSF'in üretimi ve hareketini sağlar (Baka, 2013; Verkhratsky ve Butt, 2007).



ekil 2.4. Ependimal hücrelerin mikroskop görüntüsü

2.1.2. Mikroglialar

MSS 'nin immün koruyucuları olan *mikroglialar*, mezoderm kökenli fagositer hücrelerdir (ekil 2.5). Mikroglialar kısa uzantılara sahip, uzun, küçük hücrelerdir (Junqueira ve Carneiro, 2003). MSS hücrelerinin %10-15'ini oluşturlar. Nöron ve astrositlerle temas halindedirler ve ölü nöronların fagositozundan sorumludurlar. Embriyonal nörogenezis döneminde apoptoz ile canlılıkları kaybetmiş nöron ve glia hücrelerinin ortadan kaldırılmasından sorumludurlar (Baka, 2013). Erikin MSS'de inflamasyon ve onarımda görev alırlar ve nötral proteazlar ve oksidatif radikaller üreterek bunları salgırlar. Ayrıca bağımlı düzenleyici bir dizi sitokin salgırlar ve MSS lezyonlarının yol açtığı hücresel atıkları uzaklaştırırlar (Junqueira ve Carneiro, 2003).

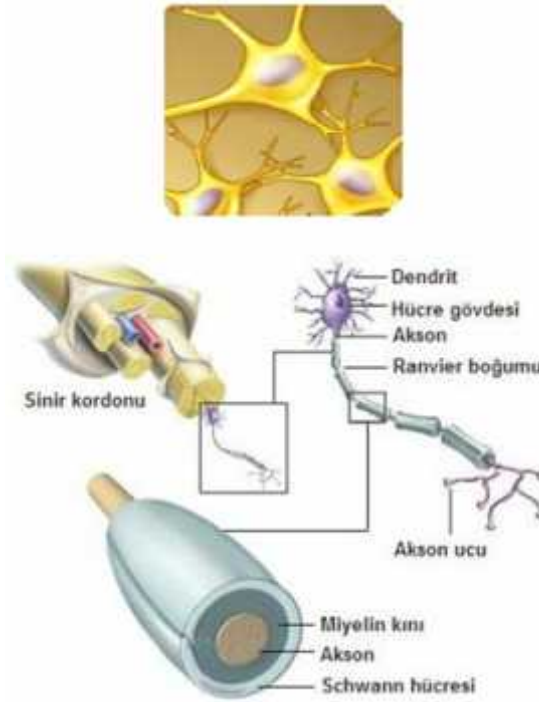


ekil 2.5. Mikroglialar A) Genel yapısı B) Mikroskop görüntüsü

2.1.3. Schwann Hücreleri

Oligodendrositlerle aynı i ve sahip olan, ancak PSS'deki aksonların çevresinde yer alan hücrelerdir. Bu hücreler aksonlar üzerinde myelinli ve myelinsiz kılıflar oluşturlar (ekil 2.6). PSS'de bulunan Schwann hücrelerinin (veya MSS'de bulunan oligodendrositin) membranını yoğun bir şekilde akson etrafına sararak myelin bir kılıf oluşturmaya *myelinizasyon* denir. Myelinizasyon Schwann hücrelerinin aksonu bir zarf gibi paketlemeye ve bir şekilde akson etrafında membranı sarmaya başladığında gerçekleşir. Sarmalama 50 veya daha fazla turu devam eder. Bu esnada sitoplazma Schwann hücre gövdesine doğru sıkıdır, membranın sitoplazmik yüzleri birbirine temas eder ve böylece myelin kılıfı boyunca spiral şekilde uzanan ana yoğun çizgiyi oluşturur. Schwann hücreleri yassı hücreler olup,

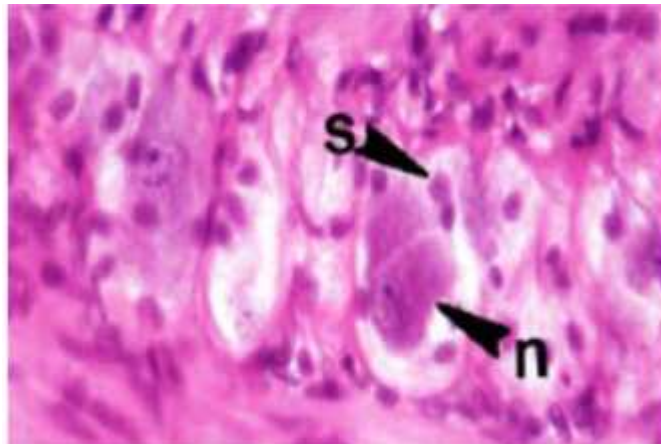
sitoplazmalarında yassı nükleusları, küçük bir Golgi cismi ve bir kaç adet mitokondrisi bulunmaktadır (Baka, 2013).



ekil 2.6. Schwann Hücresinin genel yapısı

2.1.4. Satelit Hücreleri

Bu hücreler, sensör, simpatik ve parasimpatik gangliada nöronların etrafında yer alan, nöronlara destek olan ve kimyasal çevrenin düzenlenmesinde rol alan küçük hücrelerdir (ekil 2.7). Satelit hücreler birbirlerine, astrositler gibi oluklu bağlantılarla bağlantılıdır. Bu hücreler, beyin hasarına ve inflamasyona duyarlıdır, ayrıca gibi patolojik durumlara katılırlar (Verkhatsky ve Butt, 2007).



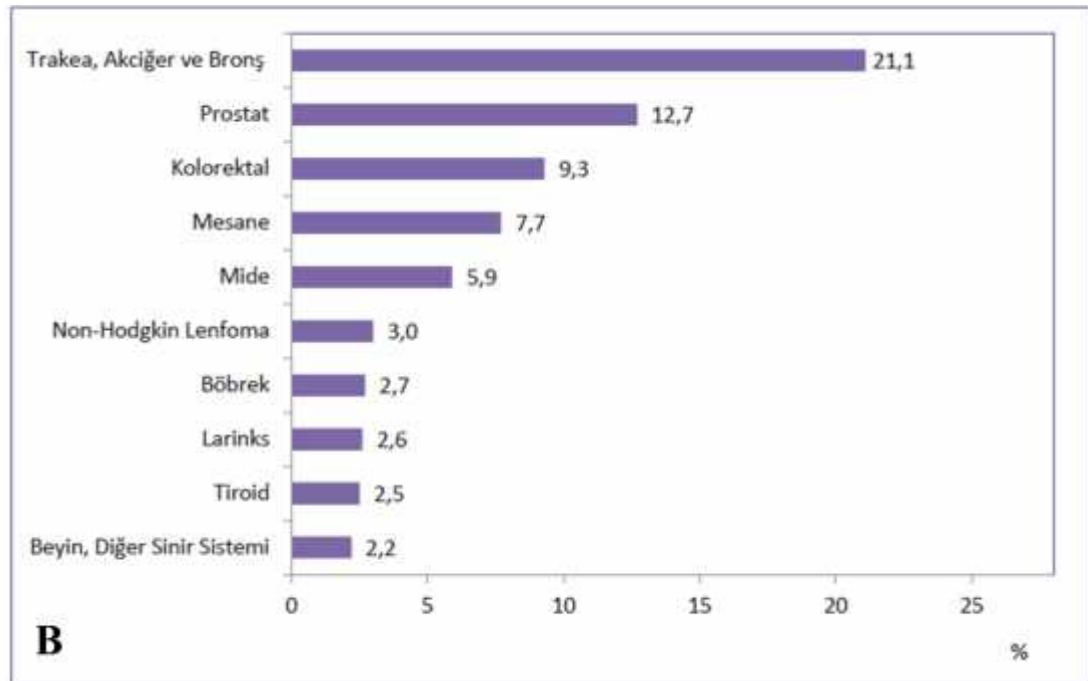
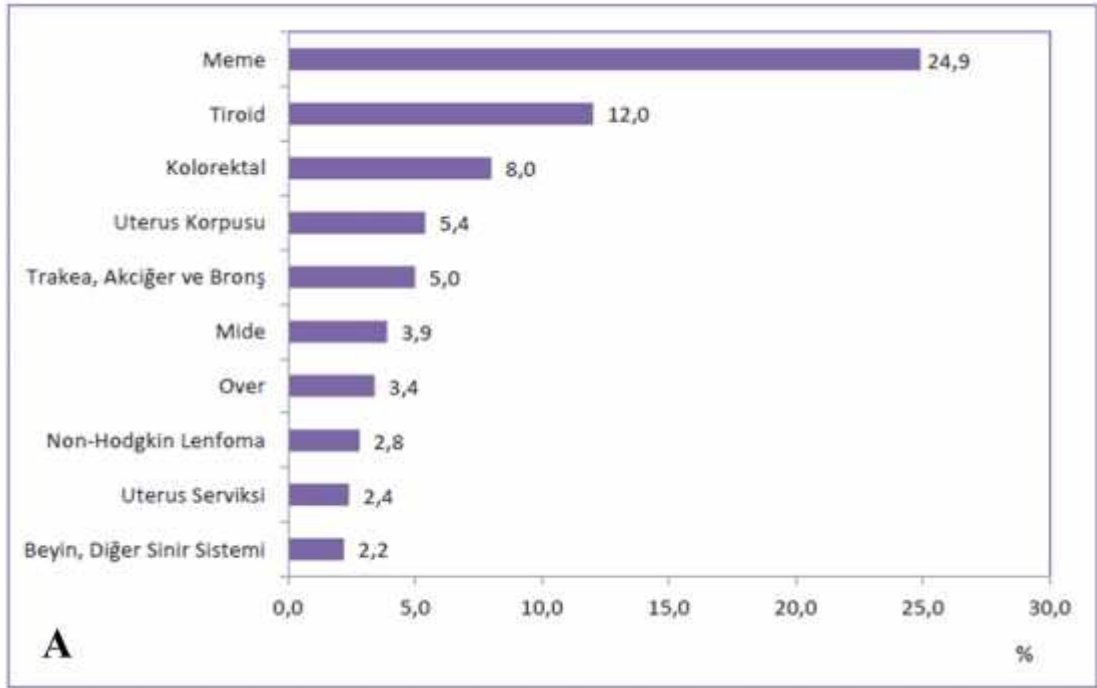
ekil 2.7. Periferik Sinir Sistemi. Miyenterik pleksus (H&E.X400) n: Ganglion Hücresi, s:Satellite Hücresi (Söker, 2006)

2.2. Beyin Tümörleri

Merkezi Sinir Sistemi tümörlerinin yıllık insidansları, intrakranial tümörler için yüz bin ki i de 10-17, intraspinal tümörler için yüz bin ki ide 1-2 dir. Bunların yaklaşık yarısı veya $\frac{3}{4}$ 'ü primer tümör, geri kalanı ise metastatiktir (Kumar ve ark., 2013).

Intrakranial tümörler tüm primer MSS tümörlerinin %85-90'ini oluşturur (Levin ve ark., 2001). Beyin tümörleri, tüm malign neoplazilerin %1,5'ini oluştururken kansere bağlı ölümlerin %2'sinden sorumludur (Lee ve ark., 2010). MSS tümörleri, çocukluk çağı kanserleri arasında %20 görülme oranıyla oldukça büyük bir yere sahiptir. Ayrıca çocukluk çağında görülen MSS tümörleri histolojik alt tipleri ve tümörün yerleşim yeri açısından erişkinlerden farklılık göstermektedir (Kumar ve ark., 2013). Çocukluk çağında histolojik alt tipler değerlendirildiğinde, en sık primitif nöroektodermal tümörler (PNET) ve ependimomlar (Grotzer ve ark., 2001) görülürken, erişkinlerde glial tümörler ve menenjiomlar ilk sırada yer alır. Çocukluk çağında, tümörler, genellikle arka fossa da, erişkinlerde ise daha çok supratentorial bölge de gelişmektedir (Kumar ve ark., 2013).

Beyin tümörleri insidansının, mortalite ve sağ kalım oranlarının, histolojik tümör tipi ve hastanın demografik karakterleri (yaş, cinsiyet, coğrafik bölge gibi) ile ilgili olduğu ortaya konulmuştur (Wrensch ve ark., 2002). Amerika Beyin Tümörü Kayıt Merkezi'nin (Central Brain Tumor Registry Of The United States-CBTRUS) yayınladığı rapora göre primer beyin tümörü (benign ve malign) insidansı 2008-2012 yılları için 100.000'de 21.97'dir (Ostrom ve ark., 2016). Türkiye'de Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2015'e göre ise beyin tümörleri insidansı kadınlarda 100.000'de 4,1, erkeklerde ise 5,2 oranında görülmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2016). Yine bu verilere göre, beyin tümörleri en sık görülen 10 kanser türünün toplam kanser içindeki dağılımında; kadınlarda %2,2 ve erkeklerde %2,2 ile 10.sırada yer almaktadır (ekil 2.8).



ekil 2.8. En Sık Görülen 10 Kanser Türünün Toplam Kanser içindeki Da ılımı, (%), 2014, Türkiye
A) Kadınlarda, **B)** Erkeklerde (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2016)

2.2.1. Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması

Santral sinir sistemi tümörlerinin sınıflandırılması onkogenetikteki hücre tipine, nöroglial fibrillerin varlığına veya yokluğuna, büyümenin makroskopik özelliklerine ve hücresel atipi derecesine göre yapılmaktadır. WHO (World Health Organisation) tarafından 2007 yılındaki histolojik kriterlere dayanılarak yapılan sınıflandırmada, tüm tümörler 7 ana gruba ayrılmıştır (Tablo 2.1) (Louis ve ark., 2007).

Tablo 2.1. Merkezi Sinir Sistemi tümörlerinin sınıflandırması (Louis ve ark., 2007)

1. Nöroepitelial doku tümörleri	<i>Pineal bölge tümörleri</i>
<i>Astrositik Tümörler</i>	Pineositoma
Pilositik astrositom	Pineoblastoma
Pilomiksoid astrositom	ntermediyer farklılık gösteren pineal tümör
Subependimal dev hücreli astrositom	Pineal bölge papiller tümörü
Pleomorfik ksantoastrositom	<i>Embriyonal tümörler</i>
Diffüz astrositom	Medulloblastom
Fibriler astrositom	Primitif nöroektodermal tümör
Gemistositik astrositom	Atipik teratoid/rabdoid tumor
Protoplasmik astrositom	2.Kranial ve paraspinal sinir tümörleri
Anaplastik astrositom	Scwannom
Glioblastoma	Selülar
Dev hücreli glioblastom	Pleksiform
Gliosarkom	Melanotik
Gliomatosis serebri	Nörofibrom
<i>Oligodendrogial tümörler</i>	Pleksiform
Oligodendroglioma	Perinörom
Anaplastik oligodendrogliom	Perinörom
<i>Oligoastrositik tümörler</i>	Malignant perinörom
Oligoastrositom	Malign periferel sinir kılıfı tümörleri
Anaplastik oligoastrositom	Epitelioit
<i>Ependimal tümörler</i>	Mezen imal farklılı malı
Subependimoma	Melanotik
Miksopapiller ependimom	Glandular farklılı malı
Ependimoma	3.Meninkslerin tümörleri
Sellüler	Meningoepitelial hücre tümörleri
Papiller	Mezenkimal tümörler
Berrak hücreli	Primer melanositik lezyonlar
Tanisitik	Histogenezi bilinmeyen tümörler
Anaplastik ependimom	4.Lenfoma ve hematopoetik tümörler
<i>Koroid pleksus tümörleri</i>	Malign lenfoma
Koroid pleksus papillomu	Plasmasitom
Atipik koroid pleksus papilloma	Granülosit sarkom
Koroid pleksus karsinomu	5.Germ hücreli tümörler
<i>Di er nöroepitelial tümörler</i>	Germinom
Astroblastom	Embriyonal karsinom
3.ventrikülün kordoid glioması	Yolk sak tümörü
Angiosentrik glioma	Koryokarsinom
<i>Nörönal ve miks nörönal-gial tümörler</i>	Teratom
Serebellum displastik gangliositoması	Olgunla mı
Desmoplastik infantil astrositom	Olgunla mamı
Gangliositom	Malign transformasyonlu teratoma
Ganglioglioma	Mikst germ hücre tümörleri
Anaplastik gangliogliom	6.Sellar bölge tümörleri
Santral nörositom	Kraniofarengiom
Ekstraventriküler nörositom	Adamantinomatöz
Serebellar liponörositom	Papiller
Papiller glionöronal tümör	Granüler hücreli tumor
Paragangliom	Pituisitoma
4. ventrikülün glionöral tümörü	Adenohipofiz onkositoması
	7.Metastatik tümörler

Dünya Sağlık Örgütü'nün beyin tümörlerini derecelendirmesinde atipi, mitoz, endotelial proliferasyon ve nekroz gibi histopatolojik özellikleri dikkate alınmıştır (Tablo 2.2). WHO (Louis ve ark., 2007)' nun tümör sınıflandırmasında derecelendirme, çok çeşitli histolojik özelliklere sahip tümörlerin malignansi ölçütüdür.

Tümör, tabloda belirtilen özelliklerden hiçbirisini taşııyorsa derece 1, birisini (genellikle atipi) taşııyorsa derece 2, ikisini taşııyorsa derece 3, daha fazlasını taşııyorsa derece 4 olarak tanımlanmaktadır. Derece artı ıyla damarlanma, büyüme potansiyelinde artı ve prognoz bakımından giderek kötüleşme söz konusudur.

Tablo 2.2. Merkezi sinir sistemi tümörlerinin derecelendirilmesi (Louis ve ark., 2007)

	I	II	III	IV		I	II	III	IV
Astrositik tümörler					Koroid pleksus tümörleri				
Subependimal dev hücreli tümör	X				Koroid pleksus papillomu	X			
Pilositik astrositom	X				Atipik koroid pleksus papillomu		X		
Pilomiksoid astrositom		X			Koroid pleksus karsinomu			X	
Diffüz astrositom		X			Diğer nöroepitelial tümörler				
Pleomorfik ksantoastrositom		X			Anjiyosentrik gliom	X			
Anaplastik astrositom			X		3. ventrikül koroid gliomu		X		
Glioblastom				X	Nöronal ve miks nöroglial tümörler				
Dev hücreli glioblastom				X	Gangliositom	X			
Gliosarkom				X	Gangliogliom	X			
Oligoastrositik tümörler					Anaplastik gangliogliom			X	
Oligoastrositom		X			Desmoplastik infantil astrositom ve gangliogliom	X			
Anaplastik oligoastrositom			X		Disembrioplastik nöroepitelial tümör	X			
Ependimal tümörler					Santral nörositom		X		
Subependimom	X				Ekstraventriküler nörositom		X		
Miksopapiller ependimom	X				Serebellar liponörositom		X		
Ependimom		X			Spinal kord paragangliogliomu	X			
Anaplastik ependimom			X		Papiller glionöronal tümör	X			
					4. ventrikülün glionöral tümörü	X			

Derece 1 (yi diferansiye tümör): Düşük proliferasyon (çözüm) potansiyeline sahip ve cerrahi olarak çıkarılmasını takiben kürü sağlanabilen bulunan tümörlerdir. Pilositik astrositomlar, pleomorfik ksantoastrositomlar, subependimal dev hücreli astrositomlar bu grubun içerisinde yer alırlar.

Derece 2 (Orta derecede diferansiye tümör): Genel olarak infiltratif (yayılma) özellikte ve düşük proliferatif potansiyele sahip olmasına karşın sıklıkla tekrarlayan tümörlerdir. Derece 2 astrositomlar aynı zamanda *diffüz astrositomlar* olarak da adlandırılırlar. Yüksek dereceli tümörlere dönüşme eğilimi vardır örneğin düşük

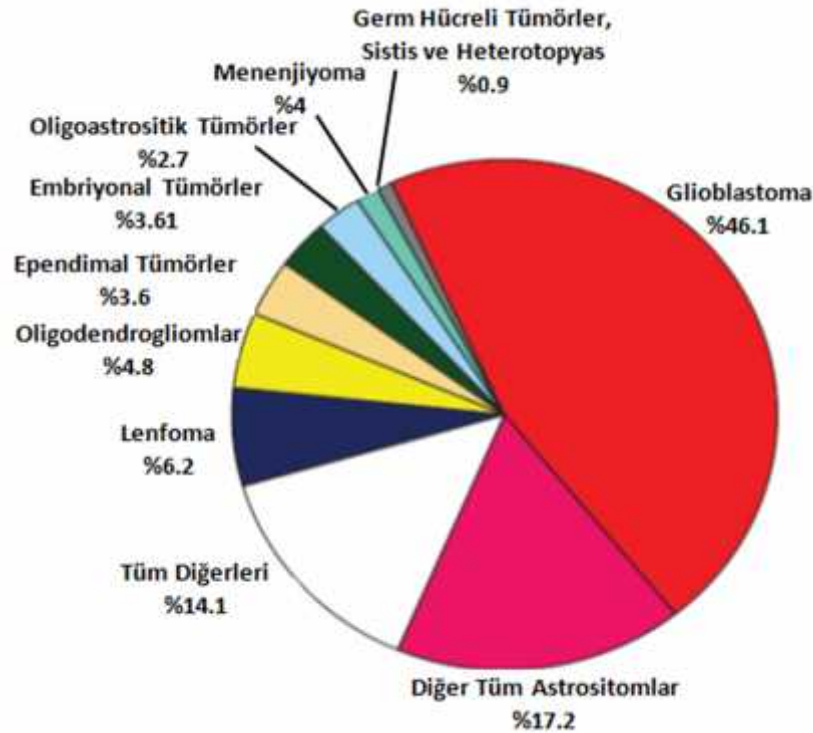
dereceli astrositom, anaplastik astrositoma ve glioblastoma multiformeye dönü ebilmektedir.

Derece 3 (Kötü differansiye tümör): Genellikle histolojik olarak malignansi bulguları gösteren lezyonlar için kullanılır (nükleer atipi, aktif bir mitotik aktivite). Anaplastik astrositomlar (AA) 3. derece astrositik tümörler olup malign astrositom veya yüksek dereceli astrositom olarak da bilinirler. Ço unlukla derece 3 tümörlü hastalar adjuvan radyoterapi ve/veya kemoterapi görmektedirler.

Derece 4 (Andifferansiye tümör): Sitolojik olarak malign, mitotik olarak aktif, nekroz e ilimi olan neoplazilerdir. 4. derece astrositom Glioblastomalar olup en malign astrositik tümör grubunu olu turur. Tipik olarak hızlı bir preoperatif ve postoperatif hastalık geli imi söz konusudur ve ölümcül bir seyir gösterirler (TND, 2008).

2.2.2. Glioblastoma Multiforme (GBM)

Glioblastoma multiforme eri kin ya grubunun en sık görülen ve en malign olan beyin tümörüdür (Adamson ve ark., 2009; Weathers ve Groot, 2015; Liebelt ve ark., 2016). CBTRUS (Ostrom ve ark., 2016)'un verilerine göre, tüm malign beyin ve MSS tümörlerinin %46,1' ini olu turur (ekil 2.9). nsidansı her 100.000'de 3,20'dir.



ekil 2.9. CBTRUS'un verilerine göre malign primer beyin tümörlerinin ve MSS tümörlerinin histolojik gruplarına göre dağılımı (Ostrom ve ark., 2016)

GBM, nekroz ve vasküler proliferasyon özelliklerine göre 4. Derece astrositom olarak tanımlanmıştır (Krakstad ve Chekenya, 2010). İnvasyon özelliği oldukça yüksektir. Sıklıkla frontal lob yerleşimlidir. Nispeten yuvarlak şekillidir. Metastaz olasılığı % 12 den azdır. Lenfatik metastaz yapmazlar. Hematolojik metastaz nadiren rastlanır (Fiveash ve ark., 2007; Li ve ark., 2016).

Her yaşta görülebilir, ancak olgular en sık 75-85 yaş arasındadır (Ostrom ve ark., 2016). Çocukluk yaşlarında görülme sıklığı nadirdir. Erkeklerde kadınlara oranla daha yaygın görülmektedir (1,58/1 oranında) (Agnihotri ve ark., 2013; Ostrom ve ark., 2016). Hastaların tanı aldıkları ortalama yaşları yaklaşık 64'tür (Agnihotri ve ark., 2013). Tanı aldıktan sonra hastaların ortalama sağ kalım süresi 12-15 ay arasındadır (Kim ve ark., 2012; Piccolo ve Frey, 2013; Kupnicka ve ark., 2014; Liffers ve ark., 2015). Hastaların yalnızca %12'si tanı aldıktan sonra 36 aydan fazla hayatta kalabilmektedir (Uzun Dönem Hayatta Kalanlar) (Li ve ark., 2016).

Glioblastomalar; primer glioblastoma (de novo) ve sekonder glioblastoma olarak iki alt grupta değerlendirilmektedirler (Rao ve ark., 2013; Kupnicka ve ark., 2014). Genel olarak olguların %95'i primer GBM, %5'i ise sekonder GBM olarak tanımlanır (Li ve ark., 2016). Primer GBM'ler glial öncü hücrelerden direkt gelişen ve ilk histopatolojik incelemede glioblastoma tanısı konulan tümörlerdir. Hızlı gelişimleri için ilk 3 ay içinde klinik belirtiler verirler yani klinik öyküleri kısadır. Ortalama sağ kalım süresi ise yaklaşık 4,7 aydır. Sekonder GBM'ler düşük dereceli diffüz astrositomların ve anaplastik astrositomların progresyonu sonucunda gelişir (Rao ve ark., 2013; Li ve ark., 2016). Düşük dereceli astrositomların glioblastoma dönüşümü için geçmesi gereken süre ortalama 4-5 yıldır (Krakstad ve Chekenya, 2010). Olguların ortalama sağ kalım süresi 7.8 aydır. Primer GBM'ler (62 yaş) sekondere göre (45 yaş) yaşlı insanlarda daha fazla görülmektedir (Ohgaki, 2005; Durmaz ve Vural, 2007; Adamson ve ark., 2009).

Glioblastoma multiforme'da gözlenen semptom ve belirtiler tutulan tümör lokalizasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ancak, en yaygın belirtilerin baş ağrısı, bulantı kusma, iştah kaybı, konumda zorluk ve mental değişiklikler olduğu bilinmektedir (Redmond ve Mehta, 2015).

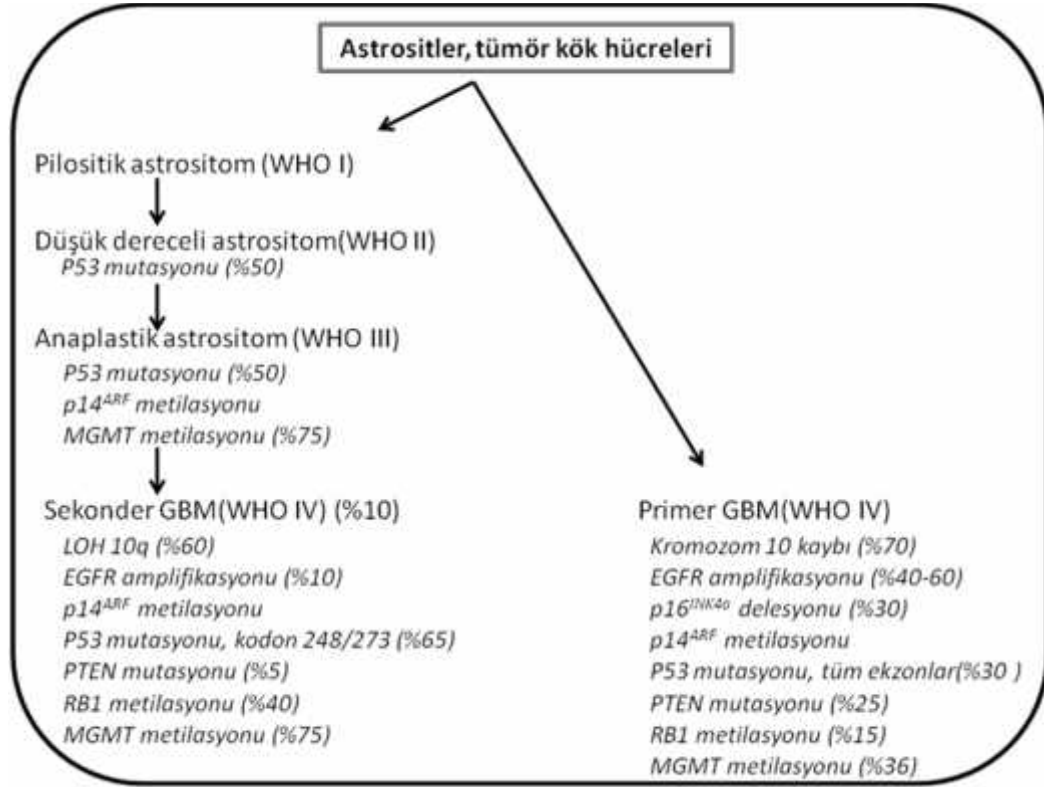
2.2.3. Glioblastoma Multiforme'nin Genetik Özellikleri

GBM, heterojen bir genetik yapıya sahiptir. Hastalının 'multiform' olarak isimlendirilmesi; aynı tümör dokusunda ve farklı hastalara ait tümör örneklerinde genetik yapının değişmesi nedeniyledir (Kraakstad ve Chekenya, 2010). Son zamanlarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki kromozom 1, 10, 11, 13, 17, 19 ve 22 kayıpları, Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2 (*CDKN2*), Fosfataz ve tensin homologu (*PTEN*), Malign beyin tümörlerinde silinen 1 geni (*DMBT1*) ve tümör baskılayıcı protein 53 (*TP53*) gibi tümör baskılayıcı gen mutasyonları ve Epidermal Büyüme Reseptörü Faktörü (*EGFR*), platelet kökenli büyüme faktörü reseptörü (*PDGFR*), (*MDM2*) Mouse double minute 2 homolog, *GLI* ve *MET* genlerinin artırı ekspresyonu GBM'de yaygın görülmektedir (Mao ve Hamoudi, 2000).

Primer ve sekonder GBM alt tipleri morfolojik olarak ayrılmazlar ancak farklı genetik anomalilere sahiptirler (Agnihotri ve ark., 2013). Primer GBM, *EGFR* gen amplifikasyonu ve mutasyonu, *PTEN* mutasyonu, *MDM2*'nin artırı ekspresyonu ve p16 delesyonu ile karakterizedir. Sekonder GBM ise, tümör baskılayıcı *TP53* ve Retinoblastoma (*RB*) mutasyonları, platelet kökenli büyüme faktörü reseptörü A (*PDGFRA*)'nın artırı ekspresyonu ve kromozom 19q heterozigosite kaybı (*LOH 19q*) ile meydana gelmektedir (Kanu ve ark., 2009; Agnihotri ve ark., 2013) (ekil 2.10). Yakın zamanda izositrat dehidrogenaz 1(*IDH1*) geni mutasyonlarının, frontal ve temporal loblarda lokalize olan primer ve sekonder GBM oluşumuna sebep olduğu gösterilmiştir (sekonder GBM'de %70, primer GBM'de %5-20) (Li ve ark., 2016).

EGFR (Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü)

EGFR 170 kDa'lık bir tirozin kinaz reseptörüdür ve hücre bölünmesinde, göçünde, adezyonunda, farklılaşmada ve apoptoziste büyük rol oynar. *EGFR*'i kodlayan gen Kromozom 7'de lokalizedir (Söylemezo lu, 2000; Mao ve Hamoudi, 2000; Kanu ve ark., 2009; Liffers ve ark., 2015). Glioblastom olgularının üçte birinden fazlasında *EGFR* amplifikasyonu ve artırı ekspresyonu gözlenmektedir (Hurt ve ark., 1992). *EGFR* amplifikasyonu gösteren GBM'lerde aynı zamanda tipik olarak kromozom 10 kaybı da birliktelik gösterir ki bu *PTEN* geni kaybını yansıtmaktadır (Söylemezo lu, 2000).



ekil 2.10. Primer ve Sekonder GBM’de görülen ana genetik de i iklikler

mmünohistokimyasal çalı malarda primer GBM’lerin %60 ‘ından fazlasında ve sekonder GBM’lerin %10 kadarında a ırı EGFR ekspresyonu gösterilmi tir (Söylemezo lu, 2000; Kanu ve ark., 2009). EGFR geni amplifikasyonu, sıklıkla gen yapısında meydana gelen de i imler sonucu olu maktadır. En çok gözlenen mutasyon, ekzon 2-7’de görülen çerçeve kayması mutasyonu sonucu olu an fonksiyon kazanımıdır (%29). Mutasyon sonucu glioma hücrelerinde proliferasyon ve invazyon meydana gelir. GBM’de 35 ya ın altındaki hasta popülasyonunda EGFR amplifikasyonunun bulunmadı ı, özellikle p53 mutasyonunun bulundu u belirtilmektedir. Anaplastik glioblastomlardan GBM’e geçi te etkili oldu u ifade edilmektedir.

P53

Hücre siklusu DNA hasarı tamiri, apoptozis ve neovaskülarizasyonda önemli rol oynayan kromozom 17p13.1’de lokalize bir tümör süpresör gendir (Lane, 1992; Söylemezo lu, 2000). Dü ük dereceli astroditomlardan sekonder GBM geli mesi p53 geninde meydana gelen de i ikliklerle karakterizedir. TP53 mutasyonu primer GBM’de %30 civarındayken sekonder GBM’ de %60’tan fazla görülmektedir (Sarkar ve ark., 2009).

MDM2

MDM2 geni, p53 inhibitörü olarak kromozom 12q14.3-q15 bölgesinde lokalizedir ve 54 kDa a ırlı ında transkripsiyon faktörü olan bir proteini kodlar (Söylemezo lu, 2000). MDM2 proteini, p53'ün fonksiyonlarının düzenlenmesinde oldukça önemlidir (Ding ve ark., 2016). Sa lıklı hücrelerde p53 ve MDM2 sentezi denge içerisinde gerçekte ir. P53, kendi inhibitörü olan MDM2'nin ekspresyonunu artırarak hücredeki bu dengenin korunmasını sa lamaktadır. Hücrede bir hasar meydana geldi inde ya da hücre, bölünmemesi yolunda bir sinyal aldı ında p53 ve MDM2'de meydana gelen bazı modifikasyonlar, bu iki protein arasındaki etkile imi inhibe ederek, p53'ün aktif kalmasını sa lar. Fakat MDM2 geni a ırı eksprese oldu u zaman, p53 proteininin yıkımı fazla olur ve p53 fonksiyon göremez (Freedman ve Levine, 1998). Bu yüzden, MDM2 amplifikasyonu ve a ırı ekspresyonu, p53'ün düzenledi i hücre büyüme kontrolünden kaç ın alternatif yoludur. MDM2 proteininin a ırı ekspresyonu, primer GBM'lerin %50'sinden fazlasında görülürken, sekonder GBM'lerde a ırı protein ekspresyonu olguların sadece %10 kadarında saptanmaktadır (Söylemezo lu, 2000).

CDKN2A

CDKN2A geni kromozom 9p21'de lokalizedir ve p14 ve p16 proteinlerini kodlar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1029>, Eri im tarihi: 06.11.2015). P16 hücre büyümesini negatif olarak düzenleyen tümör baskılayıcı proteindir . P14 ise, MDM2 tarafından uyarılan P53 degradasyonu ve transkripsiyonel sessizli ini engelleyerek P53'ü aktif hale getirme i levini gören bir tümör süpresör gendir. CDKN2A delesyonları primer GBM'lerde oldukça yaygın olan bir anomalidir. P14 ekspresyon kaybı, GBM'lerde %76 oranında görülmektedir (Çiçek, 2011).

P16, CDK4 ve RB Yolu

P16/INK4a hücre büyümesini siklin ba ımlı kinazlardan CDK4 ve CDK6'yı inhibe ederek kontrol eden bir tümör süpresör genidir. Kromozom 9p21'de lokalizedir (Liggett ve Sidransky, 1998; Söylemezo lu, 2000; Ai ve ark., 2003). *CDK4* 33 kDa'luk CDK4 proteinini kodlayan gen olup kromozom 12q13-q14 bölgesinde lokalizedir. *CDK6* ise 38 kDa'luk CDK6 proteinini kodlayan gendir ve kromozom 7q21-q22' de lokalizedir. CDK4/CDK6-siklin D kompleksinin olu masının esas amacı 107 kDa'luk retinoblastoma (RB) proteininin fosforilasyonudur

(Söylemezo lu, 2000). Retinoblastoma ilk tanımlanan tümör süpresör genidir, nükleusta lokalizedir ve kromozom 13q14 bölgesinde bulunmaktadır (Mattr ve ar., 2004). p16, CDK4/CDK6 kompleksine ba lanarak hücre siklusunu G1-S interfazında, RB aracılı olarak kontrol eder (Focchi ve ark., 2007). Yüksek dereceli gliomaların üçte birinde bu bölgede de i iklik saptanmaktadır (Söylemezo lu, 2000). *RBI* mutasyonu, *CDK4/CDK6* amplifikasyonu veya *CDKN2A/CDKN2B* mutasyonu gibi fonksiyonel sonuçlar do urur.

PDGFR

Büyüme faktörleri ailesinin bir üyesi olan PDGF, dört farklı gen tarafından kodlanan, dört farklı polipeptid zinciri içeren, 30 kDa a ırlı nda bir proteindir. PDGF zincirleri homodimer ve heterodimer alt ünitelerden olu mu tur ve PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD olmak üzere be farklı izoformu bulunur. Ailenin bu be üyesi, PDGFR- ve PDGFR- olarak adlandırılan ve trozin kinaz aktivitesi gösteren iki farklı PDGF reseptörü tarafından ba lanır ve aktifle tirilir (Wertermark ve Heldin, 1993; Aydemir ve Sarı, 2009). PDGFR- 'nın a ırı ekspresyonu, hem dü ük hem de yüksek dereceli astrositomalarda bildirilmi tir. PDGFR- 'nın amplifikasyonu ve a ırı ekspresyonu, sekonder GBM olu um yolu için tipiktir ve p53 mutasyonu gibi ilk görülen de i ikliktir. Primer tümörlerin olu yolaklarından birinin PDGFRA formu yeniden düzenlenmeleri oldu u dü ünülmektedir. Bu formun EGFR den sonra yüksek oranda amplifiye olan ikinci aday gen oldu u, amplifikasyonun hücre sinyal iletimini bozarak hücre sel proliferasyona neden oldu u tahmin edilmektedir (Çiçek, 2011).

Kromozom 10'da LOH, PTEN (MMAC1) ve DMBT1

Kromozom 10'da olan LOH'lar glioblastomlarda en sık kar ıla ılan sitogenetik de i ikliklerden biridir ve olguların %80'inde vardır. Bunlar en sık 10p, 10q23 ve 10q25-26 bölgesinde olur. PTEN geni kromozom 10q23.3 bölgesinde yerle mi tümör baskılayıcı genidir ve iki ara tırıcı tarafından 1997 yılında saptanmı tır. Bu nedenle PTEN/ MMAC1 olarak bilinir ve hücrelerin farklılaşmasında etkilidir. PTEN lokusunun kaybı glioblastomlarda %80 dolayında bildirilmesine ra men PTEN mutasyonu %20–30 dolayında ve daha ya lı hastalarda rapor edilmi tir. Ancak PTEN geni mutasyonu primer glioblastomda 32, sekonder glioblastonda %4 dolayında bulunmu tur (Durmaz ve Vural, 2007). Deleted in malignant brain tumors 1

(DMBT1) geni, kromozom 10q25-26'da lokalize bir tümör süpresör genidir. Bir di er gen ise MYC antagonisti MXI 1'dir (Çiçek, 2011).

Kromozom 19q da LOH ve DCC Geni

Kromozom 19q da LOH daha sıklıkla oligodendrogliomda (%70) gözlenirken, dü ük dereceli astrositomların, Anaplastik astrositom ve GBM'ye dönü ümünde 19q kaybını etkili oldu u dü ünülmektedir. Kromozom 19q LOH' si;diffüz astrositomda ~ %15, AA da ~ %45 ve sekonder GBM de %54 gözlenirken, primer GBM'de ancak % 6 düzeyinde gözlenmiştir. Bu da, 19q LOH'nin dü ük dereceli astrositomların malign formlara dönü ümünde rol aldığını desteklemektedir. "Deleted in colorectal cancer" (DCC) geni, nöral adhezyon molekül ailesine ba lı bir tümör baskılayıcı genidir ve 18. kromozomda lokalizedir. İmmunohistokimyasal çalı malarda, bu gene ait protein yoklu u astrositomada (G II) %7, sekonder glioblastomda %47 düzeyinde saptanırken, primer glioblastomda %25 düzeyinde saptanmıştır (Durmaz ve Vural, 2007).

MGMT

O6- metil guanin metil transferaz (MGMT) guanin O6 pozisyonunda, 22000 kDa a ırlı nda, alkilasyon ve metilasyonu hızlıca geri çeviren hücreSEL DNA onarım proteindir (Lindahl ve ark., 1988). MGMT tüm normal insan dokularında sentezlenmektedir. Üzerindeki sistine, alkil grubunun ba lanması ile MGMT inaktive olur. Böylece proteinin bir intihar molekülü gibi görev yapması ve hasarı tamir ederken kendi i levini kaybetmesi söz konusudur. Bu nedenle MGMT protein düzeyi hasarlı hücrelerde önem ta ımaktadır. Proteinin translasyonu promotor bölgesinin metillenmesi ile kontrol edilmektedir. MGMT geninin metillenerek sessizleştirildi i durumlarda, alkil grupları DNA hasarına yol açmaktadır ve hücre ölümü gerçekleşmektedir. MGMT enziminin, alkil gruplarını DNA molekülünden uzakla tırarak hasarı tamir etmesi ile tümör hücreleri alkilleyici ilaçlara karşı direnç geli tirirler. Ancak promotor bölgesi metillenerek etkisiz hale getirilen MGMT enzimi, hasarlı DNA molekülünü onaramadığı için tümör hücresi apoptoz süreci sonunda kaybedilir. Tümör hücrelerinde MGMT ekspresyonu alkilleyici ajanlarla tedaviye rezistans ile ili kilidir (Kaina ve ark., 2007). DNA tamir enzimi kodlayan MGMT geninin promotor hipermetilasyonu primer GBM'de % 36 ve sekonder

GBM'de %75 oranında görülmektedir ki bu son yıllarda Temazolomid tedavisi için iyi prognoz göstergesi olarak kullanılmaktadır (Costello, 2003).

2.2.4. GBM tedavisi

Günümüzde yeni tanı alan GBM hastalarına uygulanan standart tedavi; mümkün olan en geni cerrahi rezeksiyon sonrası radyoterapi (RT) ve bunu takip eden kemoterapi uygulamasıdır (Zhang ve ark., 2012; Agnihotri ve ark., 2013). Tümör rezeksiyonu sonrasında alınamayan mikroskobik bir tümör kalıntısı hastalığın rekürrensine neden olabilmektedir. Bu yüzden total cerrahi sonrası geride kalan tümör hücrelerinin çoğalmasını önlemek için radyoterapi ve kemoterapi uygulanmaktadır. 2005 yılından itibaren Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Örgütü/ Kanada Klinik Araştırmalar Grubu Ulusal Kanser Enstitüsü'ne göre cerrahi sonrası radyoterapi (60 Gray 30 fraksiyon) ve alkilleyici bir sitotoksik ajan olan Temazolomid (TMZ) ($75 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$, 7 hafta) kombinasyonu GBM hastaları için mevcut en etkili adjuvan tedaviyi oluşturmaktadır (Zhang ve ark., 2012; Hottinger ve ark., 2014; Redmond ve Mehta, 2015; Roy ve ark., 2015). Stupp ve arkadaşlarının Faz-III çalışmasında, yalnızca adjuvan radyoterapi ile radyoterapi ve Temazolomid kombinasyonu alan yeni tanı GBM hastaları karşılaştırılmıştır (Stupp ve ark., 2009). Sonuçlara göre, RT ve TMZ kombinasyonu alan grubun ortalama sağ kalım süresi 14.6 ay, yalnızca RT alan grubun ortalama sağ kalım süresi ise 12.1 aydır. 5 yıllık sağ kalım süreleri ise RT+TMZ alanlarda %9.8 yalnızca RT alanlarda %1.9 olarak raporlanmıştır.

Kan-beyin bariyeri, beyin tümörlerinin kemoterapötik ajanlarla tedavisinde karşılaşılan en büyük sorunlardan biridir. Kemoterapötiklerin yavaş difüze olması nedeniyle yeterli doku konsantrasyonuna ulaşamaz. Ancak, invitro çalışmalar kemoterapötiklerin glioma hücrelerinde radyasyonun etkisini arttırdığı yönünde bulgular sunmaktadır. Bu nedenle kemoterapötiklerin radyoterapi ile eş zamanlı uygulanması gerektiği bildirilmektedir (Stupp ve ark., 2005).

2009 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, US Food and Drug Administration), tedavi sonrası progresyon gösteren GBM hastaları için Bevacizumab tedavisini onaylamıştır (Beal ve ark., 2011).

2.3. Bevacizumab

Bevacizumab (BVC), hümanize mürin antikorunun komplementer determinant bölgeleri VEGF'e ba lanan, insan antikoru temel bölgelerini içeren, 214 amino asitten olu an, molekül a ırlı ı yakla ık 149.000 dalton olan bir ilaçtır. Rekombinant insan anti-VEGF-A monoklonal antikoru olan Bevacizumab' ın, faz I çalı maları; kemoterapi ile kombine kullanımında, serum VEGF seviyelerini oldukça az seviyelere dü ürdü ünü ve farklı tümörlerde büyüme inhibisyonuna neden oldu unu göstermi tir (Belin, 2002; Chen, 2004; Levene ve ark., 2005; Niyazi ve ark., 2015). Çe itli faz III çalı malarda sa kalımı uzattı ı klinik olarak kanıtlanmı tır ve 2004 yılında metastatik kolorektal kanser tedavisinde kullanılmak üzere onay alan ilk antianjiogenik ajandır. Günümüzde meme, sküamöz olmayan küçük hücre dı ı akci er kanseri, renal hücreli karsinom, over kanseri ve serviks kanserlerinde kullanılmakta olan Bevacizumab, 2009 yılında rekürens GBM olgularında kullanılmak üzere FDA onayını almı tır (Keating, 2014; Niyazi ve ark., 2015).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal seçimi

Çalışma popülasyonunun seçimi için Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Hasta Kayıt verileri tarandı. 2008-2015 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Glioblastoma multiform histopatolojik tanısını alan 175 hastanın dosyası incelendi. Irinotekan ile kombine Bevacizumab tedavisi gören 30 olgunun patoloji blokları uzman bir patolog tarafından incelendi. 3 olgunun bloğu yeterli DNA örneği içermediği için çalışma dışı bırakıldı, kalan 27 olgu çalışmaya dahil edildi.

3.2.MGMT Geni Metilasyon Analizi

3.2.1.Ffpe Doku Örneklerinden Dna Eldesi Ve Bisülfid Dönüm

EpiTect Plus Bisülfid Konversiyon Kiti (EpiTect Plus Bisulfite Conversion Kit) (Qiagen GmbH) bisülfid dönüm için kullanıldı. Kit içeriği:

EpiTect Plus FFPE Lizis Kit

Deparafinizasyon Solüsyonu

Lizis Buffer FTB

Proteinaz K

EpiTect Plus DNA Bisülfid Kit

Bisülfid Miks

DNA Protect Buffer

RNase-Free su

MinElute DNA spin kolonlar

Buffer BL

Buffer BW (Konsantre)

Buffer BD (Konsantre)

Buffer EB

Carrier RNA

Konsantre solüsyonların kullanıma hazırlanması

Buffer BW: 30 ml %96-100 saflıkta etanol eklenerek kullanıma hazır hale getirildi.

Buffer BD : 27 ml %96-100 saflıkta etanol eklenerek kullanıma hazır hale getirildi.

Carrier RNA: Liyofilize halde olan Carrier RNA ya 310 µl RNase-free su ilave edilerek solüsyon haline getirildi. Aliquotlara ayrılarak -20 °C' de saklandı.

Bisülfıt Miks: Liyofilize halde olan Bisülfıt Mikse 800 µl RNase-free su ilave edilerek solüsyon haline getirildi. Aliquotlara ayrılarak -20 °C' de saklandı.

FFPE doku örneklerinin Parçalanması:

1. FFPE doku örne inden (yüzey alanı <100 mm²) 10 mikron kalınlı ında 2 veya 3 kesit lam üzerine alındı. Tümör alanı lam üzerinden kazınarak steril santrifüj tüpüne alındı.
2. 150 µl Deparafinizasyon solüsyonu eklendi. Parafin çözüne ne kadar vortekslendi.
3. 20 µl distile su, 15 µl Lizis Buffer FTB ve 5 µl Proteinaz K eklendi.
4. Vortekslenir ve kısa bir santrifüj yapıldı.
5. Lizis ve dekroslinking a amaları yapıldı.
6. 56 °C de minumum 30 dakika olmak üzere doku parçalanana kadar örnekler bekletildi.
7. Doku tamamen parçalandıktan sonra, 95 °C de 60 dakika bekletilerek dekroslinking i lemi yapıldı.

Bisülfıt Konversiyon lemleri:

1. Lizis olan örnekten; yakla ık olarak 130 µl deparafinizasyon örne i uzakla tırıldı. Geri kalan Lizis ürününe a a ıdaki miktarlarda gerekli malzemelerden eklenerek bisülfıt reaksiyonu hazırlandı.

Lizis reaksiyonu	40 µl
Bisülfıt miks	85 µl
DNA Protect Buffer	15 µl
<hr/>	
Toplam miktar	140 µl

2. Bisülfıt Reaksiyon Termal Cyler Ko ulları

Basamak	Süre	Sıcaklık
Denatürasyon	5 dakika	95 °C
nkübasyon	25 dakika	60 °C
Denatürasyon	5 dakika	95 °C
nkübasyon	85 dakika	60 °C
Denatürasyon	5 dakika	95 °C
nkübasyon	175 dakika	60 °C
Tutma	Süresiz	20 °C

Bisülfid Dönüüm Yapılımlı DNA' nın Temizlenmesi

1. Bisülfid dönüüm yapımlı örnekler 1.5 ml.lik tüpe alındı. 310 µl Buffer BL solüsyonu eklendi. Vortekslenir ve kısa bir santrifüj yapıldı.
2. 250 µl %96-100 etanol eklenir. 15 saniye vorteks ve ardından kısa bir santrifüj yapıldı.
3. Örnekler, MinElute DNA spin kolonlara aktarıldı.
4. Maksimum devirde 1 dakika santrifüj yapıldı. Alt tüpteki sıvı atıldı.
5. Kolon üzerine 500 µl Buffer BW eklendi.
6. Maksimum devirde 1 dakika santrifüj yapıldı. Alt tüpteki sıvı atıldı.
7. Kolon üzerine 500 µl Buffer BD eklendi.
8. Oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.
9. Süre sonunda maksimum devirde 1 dakika santrifüj yapıldı. Alt tüpteki sıvı atıldı.
10. Kolon üzerine 500 µl Buffer BW eklendi.
11. Maksimum devirde 1 dakika santrifüj yapıldı. Alt tüpteki sıvı atıldı.
12. Kolon üzerine 500 µl Buffer BW eklendi.
13. Maksimum devirde 1 dakika santrifüj yapıldı. Alt tüpteki sıvı atıldı.
14. Kolon üzerine 250 µl %96-100 Etanol eklendi.
15. Maksimum devirde 1 dakika santrifüj yapıldı. Alt tüpteki sıvı atıldı.
16. Kolon temiz bir toplayıcı tüpe alındı. Fazla sıvının kolondan uzakla tırılması için maksimum devirde 1 dakika santrifüj yapıldı.
17. Kolon temiz bir 1.5 ml.lik ependorf tüpe alındı. 15 µl Buffer EB kolon merkezine eklendi.
18. Oda ısısında 1 dakika inkübe edildi.
19. 12,000 rpm de santrifüj yapıldı.
20. Bisülfidlenmi DNA' lar -20 °C' de saklandı.

3.2.2.MGMT Metilasyonunu Belirlemek için Pyrosekans Analizi

MGMT geninde ekzon 1' de yer alan dört CpG adasındaki metilasyonun pyrosekans tekni i ile kantitatif ölçümü için, Therascreen MGMT Pyro Kit (Qiagen GmbH) kullanıldı. Kit içeri i:

1. MGMT spesifik PCR primer Miks
2. MGMT spesifik Sekans primer
3. Pyromark PCR master miks, 2x

4. CarolLoad Konsantre, 10x
5. H₂O
6. Metillenmi Kontrol DNA, 10 ng/μl

Bufferlar:

1. Pyromark binding buffer
2. Pyromark annealing buffer
3. Pyromark Denatürasyon solüsyonu
4. Pyromark Yıkama Buffer, 10X
5. Emzim Karı ımı
6. Substrat karı ımı
7. dATP S
8. dCTP
9. dGTP
10. dTTP

Sekans PCR reaksiyon karı ımının hazırlanması:

	Volüm
Pyromark PCR master miks, 2x	12.5 μl
MGMT spesifik PCR primer Miks	1.0 μl
CarolLoad Konsantre, 10x	2.5 μl
H ₂ O	4.0 μl
Toplam	20 μl

Reaksiyon karı ımına, 5 μl bisulfit dönü ümü yapılmı kalıp DNA' dan eklendi.

Termal Cycler PCR ko ulları:

PCR Reaksiyonu:

95 °C	15 dakika	}	42 Döngü
95°C	20 saniye		
53°C	30 saniye		
72°C	20 saniye		
72°C	5 dakika		
4°C			

3.2.3.Pyrosekans A aması

PCR reaksiyonu bitince sekans i lemi yapıldı. Gerekli malzemeler:

1. Streptavidin Sepharose
2. Binding Buffer pH 7.6 (10 mM Tris-HCl; 2 M NaCl; 1mM EDTA; %0.1 Tween TM 20)
3. Denatürasyon Solüsyonu (0.2 M NaOH)
4. Wash Buffer pH 7.6 (10 mM Tris Acetate)
5. Annealing Buffer pH 7.6 (20 mM Tris-Acetate; 5 mM MgAc2)
6. Primerler- Birisi biotinlenmi
7. Enzim (DNA Polimeraz; ATP Sulfurylase; Luciferase&Apyrase)
8. Substrate (Adenosine 5' Fosfosulfate (APS)+Luciferin)
9. 18.2 µl ddH₂O

PCR ürünlerinin immobilizasyonu:

1. Örnek ba ına; 40 µl Binding Buffer, 28 µl 18.2 µl ddH₂O, 2 µl Streptavidin Sepharose' dan olu an karı ım hazırlandı. 24' lü strip tüplere örnek ba ına 70 µl konuldu. Karı ıma 10 µl PCR ürünü ilave edildi. Plate üzeri yapı tırıcı film ile iyice kapatıldı. 25 °C ve 1500 rpm' e ayarlı çalkalayıcıda 10 dakika çalkalandı.
2. Bu süre içinde Pyromark çalı ma istasyonununda ilgili yerlerdeki solüsyonlar hazırlandı.

1. %70 Etanol
2. 1x Yıkama Tamponu
3. Denatürasyon solüsyonu

3. Sekans primerlerinin hazırlanması:

Örnek ba ına; 24. 2 µl Annealing Buffer ve 0. 8 µl ilgili gen bölgesine ait sekans primerinden alınarak karı ım hazırlandı. Pyromark plate uygun bölgelere yerle tirildi.

- 4.Çalkalayıcıda karı tırma i leminin süresi dolduktan sonra plate üzerindeki yapı tırıcı film dikkatli bir eklide çıkartıldı. Pyromark çalı ma istasyonunun örnek yakalama apartı ile kuyucuklardaki örnekler çekildi. Sırasıyla önce %70 lik alkolde 5 saniye, sonra denatürasyon solüsyonunda 5 saniye, son olarak 10 saniye 1xYıkama Tamponu içerisinde bekletildi. Süre sonunda vakum cihazı kapatıldı. Pyromark plate de yer alan primer karı ımı içerisinde ürünlerin bırakılması sa landı (ekil 3.1.).



ekil 3.1.Pyromark cihazının bölümleri ve içerikleri

4. Pyromark plate daha önceden 80 °C' ye ısıtılmış ısı blo una konuldu ve 2 dakika bekletildi.
5. Süre sonunda +4°C ' de 10 dakika bekletildi.
6. Bu süre içerisinde kartu hazırlı ı yapıldı. Bilgisayarda program açıldı ve sekans yapılacak gen ve bölgesi ile ilgili program olu turuldu. Olu turma i lemi tamamlandıktan sonra cihazın belirledi i oranlarda, Enzim, Substrat, Adenin bazı, Sitozin bazı, Guanin bazı ve Timin bazı kartu daki yerlerine eklendi. Kartu cihaz içerisindeki yerine yerle tirildi.
7. Bekleme süresi dolduktan sonra cihaz ba latıldı.
8. Bölgelerin sekans analizi yapıldı.

3.3. P53 Geni Dizi Analizi

3.3.1.Parafine Gömülü Dokudan DNA zolasyonu

1. Retrospektif olarak seçilen vakalara ait hemotoksilen-eosin ile boyalı preparatlar yeniden incelenerek, tümör içeren lam seçildi ve preparat üzerinde tümör alanı çizildi. %80 ve daha fazla tümör alanına sahip bloklardan direk olarak 10 mikron kalınlı ında kesit alınarak steril 2 ml. lik satrifüj tüpüne konuldu. Tümör alanının küçük olması durumunda 5 mikron kalınlı ında

- kesitler lam üzerine alınarak tümör alanı lam üzerinden kazınıp 2 ml. lik santrifüj tüpü içine alındı.
2. DNA izolasyonu için parafine gömülü dokudan DNA izolasyon kiti (Qiagen) kullanıldı.
 3. Dokunun deparafinizasyonu: Santrifüj tüpü içine alınan dokulara 1 ml Ksilol eklendi, vortekslendi, 2 dakika 14000 rpm de santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant kısım alındı.
 4. Aynı işlem bir kez daha tekrarlandı. Dokudaki parafin kalıntısına bağlı olarak işlem bir kez daha tekrarlandı.
 5. Ksilol a masasından sonra 1 ml absolü alkol eklendi, vortekslendi ve 2 dakika 14000 rpm de santrifüj edildi. Süre sonunda süpernatant kısım alındı.
 6. Alkolün uçması için santrifüj tüplerinin kapakları açık bırakılarak 10 dakika oda ısısında bekletildi.
 7. Doku lizis a masası: Santrifüj tüpündeki doku üzerine 180 µl ATL Buffer ve 20 µl Proteinaz K eklendi. 56 °C' de gece boyu (16-18 saat) inkübasyona bırakıldı.
 8. Ertesi gün lizis olan dokunun bulunduğu santrifüj tüpler 95 °C' ye ayarlı ısı blo unda 15 dakika bekletildi.
 9. Süre sonunda tüpler oda ısısında so umaya bırakıldı.
 10. Lizis olan dokunun üzerine 200 µl AL buffer ve 200 µl absolü alkol eklenip vortekslendi ve 14000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.
 11. Santrifüj sonunda üst kısım dikkatlice kolona aktarıldı. 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.
 12. Kolon temiz bir toplayıcı tüp içine alındı. Üzerine 500 µl Yıkama solüsyonu I' den eklendi. 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.
 13. Kolon temiz bir toplayıcı tüp içine alındı. Üzerine 500 µl Yıkama solüsyonu II' den eklendi. 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.
 14. Kolon temiz bir toplayıcı tüp içine alındı. Kalan solüsyonun uzakla tırılması için 14000 rpm de 3 dakika santrifüj edildi.
 15. Kolon temiz bir 2 ml. lik santrifüj tüpüne alındı. Üzerine 50 µl elüsyon solüsyonundan eklendi. Oda ısısında 5 dakika bekletildi.
 16. Süre sonunda 8000 rpm de 2 dakika santrifüj edilerek kolondaki DNA' nın elüsyonu sa landı.
 17. DNA; -20 °C' de saklandı.

3.3.2 Yüksek Çözünürlüklü Erime (High resolution melting) Analizi ile TP53 Ekzon 5-8 Mutasyon Taraması

Krypuy ve arkadaşları (2007)'nin yapmış olduğu çalışmaları baz alınarak TP53 ekzon 5-8 arasında HRM analizi ile mutasyon taraması yapıldı. DNA örnekleri 0.5 ng/μL'lık miktarlarda alınarak PZR için seyreltildi. Reaksiyon Karışımı;

HotStarTaq (Qiagen, Hilden Germany) enzimi,
2.5 ng of genomik DNA,
1× PCR tamponu,
2.5 mM MgCl₂,
200 nM herbir primer,
200 μM dNTPs,
5 μM SYTO 9 (Invitrogen, Carlsbad, USA),
0.5 U of HotStar-Taq polimeraz
20 μL distile su.

PZR döngüleri ve HRM analizi Rotor- Gene™ 6000 (Corbett Research, Mortlake, New South Wales, Australia) cihazında yapıldı. PZR döngüsü koşulları:

95 °C	15 dakika	1 döngü	} 50 döngü
95 °C	10 saniye		
(Annealing koşulları primerler bazında tablo 3.1' verilmiştir)			
72 °C	20 saniye		
95 °C	1 saniye	1 döngü	
72 °C	90 saniye	1 döngü	

HRM basamağı: 72 °C 'den 95 °C' ye her saniyede 0.1 °C'lik artı

Precision Melt Analysis (Bio-Rad Laboratories, Inc) LightCycler480 Gene-Scanning (Gen tarama) modülü kullanılarak yazılım programlarıyla birlikte üç basamaklı bir analiz yapılmıştır. Bu basamaklar

1. Normalization (Normalizasyon) (%100 floresandan %0 floresana)
2. Temperature - shifting (Sıcaklık düzenleme)
3. Autogroup function (Otomatik gruplama)

Analiz sonucunda elde edilen erime eğrilerindeki farklılıklar kıyaslanarak yorum yapılmıştır.

Tablo3.1. HRM analizi annealing ko ullanları ve HRM primerleri

Ekzon	Primer Adı	Sekans	Annealing Ko ullanları
5a	TP53_Exon5a_F	CAACTCTGTCTCCTTCCTTCTCCTAC	65'den 60°C' ye ini
	TP53_Exon5a_R	AGCCATGGCACGGACGCG	10 döngü için 0.5°C/döngü
5b	TP53_Exon5b_F	CTCCTGCCCCGGCACCCGC	65'den 60°C' ye ini
	TP53_Exon5b_R	CTAAGAGCAATCAGTGAGGAATCAGA	10 döngü için 0.5°C/döngü
6	TP53_Exon6_F	CAACCACCCTTAACCCCTCCT	68'den 58°C' ye ini
	TP53_Exon6_R	AGACGACAGGGCTGGTTGC	10 döngü için 1°C/döngü
7	TP53_Exon7_F	AGGCGCACTGGCCTCATC	68'den 58°C' ye ini
	TP53_Exon7_R	GAGGCTGGGGCACAGCA	10 döngü için 1°C/döngü
8	TP53_Exon8_F	GACCTGATTCCTTACTGCCTCTTG	63.5'den 58.5°C' ye ini
	TP53_Exon8_R	AATCTGAGGCATAACTGCACCCTT	10 döngü için 0.5°C/döngü

3.4. istatistiksel Analizler

Olguların tanı ya 1, sa kalım süreleri, Bevacizumab kullanım sürelerine ait veri analizleri medyan, minimum-maksimum, ortalama de erleriyle belirtildi. Tanı ya ları ve sa kalım süreleri arasında korelasyon olup olmadı ının anla ılması için Pearson Korelasyon Analizi uygulandı. Sa Kalım süreleri hesaplanırken ilk tanı tarihinden ölüm tarihi ya da son kontrol tarihi arasındaki periyot alındı. Progresyonsuz sa kalım periyodu ise Bevacizumab kullanımından hastalık progresyonu görülene kadar ki veya hastalar exitus olana kadar ki süre olarak kabul edildi. Uzun dönem sa kalan hastalar (36 ay ve üzeri) Li ve arkadaşları (2016)'nın çalı masına göre yorumlandı. Olguların sa kalım süreleri Kaplan-Meier metodu (Log-Rank Test) kullanılarak de erlendirildi. Cox regresyon analizi ise genel ve progresyonsuz sa kalımlar için metilasyon ve mutasyonun risk faktörü olarak de erlendirilmesi yapıldı. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ olarak alındı. Analizler Statistical Package for the Social Services (SPSS) versiyon 18 (IBM Electronics, ABD) yazılım programında yapıldı.

4.BULGULAR

4.1.Hastaların Demografik Özellikleri

Bu tez çalışması kapsamında; 2008-2015 yılları arasında tanı alan ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda Bevacizumab tedavisi verilen hastalar arasından tarama yapılarak, 27 GBM olgusu seçildi. Hasta dosyaları retrospektif olarak tarandı. Hastaların yaşı, cinsiyet, tanı tarihleri, histopatolojik tanı, Bevacizumab başlangıç ve bitiş tarihleri, progresyonsuz sağ kalım süreleri (PFS), sağ kalım süreleri ve eksitüs tarihleri verileri toplandı ve değerlendirildi (Tablo 4.1). Çalışma öncesi Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı alındı (Tarih:18/06/2014, Karar No:293).

Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri ve sağ kalım süreleri

OLGU NO	CİNSİYET	TANI YAŞI	BVC PFS SÜRES (AY)	SAĞ KALIM SÜRES (AY)	DURUM (SAĞ:+/ÖLÜ:-)
1	E	52	28	68	-
2	E	47	40	91	+
3	E	58	18	29	-
4	E	51	1	41	-
5	K	60	2	18	-
6	K	52	38	64	-
7	K	57	1	14	-
8	E	46	15	26	-
9	E	42	3	9	-
10	K	42	3	47	-
11	E	57	34	46	-
12	E	55	1	15	-
13	K	48	5	23	-
14	E	60	9	20	-
15	E	49	12	21	-
16	E	61	5	15	-
17	E	53	6	18	-
18	E	39	4	9	-
19	E	62	11	20	-
20	E	59	3	10	-
21	E	51	8	20	-
22	E	64	1	6	-
23	K	55	3	10	-
24	K	37	7	18	+
25	E	34	34	60	+
26	K	66	23	29	-
27	E	34	4	7	-

27 olgunun 19 (%70,4)'u erkek, 8 (%29,6)'i kadındı (E/K=2,38/1). Tüm olguların tanı anındaki ya ının medyan de eri 52 (34-66) iken, erkeklerde medyan ya ı 52 (34-64), kadınlarda medyan ya ı 53,50 (37-66) olarak bulundu. Olguların ya ı gruplarına göre da ılımları Tablo 4.2'de gösterilmi tir.

Tablo 4.2. Olguların ya ı gruplarına göre da ılımları

YA	n	%
39	4	14,81
40-49	6	22,22
50-59	11	40,75
60-69	6	22,22
TOPLAM	27	100

27 olgunun 3 (% 11,11)'ü hayattayken, 24 (% 88,89)'ü ex olmu tu. 27 olgudan yalnızca 6 (%22,2) 'sı 36 aydan fazla hayatta kalıp Uzun Dönem Hayatta Kalanlar sınıfına dahil oldu. Tüm olguların sa ı kalım süresi medyan de eri 20 (4-91) ay olarak bulundu. Tüm olguların BVC sonrası progresyonsuz sa ı kalım süresi medyan de eri 6 (1-40) ay iken, erkeklerde 8 (1-40) ay, kadınlarda ise 4 (1-38) aydı. Ya ayan olguların BVC sonrası PFS medyan de eri 34 (7-40) ay iken, ölü olgularda bu süre 5 (1-38) ay bulundu. Ya ayan olguların tanı ya ı medyanı 37 (34-47) iken, ölü olgular da bu de er 54 (37-66) olarak bulundu.

27 olgunun tamamının tanı ya ı ile sa ı kalım süreleri arasındaki olası ili kinin olup olmadı ının test edilmesi için Korelasyon analizi uygulandı. Verilerin normal da ılım göstermedi i göz önünde bulundurularak Spearman Korelasyon Analizi uygulandı. Analiz sonucunda korelasyon katsayısı $r = -0,156$; $p = 0,436$ olarak bulundu ve sonuç; tanı ya ı ile sa ı kalım süresi arasında negatif bir ili ki söz konusudur, ancak p de eri $>0,05$ 'ten oldu u için bu durum, bulunan korelasyonun tesadüflere ba lı oldu u ekinde yorumlandı. Tanı ya ının ya am olasılı ını etkileme olasılı ı için Cox regresyon analizi yapıldı ve analiz sonuçlarına göre sa ı kalım süresi üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamı tır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Tanı ya ı ile ilgili Cox Regresyon analizi sonuçları

	B	Sig.	Exp (B)	%95 CI	
				Minimum	Maksimum
TANIYASI	0,022	0,406	1,022	0,971	1,076

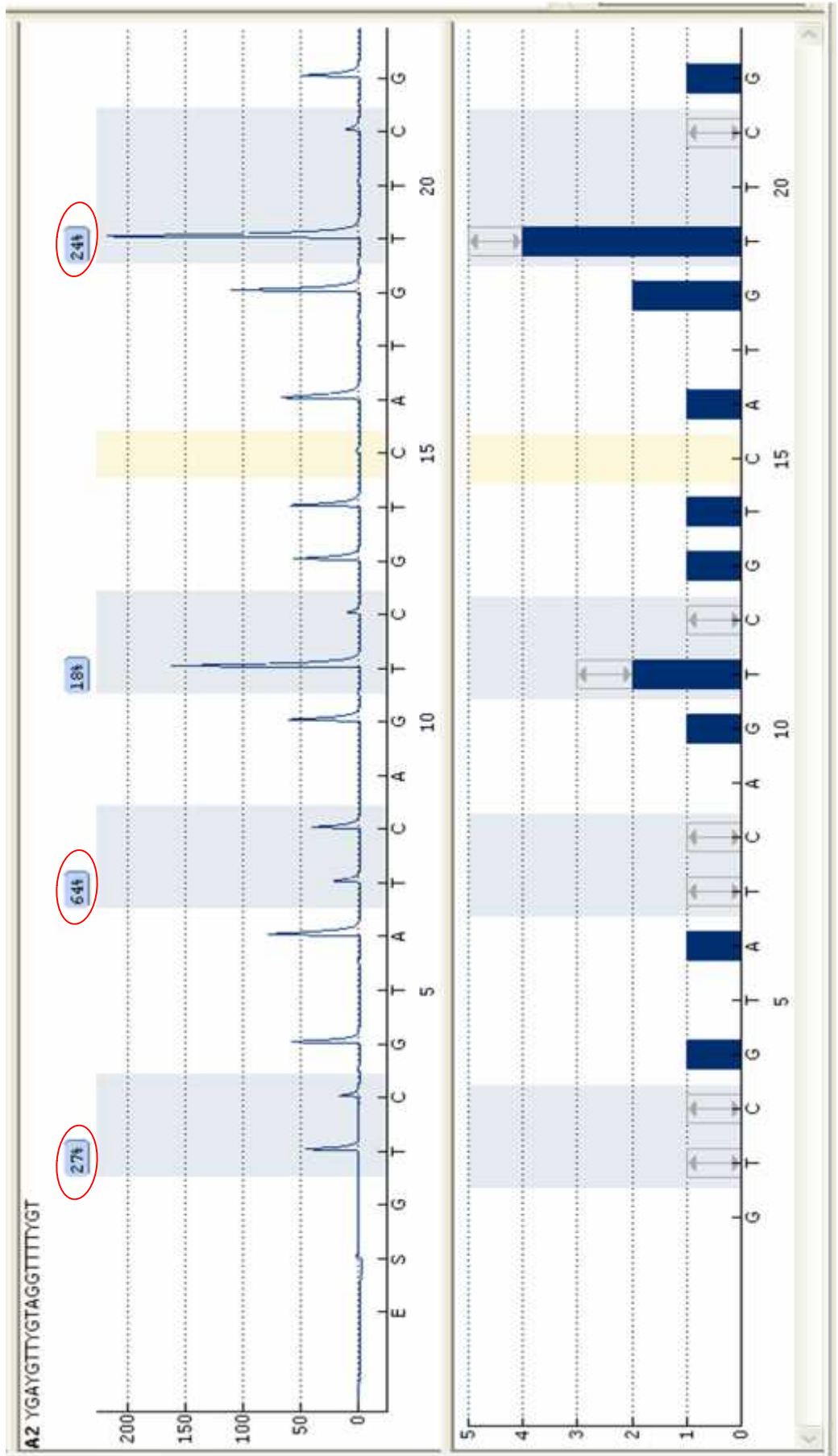
4.2.MGMT Metilasyon Analizi Bulguları

Ara tırma grubuna dahil edilen 27 olgunun tümör örneklerinden elde edilen DNA’da MGMT geninin metilasyon paterni incelendi. MGMT geninin Ekzon 1’ inde yer alan 4 adet CpG adacı ının kantitatif olarak metilasyon düzeyi Pyrosekans tekni i kullanılarak analiz edildi. Metile ve Unmetile sonuç veren 2 olgunun Pyrosekans Analizi gösterimi ekil 4.1. ve ekil 4.2’de gösterilmi tir.

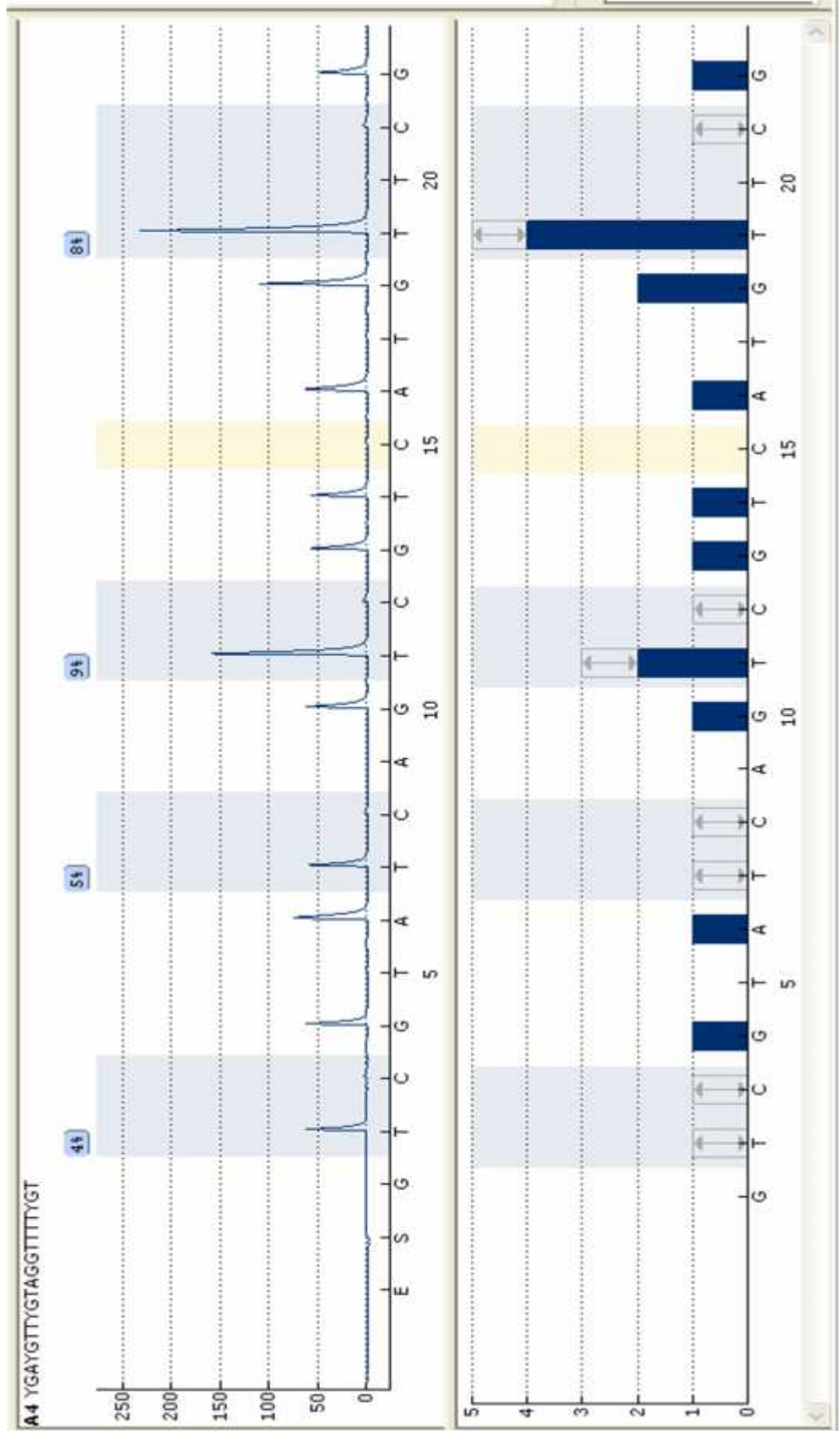
Çalı maya dahil edilen 27 olgunun 12’sinde MGMT geni hipermetile olarak saptandı ve MGMT metilasyon oranı %44,4 olarak belirlendi (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. 27 olguya ait Pyrosekans tekni i ile elde edilen metilasyon sonuçları

SIRA NO	1. CpG Adası	2. CpG Adası	3. CpG Adası	4. CpG Adası	SONUÇ
1	10%	18%	10%	13%	MET LASYON YOK
2	40%	11%	15%	15%	1. CpG metilasyon var
3	27%	64%	18%	24%	1., 2. ve 4. CpG de metilasyon var
4	30%	15%	17%	43%	1. ve 4. CpG de metilasyon var
5	51%	52%	53%	59%	4 CpG de metilasyon var
6	51%	36%	19%	57%	1., 2., ve 4. CpG de metilasyon var
7	7%	7%	12%	12%	MET LASYON YOK
8	56%	14%	14%	24%	1. ve 4. CpG de metilasyon var
9	4%	5%	9%	10%	MET LASYON YOK
10	18%	13%	21%	52%	3., ve 4. CpG de metilasyon var
11	43%	79%	32%	39%	4 CpG de metilasyon var
12	10%	18%	10%	13%	MET LASYON YOK
13	4%	5%	11%	11%	MET LASYON YOK
14	4%	4%	8%	10%	MET LASYON YOK
15	17%	20%	24%	24%	2., 3. ve 4. CpG de metilasyon var
16	3%	3%	8%	7%	MET LASYON YOK
17	4%	5%	9%	8%	MET LASYON YOK
18	7%	8%	13%	17%	MET LASYON YOK
19	6%	5%	8%	9%	MET LASYON YOK
20	3%	3%	8%	8%	MET LASYON YOK
21	5%	4%	11%	10%	MET LASYON YOK
22	4%	4%	8%	7%	MET LASYON YOK
23	5%	5%	8%	10%	MET LASYON YOK
24	32%	50%	31%	38%	4 CpG de metilasyon var
25	10%	12%	12%	17%	MET LASYON YOK
26	30%	32%	33%	31%	4 CpG de metilasyon var
27	41%	46%	53%	49%	4 CpG de metilasyon var



ekil 4.1. Metile olan 3 no'lu olguya ait Pyrosekans Analizi sonucu



ekil 4.2. Unmetile olan 17 no'lu olguya ait Pyrosekans Analizi sonucu

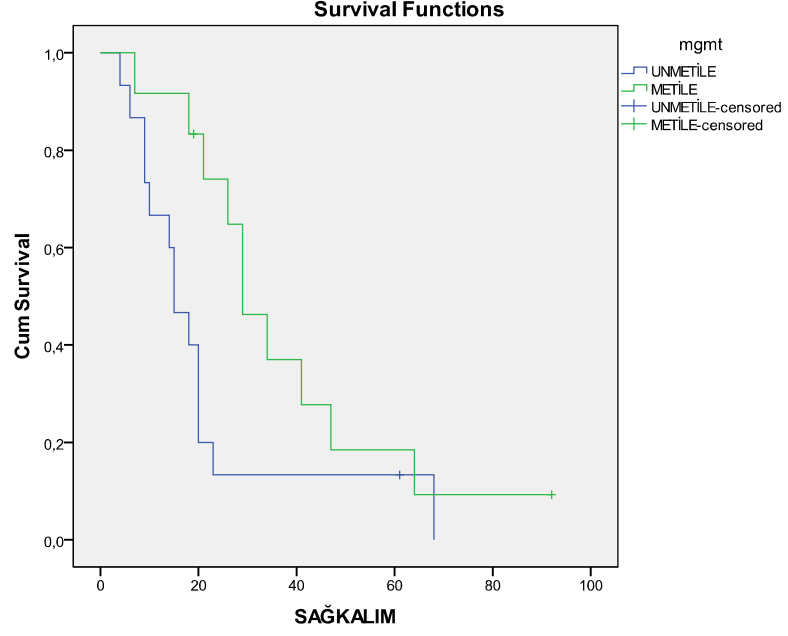
Metile olguların medyan tanı ya ortalaması 50 (37-66), unmetile olguların medyan ya ortalamasının ise 55 (34-64) oldu u saptandı (Tablo 4.5). Metile olguların BVC sonrası PFS süresi ortalaması 16,42 (1-40) ay iken, unmetile olgularda 8,13 (1-34) ay olarak saptandı. Uzun Dönem Hayatta Kalanlar sınıfına dahil olan 6 hastanın 4'ünde (% 66,67) MGMT metilasyonu saptanmı tır.

Tablo.4.5. GBM tümör örneklerindeki MGMT geninin metilasyon oranları ve sa kalım süreleri ile ortalama ya ları

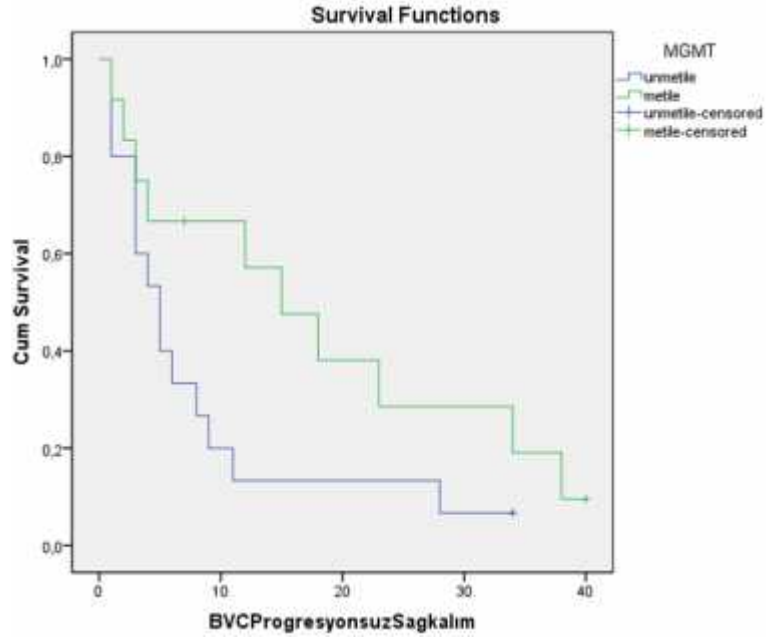
	MET LE OLGULAR	UNMET LE OLGULAR
Olgu Sayısı (n)	12	15
Ortalama Sa Kalım Süresi (Ay)	35,33	20,73
Ortalama Ya (Yıl)	50,17	52,80
BVC PFS Süresi Ortalaması (Ay)	16,42	8,13

statistiksel olarak metile ve unmetile olguların ortalama sa kalım süreleri Kaplan-Meier metodu (Log-Rank Test) ile de erlendirildi (ekil 4.3). Metile olguların sa kalım süreleri de erlendirildi inde medyan de er $29\pm 3,79$ ay (%95 CI: 21,57-36,43), unmetile olguların sa kalım süresinde ise $15\pm 2,58$ ay (%95 CI: 9,95-20,05) olarak saptandı ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur (Log Rank Test; $P=0,047$).

statistiksel olarak tüm olguların BVC sonrası progresyonsuz sa kalım süreleri medyanı 6 (1,02-10,99) ay olarak hesaplandı. Metile olguların progresyonsuz sa kalım süreleri de erlendirildi inde medyanı $15\pm 4,72$ ay (%95 CI: 5,76-24,24), unmetile olguların progresyonsuz sa kalım süresi ise $5\pm 1,27$ ay (%95 CI: 2,52-7,48) olarak saptandı ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Log Rank Test; $P=0,089$) (ekil 4.4).



ekil 4.3. Metile ve unmetile MGMT'li olguların Kaplan-Meier sa kalm süreleri grafi i



ekil 4.4. Metile ve unmetile MGMT'li olguların BVC sonrası progresyonsuz sa kalm grafi i

4.3.TP53 Mutasyonu Analizi Bulguları

27 olgunun TP53 geninin 5, 6, 7 ve 8. ekzonları arasında kalan bölge HRM yöntemiyle taranarak mutasyon olup olmadığı tarandı. 27 olgunun 10'unda TP53 mutasyonu olduğu saptandı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. HRM Analizi sonucu 5-8 ekzon bölgesinde TP53 mutasyonuna sahip olgular

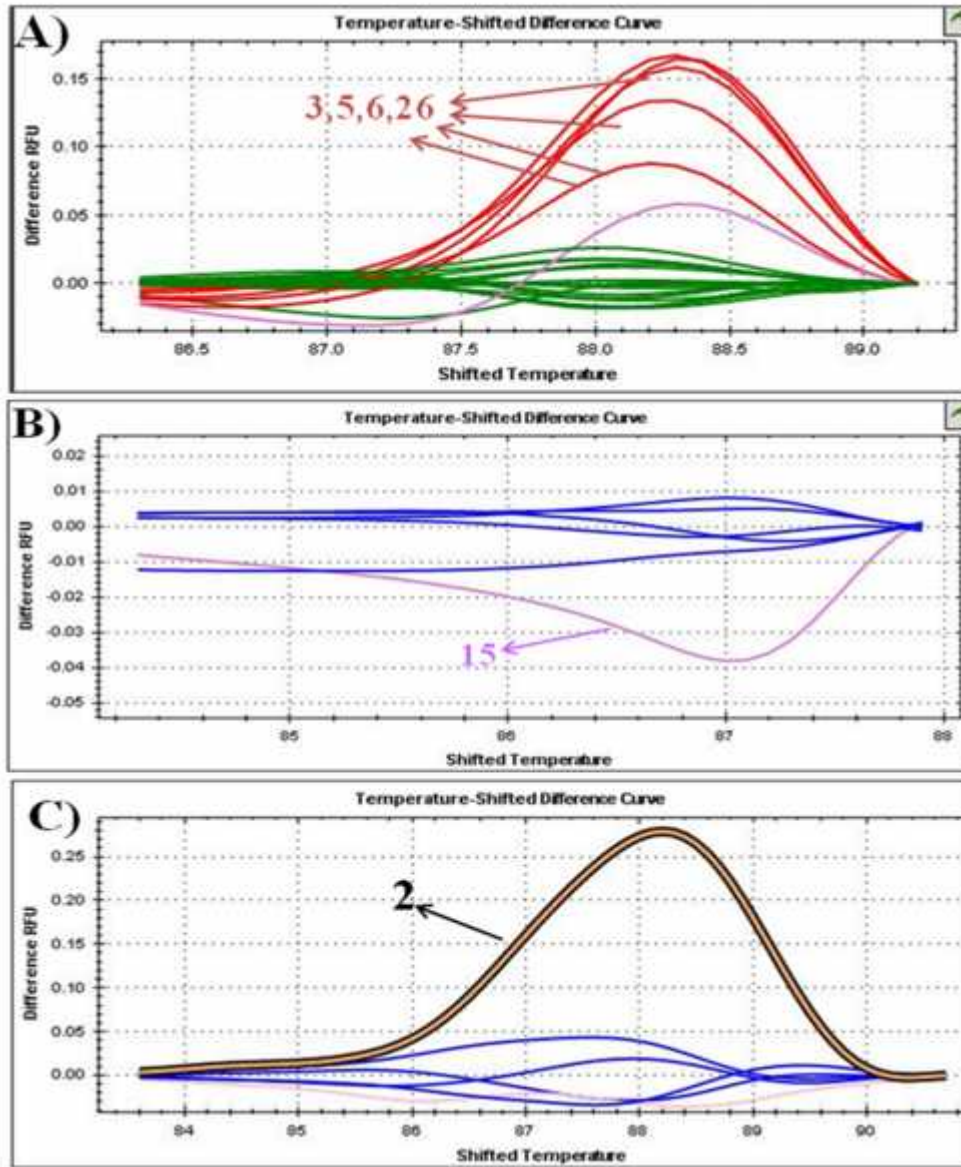
Olgu No	Ekzon 5A	Ekzon 5B	Ekzon 6	Ekzon 7	Ekzon 8	Metilasyon
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	-	+
3	+	-	-	-	-	+
4	-	-	-	-	-	+
5	+	-	-	-	+	+
6	+	-	-	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	+
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	+	+
11	-	-	-	-	-	+
12	-	+	-	+	+	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	+	-	-	+
16	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-
18	-	-	+	+	+	-
19	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	+
25	-	-	-	-	-	-
26	+	-	+	+	+	+
27	-	-	-	-	+	+

TP53 mutasyonuna sahip olan olguların medyan yaşı 48,5 (34-60) iken, mutasyonsuz olguların yaşı medyanı 55 (39-66) olarak bulundu. Uzun Dönem Hayatta Kalanlar sınıfına dahil olan 4 olguda mutasyon saptanmıştır (%66,67). TP53 mutasyonuna ilişkin veriler Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo.4.7. HRM Analizine göre olguların sa kalım süreleri, PFS süreleri ve ortalama ya ları

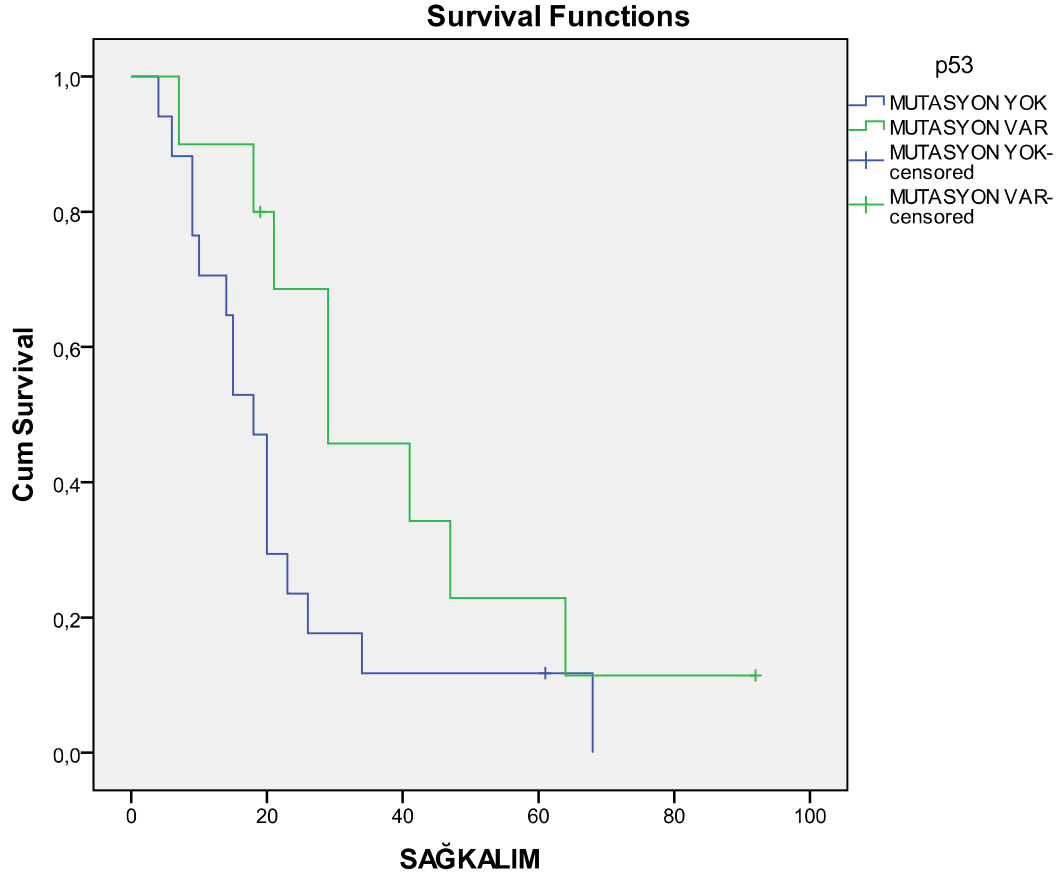
	Mutasyon yok	Mutasyon var
Olgu Sayısı (n)	17	10
Ortalama Sa Kalım Süresi (Ay)	21,76	36,50
Ortalama Ya (Yıl)	52,65	49,90
BVC sonrası PFS Süresi Ortalaması (Ay)	10,06	14,80

HRM analizinde ekzon bölgelerine ait mutasyon grafikleri ve mutasyon gözlenen olgular örnek olarak ekil 4.5'te gösterilmi tir:



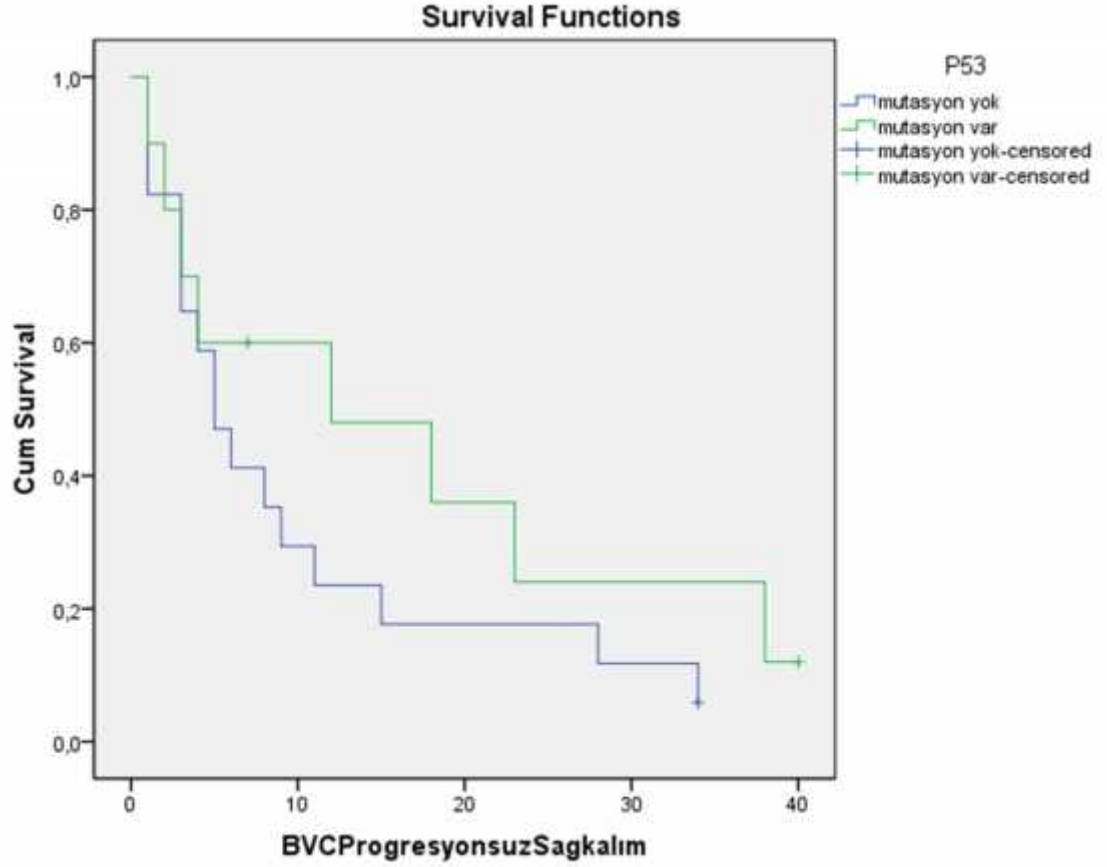
ekil 4.5. HRM mutasyon sonuçları A) Ekzon 5a bölgesi B) Ekzon 6 bölgesi C) Ekzon 7 bölgesi

statistiksel olarak TP53 mutasyonuna sahip olan ve olmayan olguların ortalama sa kalım süreleri Kaplan-Meier metodu (Log-Rank Test) ile de erlendirildi (ekil 4.6). Mutasyonlu olguların sa kalım süreleri de erlendirildi inde medyan de er $29 \pm 9,69$ ay (%95 CI: 10,00-48,00), mutasyonsuz olguların sa kalım süresinde ise $18 \pm 2,06$ ay (%95 CI: 13,97-22,03) olarak saptandı ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Log Rank Test; $P=0,080$).



ekil 4.6. TP53 mutasyonuna göre grupların Kaplan-Meier sa kalım grafi i

BVC sonrası progresyonsuz sa kalım süreleri de erlendirildi inde mutasyonlu olgular için medyan de er $12 \pm 9,56$ ay (%95 CI: 0,00-30,75), mutasyonsuz olgular için ise $5 \pm 1,37$ ay (%95 CI: 2,31-7,69) olarak saptandı ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Log Rank Test; $P=0,240$) (ekil 4.7).



ekil 4.7. TP53 mutasyonuna göre grupların BVC sonrası progresyonsuz sa kalım grafi i

MGMT metilasyonu ve TP53 mutasyonu faktörlerinin yaşam olasılığını etkileme ihtimali Cox regresyon analizi ile değerlendirildi (Tablo 4.8). Analiz sonuçlarına göre; MGMT metilasyonu ve TP53 mutasyonunun sağ kalım süresi üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,064$, $p=0,093$).

Tablo 4.8. Genel Sağ kalım için Cox Regresyon Analizi Sonuçları

	B	Sig.	Exp (B)	%95 CI	
				Minimum	Maksimum
MGMT	-0,790	0,064	0,475	0,197	1,046
TP53	-0,740	0,093	0,477	0,201	1,133

MGMT metilasyonu ve TP53 mutasyonu faktörlerinin BVC kullanımı sonrasında PFS üzerine etkisi yine Cox regresyon analizi ile değerlendirildi (Tablo 4.9). Analiz

sonuçlarına göre; MGMT metilasyonu ve TP53 mutasyonunun sa kalım süresi üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamı tır (p=0,105, p=0,258).

Tablo 4.9. PFS için Cox Regresyon Analizi Sonuçları

	B	Sig.	Exp (B)	%95 CI	
				Minimum	Maksimum
MGMT	-0,713	0,105	0,490	0,201	1,161
TP53	-0,517	0,258	0,597	0,244	1,461

Çalı maya dahil edilen 27 hastanın 8'inde (%29,63) hem MGMT metilasyonu hemde TP53 mutasyonu birarada görülmü tür. Bu 8 bireyden dördü, Uzun Dönem Hayatta Kalan grubundaki hastalardan olu maktadır.

5.TARTI MA

Merkezi Sinir Sistemi tümörlerinin yıllık insidansları, intrakranial tümörler için yüz bin ki i de 10-17, intraspinal tümörler için yüz bin ki ide 1-2 dir. Bunların yakla ık yarısı veya $\frac{3}{4}$ 'ü primer tümör iken, geri kalanı ise metastatiktir (Kumar ve ark., 2013). ntrakranial tümörler tüm primer MSS tümörlerinin %85-90'ini olu turur (Levin ve ark., 2001). Santral sinir sistemi tümörlerinin sınıflandırılması onkogenezdaki hücre tipine, nöroglial fibrillerin varlı na veya yoklu una, büyümenin makroskopik özelliklerine ve hücrel atipi derecesine göre yapılmaktadır. WHO (World Health Organisation) tarafından 2007 yılındaki histolojik kriterlere dayanılarak yapılan sınıflandırmada, tüm tümörler 7 ana gruba ayrılmı tır (Louis ve ark., 2007). Nöroepital doku tümörleri sınıfında yer alan Glioblastoma multiform, gliomaların en yaygın olanıdır (Chandana ve ark., 2008; Adamson ve ark., 2009). Buna ek olarak, eri kin ya grubunun en sık görülen ve en malign olan beyin tümörüdür (Adamson ve ark., 2009; Weathers ve Groot, 2015; Liebelt ve ark., 2016). GBM, nekroz ve vasküler proliferasyon özelliklerine göre 4. Derece astrositom olarak tanımlanmı tır (Kraakstad ve Chekenya, 2010).

GBM, Erkeklerde, kadınlara oranla daha yaygın görülmektedir (1,58/1 oranında) (Agnihotri ve ark., 2013; Ostrom ve ark., 2016). Glioblastom her ya ta görülebilir ancak yaygın olarak görülen 45-70 arasındaki ya aralı ıdır (Giese ve Westphal, 1996). Hastaların tanı aldıklarındaki ortalama ya ları yakla ık 64'tür (Agnihotri ve ark., 2013). Tanı aldıktan sonra hastaların ortalama sa kalım süresi 12-15 ay arasındadır (Kim ve ark., 2012; Piccolo ve Frey, 2013; Kupnicka ve ark., 2014; Liffers ve ark., 2015). Hastaların yalnızca %12'si tanı aldıktan sonra 36 aydan fazla hayatta kalabilmektedir (Uzun Dönem Hayatta Kalanlar) (Li ve ark., 2016). Be yıllık sa kalım oranı ise %10'dan azdır (Wang ve ark., 2016).

Çalı mamız kapsamında olguların 21 (%77,8)'i 45-70 aralı ındadır. Wang ve arkadaş ları (2016)'nın 842 hasta ile yapmı oldu u meta analiz çalı masında, rekürrens GBM olgularının tanı ya ı medyan de eri 54 olarak bulunmu tur. Bizim çalı mamızda bu de er 52 olarak bulunmu tur. Olgularda 2,38/1 oranında erkek popülasyonununun daha yo un oldu u bulunmu tur. Bu bulgularımız literatürdeki verilerle uyu maktadır. Buna

ek olarak, olgularımızın Uzun Dönem Sa Kalım oranı %22,2 (6 olgu) olarak bulunmu tur. Tüm olguların sa kalım süresi medyan de eri ise 20 ay olarak bulunmu tur. Be yıllık sa kalım oranı %14,8 (4 olgu) olarak saptanmı tır.

Tümör neoangiogenezisinde çok önemli bir rol oynayan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'e kar ı geli tirilen bir monoklonal antikor olan Bevacizumab, birçok tümör tipinde çalı maları süren bir ajandır. Bevacizumab, 2009 yılında rekürens GBM olgularında kullanılmak üzere FDA onayını almı tır (Keating, 2014; Niyazi ve ark., 2015).

Vredenburgh ve arkadaş ları (2007)'nin Irinotekan ile kombine Bevacizumab alan 35 GBM hastasıyla yaptıkları çalı manın bulgularına göre; medyan progresyonsuz sa kalım 5,5 ay iken medyan toplam sa kalım süresi 9,7 ay olarak saptanmı tır. Friedman ve arkadaş ları (2009)'nin yapmı oldu u çalı mada, Bevacizumab ile kombine Irinotekan kullanan rekürrens GBM hastalarında medyan progresyonsuz sa kalım 5,6 ay (95% CI, 4,4-6,2 ay), toplam sa kalım ise 8,7 ay (95% CI, 7,8-10,9 ay) olarak bulunmu tur. Zuniga ve arkadaş ları (2009)'nin Bevacizumab ile kombine Irinotekan alan 37 rekürrens GBM hastası ile yaptı ı çalı manın sonuçlarına göre; medyan progresyonsuz sa kalım 7,6 ay iken, medyan toplam sa kalım de eri 11,5 ay olarak bulunmu tur. Lai ve arkadaş ları (2011) Bevacizumab ile kombine radyoterapi ve Temozolomid alan 70 hastanın progresyonsuz sa kalım ve toplam sa kalım medyan de erlerini sırasıyla, 13,6 ve 19,6 ay olarak bulmu lardır. Fu ve arkadaş larının (2016) yaptı ı meta analiz çalı masında, Bevacizumab tedavisi alan rekürrens 1738 GBM hastasının progresyonsuz sa kalım süreleri 10,6-13,6 ay olarak verilmi tir. Bizim çalı mamızda elde etti imiz bulgulara göre, tüm hastaların medyan progresyonsuz sa kalım de eri 6 ay, medyan toplam sa kalım de eri ise 20 ay olarak bulundu. Literatürdeki sa kalım verileri ile kar ıla tırdı ımızda bulgularımız ortalamalara yakın olarak çıkmı tır.

MGMT, 24 kDa büyüklü ünde 207 amino asitten olu an, hücrel genomu alkilleyici ajanların mutajenik etkilerinden koruyan en önemli DNA tamir proteini dir. MGMT aktivitesinin kolon, pankreas ve akci er tümör dokularında yüksek, beyindeki neoplazmlarda ise dü ük oldu u saptanmı tır. Nüks glioblastomlarda ise MGMT

aktivitesinin arttığı bildirilmektedir (Kaina ve ark., 2010). Tümör süpresör genlerin promotör bölgesindeki CpG adacıklarının hipermetilasyonu, kanserde gen aktivasyonunun anahtar mekanizmalarındandır. Diğer yandan hipometilasyon, cMYC ve H-RAS gibi onkogenlerin aktivasyonu aracılığıyla onkogeneziste rol oynar (Roszkowski ve ark., 2016). Promoter metilasyonunun sağ kalımla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (Hegi ve ark., 2005; Agnihotri ve ark., 2012). MGMT metilasyonu, sekonder GBM'de %75 oranlarında görülür iken, primer GBM'de % 36 civarında görülmektedir (Mao ve Hamoudi, 2000). Literatürde birçok çalışmada metilasyon varlığının prognoz ile ilişkisinin pozitif yönde olduğu unutulmamalıdır. Esteller ve arkadaşları (2000)'na göre, MGMT metilasyonu beyin tümörlerinde klinik seyir açısından önemli rol oynamaktadır. Mirimanoff ve arkadaşları (2006) tarafından yapılan 85 merkezin dahil olduğu ve EORTC/NCIC 26981 – 22981 çalışması kapsamında 206 olgunun analizinde ise olguların % 45'inde MGMT metilasyonu görülmüştür. MGMT metilasyonunun tedaviye bakılmaksızın bağımsız iyi prognostik faktör olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Bizim yaptığımız çalışmada da literatür ile uyumlu olarak olguların %44,4'ünde metilasyon saptanmıştır. Metile olguların sağ kalım süreleri değerlendirildiğinde medyan değer 29 ay (%95 CI: 20,51-37,9), unmetile olguların sağ kalım süresinde ise 15 ay (%95 CI: 9,95-20,05) olarak saptandı ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Log Rank Test; $P=0,047$).

P53 geni, 17. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. İnsan tümörlerinin yaklaşık %50'sinde p53 mutasyonu vardır. En sık görülen tümörler; sarkomlar, lösemi, meme kanseri, beyin tümörleri ve adrenal korteks karsinomlarıdır. p53 geni mutasyonunun astrositik tümörler içinde en sık diffüz astrositomlarda saptanması, p53'ün astrositom onkogenezinde ilk adımlardan biri olduğunu göstermektedir (Yost ve ark., 2013;). p53 genindeki mutasyon sekonder GBM'de %65 iken, primer GBM'de sadece %30 olarak bulunmuştur (Mao ve Hamoudi, 2000). TP53 mutasyonunun ve protein ekspresyonunun prognostik rolü glioblastomlarda net değildir. Parsons ve arkadaşları (2008), GBM olgularında yaptıkları genom analizinde en sık (% 40) de bulunan TP53 geninin, hiçbir prognostik değerinin olmadığını ileri sürmüşlerdir. Ohgaki ve arkadaşları (2004), yaşı baz alınarak çok dejenere analizlerinde TP53 mutasyonu varolan ve olmayan hastalar arasında sağ kalımda bir fark olmadığını göstermiştir. Bizim

çalı mamızda da TP53 mutasyonuna sahip olan ve olmayan hastaların sa kalım süreleri arasında farklılık saptanamamı tır ($p=0,080$). Buna ek olarak Cox Regresyon analizi sonucunda da TP53 mutasyonu ve ölüm riski arasında anlamlı bir ili ki bulunamamı tır ($p=0,093$).

Glioblastoma multiforme geneti inde, tek basamak transformasyon önerilmemi tir ve di er neoplazmlar gibi birçok genetik anomali kazanım sonucunda olu tu u dü ünülmektedir (Kalkan ve Atlı, 2014). Bizim çalı mamızda da 27 hastanın 8'inde (% 29,63) MGMT metilasyonu ve TP53 mutasyonu beraber saptanamı tır. Ancak örnek sayısının kısıtlı olmasından dolayı, bu durumun rastlantısal olup olmadığı de erlendirilememi tir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre;

-) TP53 mutasyonu varlığının, Bevacizumab kullanan GBM hastalarda prediktif olarak herhangi bir önemi saptanmamıştır.
-) MGMT promotor bölgesinde metilasyon varlığı ile sağ kalım arasında bir ilişki saptanmıştır. MGMT metilasyonunun, Bevacizumab kullanan GBM hastalarında prediktif olarak önemli olduğu, metile olguların sağ kalım sürelerinin daha uzun olduğu bulgusu elde edilmiştir.
-) GBM hastalığının genetik olarak heterojen bir yapıda olduğundan dolayı moleküler alt yapısını anlamak ve birey bazında de erlendirmenin tedaviye yanıtta daha verimli olabilece i dü ünülmektedir.
-) Daha fazla olgu ile moleküler çalışmalar yapılarak MGMT metilasyonunun rutinde de erlendirilmesinin tedaviye yanıt açısından faydalı olabilece i dü ünülmektedir.

KAYNAKLAR

Adamson C, Kanu OO, Mehta AI, Di C, Lin N, Mattox AK, Bigner DD, Glioblastoma multiforme: a review of where we have been and where we are going. *Expert Opin Investig Drugs*. 2009 Aug;18(8):1061-83.

Agnihotri S, Burrell KE, Wolf A, Jalali S, Hawkins C, Rutka JT, Zadeh G. Glioblastoma, a Brief Review of History, Molecular Genetics, Animal Models and Novel Therapeutic Strategies. *Arch. Immunol. Ther. Exp*. 2013; 61:25–41.

Ai L, Stephenson KK, Ling W, Zuo C, Mukunyadzi P, Suen JY, Hanna E, Fan CY. The p16 (CDKN2a/INK4a) Tumor-Suppressor Gene in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Promoter Methylation and Protein Expression Study in 100 Cases. *Mod Pathol*. 2003;16(9): 944–950.

Aydemir B, Sarı Ek. Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörünün Yapısı, Fonksiyonları ve Gelişim Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*. 2009; 4 (3): 209-214.

Baka M. *Nörohistoloji*. Nobel Kitapevi, Bölüm 1, 2013.

Barres, BA. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*. 2008; 6;60(3):430-40.

Beal K, Abrey LE, Gutin PH. Antiangiogenic agents in the treatment of recurrent or newly diagnosed glioblastoma: Analysis of single-agent and combined modality approaches. *Radiation Oncology*. 2011; 6(1):1.

Berlin JD. Targeting Vascular Endothelial Growth Factor in Colorectal Cancer. *Oncology*. 2002;16(7):13-15.

Chandana SR, Movva S, Arora M, Singh T. Primary Brain Tumors in Adults. *American Family Physician*. 2008;77(10); 1423-1430.

Chen HX. Expanding the clinical development of Bevacizumab. *The Oncologist*. 2004;9 (1):27-35.

Costello JF. DNA Methylation in Brain Development and Gliomagenesis. *Frontiers in Bioscience*. 2003; 8:175-184.

Çiçek E . Glioblastoma Multiformeli olgularda IDH2 gen mutasyonu ve RAR gen metilasyonunun hastalık prognozu ile birlikte değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2011, Eskişehir, (Danışman: Prof. Dr. Sevilhan Artan).

Ding H, Dai Y, Ning Z, Fan N, Wang Z, Li P, Zhang L, Tao Y, Wang H. Murine Double Minute 2 SNP T309G Polymorphism and Urinary Tract Cancer Risk A Meta-Analysis. *Medicine*. 2016; 95(12): e2941.

Durmaz R, Vural M. Primer ve sekonder glioblastoma multiforme genetiği. *Türk Nöroloji Dergisi*. 2007; 17:80-90.

Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 2000; 343:1350-4.

Fiveash JB, Nordall RA, Markert JM, Ahmed RS, Nabors LB. High-Grade Gliomas. In: Gunderson LL, Tepper JE. eds: *Clinical Radiation Oncology*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2007, p: 515-537.

Focchi GR, Silva ID, Nogueira-de-Souza NC, Dobo C, Oshima CT, Stavale JN. Immunohistochemical expression of p16(INK4A) in normal uterine cervix, nonneoplastic epithelial lesions, and low-grade squamous intraepithelial lesions. *J Low Genit Tract Dis*. 2007 ;11:98-104.

Freedman DA, Levine AJ. Nuclear export is required for degradation of endogenous p53 by MDM2 and human papillomavirus E6. *Mol Cell Biol*. 1998;18(12):7288-93.

Friedman HS, Prados MD, Wen PY, Mikkelsen T, Schiff D, Abrey LE, Yung WK, Paleologos N, Nicholas MK, Jensen R, *et al.* Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 4733-4740.

Fu P, He YS, Huang Q, Ding T, Cen YC, Zhao HY, Wei Z. Bevacizumab treatment for newly diagnosed glioblastoma: Systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Mol Clin Oncol.* 2016; 4(5): 833-838.

Giese A, Westphal M. Glioma invasion in the central nervous system. *Neurosurgery.* 1996;39:235–252.

Grotzer MA, Wiewrodt R, Janss AJ, Zhao H, Cnaan A, Sutton LN, Rorke LB, Phillips PC. High microvessel density in primitive neuroectodermal brain tumors of childhood. *Neuropediatrics.* 2001; 32(2):75-79.

Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, *et al.* MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 997–1003.

Hottinger AF, Stupp R, Homicsko K, Standards of care and novel approaches in the management of glioblastoma multiforme. *Chin J Cancer.* 2014; 33(1), 32-39.

Hurt MR, Moossy J, Donovan-Peluso M, Locker J. Amplification of epidermal growth factor receptor gene in gliomas: histopathology and prognosis. *JNeuropathol.ExpNeurol.* 1992; 51:84-90.

Jesionek-Kupnicka D, Szybka M, Malachowska B, Fendler W, Potemski P, Piaskowski S, Jaskolski D, Papierz W, Skowronski W, Och W, Kordek R, Zawlik I. *TP53* Promoter Methylation in Primary Glioblastoma: Relationship with *TP53*mRNA and Protein Expression and Mutation Status. *DNA Cell Biol.* 2014 Apr 1; 33(4): 217–226.

Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology.* Tenth Edition, McGraw-Hill Companies; 2003.

Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair (Amst).* 2007;6:1079–99.

Kaina B, Margison GP, Christmantn M. Targeting O₆-methylguanine-DNA methyltransferase with specific inhibitors as a strategy in cancer therapy. *Cellular and Molecular Life Science*. 2010; 67(21): 3663-81.

Kalkan R, Atlı E . Geçmi ten Günümüze Glioblastoma Geneti i. *Türk Nöro ir Derg*. 2014; 24(3): 239-249.

Kanu OO, Hughes B, Di C, Lin N, Fu J, Bigner DD, Yan H, Adamson C. Glioblastoma Multiforme Oncogenomics and Signaling Pathways. *Clinical Medicine: Oncology*. 2009;3:39–52.

Keating GM. Bevacizumab: A Review of Its Use in Advanced Cancer. *Drugs*. 2014; 74:1891–1925.

Kim J, Gao L, Tan K. Multi-Analyte Network Markers for Tumor Prognosis. *PLoS One*. 2012; 7:12, e52973.

Krakstad C, Chekenya M. Survival signaling and apoptosis resistance in glioblastoma: oppurtunities for targeted therapeutics. *Molecular cancer*. 2010; 9:135.

Krypuy M, Ahmed AA, Etemadmoghadam D, Hyland SJ, Australian Ovarian Cancer Study Group, deFazio A, Fox SB, Brenton JD, Bowtell DD, Dobrovic A. High resolution melting for mutation scanning of TP53 exons 5–8. *BMC Cancer*. 2007; 7(168): 1-13.

Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. Elsevier Inc., 9th Edition; 2013.

Lai A, Tran A, Nghiemphu PL, Pope WB, Solis OE, Selch M, Filka E, Yong WH, Mischel PS, Liau LM, *et al*: Phase II study of bevacizumab plus temozolomide during and after radiation therapy for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. *J Clin Oncol* 29: 142-148, 2011.

Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*. 1992;358: 15-16.

Lee CH, Jung KW, Yoo H, Park S, Lee SH. Epidemiology of primary brain and central nervous system tumors in Korea. *Journal of Korean Neurosurgical Society*. 2010;48(2): 145-52.

Levene AP, Singh G, Palmieri C. Therapeutic monoclonal antibodies in oncology. *J R Soc Med*. 2005;98:146–152.

Levin VA, Leibel SA, Gutin PH. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 6th Ed. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001, p. 2100-2160.

Li QJ, Cai JQ, Liu CY. Evolving Molecular Genetics of Glioblastoma. *Chinese Medical Journal*. 2016; 129 (4):464.

Li X, Wu C, Chen N, Gu H, Yen A, Cao L, Wang E, Wang L. I3K/Akt/mTOR signaling pathway and targeted therapy for glioblastoma. *Oncotarget*. DOI: 10.18632/oncotarget.7961, 2016.

Liebelt BD, Shingu T, Zhou X, Ren J, Shin SA, Hu J. Glioma Stem Cells: Signaling, Microenvironment, and Therapy. *Stem Cells International*. 2016; 2016:1- 10.

Liffers K, Lamszus K, Schulte A. EGFR Amplification and Glioblastoma Stem-Like Cells. *Stem Cells International*. 2015; Article ID 427518: 11 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/427518>.

Liggett WH Jr, Sidransky D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *J Clin Oncol*. 1998;16(3):1197-206.

Lindahl T, Sedgwick B, Sekiguchi M, Nakabeppu Y. Regulation and expression of the adaptive response to alkylating agents. *Annu Rev Biochem*. 1988;57:133-57.

Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathology*. 2007; 114:97–109.

Mao X, Hamoudi RA. Molecular and cytogenetic analysis of glioblastoma multiforme. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2000;122: 87–92.

Mattar R, Nonogaki S, Silva C, Alves V, Gama-Rodrigues JJ. P53 and Rb tumor suppressor gene alterations in gastric cancer. *Revista do Hospital das Clínicas*. 2004; 59(4): 172-180.

Mirimanoff RO, et al. Radiotherapy and temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: recursive partitioning analysis of the EORTC 26981/22981-NCIC CE3 phase III randomized trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2006; 24 (16): 2563-2569.

Niyazi M, Harter PN, Hattingen E, Rottler M, von Baumgarten L, Proescholdt M, Belka C, Lauber K, Mittelbronn M. Bevacizumab and radiotherapy for the treatment of glioblastoma: brothers in arms or unholy alliance?. *Oncotarget*. 2015; 7(3).

Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, Burkhard C, Schüler D, Probst-Hensch NM, Maiorka PC, Baeza N, Pisani P, Yonekawa Yasuhiro, Ya argil MG, Lütolf UM, Kleihues P. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res*. 2004; 1: 6892-9.

Ohgaki H. Genetic pathways to glioblastomas. *Neuropathology*. 2005;25(1):1-7.

Ostrom QT, et al. American Brain Tumor Association Adolescent and Young Adult Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro-oncology*. 2016; 18.suppl 1: 1-50.

Paff M, Abrams DA, Hsu FP, Bota DA. The evolution of the EGFRvIII (rindopepimut) immunotherapy for glioblastoma multiforme patients. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2014;10 (11):3322-3331.

Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu IM, Gallia GL, Olivi A, McLendon R, Rasheed BA, Keir S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Busam DA, Tekleab H, Diaz LA Jr, Hartigan J, Smith DR, Strausberg RL, Marie SK, Shinjo SM, Yan H, Riggins GJ, Bigner DD, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G,

Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008; 321:1807-1812.

Piccolo SR, Frey LJ. Clinical and molecular models of Glioblastoma multiforme survival. *Int J Data Min Bioinform*. 2013 ; 7(3): 245–265.

Rao SAM, Arimappamagan A, Pandey P, Santosh V, Hegde AS, Chandramouli BA, Somasundaram K. miR-219-5p Inhibits Receptor Tyrosine Kinase Pathway by Targeting EGFR in Glioblastoma. *PLoS One*. 2013; 8(5): e63164.

Redmond KJ, Mehta M. Stereotactic Radiosurgery for Glioblastoma. *Cureus*. 2015; 7 (12):e413. doi: 10.7759/cureus.413.

Roszkowski K, Furtak J, Zurawski B, Szyberg T, & Lewandowska MA. Potential Role of Methylation Marker in Glioma Supporting Clinical Decisions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016; (17) 11: 1876.

Roy S, Lahiri D, Maji T, Biswas J. Recurrent Glioblastoma: Where we stand. *South Asian J Cancer*. 2015; 4(4): 163–173.

Sarkar C, Jain A, Suri V. Current concepts in the pathology an genetics of gliomas. *Indian Journal of Cancer*. 2009; 46 (2): 108.

Söker S. Ganglion. *Dicle Tıp Dergisi*. 2006; 33 (4): 273-277.

Söylemezo lu F. Astrositom Progresyonunun Moleküler Genetik Temelleri. *Türk Nöro irurji Dergisi*. 2000; 10: 169 - 175.

Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol*. 2009;10:459–66.

Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005; 352: 987–996.

T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık istatistikleri Yıllığı, 2016.

TND. Nöroonkolojik Cerrahi Ö retim ve E itim Grubu Bülteni. *Turkish Neuro-Oncology Group Bülten*. 2008; 12-18.

Verkhratsky AN, Butt A. *Glial neurobiology a textbook*. John Wiley & Sons, 2007, Chapter I, p.:3-12.

Wang Y, Xing D, Zhao M, Wang J, Yang Y . The Role of a Single Angiogenesis Inhibitor in the Treatment of Recurrent Glioblastoma Multiforme: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Plos One*. 2016, 1-13. DOI:10.1371/journal.pone.0152170.

Weathers SP, de Groot J. VEGF manipulation in glioblastoma. *Oncology*. 2015; 29 (10): 719-719.

Westermarck B, Heldin CH. Platelet-derived growth factor. Structure, function and implications in normal and malignant cell growth. *Acta Oncol*. 1993;32(2):101-105.

Wrensch M, Minn Y, Chew T, Bondy M, Berger MS. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neuro Oncol*. 2002 Oct;4(4):278-99.

Yost SE, Pastorino S, Rozenzhak S, Smith E., Chao YS, Jiang P, Kesari S, Frazer K A, Harismendy O. High-Resolution Mutational Profiling Suggests the Genetic Validity of Glioblastoma Patient-Derived Pre- Clinical Models. *PLoS ONE*. 2013; 8(2): e56185.

Zhang X, Zhang W, Cao WD, Cheng G, Zhang YQ. Glioblastoma multiforme: Molecular characterization and current treatment strategy (Review), *Experimental And Therapeutic Medicine*. 2012; 3: 9-14.

Zuniga RM, Torcuator R, Jain R, Anderson J, Doyle T, Ellika S, Schultz L and Mikkelsen T: Efficacy, safety and patterns of response and recurrence in patients with recurrent high-grade gliomas treated with bevacizumab plus irinotecan. *J Neurooncol* 91: 329-336, 2009.

ÖZGEÇM

Kişisel Bilgiler

Adı	Zehra	Uyru u	Türkiye Cumhuriyeti
Soyadı	Boztepe	Tel no	
Do um tarihi	07.05.1988	e-posta	Boztepezehra@hotmail.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun oldu u kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Saime Salih Konca Lisesi	2005
Lisans	Akdeniz Üniversitesi Biyoloji Bölümü	2009
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Biyoloji Bölümü	2012
Doktora	-	-

Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Saha Koordinatörü	Monitör CRO	2012-2013
Saha Koordinatörü	Optimum CRO	2013-devam

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	ÜDS (Fen Bilimleri)	66.250

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Model cins <i>Anterastes</i> (Orthoptera, Tettigoniidae) türlerinin belirteç gen 16S rDNA verileri: tür, türle me, filoco rafya ve koruma geneti i yönüyle de erlendirme	TÜB TAK-1001	2009-2010
<i>Poecilimon luschani</i> tür grubunun (Orthoptera, Phaneropterinae) 16S rDNA filogenisi, filoco rafyası ve taksonomisi	TÜB TAK-1002	2010-2011
<i>Poecilimon Luschani</i> Tür Grubu (Orthoptera, Tettigoniidae): Taksonomisi, Filogenisi Ve Filoco rafyası	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Koordinasyon Birimi	2010-2012
GBM (Glioblastoma Multiforme)tanılı, Bevacizumab tedavisini alan hastalarda TP53 Proje Ba lı ı mutasyonu ve MGMT metilasyonunun prediktif de erinin ara tırılması	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Koordinasyon Birimi	2014-2016

Burslar-Ödüller:

- J) Model cins *Anterastes* (Orthoptera, Tettigoniidae) türlerinin belirteç gen 16S rDNA verileri: tür, türle me, filoco rafya ve koruma geneti i yönüyle de erlendirme- TÜB TAK 1001 Projesi (Kasım 2009-Kasım 2010).

-) *Poecilimon luschani* tür grubunun (Orthoptera, Phaneropterinae) 16S rDNA filogenisi, filoco rafyası ve taksonomisi –TÜB TAK 1002 Projesi (Nisan 2010-Nisan 2011).

Yayınlar ve Bildiriler:

Yayınlar;

) Kaya S, **Boztepe Z**, Çıplak B. 2013. Phylogeography of *Troglophilus* (Orthoptera: Troglophilinae) based on Anatolian members of the genus: radiation of an old lineage following the Messinian. *Biological Journal of the Linnean Society* **108**: 335–348.

) **Boztepe, Z**, Kaya S, Çıplak B. 2013. Integrated systematics of the *Poecilimon luschani* species group (Orthoptera, Tettigoniidae): radiation as a chain of populations in a small heterogeneous area. *Zoological Journal of the Linnean Society* **169**: 43-69.

) Kaya S, **Boztepe, Z**, Çıplak B. 2015. Phylogeography of the *Poecilimon luschani* species group (Orthoptera, Tettigoniidae): a radiation strictly correlated with climatic transitions in the Pleistocene. *Zoological Journal of the Linnean Society* 173(1): 1-21.

) Çıplak B, Kaya S, **Boztepe Z**, Gunduz I. 2015. Mountainous genus *Anterastes* (Orthoptera, Tettigoniidae): Autochthonous survival in refugial habitats across several glacial ages via vertical range shifts. *Zoologica Scripta*, doi:10.1111/zsc.12118.

Bildiriler;

) Aytac A, Konu P, **Boztepe Z**, Kaya S & Ciplak B. 2009. Morphometry for taxonomy of *Anterastes*: partly congruent qualitative and quantitative morphologies. 10th International Congress of Orthopterology, 21-25 June 2009, Antalya-Turkey

) **Boztepe Z**, Aytac A, Konu P, Kaya S & Ciplak B. *Anterastes* taksonomisi için morfometri : Kalitatif ve kantitatif morfometride kısmi uyumluluk. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010, Denizli Pamukkale Üniversitesi

) **Boztepe Z**, Kaya S & Ciplak B.2012. *Poecilimon luschani* grubunun (Orthoptera, Tettigoniidae) taksonomisi: kullanı sız fenotip ve kullanı lı genotip. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03-07 Eylül 2012, Ege Üniversitesi.

) **Boztepe Z**, Kaya S & Ciplak B.2012. *Poecilimon luschani* grubunun (Orthoptera, Tettigoniidae) filoco rafyası: güney-batı Anadolu'da yerel halkasal türle me mi? 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03-07 Eylül 2012, Ege Üniversitesi.

) Kaya S, **Boztepe Z** & Ciplak B.2012. *Anterastes babadaghi* grubunun (Orthoptera, Tettigoniidae) filoco rafyası: yayılı koridoru olarak da sıraları. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03-07 Eylül 2012, Ege Üniversitesi.