

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**GLİOBLASTOM OLGULARINDA IDH-1 MUTASYONUNUN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE REAL TIME PCR YÖNTEMLERİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ VE RADYOLOJİK BULGULAR İLE KORELASYONU**

DR. U MAY K İ R A Z

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

KOCAELİ- 2020

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**GLİOBLASTOM OLGULARINDA IDH-1 MUTASYONUNUN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE REAL TIME PCR YÖNTEMLERİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ VE RADYOLOJİK BULGULAR İLE KORELASYONU**

DR. U MAY K İ R A Z

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ÇİĞDEM VURAL

**ETİK KURUL ONAY TARİHİ: 08/05/2019, PROJE NO: KÜ GOKAEK 2019/198
KOCAELİ- 2020**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Santral sinir sistemi tümörleri ve güncel sınıflama	3
2.2 Glioblastomların genel özellikleri.....	6
2.2.1 Tanım	6
2.2.2 Epidemiyoloji	6
2.2.3 Etiyoloji.....	7
2.2.4 Lokalizasyon.....	7
2.2.5 Klinik özellikler	7
2.2.6 Görüntüleme.....	7
2.2.7 Yayılımı.....	9
2.2.8 Makroskopik özellikler.....	9
2.2.9 Mikroskopik özellikler	10
2.2.10 Belirli hücresel elemanların varlığına göre yapılan histolojik sınıflandırma	12
2.2.11 Glioblastom varyantları	13
2.2.12 Ayırıcı tanı	14
2.2.13 İmmünofenotip.....	15
2.2.14 Genetik profil	15
2.2.15 Tedavi.....	18
2.2.16 Prognoz	19
2.3 Glioblastom, IDH-Mutant tip	20
2.4 Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçler.....	21
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1 Olguların seçimi ve verilerin toplanması.....	22
3.2 Klinik parametreler	22
3.3 Olguların histopatolojik olarak değerlendirilmesi	22

3.4 Olguların radyolojik olarak değerlendirilmesi	23
3.5 İmmünohistokimyasal boyama yöntemi	24
3.6 İmmünohistokimyasal belirteçlerin değerlendirilmesi.....	24
3.7 Real-Time PCR yöntemi	25
3.7.1. DNA izolasyonu.....	25
3.7.2. Real-Time PCR	26
3.7.3. Allelik diskriminasyon analizi	27
3.8 Real-Time PCR yönteminin değerlendirilmesi	27
3.9 Etik kurul onayı	27
3.10 İstatistiksel analiz.....	27
4.BULGULAR.....	29
4.1 Olguların klinikopatolojik özellikleri.....	29
4.1.1 Cinsiyet	29
4.1.2 Yaş	29
4.1.3 Şikayet.....	31
4.1.4 Takip süresi	32
4.2. Tümörün histopatolojik özellikleri:	32
4.2.1 Tümörün hücre morfolojisi/tipi.....	32
4.2.2 Pleomorfizm	37
4.2.3 Sellülarite	37
4.2.4 Heterojenite	38
4.2.5 Mikrovasküler proliferasyon ve vasküler tromboz	38
4.2.6 Nekroz ve nekroz çevresi palizatlanma	41
4.2.7 Mitoz	43
4.3 Tümörün radyolojik özellikleri:	44
4.3.1 Tümör boyutu	44
4.3.2 Tümör yerleşimi.....	45
4.3.3 Görüntülemelerde ödem, nekroz, kist, hemoraji-kalsifikasyon, satellit varlığı ve multifokalite	46
4.3.4 Radyolojik veriler eşliğinde IDH mutasyon değerlendirilmesi	49
4.4 İmmünohistokimyasal değerlendirme sonuçları.....	49
4.4.1 IDH.....	49

4.4.2 Ki67 proliferasyon indeksi	52
4.5 Real time PCR değerlendirme sonuçları	55
5. TARTIŞMA	57
5.1 Çalışmamızın kısıtlılıkları	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
7. ÖZET	70
8. İNGİLİZCE ÖZET.....	72
9. KAYNAKÇA.....	74



TEŞEKKÜR

İlk günümünden itibaren mesleki yaklaşımını ve deneyimlerini sabırla, bir aile olduğumuzu hissettirerek aktaran, tezimin oluşmasında büyük emeği geçen ve beni hep destekleyen sevgili tez danışmanım Doç. Dr. Çiğdem Vural'a,

Asistanlık eğitimim boyunca üzerimde emekleri olan, tüm bilgi, beceri ve deneyimlerini aktararak mesleki gelişimimde büyük katkılar sağlayan, her birini ayrı ayrı birçok yönü ile örnek aldığım başta Anabilim dalı başkanımız hocam Prof. Dr. Sevgiye Kaçar Özkara olmak üzere birlikte çalışmayı şans gördüğüm tüm saygıdeğer hocalarıma,

Birlikte öğrenmekten ve çalışma hayatımı paylaşmaktan her zaman mutluluk duyduğum ve keyif aldığım tüm sevgili asistan arkadaşlarıma,

Patoloji laboratuvarında birlikte çalıştığım tüm teknisyen, sekreter ve personel arkadaşlarıma,

Hayatımı güzelleştiren, varlıkları ile mutlu olduğum tüm canım dostlarıma,

Her koşulda yanımda olan, desteklerini ve sevgilerini her daim hissettiğim, bana iyi insan olmayı öğreten, emekleri ödenmez ve bugünümün mimarları çok sevdiğim anneme ve babama,

Bana yeni ufuklar açan, varlığını şans gördüğüm çok sevdiğim kardeşime,

Teşekkür ederim.

*Dr. Umay Kiraz
Kocaeli, Ekim 2020*

KISALTMALAR DİZİNİ

ATRX: A-talasemi / mental retardasyon sendrom X geçişli

BBA: Büyük Büyütme Alanı

CDKN2A: Sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A

DNA: Deoksiribonükleik asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EGFR: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü

FFPE: Formol-fikse parafin-gömülü

GFAP: Glial Fibriller Asidik Protein

H-E: Hematoksilen-Eozin

IDH: Isositrat Dehidrogenaz

İHK: İmmünohistokimya

MDM2: “*Mouse double minute 2 homolog*”

MGMT: O-metilguanin DNA metil transferaz

MR: Manyetik Rezonans

NCET: Kontrastlanmayan solid komponent

NF1: Nörofibromin-1

NOS: “*Not Otherwise Specified*”

OLIG2: Oligodendrosit Transkripsiyon Faktörü-2

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PTEN: Fosfataz ve Tensin Homoloğu

RT-PCR: Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SSS: Santral Sinir Sistemi

TERT: Telomeraz Revers Transkriptaz

WT-1: Wilm’s Tümör Proteini-1

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. 2016 DSÖ Santral sinir sistemi tümörleri sınıflaması.....	5
Tablo 2. Olguların IDH1 mutasyon durumları ve cinsiyetlerinin karşılaştırması (p=0,527).	29
Tablo 3. Cinsiyete göre yaş ortalama ve median değerleri (p=0,979).....	29
Tablo 4. IDH mutasyon durumuna göre olguların yaş ortalamaları (p=0,445).	30
Tablo 5. Olguların cinsiyetlerinin yaş gruplarına göre dağılımı (p=0,955).....	30
Tablo 6. IDH-mutant ve IDH-wild tip olguların yaş gruplarına göre dağılımı (p=0,618).	31
Tablo 7. Hücre tipi ile IDH1 mutasyonu arasındaki ilişki.....	36
Tablo 8. Dev hücre varlığının IDH1 mutasyonu ile ilişkisi (p=1,000).....	36
Tablo 9. Pleomorfizm ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonun karşılaştırması (p=0059).....	37
Tablo 10. Tümör histopatolojik özellikleri ile IDH mutasyonu durumlarının karşılaştırması.....	40
Tablo 11. IDH1 mutasyon sonucuna göre nekroz ortalama ve median değerleri (p=0,762).	41
Tablo 12. Nekroz gruplamasının RT-PCR ile ilişkisi (p= 0,483).	42
Tablo 13. IDH1 mutasyon durumuna göre mitoz ortalama ve median değerleri (p=0,009).	44
Tablo 14. Tümör yerleşim yerlerinin IDH1 mutasyonu ile ilişkisi.....	46
Tablo 15. Radyolojik olarak ödem bulunması ve RT-PCR ile IDH mutasyon durumu sonuçlarının karşılaştırılması (p=1,000).	47
Tablo 16. Radyolojik olarak nekroz bulunması ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,114).....	47
Tablo 17. Radyolojik olarak tümöre eşlik eden kist varlığı ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,437).....	47
Tablo 18. Radyolojik olarak tümörün hemoraji ve kalsifikasyon içermesi ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,133).	48
Tablo 19. Radyolojik olarak satelit bulunması ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,435).....	48

Tablo 20. Radyolojik olarak multifokalite ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=1,000).	49
Tablo 21. Radyolojik olarak IDH mutasyon varlığı ile RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun varlığı arasındaki ilişki (p=0,034).	49
Tablo 22. İHK yöntemi ile IDH1 boyanması ve RT-PCR ile IDH1 mutasyon durumunun karşılaştırılması (p=0,000).	51
Tablo 23. Pleomorfizm ve İHK ile IDH1 boyanmasının karşılaştırılması (p=0,018).	51
Tablo 24. Tümörün histopatolojik özellikleri ve İHK ile IDH1 boyanma durumlarının karşılaştırılması.	52
Tablo 25. Ki67 proliferasyon indeksi ve IDH1 mutasyon durumlarının karşılaştırılması (p=0,005).	54
Tablo 26. İmmünohistokimyasal olarak gruplandırılmış Ki67 proliferasyon indeksi ve RT-PCR ile IDH1 mutasyon durumlarının karşılaştırılması (p=0,003).	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Sağ parietal bölge yerleşimli 2,5cm çapında glioblastom olgusunun MR görüntülemesi.	8
Şekil 2. Makroskopik olarak glioblastom kesit yüzü.....	10
Şekil 3. Primer ve sekonder glioblastom oluşum mekanizması ²¹	18
Şekil 4. Başvuru şikayet grafiği.....	32
Şekil 5. Olguların baskın hücre morfolojisine göre dağılımı.....	33
Şekil 6. Konvansiyonel tip glioblastom (H-Ex400).....	33
Şekil 7. Gemistositik hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex400).	34
Şekil 8. Dev hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex400).	34
Şekil 9. Oligodendrioglial hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex400).	35
Şekil 10. Küçük hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex200).	35
Şekil 11. Şiddetli pleomorfizm (H-Ex400).	37
Şekil 12. Glioblastomlarda mikrovasküler proliferasyon ve glomerüloid yumaklar (H-Ex200).	38
Şekil 13. Glioblastomlarda artmış vasküler trombozlar (H-Ex100).	39
Şekil 14. Glioblastomlarda nekroz ve nekroz çevresi palizatlanma (H-Ex200).	43
Şekil 15. Glioblastomlarda artmış mitoz sayısı ve atipik mitoz (H-Ex400).	44
Şekil 16. Tümör yerleşim yeri.	45
Şekil 17. İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik ve nükleer IDH1 immünreaktivitesi (IDHx400).	50
Şekil 18. İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik ve nükleer IDH1 immünreaktivitesi (IDHx400).	50
Şekil 19. İmmünohistokimyasal olarak nükleer Ki67 immünreaktivitesi (Ki67x400)...	53
Şekil 20. Olguların amplifikasyon görüntüsü.	55
Şekil 21. Olguların allelik diskriminasyon görüntüsü.	56

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Glioblastom; astrositik diferansiyasyon gösteren yüksek dereceli bir gliom olup,¹ erişkinlerde en sık görülen malign beyin tümörüdür. İntrakranial tümörlerin %15'ini, primer malign beyin tümörlerinin ise %45-50'sini oluşturur.^{2,3} En sık 55-85 yaş aralığında izlenmekle birlikte her yaşta görülebilir.⁴

Sıklıkla serebral hemisferlerde subkortikal beyaz madde ve derin gri madde yerleşimlidir.⁵ En sık etkilenen bölgeler sırasıyla temporal, parietal, frontal ve oksipital lobtur.⁶

Santral sinir sistemi tümörlerinde en son ve güncel sınıflama olan 2016 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflaması ile entegre tanı sistemi sınıflandırılmada kullanılmaya başlanmıştır. Glioblastomlar derece-IV tümörlerdir. Tanının temelinde histopatoloji yer almakla birlikte, asıl isimlendirme moleküler özelliklerine göre yapılmaktadır.

Glioblastomlar makroskopik olarak; büyük, düzensiz sınırlı kitleler olup çevre dokuya invazyon gösterirler. Kesit yüzleri; hemorajik, nekrotik, sarı-gri renkte görülen glioblastomların tanısı için histopatolojik olarak; astrositik morfoloji gösteren bir tümörde mikrovasküler proliferasyon, mitoz ve / veya nekroz izlenmesi gereklidir. Moleküler özelliklerine göre glioblastomlar izositrat dehidrogenaz (IDH) mutasyon durumuna göre iki gruba ayrılırlar ve bu glioblastom sınıflamasının çekirdeğini oluşturur.¹ IDH mutasyonuna göre; tümörlerin %90'ını oluşturan, mutasyonun görülmediği tümörler IDH-wild tip (primer) glioblastomlar ve %10'unu oluşturan, IDH mutasyonu gösteren tümörler ise IDH-mutant tip (sekonder) glioblastomlar olarak sınıflandırılırlar.⁴ Ayrıca; IDH mutasyonunu saptayacak yöntemlerin bazı laboratuvar merkezlerinde sağlanamaması durumunda, tanı için yetersiz bilgi olduğunu belirten “*Not otherwise specified (NOS)*” terimi kullanılmaktadır.¹

IDH-mutant tümörlerde IDH1-R132H en sık izlenen mutasyondur. Bu mutasyon varlığı altın standart bir yöntem olan Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile saptanabileceği gibi, immünohistokimyasal olarak da gösterilebilir.⁷ Ancak immünohistokimyasal olarak IDH1 pozitifliğinin saptanmasının spesifitesi % 100 olmakla birlikte sensitivitesi daha düşüktür.⁸

IDH mutasyonunun saptanması radyolojik görüntüleme yöntemleri ile de yapılabilmektedir. Tümörün yerleşim yeri, boyutu, kist varlığı, kontrast tutan / tutmayan

alanın büyüklüğü, nekroz ve ödem varlığı gibi parametrelerin preoperatif olarak Manyetik rezonans (MR) görüntüleme ile değerlendirilerek IDH mutasyon varlığının saptanabileceği çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir.⁹

Hızlı ilerleyen bir tümör olan ve ölümcül seyreden glioblastomlar tedaviye dirençli tümörlerdir ve tedavilerinde multidisipliner bir yaklaşım gerektirirler. Genel olarak tedavisiz sağkalımı yaklaşık 3 aydır. Ancak; IDH-mutant ve IDH-wild tip glioblastomlar biyolojik ve klinik olarak farklılıklar göstermektedirler ve klinik gidişi öngörmek için bu ayırımın yapılabilmesi önemlidir. Örneğin; IDH-mutant tümörlerin IDH-wild tip glioblastomlara göre sağkalım süreleri daha uzun olup,¹⁰ bu tümörler daha genç yaşta görülürler (ortalama yaş 48'dir).⁴ Ayrıca IDH-mutant glioblastomlar daha çok frontal lobu tutmayı tercih ederler.⁵

Biz bu çalışmamızda; glioblastom tanısı için gerekli olan veya sık görülen histopatolojik özellikleri (pleomorfizm, heterojenite, sellülarite, mikrovasküler proliferasyon, vasküler tromboz, nekroz, nekroz çevresi palizatlanma, mitoz) ve tümörün preoperatif MR görüntüleme özellikleri (yerleşim yeri, ödem, kist, nekroz, boyut, satellit, multifokalite) ile bunların IDH-mutant veya IDH-wild tip olan glioblastomlardaki görülme sıklığı ve ilişkisini inceledik. Ayrıca IDH mutasyonunu belirlemede altın standart olan RT-PCR yöntemi ile yaygın olarak kullanılan immünohistokimya (İHK) yöntemi arasındaki ilişkiyi araştırdık. Ek olarak; noninvaziv bir yöntem olan MR görüntülemesinde tümörün özelliklerinin preoperatif incelenmesi ile IDH mutasyon varlığının korelasyonunu araştırmayı, tüm bu yöntemlerin sensitivite ve spesifitesini belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Santral sinir sistemi tümörleri ve güncel sınıflama

Beyin ve santral sinir sistemi (SSS) tümörleri sıklık sırasına göre tüm dünyada ondokuzuncu,¹¹ Türkiye’de ise onbirinci sırada görülen¹² tümörlerdir.

Kanser istatistikleri her yıl Amerika Kanser Birliği tarafından yayınlanmaktadır. 2019 yılına ait verilerde, primer malign beyin tümörü tanısı alan tahmini 23.820 yeni olgu ve tahmini 17.760 ölüm vardır.¹³ Türkiye’de ise kayıt sisteminin yeterli uygulanmaması sebebiyle güncel kanser verileri bulunmamaktadır. 2016 yılında Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü tarafından kanser istatistik verileri toplanmış, Türkiye’de beyin ve diğer sinir sistemi tümörlerinin yıllık olgu sayısı 2.071 olarak saptanmıştır.¹²

Beyin tümörleri ilk olarak 1829’da Cruveilhier, ardından 1836’da Bressler tarafından makroskopik olarak tanımlanmış; daha sonra Virchow tarafından sınıflandırılmıştır.¹⁴ DSÖ sınıflaması ise 1993’te yayınlanmış olup, beyin tümörleri benignen maligne doğru 1 ile 4 arasında derecelendirilmiştir.¹⁵ 1993-DSÖ sınıflamasında bu tümörlerin klasifikasyonu histopatolojik özelliklerin yanı sıra hastaların yaşam sürelerine göre yapılmıştır. 2000 ve 2007 yıllarında yayınlanan DSÖ sınıflamasında ise tekrar düzenlenmiş^{6,16} ve tümörler histolojik benzerlikler, immünohistokimyasal boyanma sonuçları ve elektron mikroskopik görüntülerin değerlendirilmesine göre ayrılmıştır.¹ Son yirmi yıldaki çalışmalar ile de bu tümörlerin tümörenezisinin altında yatan genetik değişiklikler açıklığa kavuşturulmuştur.¹⁷ 2007 DSÖ sınıflamasında bu genetik değişikliklerin çoğu yayınlanmış; ancak genetik değişiklikler neoplazmaları tanımlamak için kullanılmayıp, sadece ek bilgi olarak belirtilmiştir.¹

2014’de Haarlem’de gerçekleştirilen Uluslararası Nöropatoloji toplantısında, genetik ve moleküler bilgilerin, güncel klinik uygulamaları olumsuz biçimde etkilemeden bu tümörlerin sınıflandırılmasında kullanılması gerektiği kabul edilmiş, moleküler bilgilerin tanıda kullanımını öngören “entegre tanı” sisteminin uygulanması kararlaştırılmıştır. Entegre tanı, histolojik tip, DSÖ derecesi ve moleküler değişiklikleri içeren basamaklı bir yorumu içermektedir.¹⁸

En son ve güncel sınıflama olan 2016 DSÖ sınıflaması ile SSS tümörlerinde bu entegre tanı sistemi kullanılmaya başlanmıştır (Tablo 1).¹ Buna göre; sınıflamadaki kategorilerden biri ve SSS parankiminin en sık primer tümörleri olan “diffüz astrosit ve oligodendrosit kökenli tümörler” histopatolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak derecelendirilirler.¹⁹

Astrositik tümörler; Derece-I (pilositik astrositom, subependimal dev hücreli astrositom, anjiosentrik gliom), Derece-II (diffüz astrositom, pleomorfik ksantoastrositom, 3. ventrikülün kordoid gliomu), Derece-III (anaplastik astrositom, anaplastik pleomorfik ksantoastrositom) ve Derece-IV (glioblastom) olarak, oligodendrogliom ve Derece-II (oligodendrogliom) ve Derece-III (anaplastik oligodendrogliom) olarak sınıflandırılırlar. Bu histopatolojik değerlendirme tümörün biyolojik davranışı ve tedaviye cevabı hakkında fikir vermektedir. Derece-I tümörler düşük proliferasyona sahiptir ve rezeksiyon sonrası kür ihtimali vardır. Derece-II tümörler ise düşük proliferasyona sahip olsa dahi, infiltratif özellikte olabilirler, rekürrens ihtimali olan tümörlerdir ve daha yüksek dereceli bir tümöre progrese olma eğilimi gösterirler. Derece-III tümörler; belirgin artmış atipi ve artmış mitoz gibi malignite kriterlerine sahiptir ve tam rezeksiyon sonrası radyoterapi ve / veya kemoterapi tedavisi alırlar. Derece-IV olan tümörler; belirgin malignite kriterlerine sahip (atipi, mitoz, atipik mitoz, nekroz), çevre dokuya yaygın infiltrasyon gösteren ve hızlı ilerleyişli, fatal seyirli tümörler olup, rezeksiyon sonrası radyoterapi ve / veya kemoterapi ile tedavi edilirler.¹

Glioblastomlar 2016 DSÖ sınıflamasına göre histolojik olarak Derece IV tümörler olup; bu sınıflamada şimdiye kadar kullanılan ve histolojik özelliklerinin çok çeşitli olmasından kaynaklanan “multiforme” tabiri kaldırılmıştır.⁶

Glioblastomda sınıflamanın temelinde histopatoloji yer almakla birlikte, tümörler moleküler özelliklerine göre adlandırılırlar.¹ Glioblastom tanısı, astrositik morfoloji gösteren bir tümörde mikrovasküler proliferasyon, mitoz ve/veya nekroz izlenmesi ile verilmektedir. IDH mutasyonu ise sınıflamanın çekirdeğini oluşturmaktadır olup glioblastomlar, IDH mutasyon durumuna göre kategorize edilirler¹ ve 2 gruba ayrılırlar: tümörlerin %90’ını oluşturan IDH-wild tip (primer) glioblastomlar ve %10’unu oluşturan IDH-mutant tip (sekonder) glioblastomlar.⁴ Bu mutasyon immünohistokimyasal yolla ya da Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanılarak saptanabilen bir mutasyon olup bazı patoloji laboratuvarlarında bu yöntemleri uygulayacak ekipmanların yokluğu sebebiyle moleküler özelliklerin test edilemediği veya test sonuçlarının belirsiz olduğu olgular için 2016 DSÖ sınıflamasına “*Not Otherwise Specified (NOS)*” terimi dahil edilmiştir. NOS terimi spesifik bir tanı için yetersiz bilgi olduğunu belirtmektedir.¹

Primer ve sekonder glioblastom terimi aslında ilk kez 1940 yılında Schere tarafından kullanılmış; astrositomlardan gelişen sekonder glioblastomun, primer glioblastomdan

mutlaka ayırt edilmesi gerektiği, çünkü bu tümörlerin klinik ve biyolojik açıdan farklılıklar gösterdiği, genomik profillerinin farklı olduğu ve farklı genetik yolları kullandığı belirtilmiştir.^{20,21} İleri yaşta de novo ortaya çıkan primer lezyonlar genellikle IDH-wild tip tümörler olup, hızlı ilerler ve ilk 3 ayda klinik belirti verirler. IDH-mutant glioblastomlar ise daha genç yaşta görülen ve düşük dereceli diffüz glial tümörden progrese olan sekonder tümörlerdir.^{22,23}

Tablo 1. 2016 DSÖ Santral sinir sistemi tümörleri sınıflaması.

<p><i>Diffüz astrositik ve oligodendroglial tümörler</i></p> <ul style="list-style-type: none">-Diffüz astrositom, IDH-mutant<ul style="list-style-type: none"> Gemistositik astrositom, IDH-mutant- Diffüz astrositom, IDH-wild tip- Diffüz astrositom, NOS - Anaplastik astrositom, IDH-mutant- Anaplastik astrositom, IDH-wild tip- Anaplastik astrositom, NOS - Glioblastom, IDH-mutant- Glioblastom, IDH-wild tip<ul style="list-style-type: none"> Dev hücreli glioblastom Gliosarkom Epiteloid glioblastom- Glioblastom, NOS - Diffüz orta hat gliomu, H3 K27M-mutant - Oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyonu- Oligodendrogliom, NOS - Anaplastik oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q-kodelesyonu- Anaplastik oligodendrogliom, NOS

- Oligoastrocitom, NOS
- Anoplastik Oligoastrocitom, NOS

Diğer astrocitik tũmũrler

Ependimal tũmũrler

Diğer gliomlar

Koroid pleksus tũmũrleri

Nũronal ve mikst nũronal-gliyal tũmũrler

Pineal gland tũmũrleri

Embriyonel tũmũrler

Kranial ve paraspinal sinir tũmũrleri

Meningiomlar

Mezenkimal, non-meningotelyal tũmũrler

Melanositik tũmũrler

Lenfomalar

Histiositik tũmũrler

Germ hũcreli tũmũrler

Ailesel tũmũr sendromlarĩ

2.2 Glioblastomların genel ۆzellikleri

2.2.1 Tanım

Glioblastom; infiltratif yũksek dereceli gliomdur.¹ Erişkinlerde en sık gũrũlen malign beyin tũmũrũ olup primer malign beyin tũmũrlerinin yaklaşık yarısını oluşturur.^{2,3}

2.2.2 Epidemiyoloji

Glioblastom, intrakranial tũmũrlerin %15'ini, primer malign beyin tũmũrlerinin ise %45-50'sini oluşturur.^{2,3} Avrupa, kuzey Amerika ve Avustralya'da 100.000'de 3-4 kişide gũrũlũrken, doğu Asya'da 100.000'de 0,59 kişide gũrũlmektedir.^{24,25}

Glioblastom bũtũn yaşlarda saptanabilirken, en sık 55-85 yaş aralığında izlenmektedir. 40 yaşın altında az gũrũlmekle birlikte çocukluk çağında çok nadir olarak izlenir. Erkek / kadĩn oranĩ ũlkelere gũre değişmekte olup, 1,6 / 1 oranındadır.^{1,3}

2.2.3 Etiyoloji

Glioblastoma neden olan çoğu etkenler tam olarak bilinmemekle birlikte, çevresel ve genetik nedenler yanı sıra, spesifik Mendelyan sendromlar ile de ilişkilendirilmiştir. Non-iyonize radyasyon ve mesleki maruziyet ilişkisi kanıtlanmamış olup bu tümör ile tek ilişkilendirilen risk faktörü baş-boyun bölgesine uygulanan iyonize radyasyon terapisi'dir.^{1,25} Glioblastomun, Turcot sendromu, Li-Fraumeni sendromu, Nörofibromatozis Tip 1 gibi bazı ailesel hastalıklarla birlikteliği gösterilmiştir. Daha nadir olan Ollier-tip multipl enkondromatozisten de bahsedilmektedir.²⁶ Ayrıca L-2-hidroksiglutarik asidüri tanılı hastalarda beyin tümörü hatta glioblastom geliştiği literatürde belirtilmiştir.²⁷

2.2.4 Lokalizasyon

Glioblastom sıklıkla serebral hemisferlerde subkortikal beyaz madde ve derin gri madde yerleşimlidir. Zürih Üniversite Hastanesi'nde 987 glioblastom olgusuyla yapılan çalışmada, en sık etkilenen bölgeler: %31 temporal lob, %24 parietal lob, %23 frontal lob, %16 oksipital lob olarak bildirilmiş olup; Amerika'da da lokalizasyonların benzer olduğu belirtilmiştir.^{6,25} Tümör yayılımı genellikle komşu kortekse ve korpus kallozum aracılığı ile kontralateral hemisfere doğru olur. Serebellum ve spinal kordda ise çok nadir görülür.¹ Çocuklarda özellikle bazal ganglia, talamus ve beyin sapında daha sık görüldüğü bilinmektedir.²⁸

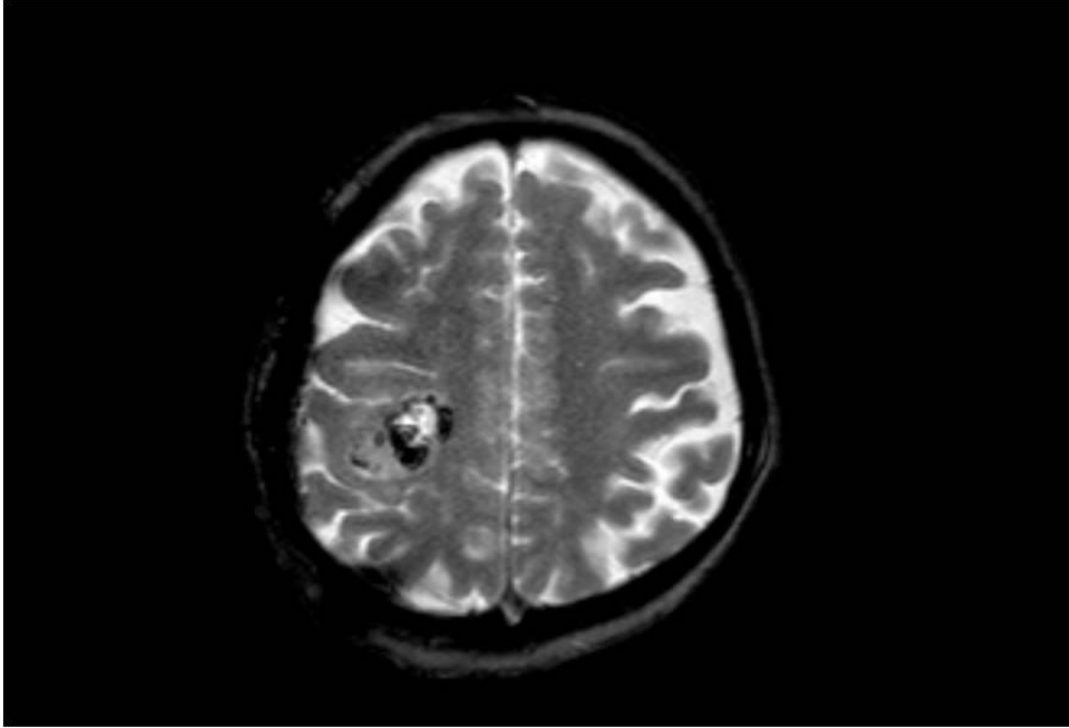
2.2.5 Klinik özellikler

Glioblastom hızlı ilerleyen bir tümördür. Semptomlar tümör lokalizasyonuna bağlı olmakla birlikte çoğunlukla hemiparezi ve afazi gibi fokal nörolojik defisitler ve ödeme bağlı intrakranial basınç artışı şeklinde ortaya çıkar. Hastaların yarısı ise ilk kez olan nöbet şeklinde semptom verir. Diğer sık görülen semptomlar arasında kişilik değişiklikleri, nöromotor fonksiyon kaybı, bulantı, kusma ve baş ağrısı bulunmaktadır. Genellikle semptomlar tutulan beyin bölge ve merkezleri ile uyumludur.^{6,29} IDH-wild tip glioblastom (primer) genellikle ilk bulgusunu 3-6 ay arasında verirken, IDH-mutant glioblastom (sekonder) daha uzun sürede bulgu verir.²³

2.2.6 Görüntüleme

Son 20 yıldır, MR ve bilgisayarlı tomografi, intrakraniyal ve spinal lezyonların tanısında standart kullanıma girmiş tekniklerdir. MR normal anatomik yapıyı ve beyin parankimindeki değişiklikleri daha detaylı gösterir.³⁰ Glioblastomlar, MR'da heterojen kitle şeklinde görünürler. Bu heterojen görünüm nekroz ve / veya kist oluşumuna

bağlıdır.³¹ T1A görüntüsünde genellikle santral yerleşimli hipointens alan mevcuttur. Bu hipointens alanı çevreleyen kalın, düzensiz duvarlı solid kitle, parankime göre izointens veya hafif hipointens sinyal paternine sahiptir. T2A incelemede heterojen yapıda hiperintens görünüm vardır. Çevresel ödem alanı T2A görüntülemeye belirgindir. İntravenöz gadolinyum sonrası yapılan incelemelerde opaklaşma her zaman saptanmakta ve bu boyanma genellikle tümörün kalın düzensiz duvarında halkasal olmaktadır (Şekil 1). Bu radyolojik bulgular glioblastom için oldukça karakteristik olup, derece-II ve III astrositomdan ayırt etmekte yardımcı olurlar.³² MR, tanı ve cerrahi rezeksiyon sonrası tedavilere temel oluşturacak rezidüel tümörün boyutunu belirlemek için de kullanılmaktadır.^{1,33} Ayrıca tedaviye bağlı radyasyon nekrozunu nüks tümörden ayırmada perfüzyon MR oldukça faydalıdır.³⁴ Ödem ve santraldeki geniş nekroz alanı, IDH-wild tip glioblastomda IDH-mutant glioblastoma göre daha sık gözlenir. Tümörün daha büyük boyutlarda olması ve kistik alanların varlığı ise daha çok IDH-mutant glioblastomlarda görülmektedir.⁵



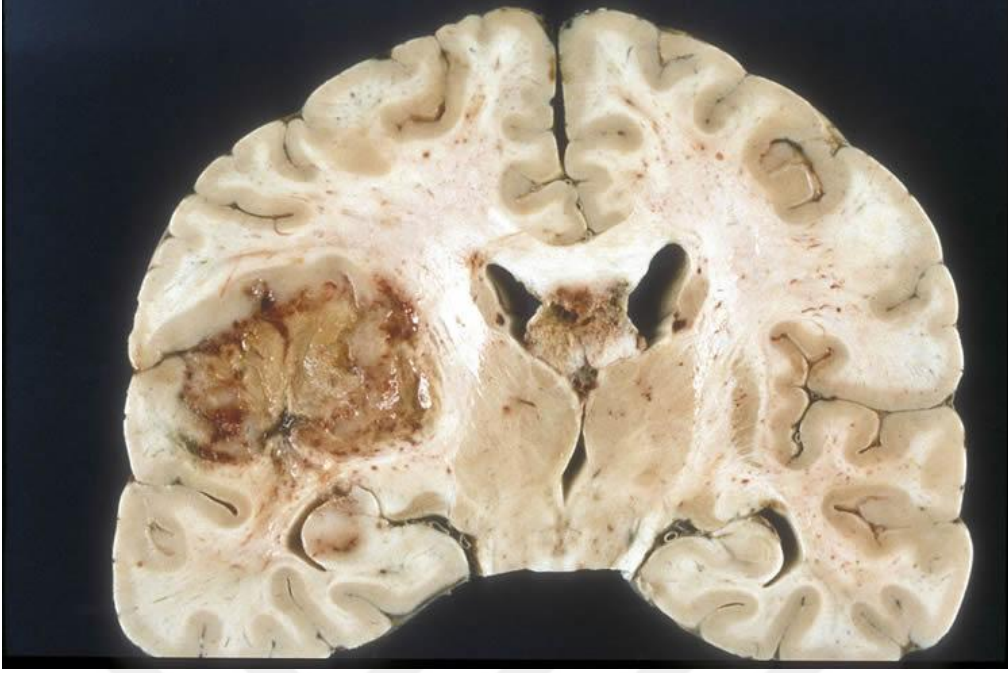
Şekil 1. Sağ parietal bölge yerleşimli 2,5cm çapında glioblastom olgusunun MR görüntülemesi.

2.2.7 Yayılımı

Glioblastomlar, hızlı bir şekilde, infiltratif büyüme gösterirler. Tümör, sıklıkla beyaz madde içindeki fiber traktüsler yoluyla çevre parankime veya korpus kallozum aracılığıyla kontrolateral hemisfere ilerler.³⁵ Karşı hemisfere yayıldığında “*butterfly glioma*” ismini alır.³⁶ Bu hızlı yayılabilme özelliğine rağmen glioblastomlar subaraknoid boşluğa ve beyin omurilik sıvısına nadiren yayılım gösterirler.³⁷ Benzer şekilde dura, venöz sinüsler ve kemik invazyonu da çok nadirdir. Perivasküler alan boyunca yayılması tipik olmakla beraber damar lümenine invazyon sık bir bulgu değildir. Ekstrakranial metastaz çok nadirdir.³⁸ Daha önce işlem görmüş veya ventriküler şanti olan hastalarda metastaz görülebilmektedir.^{38,39} En sık akciğer ve plevra, ardından bölgesel lenf nodu, kemik ve karaciğere metastaz yapmaktadır.³⁸ Lenfoid ve hematojen yayılım ise çok nadir görülür.³⁹ İmmüsupresan tedavi alan hastalarda kan dolaşımında tümör hücresi görülebilmektedir. Glioblastom hastası olan donörden yapılan organ transplantasyonlarında alıcıda glioblastom geliştiği görülmüştür.⁴⁰

2.2.8 Makroskopik özellikler

Glioblastomlar ilk tanı anında büyük boyutlu ve birçok lobu tutmuş olarak görülebilirler. Lezyon genellikle unilateral ve kötü sınırlıdır. Çoğu glioblastom intraparaknimal yerleşimlidir; nadiren yüzeysel yerleşerek leptomeninks ve dura ile ilişkili gösterebilir. Hemoraji, kist formasyonları ve nekroz alanları yaygındır. Kesit yüzeyinde nekroz odakları sarımtırak, tümör kitlesi gri-beyaz, kanamalı alanlar ise kırmızı-kahverenkli gözlenir (Şekil 2). Makroskopik olarak izlenen kistlerde bulunan sıvının nedeni likefaksiyon nekrozuna uğrayan tümör dokusudur.^{6,41}



Şekil 2. Makroskopik olarak glioblastom kesit yüzü.

2.2.9 Mikroskopik özellikler

Glioblastom, hipersellüler diffüz bir gliomdur. Pleomorfik hücrelerden oluşur. Tümör hücrelerinin nükleer atipisi belirgin olup, belirgin mitoz içermektedir. Bazı tümörlerde belirgin pleomorfizmin eşlik ettiği multinükleer dev hücreler olmakla birlikte, bir kısmında monoton hücreler baskın olarak görülmektedir. Yaygın hücre morfolojisi; pleomorfik, hiperkromatik nükleus ve geniş sitoplazmalı hücre özelliğindedir. Fokal olarak olsa dahi, hücrelerin astrositik kökenden geldiği kolaylıkla farkedilmekle birlikte, az diferansiyel tümörlerde bazen ayırt etmek zor olabilir.¹ Bölgesel heterojenite glioblastomlarda belirgindir; bu yüzden stereotaktik biyopsilerde tanı koymak zordur.⁴²

Glioblastom tanısı spesifik hücre tipinden ziyade dokunun yapısal paterni ile belirlenir. Tanı için yüksek dereceli anaplazili glial hücreler, mitotik aktivite, mikrovasküler proliferasyon ve / veya nekroz gerekmektedir. Geniş nekroz alanları merkezde olup, canlı tümör hücreleri nekrozun çevresinde bulunmaktadır. Bu canlı hücreler nekroz çevresinde tipik olarak palizatlanma şeklinde bir dizilim gösterirler.

Glioblastomlarda farklı hücre morfolojileri (küçük, oligodendriogial, lipidize, granüler, dev hücreler) görülebilmektedir. Bazı glioblastomlarda, bu farklı morfoloji gösteren hücreler baskın olabilirler. Böyle tümörlerin bir kaçı IDH-mutant tip olsa bile, çoğu IDH-wild tip glioblastomdur.¹

2.2.9.1 Sekonder yapılar

Gliyal hücreler kendilerine bariyer oluşturan bir yapı ile karşılaştıklarında sıraya dizilirler. Kortekste subpial zonda, subependimal alanda, nöron etrafında (satellitozis diye adlandırılır) ve kan damarları çevresinde birikim oluşturabilirler. Bu antiteler “sekonder yapılar” olarak adlandırılırlar.^{1,4}

2.2.9.2 Mitoz ve proliferasyon

Glioblastomda proliferatif aktivite belirgindir ve atipik mitoz sık izlenir. Mitotik aktivite yüksek olup mitoz ve Ki67 proliferasyon indeksi tümör içerisinde farklı alanlarda değişkenlik göstermektedir. Ki67 proliferasyon indeksi tipik olarak ortalama %15-20’dir fakat bazen fokal alanlarda %50’den fazla olabilir.⁴³ Bazı çalışmalarda Ki67 proliferasyon indeksinin prognozda önemli olduğu ve yüksekliğinin kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.^{44,45}

2.2.9.3 Mikrovasküler proliferasyon

Glioblastom vaskülarizasyonun en fazla olduğu tümörlerdendir. Mikrovasküler proliferasyon glioblastom tanısında önemli bir bulgudur. Tipik olarak düz kas hücreleri ile birlikte çok tabakalı mitotik aktif endotel hücrelerinden oluşan glomerüloid yumak şeklinde görülmekte olup, nekroz çevresinde daha sık izlenir. Daha az görülen başka bir formu da orta boyutlu damarlarda endotel hücrelerinde görülen hipertrofik proliferasyondur. Vasküler tromboz yaygındır ve bu iskemik tümör nekrozunda rol oynar.⁴⁶

2.2.9.4 Nekroz

Nekroz glioblastomun ayırt edici bir özelliğidir ve agresif klinik gidiş ile ilişkilidir.⁴⁷ Koagülatif tipteki bu odaklar neoplastik dokuyu sardığı gibi damar yapılarını da sarabilir. Mikroskopik olarak “psödopalizadlanan nekroz” olarak adlandırılan karakteristik lezyonda, nekrozun çevresinde neoplastik hücrelerin periferik ışınsal dizilimi izlenir.^{1,46}

2.2.9.5 İnflamasyon

İnflamatuar hücrelerin sayısı glioblastomda değişkendir. Belirgin perivasküler lenfosit topluluğu glioblastomun az bir kısmında, en tipik olarak gemistositik komponentin olduğu alanlarda izlenir. İnflamatuar hücreler baskın olarak CD8 (+) T lenfositlerden, az sayıda CD4 (+) T lenfositlerden oluşur. B lenfositler %10’dan az olguda görülebilir.⁴⁸ CD8 (+) T lenfositlerden zengin tümöre sahip hastaların yaşam sürelerinin daha uzun olduğu

düşünülmektedir.⁴⁹ Ayrıca mikroglia ve histiositler de glioblastomlarda görülen inflamatuvar hücrelerdir.⁵⁰

2.2.10 Belirli hücresel elemanların varlığına göre yapılan histopatolojik sınıflandırma

2.2.10.1 Küçük hücreler ve küçük hücreli glioblastom:

Küçük, yuvarlak, hiperkromatik nükleuslu, yüksek nükleus / sitoplazma oranı bulunan, minimum atipiye sahip monoton hücre popülasyonundan oluşur. Belirgin mitoz izlenmektedir, Ki67 proliferasyon indeksi yüksektir ve p53 mutasyonu normalden daha az görülebilir.⁵¹ %70 oranında “*Epidermal Growth Factor Receptor*” (EGFR) amplifikasyonu ve kromozom 10’da kayıp mevcuttur; IDH1 mutasyonu izlenmez.^{51,52}

2.2.10.2 Primitif nöral hücreler ve primitif nöral komponent içeren glioblastom:

Bu alt grupta klasik diffüz gliom arasında nöronal diferansiyasyon gösteren bir ya da birden fazla solid görünümlü primitif alanlar bulunur. Bu primitif odak keskin sınırlıdır. Hipersellüler olup, yüksek mitoz-karyoreksis indeksi ve yüksek nükleus / sitoplazma oranına sahiptir. Bu alanlar nöronal belirteçlerle immünoaktivite göstermektedir. Ki67 proliferasyon indeksi gliom alanlarına kıyasla oldukça yüksektir. Yaygın p53 immünoaktivitesi izlenmektedir. IDH1 mutasyonu yaklaşık %15-20 olguda görülmektedir. Beyin omurilik sıvısına yayılım yapması ve primitif görünen nodüllerde Myc gen amplifikasyonu izlenmesi diğer glioblastomlardan ayırıcı özellikleridir.^{53,54}

2.2.10.3 Oligodendrogliom komponenti:

Oligodendroglioma benzeyen alanlar glioblastomlarda görülebilir. Farklı büyüklükte ve sıklıkta izlenebilir. Bu hastalar daha iyi prognoza sahiptirler.⁵⁵ Oligodendriogliom benzeri alanların IDH-mutant tipte, IDH-wild tipe oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir.⁵

2.2.10.4 Gemistositler ve gemistositik astrositik neoplazmlar:

Gemistositik hücreler; eksantrik yerleşimli, koyu-köşeli nükleusa ve geniş-fibriler uzantısı bulunmayan sitoplazmaya sahiptir.¹ Böyle tümörlerde IDH1 mutasyonu görülmektedir. Ayrıca gemistositik morfolojideki astrositik düşük dereceli neoplazmlar (Derece-II ve III), gemistosit içermeyenlere göre glioblastoma daha hızlı dönüşürler.⁵⁶

2.2.10.5 Multinükleer dev hücreler:

Bizar, multinükleer dev hücreler glioblastomların özelliklerinden biridir. Sık görülmele birlikte, tümörde çok farklı oranlarda bulunabilirler. Eğer baskın hücre tipi dev hücreler ise, glioblastomun bir varyantı olan dev hücreli glioblastom adını alır.⁵⁷

2.2.10.6 Granüler hücreler ve granüler hücreli glioblastom:

Granüler, periodik asit-Schiff pozitif sitoplazmaya sahip hücrelerden oluşur. Bu hücreler bazı olgularda o kadar baskındır ki, granüler hücreli tümör ile karışabilir.⁵⁸ Bazı olgularda ise astrositom komponentini seçmek güç olabilir ve hücreler makrofajlar ile karıştırılabilir. Özellikle zengin makrofaj ve perivasküler alanda lenfosit bulunması, demiyelizan hastalıkları düşündürülebilir. Bu granüler hücreler sitoplazmalarındaki yoğun lizozom sebebiyle CD68 ile immünoreaksiyon gösterirler; fakat makrofajlar için daha spesifik olan CD163 ile immünoreaksiyon izlenmez.⁵⁹

2.2.10.7 Lipidize hücreler ve lipidize hücreli glioblastom:

Hücreler köpüksü sitoplazmalı, lipidize görünümündedir. Nadir de olsa bazen baskın hücre komponenti olarak görülebilirler.⁶⁰

2.2.10.8 Metaplazi ve gliosarkom:

Metaplazi terimi, neoplazmlarda farklı diferansiyasyon gösteren bir hücre tipinin bulunduğunu belirtmek için kullanılır. Epitelyal (skuamöz hücreler, keratin inciler, adenoid yapılar) veya mezenkimal (gliosarkom) komponenti bulunabilir.⁶¹

2.2.11 Glioblastom varyantları

Glioblastomların hücre paternleri farklı histolojik özellikler barındırmakla beraber, hepsinin benzer biyolojik ve klinik davranışı vardır. Bunun yanı sıra varyantların ise farklı biyolojik ve klinik davranışlar gösterdiği bilinmektedir.⁶²

2.2.11.1 Dev hücreli glioblastom:

Tüm glioblastomların %1'inden azını oluşturur ve daha genç, pediatrik popülasyonda daha sık görülür. Bizar, multinükleer dev hücreler ve yoğun retikülün ağından oluşan nadir bir varyanttır. Tümördeki baskın hücre tipi dev hücreler ise bu adı almaktadır. Genellikle temporal ve parietal loblarda subkortikal yerleştiği için metastaz ile karışabilir. Klinik olarak IDH-wild tip glioblastomlarla benzer olmakla birlikte, diğer glioblastomlara kıyasla daha uzun yaşam süresine sahip ve daha iyi prognozlidir.^{57,63} IDH mutasyonu izlenmez; fakat IDH-wild tip glioblastomlarda izlenmeyen p53 mutasyonu çok daha sık izlenir.⁶⁴

2.2.11.2 Gliosarkom:

Gliosarkom, bifazik patern gösteren bir IDH-wild tip glioblastom tipidir. Tüm glioblastomlar içindeki insidansı %2-8'dir.⁶⁵ Glioblastom tedavisi sonrası gelişebileceği gibi, primer olarak da meydana gelebilir.⁶⁶ Gliosarkom; astrositik komponent ve proliferen damarların malign transformasyonu sonucu gelişen sarkomatöz komponentten oluşur.

Fakat hem glial hem de mezenkimal komponentin sitopatolojik ve moleküler olarak monoklonal orjine sahip olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır.⁶⁷ Gliosarkomlarda, IDH mutasyonu izlenmez; fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) mutasyonu, p53 mutasyonu ve nadir olarak da EGFR amplifikasyonu gösterirler.⁶⁸ Prognoz açısından klasik glioblastomdan çok farklı olduğu gösterilememiş olsa da, gliosarkomların sistemik metastaz ve kafa kemiklerine invazyonu daha sık izlenmektedir.^{65,69,70}

2.2.11.3 Epiteloid glioblastom:

Epiteloid hücrelerden oluşan, bazen rhabdoid hücrelerin bulunduğu, mitotik aktivitesi yüksek, mikrovasküler proliferasyon ve nekroz içeren yüksek dereceli diffüz astrositik tümörlerdir. Genellikle genç erişkin ve çocuklarda görülürler. Agresif tümörlerdir ve kısa yaşam süresine sahiptirler. Diğer glioblastomlar ile kıyaslandığında BRAF V600E mutasyonu daha sık izlenir. IDH1 mutasyonu izlenmemektedir. Prognozu en kötü olan varyanttır.^{1,71}

2.2.12 Ayırıcı tanı

Glioblastomlar birçok neoplastik veya reaktif süreci taklit edebilir. Yeni gelişen bir enfarktüs, demiyelizan hastalıklar, radyonekroz, SSS lenfoması, abse, metastaz ve birçok glial tümör ayırıcı tanıda akla gelmelidir.

Anaplastik pleomorfik ksantoastrozitom ve anaplastik ganglioglioma DSÖ-2016 SSS tümörleri sınıflamasında derece-III tümörlerdir. Bu tümörler hipersellülerite, pleomorfizm ve sitolojik atipi içerirler. Ayrıca nekroz, mikrovasküler proliferasyon ve çok sayıda mitoz izlenmesi sebebiyle, glioblastomlarla mikroskopik olarak karışabilmektedirler. Tüm bu özelliklerin yanı sıra eozinofilik granüler cisimcikler ve / veya Rosenthal fibrilleri glioblastomlarda bazen bir odakta izlenmekle birlikte, anaplastik pleomorfik ksantoastrozitom ve anaplastik gangliogliomalarda sıkça izlenmektedir. Her ikisi de kistik komponent içerir ve leptomeninks infiltrasyonu tipiktir. Anaplastik pleomorfik ksantoastrozitomlar genellikle periferik yerleşimli ve iyi sınırlıdır. Anaplastik ganglioglioma ise displastik ganglion hücreleri içermektedir. Bu hücreler immünohistokimyasal olarak nöronal belirteçlerle boyanma gösterirler. CD34 pozitivitesi de belirleyici bir belirteçtir. BRAF mutasyonu glioblastomdan farklı olarak sıkça izlenmektedir.⁶²

2.2.13 İmmünofenotip

Glioblastomlar genellikle glial fibriller asidik protein (GFAP) eksprese ederler; fakat olgudan olguya reaktivite derecesi değişiklik gösterir. Gemistositik alanlarda GFAP ile kuvvetli ekspresyon izlenirken; primitif hücreli komponentte genellikle ekspresyon görülmez. Gliosarkomda gliomatöz komponentte GFAP ekspresyonu izlenirken; sarkomatoid alanlarda fokal ekspresyon mevcuttur ya da ekspresyon yoktur.

Glioblastomlarda tipik olarak S-100 ekspresyonu izlenir.¹

Özellikle kötü diferansiye tümörlerde oligodendrosit transkripsiyon faktörü-2 (OLIG2) ekspresyonu, glioblastomu endimomdan ve non-glial tümörlerden ayırmada faydalıdır.⁷²

Nestin, glioblastomlarda eksprese edilen ve diğer yüksek dereceli gliomlardan ayırımında kullanılan bir belirteçdir.⁷³

Glioblastomlarda genellikle p53 proteininin aşırı ekspresyonu izlenmektedir.⁷⁴

Wilm's tümör proteini-1 (WT-1) hem düşük hem de yüksek dereceli gliomlarda pozitif saptanır. Hem p53 hem de WT-1, tedavi edilmiş glioblastom olgularında reaktif gliozisle neoplastik astrositlerin ayırımında kullanılır.⁷⁵

2.2.14 Genetik profil

Astrositik tümörler arasında en çok glioblastomlarda genetik değişiklikler izlenmektedir. Nöroepitelyal hücrelerin malign dönüşümü, genetik ve epigenetik değişikliklerle oluşan çok aşamalı bir süreçtir.⁷⁶ Primer ve sekonder glioblastomlar farklı genetik yollardan gelişir ve farklı ekspresyon profilleri gösterirler. Primer glioblastomlarda EGFR amplifikasyonu, PTEN mutasyonu ve kromozom 10 kaybı daha sık görülürken; sekonder glioblastomlarda ise IDH1 ve IDH2 mutasyonu ile TP53 mutasyonu sıklıkla izlenir.⁷⁷

Genel olarak glioblastomlarda;

- En sık görülen kromozomal anormallik 7p'nin kazanımı ve 10q'nun kaybı birlikteliğidir.⁷⁸

- Glioblastomlarda en sık görülen amplifikasyon EGFR olup; aşırı overekspresyonu ile ilişkilidir.⁷⁹ Primer glioblastomların yaklaşık %40'ında görülürken; sekonder glioblastomlarda çok nadirdir.¹⁰

- Glioblastomların %90'ında tirozin kinaz reseptör yolağında değişiklik vardır.⁸⁰

- PTEN geni, hücre çoğalması, tümör hücresi migrasyonu ve tümör hücresi invazyonu ile ilgilidir ve çoğunlukla primer glioblastomda olmak üzere, glioblastom olgularının %15-40'ında PTEN mutasyonu izlenir.⁸¹

- Nörofibromin-1(NF1) gen mutasyonu primer glioblastom olgularının %20'sinde izlenir.⁸⁰

- p53 yolağındaki genetik değişiklikler glioblastomların yaklaşık %90'ında izlenir.⁸⁰ TP53 geninde meydana gelen mutasyon, gliomların düşük dereceliden yüksek dereceli forma dönüşmesinde etkilidir. Bu mutasyon primer glioblastomlara kıyasla sekonder glioblastomlarda % 90'dan fazla görülür.⁸⁰

- “*Mouse double minute 2 homolog*” (MDM2) amplifikasyonu TP53 mutasyonu olmaksızın glioblastomların %10'nundan azında izlenirken;⁸² MDM2 aşırı ekspresyonu primer glioblastomların %50'sinden fazlasında, sekonder glioblastomların sadece %11'inde izlenir.⁸³

- Sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A (CDKN2A) lokusu, tümör baskılayıcı fonksiyonu olan p14arf'i kodlamaktadır. p14arf ekspresyon kaybı, glioblastomda sık olarak gözlenir.⁸⁴

- Retinoblastom protein yolağında görülen genetik değişiklikler tüm glioblastomların %80'ine yakınında izlenir.⁸⁰

- Telomeraz revers transkriptaz (TERT) promotör mutasyonları primer glioblastomda sık (%70-80) izlenmesine rağmen, sekonder glioblastom ve astrositomda seyrek görülür.⁸⁵

- A-talasemi/mental retardasyon sendrom X geçişli (ATRX) mutasyonu, sekonder glioblastomların yaklaşık %57'sinde izlenmekle birlikte, primer glioblastomlarda çok seyrek.⁸⁶

- WT-1, astrositoma spesifik bir belirteç olmamakla birlikte, glial tümörlerde derece arttıkça WT-1 ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir.⁸⁷

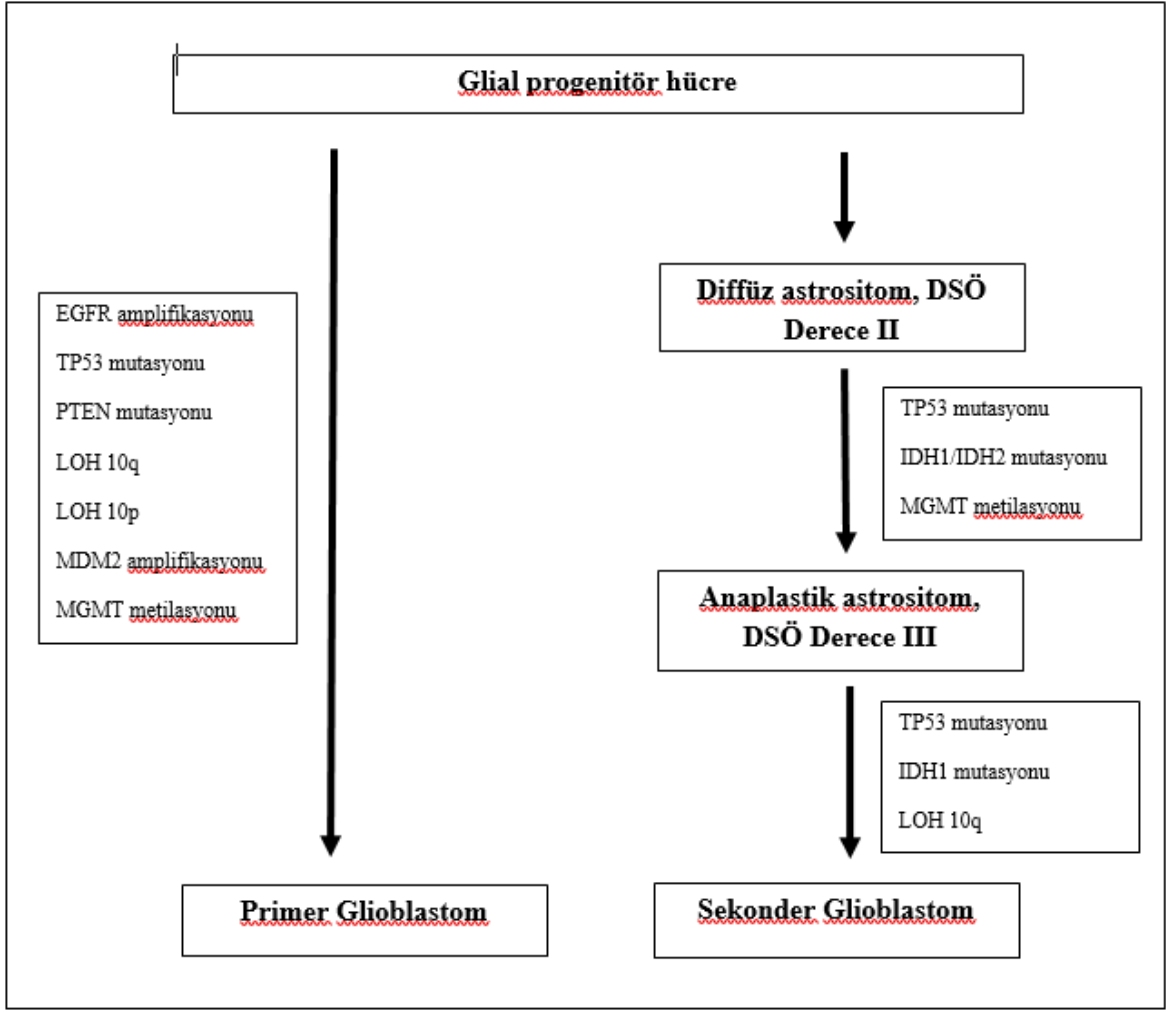
- IDH mutasyonu, glioblastomlarda yaklaşık %12 oranında saptanır.⁸⁸

IDH, sitrik asit siklusunda izositratın alfa ketoglutarata dönüşümünü sağlayan oksidatif dekarboksilasyon reaksiyonunu katalizleyen enzimdir. Bu reaksiyon oksidatif hasarın hücre kontrolünde rolü olan indirgenmiş NADP (NADPH)'ın oluşumuyla sonuçlanır.⁸⁹ IDH mutasyonlarının gliom tümör genезisinin erken evrelerinde ortaya çıktığı ve glial prekürsör hücreleri etkilediği; TP53 mutasyonundan ve 1p19q kodelesyonundan önce kazanıldığı belirtilmiştir (Şekil 3).⁹⁰ Diffüz gliomlarda sitozolik NADP +/- bağımlı IDH1 enzimini kodlayan gende meydana gelen çok sayıda spontan mutasyonun varlığı yapılan birçok araştırmayla ortaya konulmuştur. Mitokondriyal NADP +/- bağımlı IDH2 enzimini kodlayan genin mutasyonu ise daha az oranda görülmektedir.²² Yapılan araştırmalar düşük

dereceli astrositomların, oligoastrositomların, oligodendrogliomların ve sekonder glioblastomların büyük çoğunluğunun (%70'den fazla) IDH1 mutasyonu taşıdığını göstermiştir. Glioblastomlarda 20.661 adet protein kodlayan genin genomik analizinin yapıldığı bir çalışmada, IDH1 mutasyonu %12 oranında saptanmıştır.⁸⁸ IDH1 mutasyonu sıklığı primer glioblastomda düşük olmakla birlikte, sekonder glioblastom olgularının %60-80'inde izlenir.^{88,90}

IDH1/2 mutasyonlarını saptamada altın standart yöntemler Sangers sekanslama ve PCR amplifikasyonudur. IDH1 sekanslamasında R132 rezidüsünde 161 somatik mutasyon elde edilmiştir. Bunlar R132H, R132C, R132S, R132L ve R132G mutasyonlarıdır. En yaygın olan IDH1 mutasyonu histidin yerine arjinin aminoasitinin değişimine yol açan ve kodon 132'de oluşan R132H mutasyonudur.²² IDH mutasyonları ayrıca akut myeloid lösemi, myelodisplastik sendrom, kolanjiokarsinom, enkondrom, kondrosarkom ve diğer solid kanserlerde de oluşabilir.⁸⁸

IDH1/2 mutasyonları gliomlarda prognostik açıdan önem taşımaktadır. IDH-mutant gliomlar IDH-wild tip gliomlara göre daha iyi prognoza sahiptir. Hatta IDH-mutant glioblastomun, IDH-wild tip anaplastik astrositomdan bile daha iyi prognoza sahip olduğu bildirilmiştir. Bu mutasyon özellikle genç hastalarda uzun süreli sağkalımı gösteren bağımsız bir prognostik faktördür.^{90,92,91}



Şekil 3. Primer ve sekonder glioblastom oluşum mekanizması²¹.

2.2.15 Tedavi

Glioblastom tedaviye dirençli bir tümördür ve multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Mümkün olan en geniş cerrahi rezeksiyon sonrasında nüksü ve kalan tümör parçasının etkinliğini ortadan kaldırmak için radyoterapi ve kemoterapi uygulanır. Cerrahi müdahalede amaç nörolojik defisit oluşturmadan maksimum tümör çıkarılmasıdır. Tümör lokalizasyonuna göre total veya kısmi rezeksiyon şeklinde yapılır. Glioblastomun infiltratif yapısı sebebiyle tamamının çıkartılması neredeyse imkânsızdır. Opere olamayan hastalarda görüntüleme tekniklerinin yardımıyla stereotaktik biyopsi yapılır. Cerrahi sonrası rezidü tümör bulunmaması sağkalımı arttıran ve adjuvan tedavi sonuçlarını etkileyen önemli bir prognostik faktördür.⁹²

Postoperatif adjuvan radyoterapi temel tedavi yaklaşımıdır. Lokalizasyon ya da başka nedenlerle opere olamayan hastalara radyoterapi tek başına verilir. Cerrahi rezeksiyon

sonrası radyasyon tedavisi tümörün ilerlemesini ve nüksünü geciktirmektedir. Böylelikle ortalama sağkalım süresi uzamakta ve yaşam kalitesinde düzelme sağlanmaktadır.⁹³ Glioblastomda radyoterapi tedavisinde 6 haftada, haftanın beş günü 60 gray dozlarda konvansiyonel radyoterapi kullanılmaktadır.⁹⁴

Postoperatif adjuvan kemoterapi ise bazı olgulara verilmektedir. Tek başına alkilleyici bir ajan olan temozolomid kullanılmaktadır. Önerilen doz 28 günlük döngü içinde günlük metrekare başına 150-200 mg/5 günlük tedavidir. Yedi haftaya kadar metrekare başına 75 mg dozunda günlük tedavi güvenlidir.⁹⁵ Gerek görülürse başka kemoteropatik ajanlar tedavi protokolüne eklenir. Semptomatik tedavide serebral ödemi azaltmak için kortikosteroid, nöbetler için antiepileptik ilaçlar ve baş ağrısını ortadan kaldırmak için ağrı kesiciler verilebilir.⁹⁶

Son yıllarda yüzlerce klinik çalışma yapılmış, hedefe yönelik tedavi yaklaşımları aranmış ancak başarılı olunamamıştır. Bu başarısız girişimlerin birden fazla sebebi bulunmaktadır: 1) İlacın tümör dokusuna ulaşmasına engel olan kan beyin bariyeri ve yüksek intertisyel basınç; 2) Glioblastom tümör hücrelerinin kuvvetli invazyon özelliği; 3) Tümörün DNA tamir mekanizmalarını kendi elinde tutması; 4) İntratümoral heterojenite ve genomik instabilite sonucu farklı klonal popülasyonların oluşması; 5) Tümör başlatıcı “(initial)” ya da kök hücre benzeri hücrelerin bulunması; 6) Sekonder onkojenik değişikliklerin tümör progresyonundaki rolüdür.¹

2.2.16 Prognoz

Glioblastom ölümcül seyrederek ve tedavisiz sağkalımı yaklaşık 3 aydır. Tedavi alan hastaların çoğu tanı konulduktan 15-18 ay sonra ölür; 5 yıllık sağkalım oranı ise %5’in altındadır.³ Total tümör rezeksiyonu ve hastanın yaşının 50’nin altında olması uzun yaşam süresi sağlamaktadır. Yapılan çalışmalara göre de tanı anında genç yaşta (50 yaş altı) olan glioblastom olguları ileri yaştakilere göre daha iyi prognoza sahiptirler.¹⁰ Dev hücreli glioblastom klasik tip glioblastoma göre daha iyi prognozludur.⁵⁷ IDH1/2 mutasyon varlığı ile O-metilguanin DNA metil transferaz (MGMT) promoter metilasyonu pozitif prognostik faktörlerdir.^{22,97,98} EGFR amplifikasyonu ve PTEN mutasyonlarının prognozla ilişkisi belirgin değildir. 10q kaybı ve geniş nekroz alanlarının varlığı ise kötü prognozla ilişkilidir.^{10,51}

2.3 Glioblastom, IDH-mutant tip

IDH mutasyonu ilk olarak 2008 yılında rapor edilmiş olup⁸⁸ genç hastalarda, özellikle de sekonder glioblastom olan hastalarda var olduğu belirtilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu mutasyonun primer glioblastomlarda olmaması sebebiyle sekonder glioblastom için genetik bir belirteç olarak kabul edilmiştir.⁴

IDH-mutant glioblastomlar (sekonder) tüm glioblastomların yaklaşık %10'unu oluştururlar. Diffüz astrositomun (DSÖ Derece-II) veya anaplastik astrositomun (DSÖ Derece-III) malign progresyonu ile gelişen glioblastomlardır. IDH mutasyonu saptanmadan önce sekonder glioblastomların tanısı klinik bulgularla konulmaya çalışılırken,^{2,10} IDH mutasyonlarının saptanmasıyla beraber yapılan çalışmalarda tüm glioblastomların yaklaşık %9-10'unun sekonder glioblastom olduğu saptanmıştır.^{4,5,99} Bu tümörler daha genç yaşta görülmekte olup, ortalama yaş 48'dir.⁴

IDH-mutant glioblastomda hastanın şikayetleri ile tanı arasındaki geçen süre ortalama 15,2 aydır. Bu süre IDH-wild tip glioblastomda ise ortalama 3,9 aydır.⁴ IDH-mutant glioblastomlar daha çok frontal lobda lokalize olurlar.⁵ Bu nedenle davranışsal ve bilişsel değişiklikler daha ağırlıklı olarak izlenebilir. IDH-wild tip glioblastoma göre daha yavaş büyüdüğü için intrakraniyal basınç artışına bağlı şikayetler çok belirgin olmayabilir.⁴

IDH-mutant glioblastomlar makroskopik olarak IDH-wild tip glioblastomlara göre daha büyük boyuttadırlar ve kistik alanlar içerebilirler. Ödem daha az belirgin olmakla birlikte santralde izlenen geniş nekroz alanları görülmeyebilir.⁵

IDH-mutant ve IDH-wild tip glioblastomlarda histolojik özellikler genel olarak aynı olmakla birlikte iki önemli farklılık bulunmaktadır. Bunlardan birincisi; IDH-mutant tipte iskemik ve palizadik nekroz alanları yaklaşık %50 oranında görülürken, bu IDH-wild tipe göre (%90) belirgin oranda azdır.⁴ Diğeri ise; oligodendriogliom benzeri alanların IDH-mutant tipte (%54), IDH-wild tipe (%20) oranla oldukça fazla oranda görülmesidir.^{4,5}

IDH-mutant tümörlerde IDH1-R132H en sık izlenen mutasyondur. ATRX mutasyonu ve TP53 mutasyonu da IDH1/2 mutasyonlarına eşlik eder. EGFR amplifikasyonu ve overekspresyonu ise nadirdir.¹⁰⁰

IDH-mutant tümörlerin IDH-wild tip glioblastomlara göre sağkalım süresi daha uzundur.¹⁰ Ortalama yaşam süresi 7,8 ay olup bu süre IDH-wild tipte 4,7 aydır.⁴ Yapılan çalışmalara göre; sağkalım süresi cerrahi sonrası radyoterapi almış IDH-mutant glioblastomlarda 27,1 aya, kemoterapi de eklenmiş ise 31 aya kadar uzamaktadır.²²

2.4 Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçler

IDH1: Glial tümörlerde IDH1 enzimini kodlayan gende meydana gelen çok sayıdaki spontan mutasyonun varlığı yapılan birçok araştırmayla ortaya konulmuş olmakla birlikte IDH2 enzimini kodlayan genin mutasyonu daha az oranda görülmektedir.²² En yaygın olan IDH1 mutasyonu ise histidin yerine arjinin aminoasitinin değişimine yol açan ve kodon 132'de oluşan R132H mutasyonudur²² ve bu mutasyon varlığı immünohistokimyasal olarak saptanabilir.⁷ Monoklonal antikor olan H09 ve IMAb-1 proteinlerinin IDH1-R132H'ye spesifik olduğu bilinmekte olup bu antikorların Deoksiribo nükleik asit (DNA) sekanslama yöntemleri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.¹⁰¹ Bu antikorlar diğer IDH1 mutasyonları (R132C, R132L, R132S, R132G) ve IDH2 mutasyonları (R172K, R172M, R172G) ile reaksiyon vermemekte olup¹⁰² pozitiflikleri IDH-mutant glioblastom tanısı koydururken, negatiflikleri ise IDH-wild tip lehine olmakla birlikte diğer olasılık sıklıkla IDH2 R172K olmak üzere diğer mutasyonlara sahip olan IDH-mutant tipin varlığıdır.¹⁰³ Literatürde immünohistokimyanın duyarlılığı %94, özgüllüğü %100 olarak bildirilmiş ve immünohistokimyanın geçerli bir yöntem olduğu rapor edilmiştir.^{8,22}

Ki67 proliferasyon indeksi: Ki67 proteini, hücre siklusunun G0 ve erken G1 fazı hariç kalan bütün fazlarında eksprese edilen ve proliferasyon yapan hücrelerde bulunan çekirdek antijenidir. Astrositik tümörlerde klinik davranış ve sağkalımı belirlemek için prognostik belirteçlere ihtiyaç duyulmakta olup bu amaçla Ki67 proliferasyon indeksi kullanılmaktadır.¹⁰⁴ Literatürde farklı sonuçlar bildirilmekle birlikte genel olarak glioblastomlarda yüksek Ki67 proliferasyon indeksinin kısa sağ kalımla ilişkili olduğu bilinmektedir.^{45,105}

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların seçimi ve verilerin toplanması

Çalışmamızda; 2009-2019 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda glioblastom tanısı almış toplam 109 olgu incelendi. Olgulara ait yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu gibi klinik bilgiler, hasta dosyalarından ve hastane otomasyon sisteminden elde edildi.

Glioblastom tanısı alan tüm hastaların patoloji raporları tarandı. Çalışma grubu oluşturulurken; mevcut patoloji raporuna göre glioblastom tanısı alan olguların biyopsilerine ait Hematoksilen-Eozin (H-E) preparatlar arşivden çıkarılarak Nikon Eclipse E600 mikroskopta yeniden incelendi. Nüks eden 8 olgunun ilk biyopsileri çalışma grubuna dahil edildi. Ayrıca preoperatif görüntülemelerine ulaşamayan ve blokları arşivimizde bulunmayan olgular çalışma grubundan çıkartılarak histopatolojik değerlendirme, immünohistokimyasal ve RT-PCR değerlendirme ile radyolojik değerlendirmenin beraber yapılabildiği toplam 70 olgu çalışmaya alındı.

Olgulara ait radyolojik görüntüler ve tümörün radyolojik özellikleri Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı tarafından tekrar değerlendirildi.

3.2 Klinik parametreler

Olgular klinik olarak; yaş, cinsiyet, şikâyet ve takip süreleri açısından değerlendirildi.

Yaş ortalama ve median değerleri belirlendikten sonra aralıkları 40 yaş ve altı, 41-50 yaş, 51-60 yaş ile 61 yaş ve üzeri olacak şekilde yaş grupları oluşturuldu.

3.3 Olguların histopatolojik olarak değerlendirilmesi

Çalışmamızda bakılan parametreler içerisinde yer alan ve glioblastomlarda değerlendirilen histopatolojik özellikler DSÖ-2016 glioblastom histolojik değerlendirilmesi ile tekrar gözden geçirildi.

Sıralanan histolojik parametreler aşağıda belirtildiği şekilde değerlendirildi:

- Hücre tipleri: Olgular baskın hücre tipi / tiplerine göre konvansiyonel (klasik) glioblastom, gemistositik hücreli, oligodendriositik hücreli, dev hücreli, iğsi hücreli, primitif nöral hücreli, küçük hücreli, granüler hücreli, lipidize hücreli, epiteloid hücreli şeklinde sınıflandırıldı.

- Dev hücre varlığı: Tümörde dev hücrelerin varlığı veya yokluğu ve varsa yüzdesi değerlendirmeye alındı.

- Pleomorfizm: Hücresel atipinin hiç olmaması (0), hafif pleomorfizm (1), orta derecede pleomorfizm (2), şiddetli pleomorfizm (3) olarak sınıflandırıldı.

- Sellülarite: Tümördeki hücreliliğin “düşük” veya “yüksek” olmasına göre, subjektif olarak 2 grupta değerlendirildi.

- Heterojenite: Tümörün heterojen olup olmamasına göre, “var” veya “yok” şeklinde değerlendirildi.

- Mikrovasküler proliferasyon: Tümör içindeki vasküler yapılarda proliferasyon ve endotel proliferasyonu olup olmamasına göre, “var” veya “yok” şeklinde değerlendirildi.

- Vasküler tromboz: Tümör içinde vasküler tromboz bulunup bulunmamasına göre, “var” veya “yok” şeklinde değerlendirildi.

- Nekroz varlığı: Tümör hücrelerinin arasında görülen nekroz tüm lamlardaki miktarına göre yüzde verilerek değerlendirildi. Buna göre nekrozun yaygınlığı; Yok:0, %1-25:1, %26-50:2, %51-75:3 ve %76-100:4 olarak ayrıca derecelendirildi.

- Nekroz çevresi palizatlanma: Tümörde, nekroz çevresinde tümör hücrelerinde palizatlanmanın bulunup bulunmamasına göre “var” veya “yok” şeklinde değerlendirildi.

- Mitoz sayısı: Mitotik figür sayılacak alan, eğer tespit edilebiliyorsa mitotik aktivitenin yüksek olduğu sıcak-noktalardan, tespit edilemiyorsa ilk mitotik figürün görüldüğü alandan seçildi. Sayım, iki farklı gözlemci tarafından, Nikon Eclipse E600 mikroskopta 400 büyütme altında aynı anda yapıldı. Her olgu için, her iki gözlemcinin de mitoz olarak kabul ettiği ilk figür, 400'lük büyük büyütme alanının (BBA) merkezine alınarak, ardışık 10 BBA sayıldı. Mitotik figürler her olgu için toplam 10BBA sayılarak değerlendirildi.

3.4 Olguların radyolojik olarak değerlendirilmesi

Olgulara ait radyolojik görüntüler ve tümörün radyolojik özellikleri Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı tarafından tekrar incelendi.

Sıralanan radyolojik görüntüleme parametreleri aşağıda belirtildiği şekilde değerlendirildi:

- Maksimum tümör boyutu: Tümörün MR görüntülemesinde T2 sekansında ödemle birlikte tüm boyutu olacak şekilde belirtildi.

- Lokalizasyon: Tümörün bulunduğu bölge belirtildi.

- Ödem, nekroz, kist, hemoraji-kalsifikasyon, satellit varlığı, multifokalite parametreleri tümörde bulunup bulunmamasına göre, “var” veya “yok” şeklinde değerlendirildi.

- Kontrastlanmayan solid komponent (NCET): Tümörde kontrastlanmayan solid komponentin oranı değerlendirildi.

Radyolojik olarak; preoperatif değerlendirmede frontal lobda bulunan ve NCET %33'ten fazla olan tümörlerin IDH-mutant olma ihtimali daha yüksek olup, değerlendirme bu parametreler üzerinden yapıldı. Değerlendirmede preoperatif görüntüleme yöntemleri ile IDH-mutant ve IDH-wild tip olarak radyolojik ayırım yapıldı ⁹.

3.5 İmmünohistokimyasal boyama yöntemi

Çalışma grubundaki 70 olgudan immünohistokimyasal inceleme için tümör yükü fazla olan birer blok seçildi. %10'luk formaldehit ile tespit edilen parafine gömülü dokulara ait seçilen bloklardan 3 mikrometre kalınlığındaki hazırlanan kesitler, bir lamda iki olgu olacak şekilde, biyopsi numarası belirtilerek, pozitif şarjlı lamlara alındı. IDH1 (isocitrate dehydrogenase 1, (H09) Conc. 0.5mL, 1:20-50) mutasyonunu belirlemek için otomatik immünohistokimyasal boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazında boyama yapıldı. Pozitif kontrol olarak diffüz astrositoma ait kesitler kullanıldı.

Uygulanan immünohistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

- 1.Pozitif şarjlı lamlara 3 mikrometre kalınlığında kesitler alındı.
- 2.Lamlar Ventana cihazına yerleştirildi.
- 3.Antijen retrieval yöntemi olarak standart CCI metodu kullanıldı.
- 4.Primer antikor inkübasyonu için IDH1 cihazda 1 saat bekletildi.
- 5.Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için "Roche Ultraview Universal DAB Detection Kit" kullanıldı.
- 6.Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutuldu.
- 8.Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.6 İmmünohistokimyasal belirteçlerin değerlendirilmesi

IDH1: Tümör hücrelerinde granüler sitoplazmik boyanma izlenen olgular boyanmanın şiddeti veya yaygınlığına bakılmaksızın "IDH1 pozitif (+)", boyanmanın olmadığı olgular "IDH1 negatif (-)" şeklinde değerlendirildi.⁸

Ki67: Birçok olgunun arşivde boyalı preparatı mevcut olup; eksik olguların da boyanması tamamlandı. Hücrelerde izlenen nükleer boyanmanın en yoğun olduğu odaklar

dikkate alınarak 1000 tümör hücresinde pozitif boyanan hücre sayısı saptanarak oranlama yapıldı.⁴⁴ Ki67 proliferasyon indeksleri ayrıca Papova ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre skorlandı. Buna göre; tümör hücrelerinin %10'undan azında nükleer boyanma varsa: 1, %10 ve üzeri ile en fazla %30'unda nükleer boyanma varsa: 2, %30'dan fazlasında nükleer boyanma varsa: 3 olarak skorlandı.¹⁰⁶

3.7 Real-Time PCR yöntemi

Çalışma grubundaki 70 olgunun hepsinden RT-PCR ile IDH-R132H mutasyonu değerlendirildi ve bunun için tümör yükü en fazla olan birer blok seçildi ve bu blokların tamamı immünohistokimyasal çalışmaların yapıldığı bloklar idi. Bölümümüzde PCR çalışması yapılamadığı için başka bir laboratuvaradan hizmet alımı yapılarak, seçilen bloklar bu laboratuvara gönderildi.

Uygulanan RT-PCR yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

3.7.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için aşağıda markası, adı ve katalog numarası verilen materyaller kullanıldı.

Kullanılan materyal bilgileri;

Kullanılan kitin markası: GeneAll

Kitin adı: Clinic SV Mini

Katalog no: 108-101

Formol-fikse parafine gömülü (FFPE) örneklerden DNA izolasyon protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

1. FFPE dokuları küçük parçalara ayrılarak 25 mg örnek alınıp, 2 ml lik mikrosantrifüj tüpüne alındı.
2. Üzerine 1200 ul Xylene eklendi. Xylene tamamen eriyene kadar kuvvetli şekilde vortex yapıldıktan sonra santrifüj edildi (13000rpm, 5 dk.). Santrifüjden sonra süpernatant atıldı.
3. Pelet üzerine 1200 ul saf etanol konularak, vorteks yapıldı.
4. 16000 rpm, 5 dk santrifüj yapıldı. Süpernatant uzaklaştırıldı.
5. 3. ve 4. adımlar tekrar edildi.
6. Mikrosantrifüj tüpünün kapağı açık şekilde, oda sıcaklığında 15 dk. Beklenerek, kalan etanolün uzaklaşması sağlandı.
7. Pelet üzerine 180 ul CL buffer eklenerek, kuvvetli vorteks yapıldı.

8. Tüpün içerisine 20 ul Proteinase K eklendi. Karışım 56°C 10 dk inkübe edildi.
9. Karışım üzerine 200 ul BL buffer eklenerek, vorteks yapılmış ve 70°C 10 dk inkübe edildi.
10. İnkübasyon sonrasında lizat üzerine 200ul absolute ethanol eklenerek, karıştırıldı.
11. Tüm karışım SV kolona aktarılarak santrifüj edildi (6,000 rpm, 1 dk). Kolondan geçen kısım uzaklaştırıldı.
12. Kolon üzerine 600 ul BW buffer eklenerek, santrifüj edildi (6,000rpm, 1 dk.).
13. Kolon üzerine 700 ul TW buffer eklenerek, santrifüj edildi (6,000rpm, 1 dk.).
14. Kolon boş olarak tam hızda santrifüj edildi (14,000 rpm / 1 dk.). Santrifüj sonrasında kolon temiz ve etiketlenmiş tüp içerisine alındı.
15. Kolon üzerine 200 ul AE buffer eklenerek, 1 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında santrifüj edildi (14,000 rpm, 1 dk). İzole edilen DNA örnekleri -20 °C sıcaklıkta saklandı.

3.7.2. Real-Time PCR

DNA izolasyonu sonrasında RT-PCR aşamasına geçildi. RT-PCR reaksiyonu için kullanılan kitin markası, adı ve katalog numarası aşağıdaki tabloda belirtildi. RT-PCR analizi için ABI 7500 Fast RT-PCR cihazı kullanıldı.

Kullanılan materyal bilgileri;

1-Kullanılan kitin markası: ABT™

Kitin adı: 2X qPCR Probe MasterMix

Katalog no: Q01-01-01

2-Kullanılan kitin markası: ThermoFisher

Kitin adı: TaqMan™ SNP Genotyping Assay (rs121913500)

Katalog no: 4351379

Kullanılan MasterMix bilgileri;

2X qPCR Probe MasterMix- 10µl

TaqMan™ SNP Genotyping Assay (40X)- 0,25µl

Template DNA- 7,5µl

Su- 2.25µl Toplam: 20µl

Reaksiyon koşulları;

Başlangıç denatürasyonu: 95°C- 10 dk- 1 döngü

Denatürasyon: 95°C- 10 sn.- 40 döngü

Anneal: 60°C- 60 sn.- 40 döngü

3.7.3. Allelik diskriminasyon analizi

RT-PCR sonucuna göre cihaz üzerinden “*Allelic Discrimination*” analizi seçeneği seçildi. Buna göre her bir SNP probundan FAM ve VIC dalga boylarında amplifikasyon eğrileri elde edildi. Sadece FAM dalga boyunda amplifikasyon veren örnekler “*Genotype TT*”, sadece VIC dalga boyunda amplifikasyon veren örnekler “*Genotype CC*”, her iki dalga boyunda amplifikasyon veren örnekler “*Genotype CT*” olarak sınıflandırıldı.

3.8 Real-Time PCR yönteminin değerlendirilmesi

“*Genotype CC*” IDH1 mutasyonunun olmadığını, “*Genotype CT*” ise IDH1 mutasyonunun varlığını göstermekteydi.

IDH1 mutasyonunun saptanmasında altın standart yöntem RT-PCR olduğu için RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun saptandığı olgular “IDH-mutant”, mutasyon bulunmayan olgular “IDH-wild tip” olarak kabul edildi ve kodlandı.

3.9 Etik kurul onayı

Bu çalışma için; Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde 19 Haziran 2019 tarihli, 198 nolu karar ile yerel etik kurul onayı alındı. Olguların incelenmesinde; patoloji laboratuvarımızda daha önceden hazırlanmış H-E boyalı preparatlar, immünohistokimyasal boyama yöntemleri ve RT-PCR yöntemi kullanıldı ve finansal kaynağa gereksinim duyuldu. Finansal kaynak olarak Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen “Lisansüstü tezleri destekleme projeleri yardımı” kullanıldı.

3.10 İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyen nümerik değişkenler medyan (min-max), kategorik değişkenler ise frekans (yüzde) olarak verildi. İki grup arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olan nümerik değişkenler için “*student-t*” testi ile belirlendi. Grup sayısı ikiden fazla olduğunda gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olmayan nümerik değişkenler için Kruskal Wallis testi ile, kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler ki-kare analizi ile değerlendirildi. Kategorik değişkenler arasındaki uyum Kappa uyum katsayısı ile

belirlendi. İki yönlü hipotezlerin testinde $p < 0.05$ istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.



4.BULGULAR

4.1 Olguların klinikopatolojik özellikleri

2009-2019 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda glioblastom tanısı alan 70 adet olgu çalışmaya dahil edildi.

4.1.1 Cinsiyet

Glioblastom tanılı 70 olgudan; 49'u erkek (%70), 21'i kadındı (%30). Erkek hastaların kadın hastalara oranı 2,3 / 1'di. IDH-wild tip olan olguların 37'si (%67,3) erkek, 18'i (%32,7) kadın iken IDH-mutant olan olguların 12'si (%80,0) erkek, 3'ü (%20,0) kadındı (p=0,527) (Tablo 2).

Tablo 2. Olguların IDH1 mutasyon durumları ve cinsiyetlerinin karşılaştırması (p=0,527).

RT-PCR	Cinsiyet		Toplam olgu (%)
	Erkek (%)	Kadın (%)	
IDH-mutant	12 (80,0)	3 (20,0)	15 (100,0)
IDH-wild tip	37 (67,3)	18 (32,7)	55 (100,0)
Toplam	49 (70,0)	21 (30,0)	70 (100,0)

4.1.2 Yaş

En genç olgunun 29, en yaşlı olgunun 79 yaşında olduğu çalışmamızda yaş ortalaması 53,33±10,94 yıl, median yaş 54,00 (29-79) olarak belirlendi. Kadın hastaların yaş ortalaması 53,38±11,20 yıl, erkek hastaların yaş ortalaması 53,31±10,95 yıldır ve cinsiyete göre yaş ortalamaları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,979) (Tablo 3).

Tablo 3. Cinsiyete göre yaş ortalaması ve median değerleri (p=0,979).

Yaş (N=70)		
Erkek	n	49
	Ortalama±SD	53,31±10,95
	Median	54,00
	Min.-Max.	29-75
Kadın	n	21
	Ortalama±SD	53,38±11,20
	Median	53,00
	Min.-Max.	35-79

IDH-wild tip olan olguların ortalama yaşı $53,85 \pm 10,80$ iken IDH-mutant olan olguların yaş ortalaması $51,40 \pm 11,61$ 'di. IDH-mutant olgular göreceli olarak daha genç yaşta görülmekle birlikte, RT-PCR ile saptanan IDH1 mutasyon durumuna göre olguların yaş ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı sonuç elde edilemedi ($p=0,445$) (Tablo 4).

Tablo 4. IDH mutasyon durumuna göre olguların yaş ortalamaları ($p=0,445$).

Yaş (N=70)		
IDH-mutant	n	15
	Ortalama \pm SD	$51,40 \pm 11,61$
	Median	53,00
	Min.-Max.	36-75
IDH-wild tip	n	55
	Ortalama \pm SD	$53,85 \pm 10,80$
	Median	55,00
	Min.-Max.	29-79

Olguların cinsiyetlerinin yaş gruplarına göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi ($p=0,955$) (Tablo 5).

Tablo 5. Olguların cinsiyetlerinin yaş gruplarına göre dağılımı ($p=0,955$).

Cinsiyet	Yaş				Toplam olgu (%)
	40 ve altı (%)	41-50 (%)	51-60 (%)	61 ve üstü (%)	
Erkek	5 (10,2)	13 (26,5)	18 (36,7)	13 (26,5)	49 (100,0)
Kadın	3 (14,3)	5 (23,8)	7 (33,3)	6 (28,6)	21 (100,0)
Toplam	8 (11,4)	18 (25,7)	25 (35,7)	19 (27,1)	70 (100,0)

RT-PCR ile saptanan IDH-mutant ve IDH-wild tip olguların yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 6'da verilmiştir. IDH mutasyon durumu ile olguların yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,618$) ve dağılımın anlamsız olduğu görüldü.

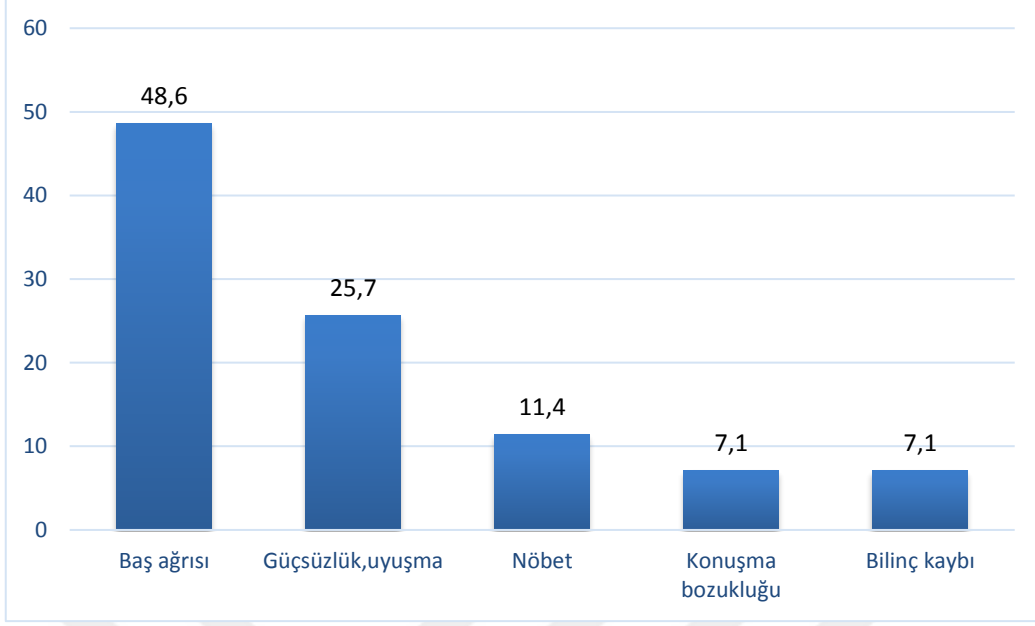
Tablo 6. IDH-mutant ve IDH-wild tip olguların yaş gruplarına göre dağılımı (p=0,618).

RT-PCR	Yaş				Toplam olgu (%)
	40 ve altı (%)	41-50 (%)	51-60 (%)	61 ve üstü (%)	
IDH-mutant	3 (20,0)	3 (20,0)	6 (40,0)	3 (20,0)	15 (100,0)
IDH-wild tip	5 (9,1)	15 (27,3)	19 (34,5)	16 (29,1)	55 (100,0)
Toplam	8 (11,4)	18 (25,7)	25 (35,7)	19 (27,1)	70 (100,0)

4.1.3 Şikayet

Olguların hastaneye başvuru şikayetlerinin 34 hastada (%48,6) baş ağrısı, 18 hastada (%25,7) bir vücut yarımında güçsüzlük ve uyuşma, 8 hastada (%11,4) nöbet geçirme, 5 hastada (%7,1) konuşma bozukluğu ve 5 hastada (%7,1) bilinç kaybı olduğu görüldü (Şekil 4).

Olgular ilk bulgusunu ortalama 43,09±83,48 (median:17,50, min-max:1-360) günde vermişti. IDH mutasyon durumlarına göre ise IDH-mutant olgular ortalama 42,27±89,38 (median:20,00, min-max:1-360) günde, IDH-wild tip olan olgular ise ortalama 43,31±82,66 (median:15,00, min-max:1-360) günde ilk bulgularını vermişti ve bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,919).



Şekil 4. Başvuru şikayet grafiği.

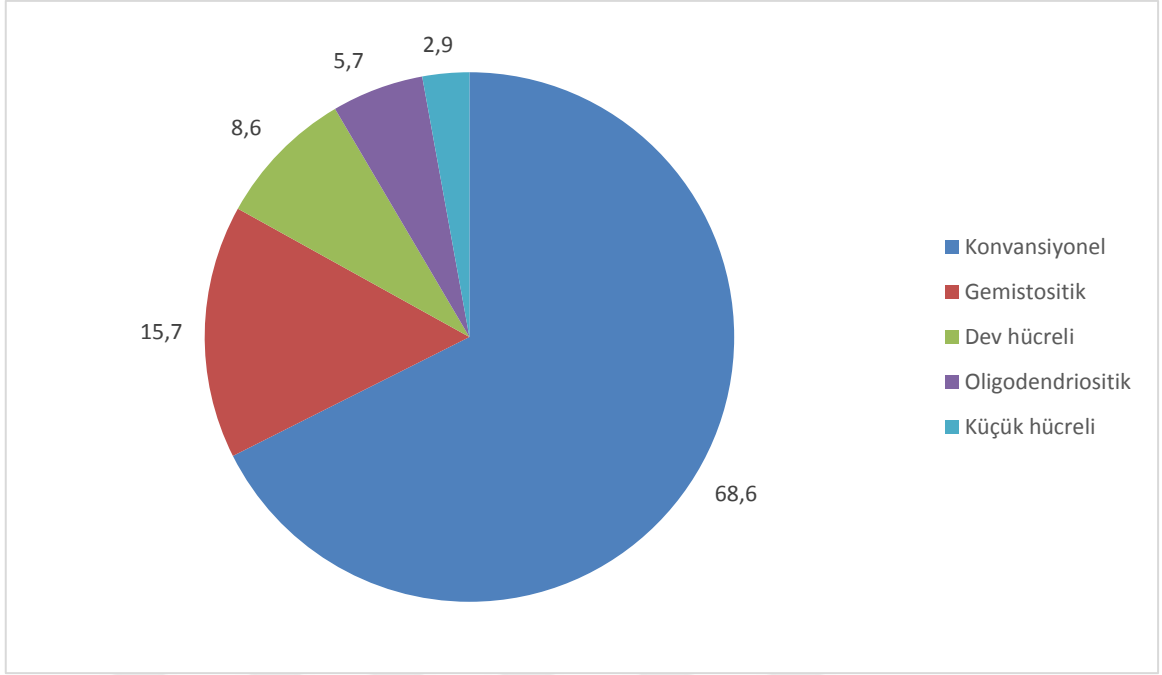
4.1.4 Takip süresi

Hastaların ilk başvuru ile son başvuruları arasında geçen süre; ortalama $18,10 \pm 19,33$ ay; median değeri ise 14 ay (1-124 ay) olarak izlendi. Hastalardan bir tanesinin takibi hastanemizde hiç yapılmamıştı.

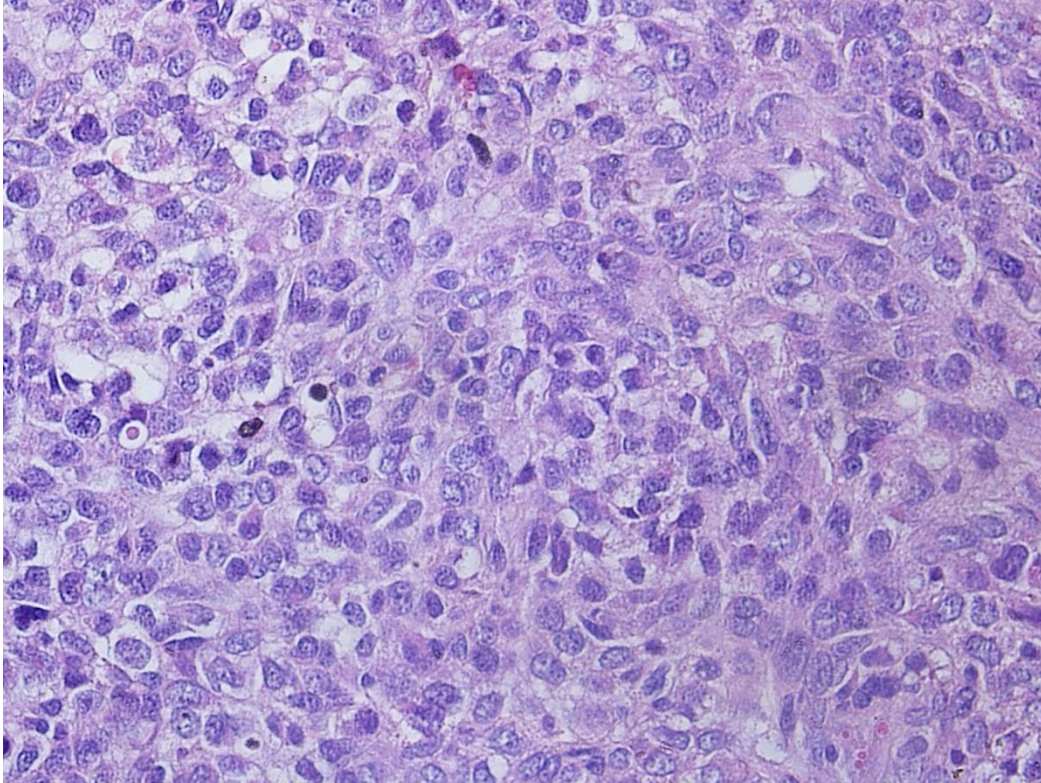
4.2. Tümörün histopatolojik özellikleri:

4.2.1 Tümörün hücre morfolojisi / tipi

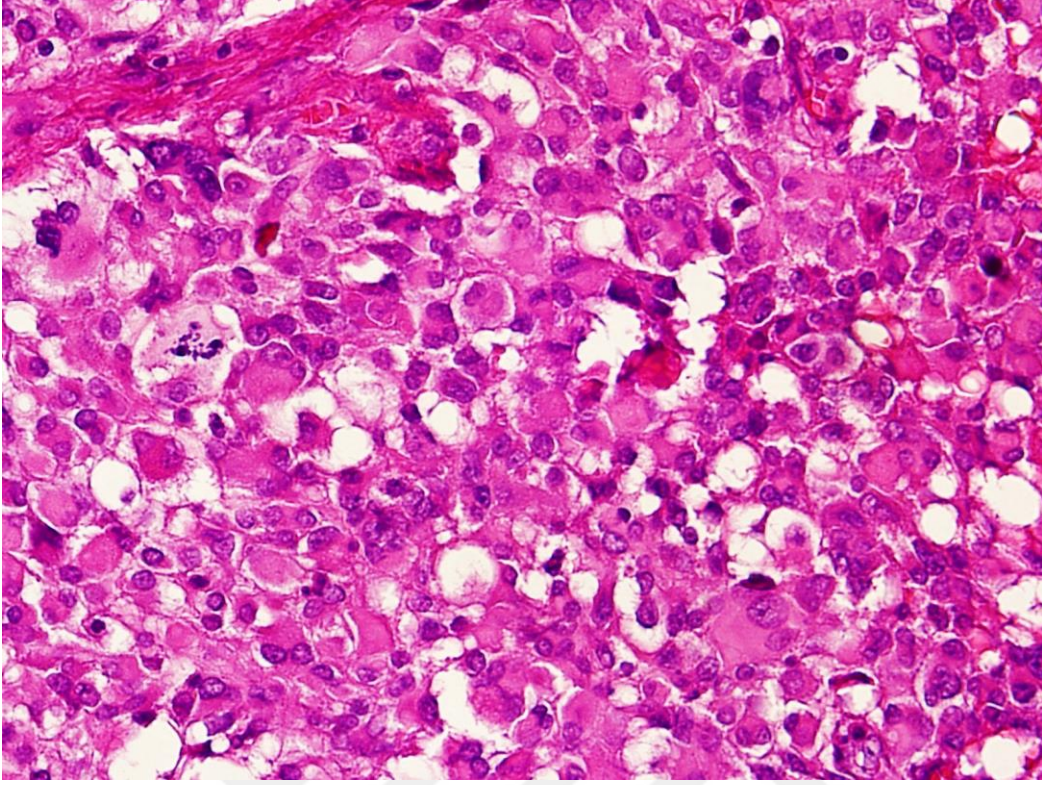
Olguların baskın hücre tiplerine göre sınıflandırılmasında (Şekil 5); 48'i (%68,6) konvansiyonel (Şekil 6), 11'i (%15,7) gemistositik (Şekil 7), 6'sı (%8,6) dev hücreli (Şekil 8), 3'ü (%5,7) oligodendrositik (Şekil 9), ve 2'si (%2,9) küçük hücreli (Şekil 10), morfolojide izlendi.



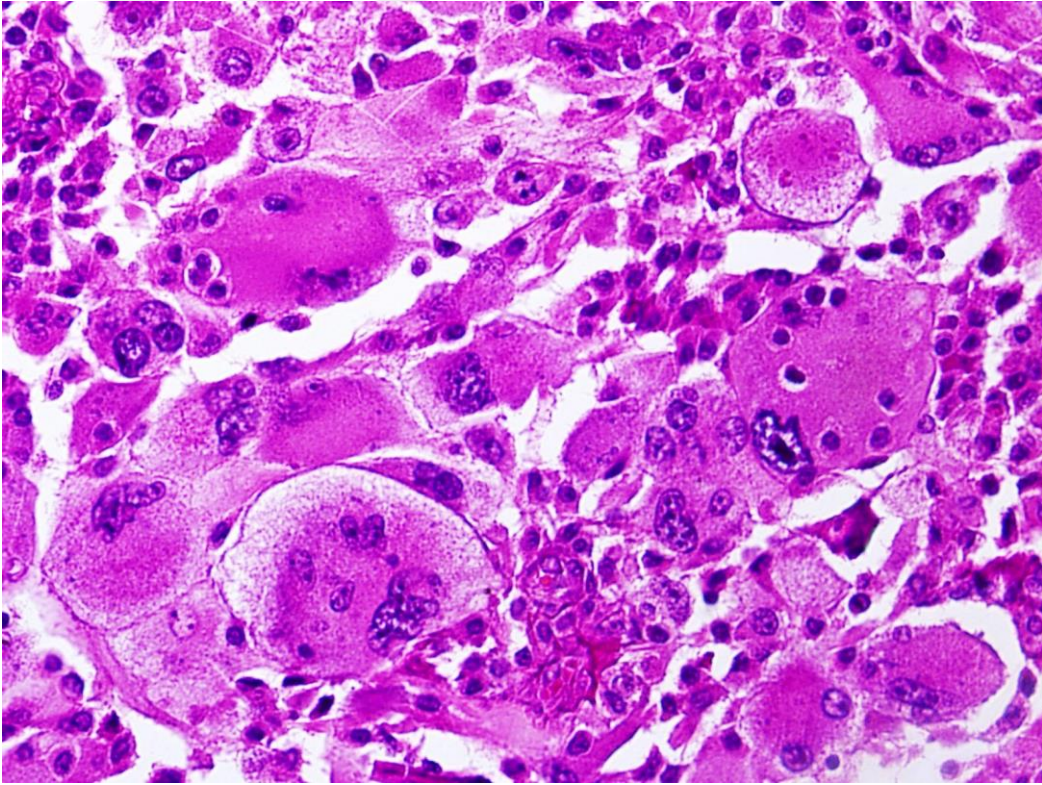
Şekil 5. Olguların baskın hücre morfolojisine göre dağılımı.



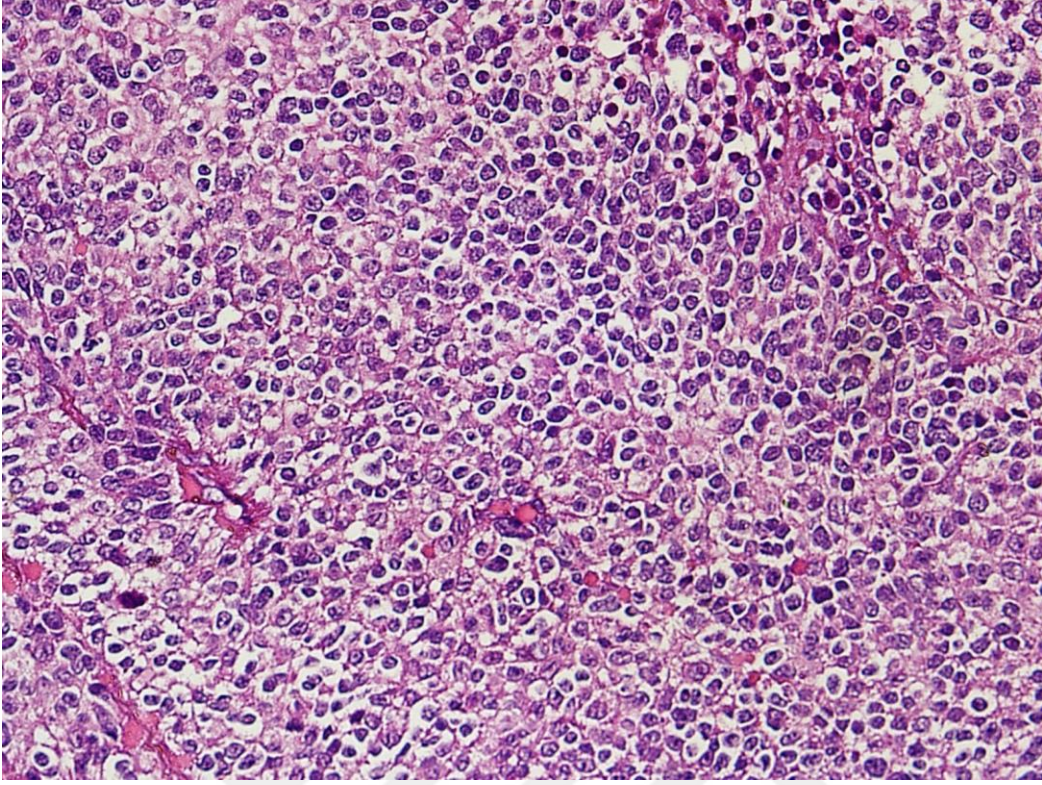
Şekil 6. Konvansiyonel tip glioblastom (H-Ex400).



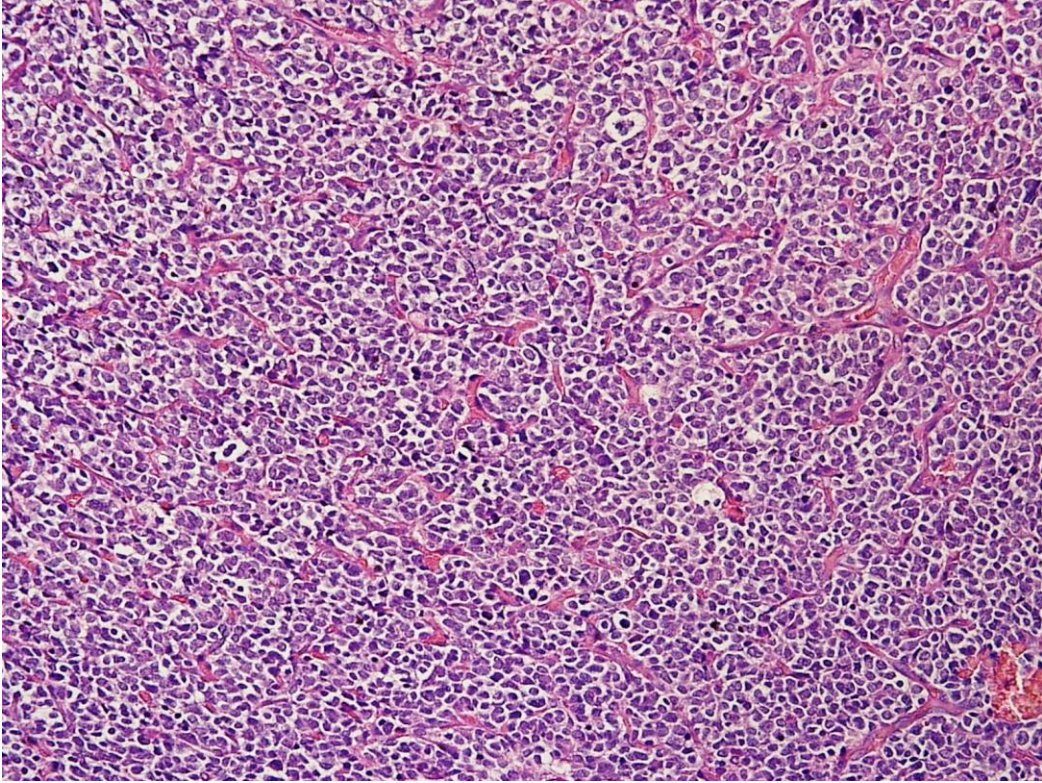
Şekil 7. Gemistositik hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex400).



Şekil 8. Dev hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex400).



Şekil 9. Oligodendriogial hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex400).



Şekil 10. Küçük hücrelerden baskın glioblastom (H-Ex200).

Olgularımızın baskın hücre tipine göre IDH1 mutasyonu gösterme oranları: Konvansiyonel glioblastomlarda %25, gemistositik hücreli olanlarda %9,1, oligodendrositik hücreli olanlarda %33,3, dev hücreli olanlarda %16,6 ve küçük hücreli olanlarda %0 şeklindeydi. Olgularımızın sayısı ve dağılımı istatistik analiz için çok uygun olmamakla birlikte baskın hücre tipi ile IDH1 mutasyonunun varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi (Tablo 7).

Tablo 7. Hücre tipi ile IDH1 mutasyonu arasındaki ilişki.

Hücre tipi	RT-PCR		Toplam (%)
	Pozitif (%)	Negatif (%)	
Konvansiyonel	12 (25,0)	36 (75,0)	48 (100)
Gemistositik	1 (9,1)	10 (90,9)	11 (100)
Oligodendrositik	1 (33,3)	2 (66,7)	3 (100)
Dev hücreli	1 (16,6)	5 (71,4)	6 (100)
Küçük hücreli	0 (0,0)	2 (100,0)	2 (100)
Toplam (%)	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)

Farklı oranlarda dev hücre varlığı olguların 28'inde (%40) izlenirken, bu olguların 6'sında (%8,6) dev hücre komponenti baskındı ve 42'sinde (%60) ise dev hücre hiç görülmedi. Dev hücre izlenen olguların yaş ortalaması 51,75±11,67 yıl olup, dev hücre izlenmeyen olguların yaş ortalaması ise 54,38±10,44 yıldır (p=0,328).

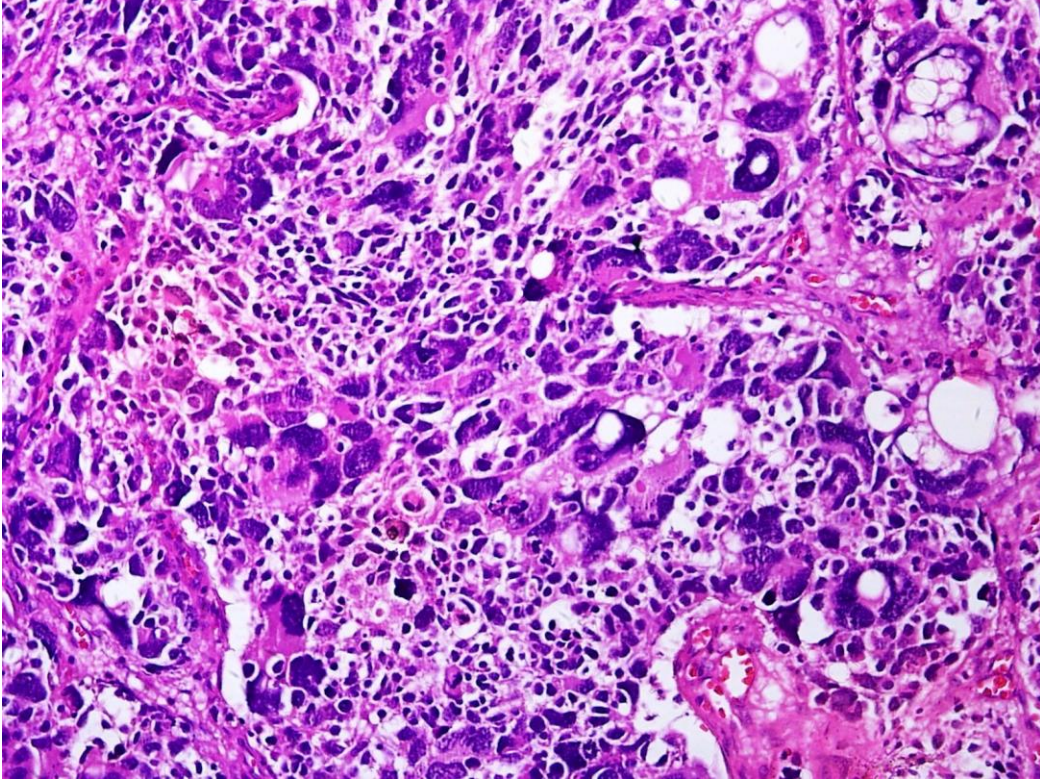
Baskın olmasına bakılmaksızın tümör içinde farklı oranlarda izlenen dev hücre varlığı ile IDH1 mutasyonunun varlığı arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki görülmedi (p=1,000) (Tablo 8).

Tablo 8. Dev hücre varlığının IDH1 mutasyonu ile ilişkisi (p=1,000).

RT-PCR	Dev hücre varlığı		Toplam olgu (%)
	Var (%)	Yok (%)	
IDH-mutant	6 (40,0)	9 (60,0)	15 (100,0)
IDH-wild tip	22 (40,0)	33 (60,0)	55 (100,0)
Toplam (%)	28 (40,0)	42 (60,0)	70 (100,0)

4.2.2 Pleomorfizm

Sellüler pleomorfizm 70 olgunun hepsinde izlenmiş olup; 16'sında (%22,9) hafif, 28'inde (%40) orta ve 26'sında (%37,1) şiddetli derece idi (Şekil 11). Pleomorfizm derecesi ve IDH mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,059$); ama IDH-mutant olgularda pleomorfizmin şiddetinin, IDH-wild tip olgulara göre daha fazla olduğu dikkati çekti (Tablo 9).



Şekil 11. Şiddetli pleomorfizm (H-Ex400).

Tablo 9. Pleomorfizm ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonun karşılaştırması ($p=0,059$).

RT-PCR	Pleomorfizm			Toplam (%)
	Hafif (%)	Orta (%)	Şiddetli (%)	
Pozitif	5 (33,3)	2 (13,3)	8 (53,3)	15 (100,0)
Negatif	11 (20,0)	26 (47,3)	18 (32,7)	55 (100,0)
Toplam	16 (22,9)	28 (40,0)	26 (37,1)	70 (100,0)

4.2.3 Sellülarite

Tümörün sellülaritesi düşük ve yüksek olarak sınıflandırıldığında 55 (%78,6) tane olgu yüksek sellülariteye, 15 (%21,4) tane olgu ise düşük sellülariteye sahip olarak izlendi.

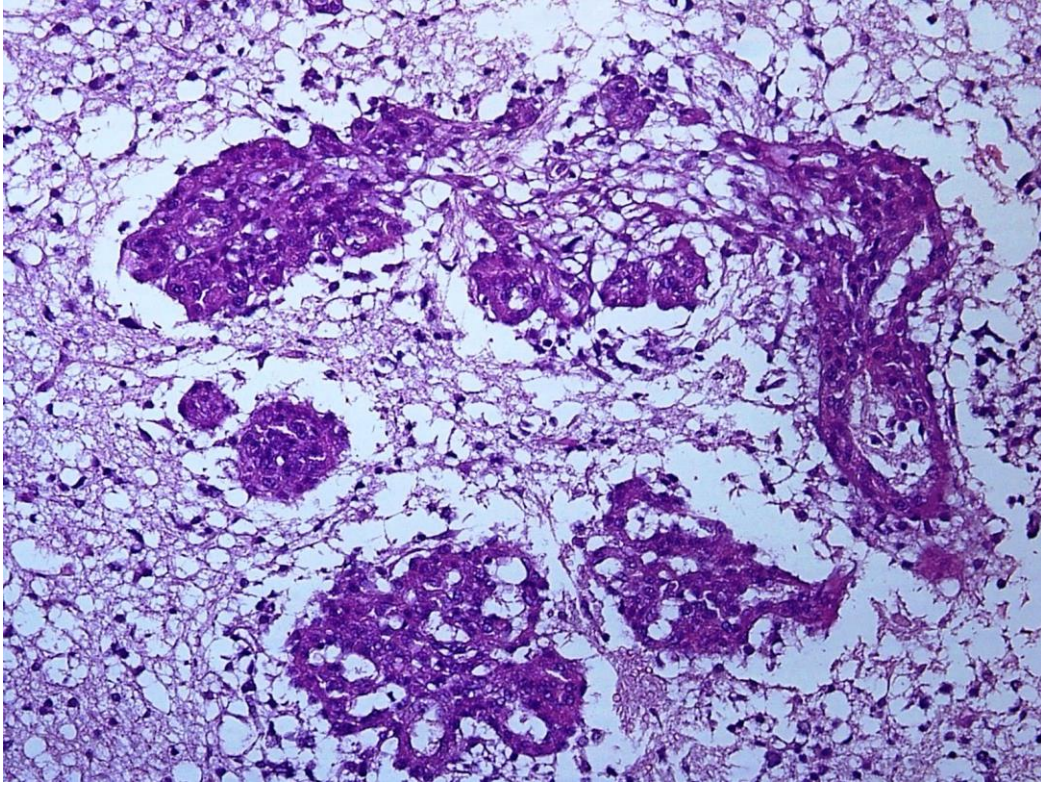
Sellülarite ve IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=1,000$) (Tablo 10).

4.2.4 Heterojenite

Tümörde heterojenite izlenen 42 (%60), heterojenite görülmeyen ise 28 (%40) olgu izlendi. Tümör heterojenitesi ve IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,567$) (Tablo 10).

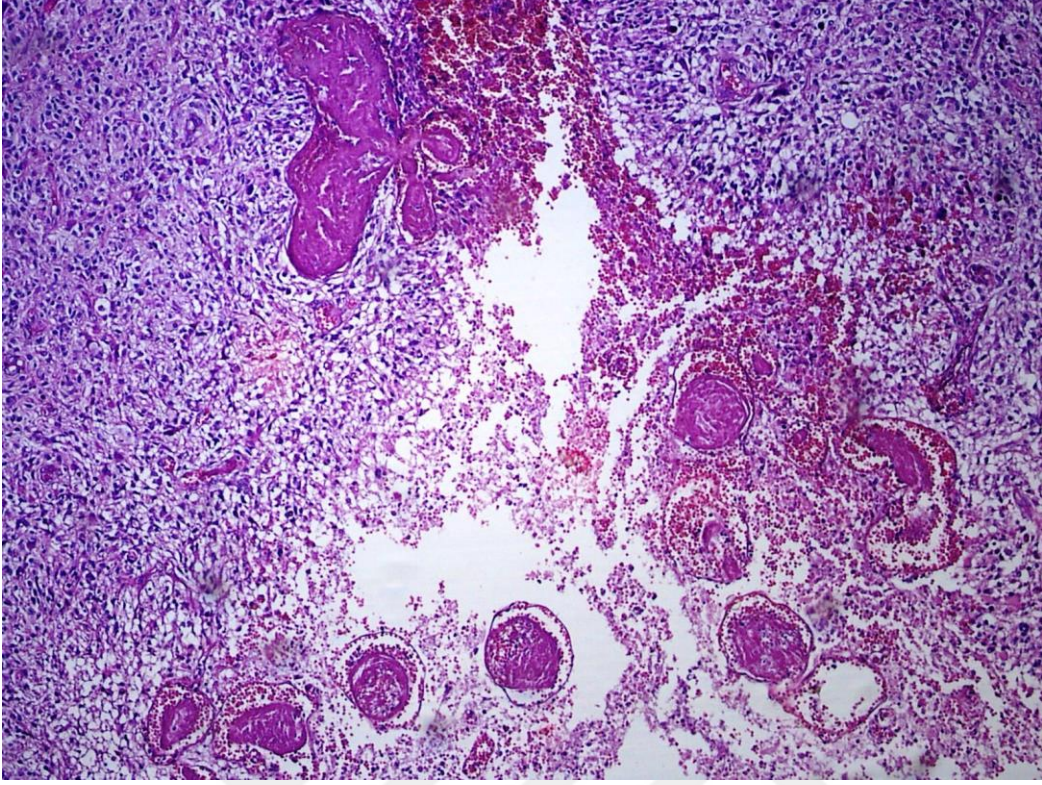
4.2.5 Mikrovasküler proliferasyon ve vasküler tromboz

Mikrovasküler proliferasyon 68 (%97,1) olguda izlenirken, 2 (%2,9) olguda izlenmedi (Şekil 12). Mikrovasküler proliferasyon ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,385$) (Tablo 10).



Şekil 12. Glioblastomlarda mikrovasküler proliferasyon ve glomerüloid yumaklar (H-Ex200).

Vasküler tromboz 49 (%70) olguda izlenirken, 21 (%30) olguda izlenmedi (Şekil 13). Vasküler tromboz ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,125$) (Tablo 10).



Şekil 13. Glioblastomlarda artmış vasküler trombozlar (H-Ex100).

Tablo 10. Tümörün histopatolojik özellikleri ile IDH mutasyonu durumlarının karşılaştırması.

Sellülarite				p değeri
	Düşük	Yüksek	Toplam (%)	1,000
IDH-mutant	3 (20,0)	12 (80,0)	15 (100,0)	
IDH-wild tip	12 (21,8)	43 (78,2)	55 (100,0)	
Toplam (%)	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)	
Heterojenite				0,567
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH-mutant	8 (53,3)	7 (46,7)	15 (100,0)	
IDH-wild tip	34 (61,8)	21 (38,2)	55 (100,0)	
Toplam (%)	42 (60,0)	28 (40,0)	70 (100,0)	
Mikrovasküler proliferasyon				0,385
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH-mutant	14 (93,3)	1 (6,7)	15 (100,0)	
IDH-wild tip	54 (98,2)	1 (1,8)	55 (100,0)	
Toplam (%)	68 (97,1)	2 (2,9)	70 (100,0)	
Vasküler tromboz				0,125
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH-mutant	8 (53,3)	7 (46,7)	15 (100,0)	
IDH-wild tip	41 (74,5)	14 (25,5)	55 (100,0)	
Toplam (%)	49 (70,0)	21 (30,0)	70 (100,0)	
Nekroz				0,329
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH-mutant	15 (100,0)	0 (0,0)	15 (100,0)	
IDH-wild tip	49 (89,1)	6 (10,9)	55 (100,0)	
Toplam (%)	13 (18,6)	57 (81,4)	70 (100,0)	
Nekroz çevresi palizatlanma				0,337
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH-mutant	9 (60,0)	6 (40,0)	15 (100,0)	
IDH-wild tip	41 (74,5)	14 (25,5)	55 (100,0)	
Toplam (%)	50 (71,4)	20 (28,6)	70 (100,0)	

4.2.6 Nekroz ve nekroz çevresi palizatlanma

Altı olguda (%8,6) nekroz görülmezken; toplam 64 olguda (%91,4) nekroz görüldü. Nekroz yaygınlığının ortalama değeri %26,84±21,45 olup, median değeri %22,25 (%0-80)'ti.

RT-PCR ile IDH1 mutasyonu saptanan 15 olguda (%100) nekroz saptanırken; IDH1 mutasyonu bulunmayan 55 olgunun 49'unda (%89,1) nekroz görüldü. RT-PCR ile IDH1 mutasyonu varlığı ve nekroz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p=0,329) (Tablo 10).

Ayrıca; IDH-mutant olgularda nekrozun yaygınlığı median değeri %15 (%1-78) iken, IDH-wild tip olgularda ise nekrozun yaygınlığı median değeri %23 (%0-80)'tü. RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun varlığı ve nekrozun yaygınlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,762) (Tablo 11).

Tablo 11. IDH1 mutasyon sonucuna göre nekroz ortalama ve median değerleri (p=0,762).

Nekroz (%) (N=70)		
IDH-mutant	n	15
	Ortalama±SD	25,33±25,30
	Median	15,00
	Min.-max.	1-78
IDH-wild tip	n	55
	Ortalama±SD	27,25±20,52
	Median	23,00
	Min.-max.	0-80

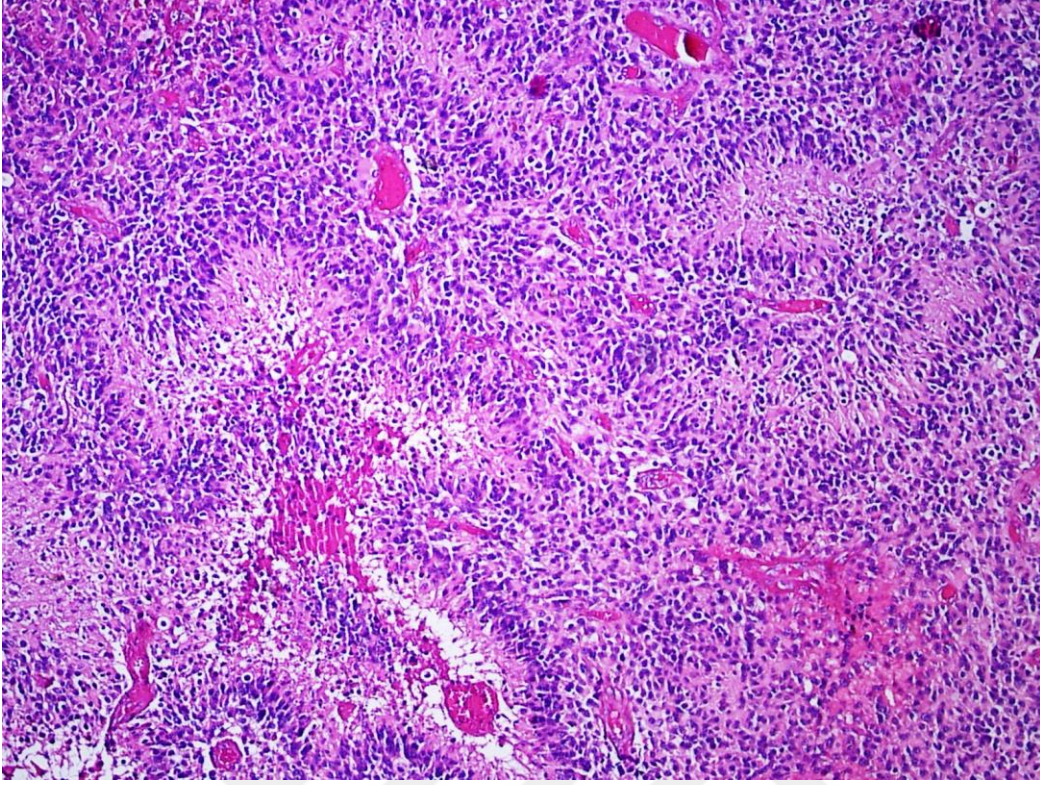
Nekroz yaygınlığına göre gruplandırıldığında ise; hiç nekrozu bulunmayan 6 olgu, (%8,6), %1-25 oranında nekroz izlenen 33 olgu (%47,1), %26-50 oranında nekroz izlenen

21 olgu (%30,0), %51-75 oranında nekroz izlenen 6 olgu (%8,6), %76-100 oranında nekroz izlenen ise 4 olgu (%5,7) olduğu dikkati çekti. Bu gruplama ile de IDH1 mutasyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,483$) (Tablo 12).

Tablo 12. Nekroz gruplamasının RT-PCR ile ilişkisi ($p= 0,483$).

RT-PCR	Nekroz sınıflaması					Toplam (%)
	Yok	1-25 (%)	26-50(%)	51-75(%)	76-100(%)	
IDH-mutant	0 (0,0)	9 (60,0)	3 (20,0)	2 (13,3)	1 (6,7)	15 (100,0)
IDH-wild tip	6 (10,9)	24 (43,6)	18 (32,7)	4 (7,3)	3 (5,5)	55 (100,0)
Toplam	6 (8,6)	33 (47,1)	21 (30,0)	6 (8,6)	4 (5,7)	70 (100,0)

Nekroz çevresi palizatlanma 50 (%71,4) olguda izlenirken, 20 (%28,6) olguda izlenmedi (Şekil 14). Nekroz çevresi palizatlanma ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,337$) (Tablo 10).

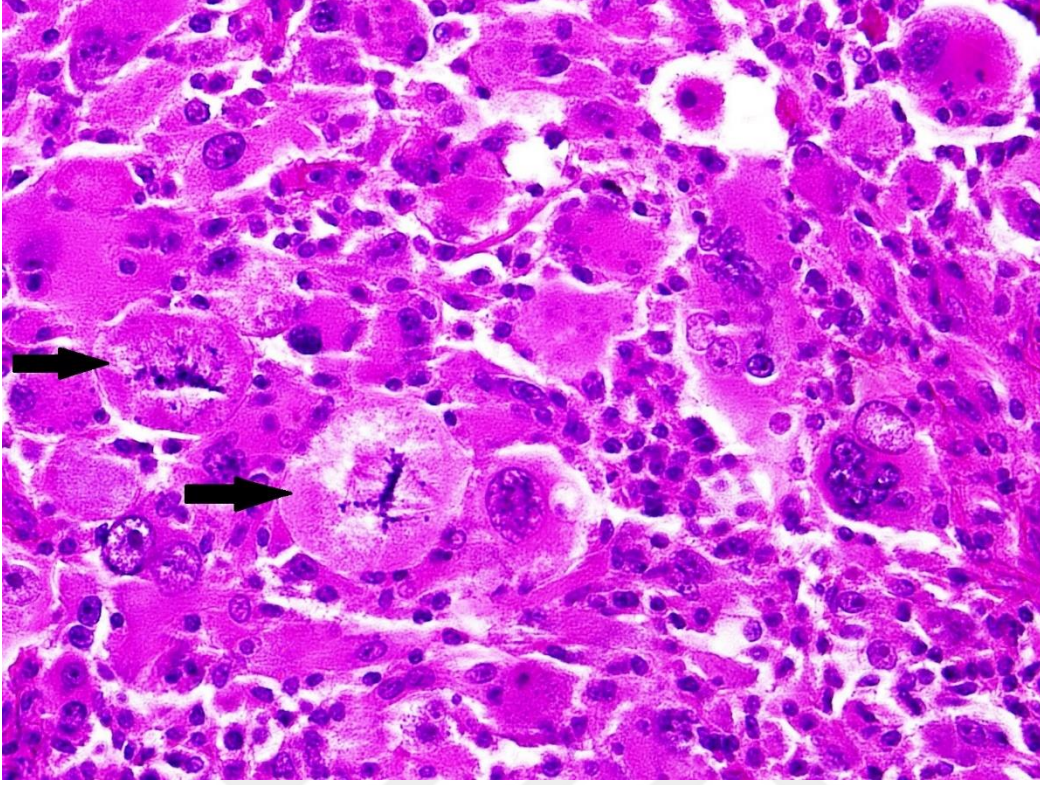


Şekil 14. Glioblastomlarda nekroz ve nekroz çevresi palizatlanma (H-Ex200).

4.2.7 Mitoz

En düşük mitoz sayısı 1/10BBA, en yüksek mitoz sayısı 112/10 BBA olup; median mitoz sayısı 16,5 (1-112) (ortalama mitoz sayısı $22,41 \pm 19,15$) olarak bulundu (Şekil 15).

IDH-mutant olgularda mitoz sayısı median değeri 8 (1-42), ortalama $12,47 \pm 11,26$ iken, IDH-wild tip olgularda ise mitoz sayısı median değeri 21 (1-112), ortalama $25,13 \pm 20,02$ 'di. IDH1 mutasyonunun varlığı ve mitoz sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu görüldü (**p=0,009**) (Tablo 13).



Şekil 15. Glioblastomlarda artmış mitoz sayısı ve atipik mitoz (H-Ex400).

Tablo 13. IDH1 mutasyon durumuna göre mitoz ortalama ve median değerleri (p=0,009).

Mitoz (N=70)		
IDH-mutant	n	15
	Ortalama±SD	12,47±11,26
	Median	8,00
	Min.-max.	1-42
IDH-wild tip	n	55
	Ortalama±SD	25,13±20,02
	Median	21,00
	Min-max	1-112

4.3 Tümörün radyolojik özellikleri:

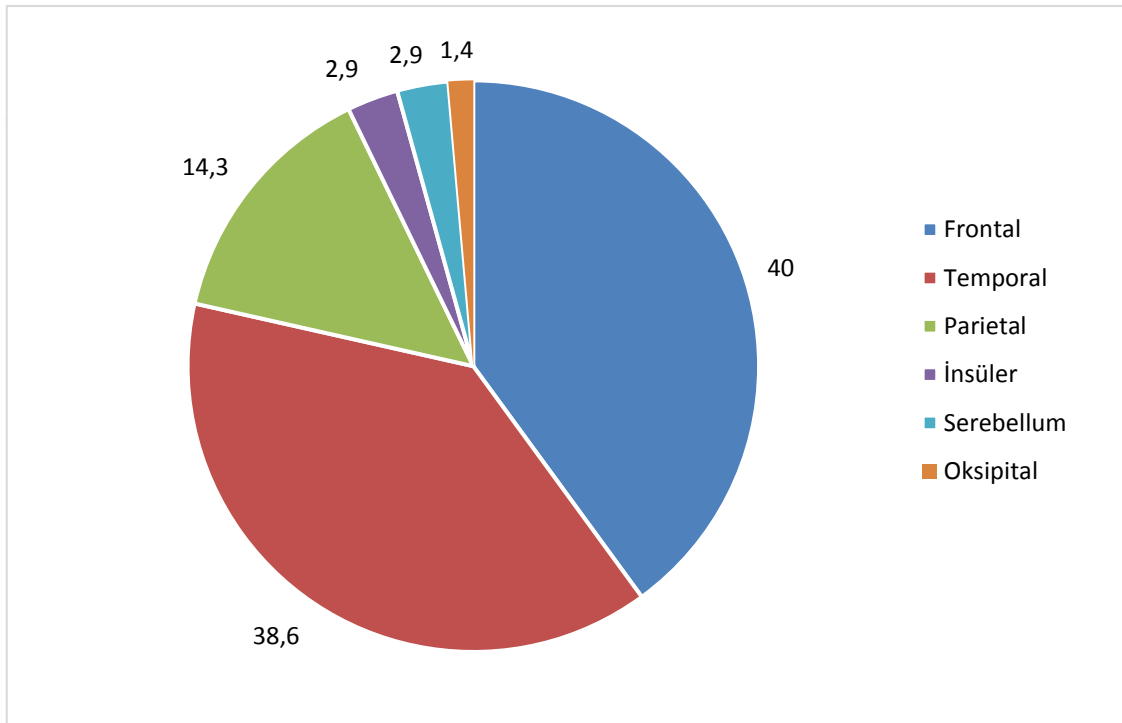
4.3.1 Tümör boyutu

En küçük tümör boyutu 3cm, en büyük tümör boyutu 13 cm; ortalama tümör boyutu 7,33±2,15 cm idi. IDH-mutant olgulardaki ortalama tümör boyutu 7,63±2,39 cm, median

değeri 7,7 (4-13) cm, IDH-wild tip olgulardaki ortalama tümör boyutu $7,24 \pm 2,10$ cm, median değeri 7,4 (3-11,8) cm idi. Tümör boyutu ve IDH1 mutasyonunun varlığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki görülmedi ($p=0,615$).

4.3.2 Tümör yerleşimi

Tümörler olguların 28'inde (%40,0) frontal lob, 27'sinde (%38,6) temporal lob, 10'unda (%14,3) parietal lob, 2'sinde (%2,9) insüler bölge, 2'sinde (%2,9) serebellum ve 1'inde (%1,4) oksipital lobda lokalize idi (Şekil 16).



Şekil 16. Tümör yerleşim yeri.

Tümör lokalizasyonları ve IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,978$). Tümörün en sık yerleştiği yerlere göre, IDH-mutant olguların 7'si (%46,7) temporal lob yerleşimli, IDH-wild tip olguların ise 22'si (%40) frontal lob yerleşimli olduğu izlendi.

Toplam 70 olgunun sadece 2'si (%2,9) serebellum yerleşimli olup, 68'i (%97,1) serebrum yerleşimli idi. Tümörün yerleşim yerinin serebrum veya serebellum olması ile IDH1 mutasyonunun varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p=1,000$), serebellumda lokalize 2 olgu da IDH-wild tip idi (Tablo 14).

Sol lobu tutan 39 (%55,7), sağ lobu tutan 31 (%44,3) olgu izlendi. Tümörün yerleşim yerinin sağ veya sol lob olması ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,776) (Tablo 14).

Tümörü frontal lobda bulunan olgu sayısı 28 (%40), frontal lob dışında diğer lokalizasyonlarda bulunan olgu sayısı ise 42 idi (%60). Tümörün yerleşim yerinin frontal bölgede olması ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=1.000) (Tablo 14).

Tablo 14. Tümör yerleşim yerlerinin IDH1 mutasyonu ile ilişkisi.

Tümör yerleşimi	IDH-mutant (%)	IDH-wild tip (%)	Toplam (%)	p değeri
Serebrum	15 (22,1)	53 (77,9)	68 (100,0)	p=1,000
Serebellum	0 (0,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	
Toplam	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)	
Sağ lob	6 (19,4)	25 (80,6)	31 (100,0)	p=0,776
Sol lob	9 (23,1)	30 (76,9)	39 (100,0)	
Toplam	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)	
Frontal lob	6 (21,4)	22 (78,6)	28 (100,0)	p=1,000
Frontal dışı	9 (21,4)	33 (78,6)	42 (100,0)	
Toplam	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)	

4.3.3 Görüntülemelerde ödem, nekroz, kist, hemoraji-kalsifikasyon, satellit varlığı ve multifokalite

Tümör çevresi ödem 49 (%70) olguda izlenirken, 21 (%30) olguda izlenmedi. Ödem ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunamadı (p=1,000) (Tablo 15).

Tablo 15. Radyolojik olarak ödem bulunması ve RT-PCR ile IDH mutasyon durumu sonuçlarının karşılaştırılması (p=1,000).

RT-PCR	Ödem		Toplam (%)
	Var	Yok	
IDH-mutant	11 (73,3)	4 (26,7)	15 (100,0)
IDH-wild tip	38 (69,1)	17 (30,9)	55 (100,0)
Toplam	49 (70,0)	21 (30,0)	70 (100,0)

Tümöre radyolojik olarak nekroz 67 (%95,7) olguda eşlik ederken, 3 (%2,9) olguda nekroz izlenmedi. Radyolojik olarak nekroz izlenmesi ve IDH1 mutasyonunun saptanması açısından istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,114) (Tablo 16).

Tablo 16. Radyolojik olarak nekroz bulunması ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,114).

RT-PCR	Nekroz		Toplam (%)
	Var	Yok	
IDH-mutant	13 (86,7)	2 (13,3)	15 (100,0)
IDH-wild tip	54 (98,2)	1 (1,8)	55 (100,0)
Toplam	67 (95,7)	3 (4,3)	70 (100,0)

Tümöre eşlik eden kistik alanlar 10 (%14,3) olguda izlenirken, 60 (%85,7) olguda izlenmedi. Kist varlığı ve IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,437) (Tablo 17).

Tablo 17. Radyolojik olarak tümöre eşlik eden kist varlığı ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,437).

RT-PCR	Kist		Toplam (%)
	Var	Yok	
IDH-mutant	3 (20,0)	12 (80,0)	15 (100,0)
IDH-wild tip	7 (12,7)	48 (87,3)	55 (100,0)
Toplam	10 (14,3)	60 (85,7)	70 (100,0)

Tümörün radyolojik olarak hemoraji ve kalsifikasyon içermesi 57 (%81,4) olguda izlenirken, 13 (%18,6) olguda izlenmedi. Hemoraji ve kalsifikasyon varlığı ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,133) (Tablo 18).

Tablo 18. Radyolojik olarak tümörün hemoraji ve kalsifikasyon içermesi ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,133).

RT-PCR	Hemoraji-kalsifikasyon		Toplam (%)
	Var	Yok	
IDH-mutant	10 (66,7)	5 (33,3)	15 (100,0)
IDH-wild tip	47 (85,5)	8 (14,5)	55 (100,0)
Toplam	57 (81,4)	13 (18,6)	70 (100,0)

Tümörün satellitlerinin olması 11 (%15,7) olguda izlenirken, 59 (%84,3) olguda izlenmedi. Satelit bulunması ve RT-PCR ile IDH mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,435) (Tablo 19).

Tablo 19. Radyolojik olarak satelit bulunması ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=0,435).

RT-PCR	Satellit		Toplam (%)
	Var	Yok	
IDH-mutant	1 (6,7)	14 (93,3)	15 (100,0)
IDH-wild tip	10 (18,2)	45 (81,8)	55 (100,0)
Toplam	11 (15,7)	59 (84,3)	70 (100,0)

Olguların 4 (%5,7) tanesi multifokal, 66 (%94,3) tanesi ise unifokaldi. Multifokalite ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunamadı (p=1,000) (Tablo 20).

Tablo 20. Radyolojik olarak multifokalite ile RT-PCR sonuçlarının karşılaştırılması (p=1,000).

RT-PCR	Multifokalite		Toplam (%)
	Var	Yok	
IDH-mutant	1 (6,7)	14 (93,3)	15 (100,0)
IDH-wild tip	3 (5,5)	52 (94,5)	55 (100,0)
Toplam	4 (5,7)	66 (94,3)	70 (100,0)

4.3.4 Radyolojik veriler eşliğinde IDH mutasyon değerlendirilmesi

70 olgu, yerleşim yeri ve NCET oranına göre; 59'i (%84,3) IDH-wild tip, 11'i (%15,7) IDH-mutant tip olarak değerlendirildi.

Radyolojik olarak IDH-mutant tip / wild tip olarak yapılan değerlendirme sonuçları ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,034) (Tablo21).

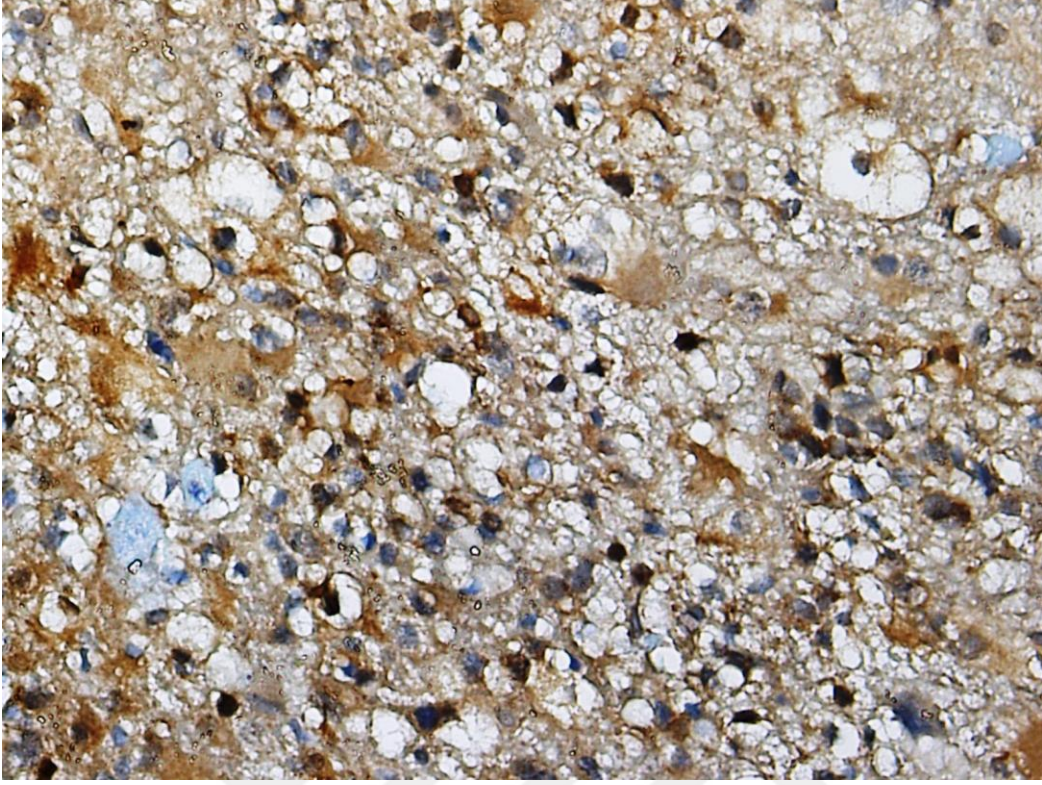
Tablo 21. Radyolojik olarak IDH mutasyon varlığı ile RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun varlığı arasındaki ilişki (p=0,034).

Radyolojik olarak IDH mutasyonu değerlendirmesi	PCR		Toplam (%)
	Pozitif (%)	Negatif (%)	
IDH-mutant	5 (45,5)	6 (54,5)	11 (100,0)
IDH-wild tip	10 (16,9)	49 (83,1)	59 (100,0)
Toplam	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)

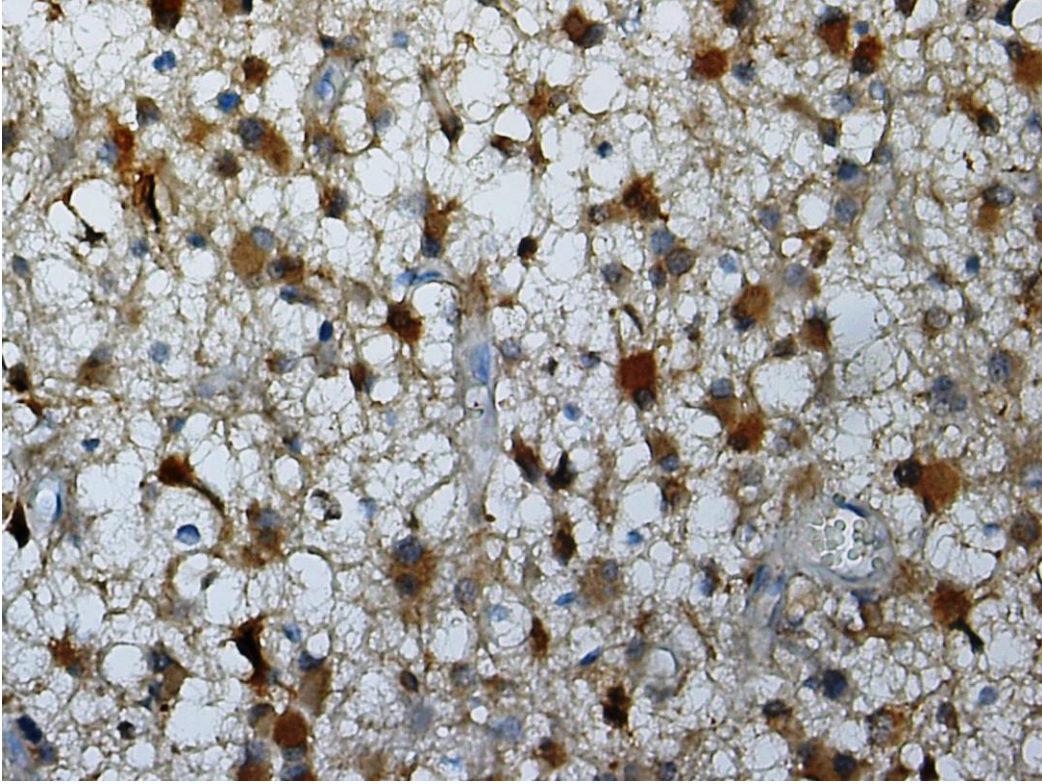
4.4 İmmünohistokimyasal değerlendirme sonuçları

4.4.1 IDH

Olgularımızın 13'ünde (%18,6) immünohistokimyasal olarak IDH ile boyanma saptanırken 57'sinde (%81,4) boyanma izlenmedi (Şekil 17-18).



Şekil 17. İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik ve nükleer IDH1 immünreaktivitesi (IDHx400).



Şekil 18. İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik ve nükleer IDH1 immünreaktivitesi (IDHx400).

İHK ile boyanma gösteren 13 olgunun hepsi RT-PCR ile de pozitif. İHK ile boyanmayan 57 olgunun ise 2 tanesi RT-PCR ile pozitif, 55 tanesi RT-PCR ile negatif olarak bulundu. RT-PCR yöntemi ve İHK yöntemi ile IDH1 mutasyon varlığının saptanması arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ilişki görüldü ($p=0,000$) (Tablo 22).

Tablo 22. İHK yöntemi ile IDH1 boyanması ve RT-PCR ile IDH1 mutasyon durumunun karşılaştırması ($p=0,000$).

İHK	PCR		Toplam (%)
	Pozitif (%)	Negatif (%)	
IDH pozitif	13 (100,0)	0 (0,0)	13 (100,0)
IDH negatif	2 (3,5)	55 (96,5)	57 (100,0)
Toplam	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)

İmmünohistokimyasal olarak IDH1 pozitifliği ile morfolojik parametreler birlikte değerlendirildiğinde; sadece pleomorfizm ve İHK arasında anlamlı bir ilişki bulundu ($p=0,018$) (Tablo 23). Diğer morfolojik parametreler olan sellülarite, heterojenite, mikrovasküler proliferasyon, vasküler tromboz ve nekroz çevresi palizatlanma ile İHK-IDH boyanması arasında anlamlı sonuç elde edilemedi (Tablo 24).

Tablo 23. Pleomorfizm ve İHK ile IDH1 boyanmasının karşılaştırması ($p=0,018$).

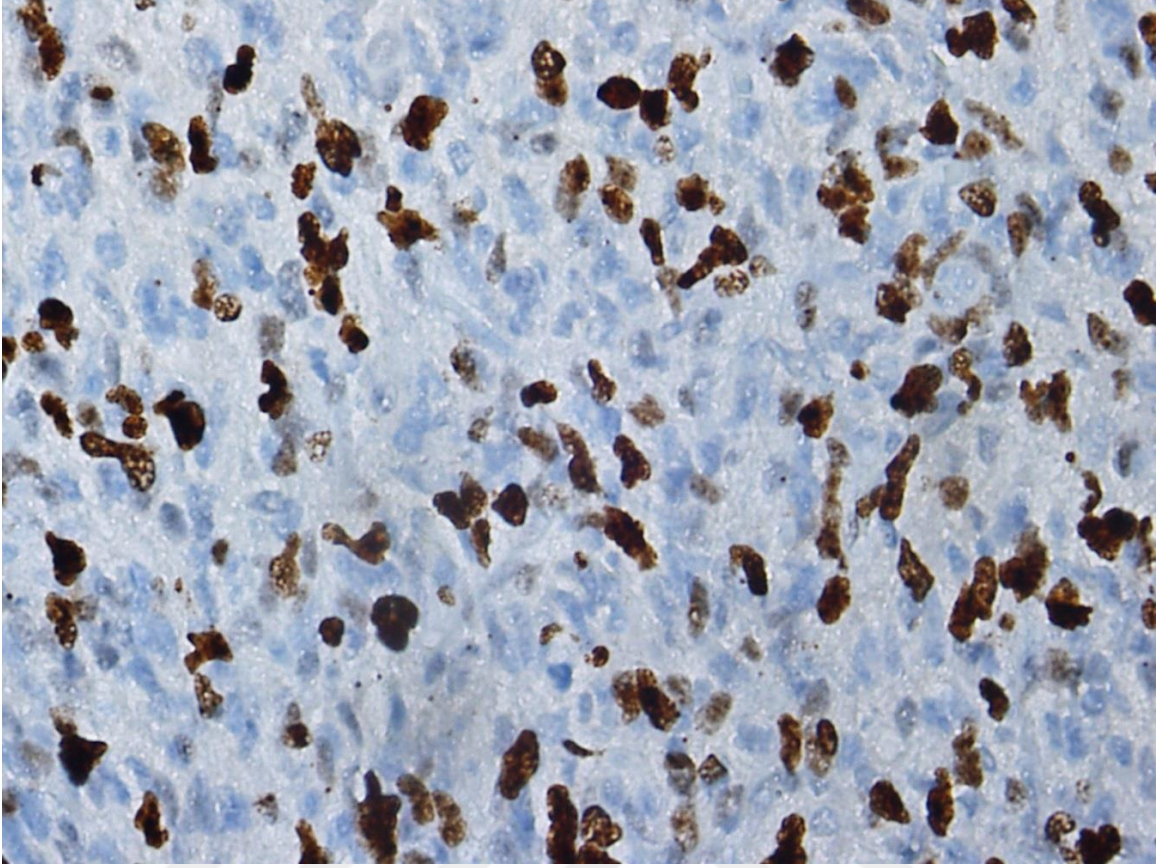
İHK	Pleomorfizm			Toplam (%)
	Hafif	Orta	Şiddetli	
IDH pozitif	4 (30,8)	1 (7,7)	8 (61,5)	13 (100,0)
IDH negatif	12 (21,1)	27 (47,4)	18 (31,6)	57 (100,0)
Toplam	16 (22,9)	28 (40,0)	26 (37,1)	70 (100,0)

Tablo 24. Tümör histopatolojik özellikleri ve İHK ile IDH1 boyanma durumlarının karşılaştırması.

İHK	Sellülarite			p değeri
	Düşük	Yüksek	Toplam (%)	
IDH pozitif	1 (7,7)	12 (92,3)	13 (100,0)	0,272
IDH negatif	14 (24,6)	43 (75,4)	57 (100,0)	
Toplam (%)	15 (21,4)	55 (78,6)	70 (100,0)	
İHK	Heterojenite			p değeri
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH pozitif	7 (53,8)	6 (46,2)	13 (100,0)	0,616
IDH negatif	35 (61,4)	22 (38,6)	57 (100,0)	
Toplam (%)	42 (60,0)	28 (40,0)	70 (100,0)	
İHK	Mikrovasküler proliferasyon			p değeri
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH pozitif	12 (92,3)	1 (7,7)	13 (100,0)	0,339
IDH negatif	56 (98,2)	1 (1,8)	57 (100,0)	
Toplam (%)	68 (97,1)	2 (2,9)	70 (100,0)	
İHK	Vasküler tromboz			p değeri
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH pozitif	8 (61,5)	5 (38,5)	13 (100,0)	0,511
IDH negatif	41 (71,9)	16 (28,1)	57 (100,0)	
Toplam (%)	49 (70,0)	21 (30,0)	70 (100,0)	
İHK	Nekroz çevresi palizatlanma			p değeri
	Var	Yok	Toplam (%)	
IDH pozitif	8 (61,5)	5 (38,5)	13 (100,0)	0,498
IDH negatif	42 (73,7)	15 (26,3)	57 (100,0)	
Toplam (%)	50 (71,4)	20 (28,6)	70 (100,0)	

4.4.2 Ki67 proliferasyon indeksi

İmmünohistokimyasal olarak Ki67 proliferasyon indeksi median değeri %30 (%5-90) (ortalama %34,64±18,74) olarak bulundu (Şekil 19).



Şekil 19. İmmünohistokimyasal olarak nükleer Ki67 immünreaktivitesi (Ki67x400).

İmmünohistokimyasal olarak Ki67 proliferasyon indeksi ortalama / median değerlerinin IDH-mutant ve IDH-wild tip olgularda sırasıyla $24,0 \pm 20,75 / 15,00$ ve $37,55 \pm 17,23 / 33,00$ olduğu, Ki67 proliferasyon indeksi değerleri ve IDH1 mutasyon varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunduğu görüldü ($p=0,005$) (Tablo 25).

Tablo 25. Ki67 proliferasyon indeksi ve IDH1 mutasyon durumlarının karşılaştırılması (p=0,005).

Ki67 proliferasyon indeksi (%) (N=70)		
IDH-mutant	n	15
	Ortalama±SD	24,0±20,75
	Median	15,00
	Min.-Max.	5-70
IDH-wild tip	n	55
	Ortalama±SD	37,55±17,23
	Median	33,00
	Min.-Max.	9-90

Ki67 proliferasyon indeksi gruplandırıldığında; %1-9 arası 5 (%7,1) olgu, %10-30 arası 33 (%47,1) olgu ve %31 ve üstü 32 (%45,7) olgu saptandı. IDH-mutant glioblastom olgularının Ki67 değerinin %26,7'sinde %10'un altında, %53,3'ünde %10 ile %30 arasında, %20'sinde %31'in üzerinde olduğu, IDH-wild tip glioblastom olgularının ise Ki67 değerinin %1,8'inde ise %10'nun altında, %45,5'inde %10 ile %30 arasında, %52,7'sinde %31'in üzerinde olduğu görüldü. İmmünohistokimyasal olarak Ki67 gruplaması yapıldığında ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonu durumu ile karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu dikkati çekti (p=0,003) (Tablo 26).

Tablo 26. İmmünohistokimyasal olarak gruplandırılmış Ki67 proliferasyon indeksi ve RT-PCR ile IDH1 mutasyon durumlarının karşılaştırılması (p=0,003).

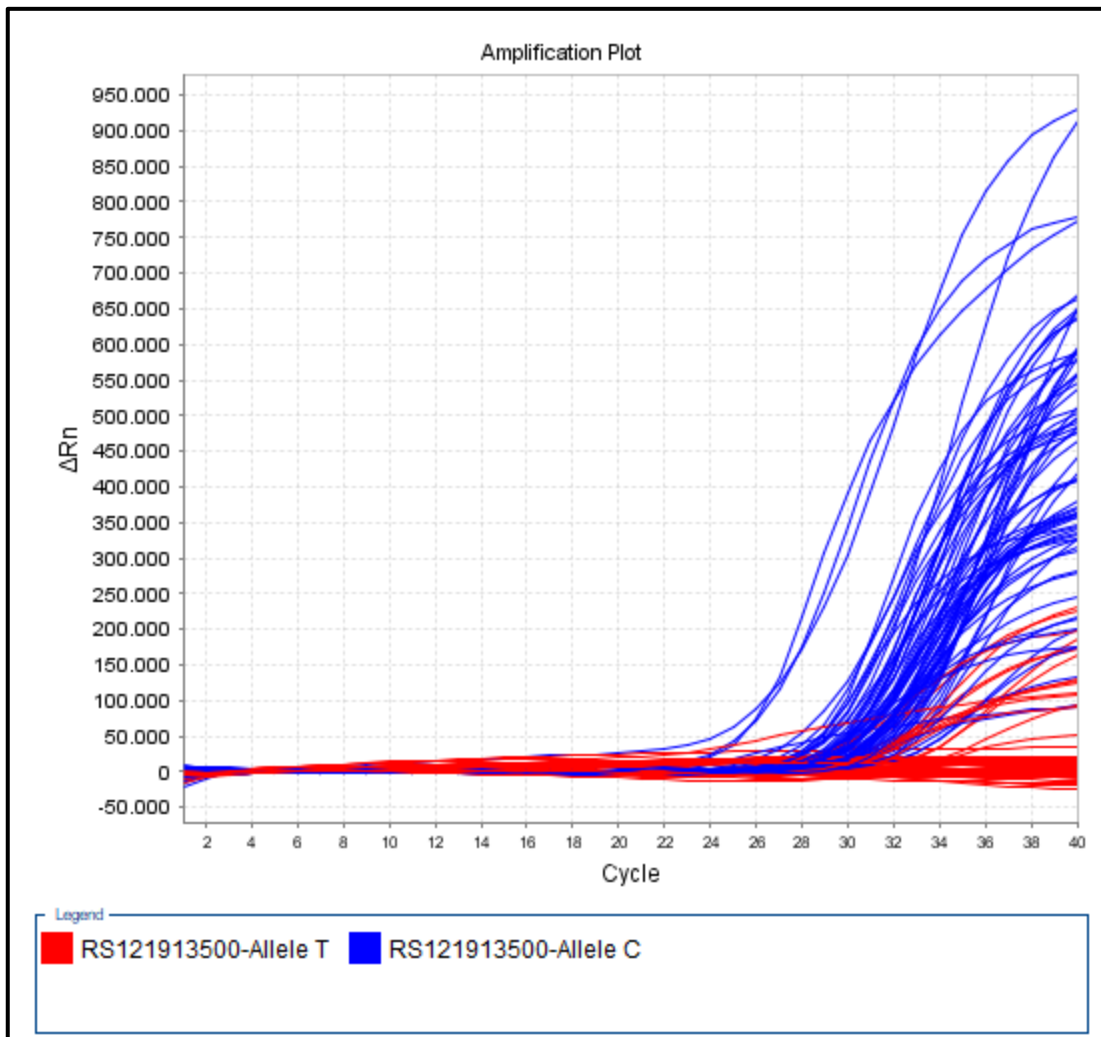
RT-PCR	Ki67 sınıflaması			Toplam (%)
	%1-9 (%)	%10-30 (%)	%31-100 (%)	
IDH-mutant	4 (26,7)	8 (53,3)	3 (20,0)	15 (100,0)
IDH-wild tip	1 (1,8)	25 (45,5)	29 (52,7)	55 (100,0)
Toplam	5 (7,1)	33 (47,1)	32 (45,7)	70 (100,0)

Ayrıca; Ki67 proliferasyon indeksi ile radyolojik olarak tümörün yerleşim yeri (p=0,695), tümörün frontal lob yerleşimli olması (p=0,447), ödem varlığı (p=0,446),

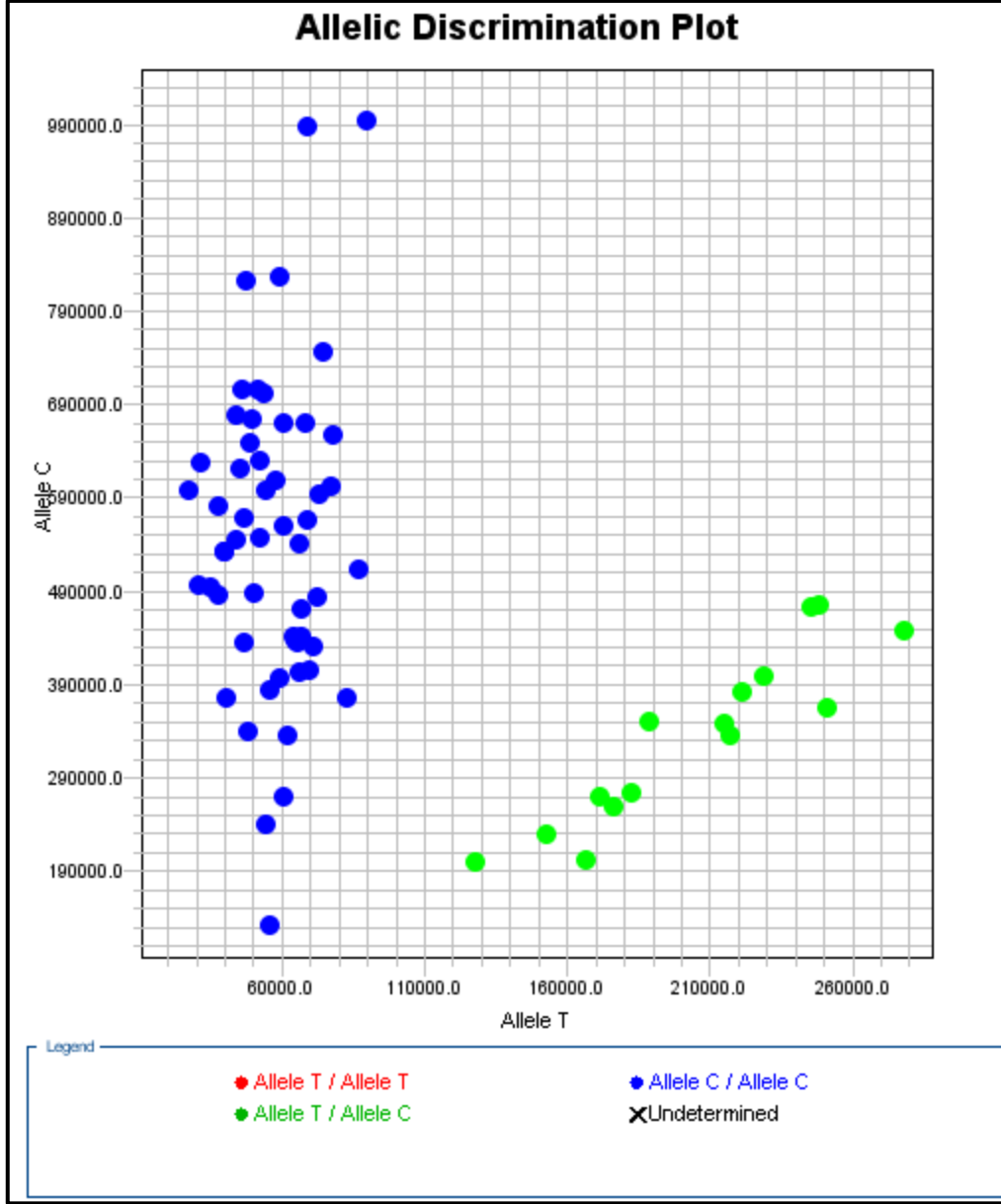
nekroz varlığı (p=0,057), kist bulunması (p=0,880), hemoraji ve kalsifikasyon bulunması (p=0,395), satelit varlığı (p=0,962) ve multifokal olması (p=0,524) arasındaki ilişki değerlendirildiğinde anlamlı fark saptanmadı.

4.5 Real time PCR değerlendirme sonuçları

RT-PCR yöntemi ile olguların 15'i (%21,4) "*Genotype CT*" (IDH-mutant), 55'i (%78,6) ise "*Genotype CC*" (IDH-wildtip) olarak saptandı. Yapılan çalışmada olguların amplifikasyon görüntü (Şekil 20) ve allelik diskriminasyon görüntü grafiği (Şekil 21) aşağıdaki gibiydi.



Şekil 20. Olguların amplifikasyon görüntüsü.



Şekil 21. Olguların allelik diskriminasyon görüntüsü.

IDH1 mutasyonun İHK yöntemi ile saptanmasının sensitivitesi %86,6, spesifitesi ise %100 olarak saptandı. Ayrıca; radyolojik olarak preoperatif görüntülemeler ile IDH1 mutasyonunun saptanmasının ise sensitivitesi %33,3, spesifitesi ise %89 olarak bulundu.

5. TARTIŞMA

Beyin ve santral sinir sistemi (SSS) tümörleri tüm dünyada 19. sıklıkta görülen kanserler olup; bu tümörler arasında en sık görülen primer malign beyin tümörü glioblastomdur.¹¹ Eski sınıflamada çok çeşitli histopatolojik özelliklere sahip olması sebebiyle “glioblastoma multiforme” şeklinde isimlendirilen bu tümörler,⁶ DSÖ-2016 sınıflamasında sadece glioblastom şeklinde yer almıştır.¹ Glioblastom bütün yaşlarda saptanabilirken, en sık 55-85 yaş aralığında izlenmektedir. 40 yaşın altında az görülmele birlikte, çocukluk çağında oldukça nadirdir.^{1,3} Lee ve ark.’nın¹⁰⁷ yaptığı çalışmada 150 glioblastom olgusunda ortalama yaş 58,8 yıl, Montgomery ve ark.’nın¹⁰⁸ yaptığı 36 olguluk çalışmada ortalama yaş 57 yıl, Combs ve ark.’nın¹⁰⁹ yaptığı 160 olguluk çalışmada ortalama yaş 56 yıl, Popova ve ark.’nın¹⁰⁶ yaptığı 219 olguluk çalışmada ortalama yaş 48 yıl olarak tespit edilmiştir. Biz de çalışmamızda 70 kişilik olgu serimizde en genç 29, en yaşlı 79 yaş olmak üzere yaş ortalamasını 53,33±10,94 olarak saptadık ve bu literatür ile uyumluluk göstermekteydi.

IDH-wild tip glioblastomların ortalama tanı yaşı 62 olarak bildirilirken, IDH-mutant glioblastomların daha genç yaşta izlendiği, ortalama tanı yaşının 45 olduğu belirtilmektedir.^{1,23} Nobusawa ve ark.’nın çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiş; IDH-wild tip olguların yaş ortalaması 60, IDH-mutant olguların yaş ortalaması 47 olarak saptanmıştır.⁴ Bizim çalışmamızda ise IDH-wild tip olguların ortalama tanı yaşı 53,85±10,80 olup, IDH-mutant olan olguların ortalama tanı yaşı 51,40±11,61’tir. Literatürde geçen kadar yaş farkı bulunamasa ve bu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da IDH-mutant olguların daha genç yaşta olduğu dikkati çekmiştir.

Glioblastomlarda erkek / kadın oranı ülkelere göre değişkenlik göstermekle birlikte, yaklaşık 1.6 / 1 oranındadır.^{1,3} Popova ve ark.’nın¹⁰⁶ yaptığı çalışmada erkek / kadın oranı 1,5 / 1, Combs ve ark.’nın¹⁰⁹ yaptığı çalışmada 1,4 / 1, Ohgaki ve ark.’nın¹⁰ yaptığı çalışmada 1,28 / 1, Senhaji ve ark.’nın¹¹⁰ yaptığı çalışmada 1,5 / 1 olarak tespit edilmiş ve tüm bu çalışmalarda tümörde erkek baskınlığı olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da 70 olgunun 49’u erkek (%70), 21’i kadın (%30) olup, erkek / kadın oranı 2,3 / 1 di ve genel literatür bilgisine benzerlik göstermektedir. Seyrek de olsa glioblastomlarda erkek ve kadında görülme oranının eşitliği (E / K:1 / 1)¹⁰⁷ veya kadın baskınlığının (E / K:0,8 / 1)¹⁰⁸ bildirildiği çalışmalar da mevcuttur.

Glioblastomlar hızlı ilerleyen, semptomları tümörün lokalizasyonuna bağlı olarak farklılık gösteren tümörlerdir. Çoğunlukla fokal nörolojik defisitler izlenmekle birlikte; intrakranial basınç artışına bağlı semptomlar da görülmektedir. Bu semptomlar; afazi, ekstremitelerde güçsüzlük, kişilik değişiklikleri, nöbet, bulantı-kusma, uzun süreli baş ağrılarıdır.^{6,29} Bizim olgularımızda; hastaneye başvuru şikayetleri benzer olup, 34 hastada (%48,6) baş ağrısı, 18 hastada (%25,7) bir vücut yarımında güçsüzlük ve uyuşma, 8 hastada (%11,4) nöbet geçirme, 5 hastada (%7,1) konuşma bozukluğu ve 5 hastada (%7,1) bilinç kaybıdır.

Glioblastom sıklıkla serebral hemisferlerde subkortikal beyaz madde ve derin gri maddede lokalize olup, bizim çalışmamızda da tümör %97,1 oranında serebrum yerleşimlidir. Zürih Üniversite Hastanesi'nde 987 glioblastom olgusuyla yapılan çalışmada en sık etkilenen bölgeler; %31 oranında temporal lob, %24 oranında parietal lob, %23 oranında frontal lob, %16 oranında oksipital lob olarak bildirilmiş olup; Amerika'da da lokalizasyonların benzer olduğu belirtilmiştir.^{6,25} Ayrıca IDH-mutant tümörlerde frontal lob baskınlığından bahsedilmektedir.¹ Paldor ve ark.'nın 204 olguluk çalışmasında IDH-mutant olgularda en sık frontal lob yerleşimli tümörlere rastlanmakla birlikte (%50), IDH-wild tip olgularda daha sık görülen lokalizasyonun frontal lob dışı bölgeler (%39) olduğu bildirilmiştir.¹¹¹ Lasocki ve ark.'nın yaptığı 153 olgudan oluşan çalışmada ise hem IDH-mutant (%40) hem de IDH-wild tip (%38) olgularda en sık frontal lob tutulumu saptanmıştır.⁹ Literatürde bildirilen bu çelişkili sonuçların yanısıra, bizim çalışmamızda sonuç hepsinden farklı olup; en sık tutulum frontal lob (%40), ardından temporal lob (%38,6)'dur. IDH-mutant olguların en sık yerleşim yeri temporal lob (%46,7), IDH-wild tip olguların ise frontal lob (%40) olduğu saptanmıştır.

Glioblastomlar makroskopik olarak; unilateral, kötü sınırlı, büyük boyutlu kitleler olup; kesit yüzleri nekrotik, kanamalı, gri-beyaz ve yer yer kistik alanlar içeren tümörlerdir.⁶ IDH-mutant glioblastomlar IDH-wild tip glioblastomlara göre daha büyük boyuttadırlar ve kistik alanlar içerebilirler.⁵ Bizim çalışmamızda; en küçük tümör boyutu 3cm, en büyük tümör boyutu 13 cm olup, ortalama tümör boyutu 7,33 olarak saptandı. IDH-mutant olgulardaki ortalama tümör boyutu 7,63±2,39 cm, IDH-wild tip olgulardaki ortalama tümör boyutu 7,24±2,10 cm. idi ve tümör boyutu ile IDH1 mutasyonunun varlığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki görülmedi (p=0,615). Ayrıca; 10 olguda (%14,3) tümörün kistik komponent bulundurduğu izlenirken, 60 olguda (%85,7) ise kistik

komponentin bulunmadığı; kist varlığı ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmadığı (p=0,437) görüldü. Ancak, literatür bilgilerine benzer şekilde IDH-mutant olgularda, tümörün mutasyon bulunmayan olgulara göre daha fazla oranda kistik komponent içerdiği dikkati çekti (sırasıyla %20,0 ve %12,7) ve istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşamamasının nedeninin olgu sayısının azlığından kaynaklanmış olabileceği düşünüldü.

Glioblastom tanısı histopatolojik olarak, astrositik morfoloji gösteren bir tümörde mikrovasküler proliferasyon, mitoz ve / veya nekroz izlenmesi ile verilmektedir. Tanı için gerekli olmasa da sıkça izlenen özellikler ise, tümör içi heterojenite varlığı, sellülaritenin artması, pleomorfik hücreler ve nekroz çevresi palizatlanmanın izlenmesidir.¹ Literatürde belirli bir morfolojik özelliğin glioblastomda IDH mutasyonunu öngörmeye kullanılabileceğine dair bir bilgi bulunmamakta; birkaç özellik ile ilgili az sayıda çalışma dikkati çekmektedir. Habberstad ve ark.¹¹² yaptıkları 200 olguluk çalışmalarında, 169 (%84,5) olguda mikrovasküler proliferasyon ve 157 (%78,5) olguda vasküler tromboz gördüklerini; pleomorfizmi hafif, orta, şiddetli şeklinde sınıflandırdıklarında 15 (%7,5) olgunun hafif, 134 (%67) olgunun orta, 51 olgunun (%25,5) şiddetli pleomorfizm gösterdiğini; tümör sellülaritesinin 7 (%3,5) olguda düşük, 141 (%70,5) olguda orta, 52 (%26) olguda yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Homma ve ark.⁵¹ 420 olguluk çalışmalarında mikrovasküler proliferasyonu tüm olgularında izlediklerini belirtmişlerdir. Nobusawa ve ark.⁴ ise IDH1 mutasyonu ile mikrovasküler proliferasyon ve vasküler tromboz varlığını karşılaştırmışlar, anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Biz de çalışmamızda, glioblastom olgularımızda izlediğimiz belirgin histopatolojik özellikler (baskın hücre tipi, pleomorfizm, sellülarite, heterojenite, mikrovasküler proliferasyon, vasküler tromboz, nekroz ve nekroz çevresi palizatlanma, mitoz) ile bu olguların IDH-mutant ve IDH-wild tip olma özellikleri arasında anlamlı bir ilişki olup olmasını değerlendirdik ve IDH1 mutasyon varlığını hem PCR yöntemi hem de İHK yöntemi ile araştırıp, tüm bu morfolojik özelliklerle kıyasladık. Bu morfolojik özelliklerden sellülarite, heterojenite, mikrovasküler proliferasyon ve vasküler tromboz ile IDH1 mutasyonun varlığı / yokluğu ve immünohistokimyasal olarak IDH boyanması açısından anlamlı bir ilişki olmadığını gördük. Ancak; pleomorfizm ve İHK yöntemi ile IDH boyanması açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunduğunu saptadık. Pleomorfizm derecesi ve RT-PCR ile IDH mutasyonunun saptanması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki

gösteremesek de ($p=0,059$); IDH-mutant olgularda pleomorfizmin şiddetinin, IDH-wild tip olgulara göre daha fazla olduğunu gördük. Belirgin pleomorfizm gösteren glioblastomlarda IDH mutasyonunun daha sık saptanabileceği, böyle olguların bu açıdan İHK veya RT-PCR ile araştırılmasının uygun olacağı sonucuna vardık.

Literatürde; glioblastomlarda IDH-mutant tipte nekroz alanlarının IDH-wild tipe göre belirgin olarak az olduğu bildirilmiştir.⁴ Nobusawa ve ark. yaptıkları çalışmalarında geniş iskemik nekroz ve palizatlanan nekroz alanlarını IDH-mutant tümörlerde %50, IDH-wild tip tümörlerde ise %90,3 oranında bulmuşlar; bunun IDH-wild tip tümörlerin karakteristik özelliği olduğunu rapor etmişlerdir.⁴ Homma ve ark. ise 420 olguluk çalışmalarında 366 (%87) olguda nekroz izlediklerini, geniş nekroz alanlarının IDH-mutant tümörlerde %63, IDH-wild tip tümörlerde %89 oranında bulunduğunu ve bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0,001$) olduğunu; psödopalizatlanan nekrozun ise IDH-mutant tipte %21 oranında görülürken, IDH-wild tipte %45 ile daha sık izlendiğini ancak bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını ($p=0,031$) bildirmişlerdir.⁵¹ Habberstad ve ark. 200 olguluk çalışmalarında, 197 (%98,5) olguda nekroz izlediklerini; psödopalizatlanan nekrozun ise 158 (%79) olguda mevcut olduğunu rapor etmişlerdir.¹¹² Bizim çalışmamızda; istatistiksel olarak nekrozun varlığı veya yaygınlığı ile IDH mutasyon durumu arasında anlamlı bir ilişki saptanamamakla birlikte ($p=0,114$) IDH-mutant olgularda nekroz yaygınlığının median değeri %15 ile IDH-wild tip tümörlerin median değerinden (%23) daha azdı. Vaka sayılarının daha fazla olduğu çalışmalar ile bu parametrenin değerlendirilmesinin gerektiği, nekroz varlığı ve yaygınlığının IDH mutasyonunu öngörmede kullanılabilecek bir parametre olabileceği düşünüldü.

Baskın hücre tipi açısından, dev hücreden zengin tip glioblastomların, tüm glioblastomların %1'inden azını oluşturduğu; bu tipte IDH mutasyonunun izlenmediği fakat prognozunun IDH-wild tip glioblastomlara göre daha iyi olduğu belirtilmiştir.⁵⁷ Ayrıca, oligodendriogial komponente sahip glioblastomlarda IDH mutasyonunun daha sık görüldüğü bildirilmektedir.^{4,5} Baskın hücre paterni açısından değerlendirildiğinde bizim çalışmamızda en fazla (%68,6 oranında) konvansiyonel tip glioblastom mevcuttu. Ayrıca %15,7 olguda gemistositik, %8,6 olguda dev hücreli, %4,3 olguda oligodendrositik ve %2,9 olguda küçük hücreli komponentin baskın olduğu görüldü. Olgularımızın baskın hücre tipine göre IDH mutasyonu gösterme oranları ise: Konvansiyonel glioblastomlarda %25, gemistositik hücreli olanlarda %9,1, oligodendrositik hücreli olanlarda %33,3, dev

hücreli olanlarda %16,6 ve küçük hücreli olanlarda %0 şeklindeydi. Olgularımızın sayısı ve dağılımı istatistiksel analiz için çok uygun olmamakla birlikte, baskın hücre tipi ile IDH mutasyonunun varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi. Dev hücreden zengin 6 olgumuzun sadece 1 tanesinde (%17) IDH mutasyonu saptanırken; oligodendroglial hücrelerden zengin 3 olgunun 1 tanesinde (%33) IDH mutasyonu vardı. Çalışmamızda; oligodendrositlerden baskın glioblastomlarda IDH mutasyonu yüzdesi literatür bilgilerine benzer şekilde diğer gruplardan daha yüksek olmakla birlikte, gruplara düşen sayılar orantısız ve az oldukları için, baskın hücre tipinin IDH mutasyonunu öngörmede kullanılabilecek bir parametre olup olmayacağına daha yüksek sayıda vaka gruplarında değerlendirilerek, araştırılması gerektiği sonucuna varıldı.

Glioblastomlar 2016 DSÖ sınıflamasına göre histolojik olarak derece-IV tümörler olup; sınıflandırmanın temelinde histopatoloji yer almakla birlikte, tümörler moleküler özelliklerine göre adlandırılmıştır. IDH mutasyonu ise sınıflamanın çekirdeğini oluşturmaktadır. IDH1 mutasyonu sekonder glioblastomda yaygın olarak görülür ve primer / sekonder glioblastom ayırımında kullanışlı bir belirteçdir. IDH1/2 mutasyonlarını saptamada altın standart yöntemler Sangers sekanslama ve PCR amplifikasyonudur.¹

Çalışmalarda glioblastomların %90-95'ni primer glioblastomların; %5-10 gibi az bir kısmını ise sekonder glioblastomların oluşturduğu bildirilmiştir.^{4,23,107} Bir çalışmada ise primer glioblastomların %80 ve sekonder glioblastomların %20 oranında görüldüğü belirtilmiştir.¹¹³ Yine DNA sekans yönteminin kullanıldığı çalışmalarda Parsons ve ark.⁸⁸ glioblastom olgularının %12'sinde, Nobusawa ve ark.⁴ glioblastom olgularının %8,8'inde, Senhaji ve ark.¹¹⁰ glioblastom olgularının %12,3'ünde, Kurian ve ark.¹¹⁴ glioblastom olgularının %7'sinde IDH1 mutasyonu tespit etmişlerdir. Biz çalışmamızda 70 olgunun %21,4'ünde IDH mutasyonu saptadık ve bu oran literatürde çeşitli çalışmalarda bildirilen ve değişken olan %5-20 oranının üst sınırına yakındı.

Parsons ve ark.⁸⁸ 22 glioblastom olgusunda, Watanabe ve ark.⁹⁰ 130 glioblastom olgusunda, Nobusawa ve ark.⁴ 407 glioblastom olgusunda yaptıkları çalışmalarında IDH1 mutasyonlarının tamamını 132. aminoasit lokalizasyonunda saptamışlardır. Watanabe ve ark.⁹⁰ bu mutasyonların %91'inde, Nobusawa ve ark.⁴ ise %83'ünde 132. aminoasitte bulunan arjininin histidin ile yer değiştirdiğini bulmuşlardır. Yan ve ark.²², Ichimura ve ark.⁹⁹, Senhaji ve ark.¹¹⁰ yaptıkları çalışmalarında da bu aminoasit değişimine en sık yol

açan mutasyonun R132H olduğunu saptanmışlardır. Biz de tüm olgularımızda RT-PCR ile IDH1-R132H mutasyon varlığını değerlendirdik.

İmmünohistokimyasal yöntemin, çoğu patoloji laboratuvarında uygulanabilen, hızlı, ekonomik bir yöntem olması sebebiyle, IDH mutasyonunun belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir.¹⁰¹ İmmünohistokimyasal yöntemin kullanıldığı çalışmalarda Popova ve ark.¹⁰⁶ glioblastom olgularının %11'inde, Chaurasia ve ark.¹¹⁵ %10,4'ünde, Ichimura ve ark.⁹⁹ %6,0'sında, Sanson ve ark.¹¹⁶ %10,7'sinde IDH1 belirteci ile boyanma tespit etmişlerdir. Ayrıca ülkemizde yapılan yayınlanmamış 3 çalışmada İHK ile IDH1 boyanma yüzdeleri: Kaymakçı ve ark'nın¹¹⁷ yaptığı 82 olguluk çalışmada %6,1, Çakmak ve ark'nın¹¹⁸ yaptığı 349 olguluk çalışmada %17,8 ve Akyol ve ark'nın¹¹⁹ yaptığı 166 olguluk çalışmada %42,2 olarak saptanmıştır. Biz de çalışmamızda immünohistokimyasal boyama yöntemini 70 olguya da uyguladık ve %18,6 olguda IDH1 boyanması saptadık.

Yapılan çalışmalarla IDH1 mutasyonu tespiti için immünohistokimyasal olarak IDH1-R132H mutasyon spesifik antikorun DNA sekanslama yöntemleri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.^{8,101} Nobusawa ve ark.⁴ primer / sekonder glioblastom ayırımında IDH1 mutasyonunun moleküler belirteci olarak kullanımı açısından immünohistokimyasal yöntemin sensitivitesini %73,3, spesifitesini %96,3 olarak bulmuşlardır. Capper ve ark.⁸ tarafından IDH1 mutasyonu için DNA sekans yöntemi ile immünohistokimyasal yöntemin karşılaştırılmasında İHK'nin sensitivitesi %94, spesifitesi %100 olarak bildirilmiş ve immünohistokimyanın geçerli bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca Kurian ve ark.¹¹⁴ yaptıkları çalışmalarında, İHK yöntemi ile DNA sekans yönteminin IDH1-R132H mutasyonu varlığında tamamen uyumlu olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmalarda sensitivitenin daha az saptanma nedeninin ise İHK ile R132C, R132G ve R132S gibi diğer mutasyonların saptanamamış olması olduğu belirtilmiştir.²² Biz de çalışmamızda IDH mutasyonunun saptanmasında RT-PCR yöntemi ile İHK yöntemini karşılaştırdığımızda, PCR yöntemi ile IDH1 mutasyonu saptanan 15 olgunun (%21,4) 13'ünde (%18,6) İHK yöntemi ile IDH1 pozitifliği olduğunu gördük. Çalışmamızda, 2 olguda IDH1 mutasyonu mevcut iken, immünohistokimyasal olarak boyanmanın görülmediğini, immünohistokimyasal yöntemin sensitivitesinin %86,6, spesifitesinin ise %100 olduğunu saptadık ve immünohistokimyasal olarak IDH1 boyanmasının IDH-mutant tip glioblastomların saptanması ve glioblastomların alt tiplmesi açısından rutinde

kullanılabileceği; ancak yalancı negatifliklerin bulunabileceği, özellikle klinik olarak IDH mutasyonu açısından şüpheli olgularda bu bulguların RT-PCR ile desteklenmesi ve doğrulanması gerektiği sonucuna vardık.

Literatürde çok sayıda çalışmada gliyal tümörlerde Ki67 proliferasyon indeksi ile tümör derecesi arasında pozitif korelasyon izlenmiştir.^{44,45} Glioblastomda proliferatif aktivite belirgin olup; mitotik aktivite ve Ki67 proliferasyon indeksi tümör içerisinde farklı alanlarda değişkenlik göstermekle birlikte, genellikle yüksektir.

Yapılan çalışmalarda glioblastomlarda mitotik aktivitenin yüksekliğinden bahsedilmekle birlikte, belirgin bir sayı verilmemiştir. Biz çalışmamızda IDH-mutant ve IDH-wild tip olgulardaki 10 BBA'nda izlenen mitoz sayısını değerlendirdik ve bu iki grup arasında mitoz sayısı açısından anlamlı fark olduğunu saptadık (p=0,009). Kötü gidişli olduğu bilinen IDH-wild tip glioblastomlarda mitoz sayısının median değeri 21, IDH-mutant tipte ise 8 idi ve izlenen mitoz sayısının IDH mutasyon durumunu ve dolayısıyla klinik gidişi öngörmede kullanılabilecek bir parametre olabileceği sonucuna vardık.

Glioblastomlarda Ki67 proliferasyon indeksinin tipik olarak ortalama %15-20 olduğu, ancak bazen fokal alanlarda %50'den de fazla olabileceği belirtilmiştir.⁴³ Bu oran Hashiba ve ark'nin⁸⁷ MIB-1 ile en yoğun boyanmanın olduğu alanda 1000 hücre sayarak yaptıkları çalışmalarında %21,6, Stoyanov ve ark'nin¹²⁰ en az yoğun ve en yoğun bölgeleri sayarak ve ortalamalarını alarak yaptıkları çalışmalarında %17,3, Saha ve ark'nin¹²¹ 1000 hücre sayarak yaptıkları çalışmalarında %21,5 olarak bulunmuştur. Arshad ve ark. çalışmalarında yine MIB-1 ile en yoğun boyanmanın olduğu alanda 1000 hücre sayarak, diğer çalışmalara göre daha düşük oranda ortalama Ki67 değeri (%7,95) tespit etmişlerdir⁴⁴. Wakimoto ve ark. ise MIB1 ile 3 veya daha fazla random alanda 500'den fazla hücre sayarak bu değeri %31,6 olarak saptamışlardır.¹²² Biz de çalışmamızda MIB-1 ile en yoğun boyanmanın olduğu alanda 1000 hücre sayarak Ki67 proliferasyon indeksini değerlendirdik ve ortalamasını %34,6 olarak daha yüksek bir değerde saptadık. Bu oran farklılıklarının Ki67 değerlendirme yöntemindeki farklılıklar, standardizasyonun bulunmaması ve kullanılan klonun farklılığından kaynaklanıyor olabileceğini düşündük.

Cai ve ark. Ki67 yüksek ekspresyonu ile IDH1 negatifliği (primer) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit etmişlerdir.⁴⁵ Bizim çalışmamızda da IDH1 mutasyonu saptanan olgularda Ki67 ortalama yüzdesi %24,0, medyan değeri %15; IDH mutasyonu saptanmayan olgularda Ki67 ortalama yüzdesi %37,5, medyan değeri %33

olup, IDH1 mutasyon durumu ile ortalama Ki67 proliferasyon indeksi yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0,005$).

Ayrıca Popova ve ark.'nın¹⁰⁶ çalışmalarında yaptığı gibi Ki67 proliferasyon indeksini $<10\%$, $10-30\%$, $>30\%$ şeklinde gruplandırdığımız çalışmamızda; IDH-mutant glioblastom olgularının 20% 'sinde Ki67 değerinin 30% 'un üzerinde, $26,7\%$ 'sinde ise 10% 'un altında olduğunu gördük. IDH-wild tip glioblastom olgularının ise $52,7\%$ 'sinde Ki67 değeri 30% 'un üzerinde, $1,8\%$ 'inde 10% 'nun altında idi ve gruplara göre Ki67 skorlamasında IDH-mutant ve IDH-wild tip olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izledik. Ki67 proliferasyon indeksi yükseldikçe IDH mutasyonuna sahip olma olasılığının azaldığını gördük. Hem Ki67 yüzdesinin hem de gruplandırılmış Ki67 düzeylerinin prognozu kötü olan IDH-wild tip glioblastomlarda daha yüksek olduğunu gördük ve mitozda olduğu gibi, genellikle buna korele olan Ki67 proliferasyon indeksinin de IDH mutasyon durumunu ve dolayısıyla klinik gidişi öngörmeye kullanılabilecek bir parametre olabileceği sonucuna vardık.

Paldor ve ark.¹¹¹ yüksek proliferasyon indeksine sahip glioblastomların daha çok frontal lobda ($40,6\%$) lokalize olduklarını, düşük proliferasyon indeksine sahip olan tümörlerin ise birden fazla lobda (multilobar) yerleşim gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Biz de çalışmamızda, Ki67 proliferasyon indeksi ile tümörün yerleşim yeri ($p=0,695$) ve diğer radyolojik bulguları olan tümörün frontal lob yerleşimli olması ($p=0,447$), ödem varlığı ($p=0,446$), nekroz varlığı ($p=0,057$), kist bulunması ($p=0,880$), hemoraji ve kalsifikasyon bulunması ($p=0,395$), satellit varlığı ($p=0,962$) ve multifokal olması ($p=0,524$) arasındaki ilişkiyi değerlendirdik ve bu parametreler arasında anlamlı bir ilişki olmadığını gördük.

Glioblastom heterojen bir tümördür, aynı tümör içinde farklı dereceye sahip tümöral alanlar bulunabilir.¹ Genetik mutasyonlar da tümör içinde farklılıklar gösterebilir.¹²³ Bu heterojenite sebebiyle histopatolojik ve genetik değerlendirmenin hatalı olabileceği düşünülmektedir. Görüntüleme teknikleri, özellikle MR ile tüm tümörün ve beynin görüntülenmesinin, tümörün örneklenmesi aşamasındaki hatalardan kaynaklanacak sorunların çözümü olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca noninvaziv bir yöntem olan MR ile operasyon öncesi tümörün histolojik ve genetik özelliklerinin saptanabiliyor olması MR'ın avantajlarından ve tedavi prosedürünü belirlemede önemlidir.^{9,124}

IDH1 mutasyonu ve görüntüleme teknikleri ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Carrillo ve ark.'ları¹²⁵ çalışmalarında NCET (Kontrastlanmayan solid komponent) ile

IDH1 mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlar; MR görüntülemeleri ile %97,5 oranında IDH1 mutasyonunun varlığını saptadıklarını, ayrıca frontal lob yerleşimi, tümör boyutunun büyüklüğü, kist ve satellit varlığı ile IDH1 mutasyonu arasında anlamlı ilişki bulduklarını rapor etmişlerdir.¹²⁵ Ellingson ve ark.¹²⁶ da çalışmalarında tümörün frontal veya temporal lobda bulunmasıyla IDH mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu saptanmışlardır. Lasocki ve ark.⁹ ise eğer tümör frontal lob yerleşimli değilse ve NCET oranı %33'ten az ise bu tümörün IDH-wild tip olma ihtimalinin yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.⁹ Bizim çalışmamızda; Lasocki ve ark.'nın⁹ yaptığı çalışma metodu kriter alınarak, preoperatif MR görüntülemelerinin incelenmesi ile IDH-mutant olduğu düşünülen 11 (%15,7) olgu saptandı. NCET>%33 ve frontal lob yerleşimli olan tümörler IDH-mutant tip olarak değerlendirildi ve bu sonuçlarla PCR sonuçları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. Fakat frontal lob ve NCET'in tek başına değerlendirilmesi ile IDH mutasyon durumları arasında anlamlı sonuç elde edilemedi.

Literatürde preoperatif görüntüleme yöntemleri ile IDH1 mutasyon varlığını değerlendirmenin sensitivitesi ve spesifitesi sırasıyla Carrillo ve ark. nin¹²⁵ yaptığı çalışmada %71,4 ve %99,5, Su ve ark. nin¹²⁴ çalışmalarında ise %81 ve %96 olarak bulunmuştur. Biz çalışmamızda sensitiviteyi %33,3, spesifiteyi ise %89,0 olarak bulduk ve IDH1 mutasyonunu öngörmeye preoperatif görüntüleme yöntemlerinin kullanılabileceğini, ancak bunun yanlış pozitiflik ve negatifliklerinin olabileceği için postoperatif cerrahi spesmenlere uygulanacak immünohistokimyasal veya moleküler yöntemlerle teyid edilmesi gerektiği sonucuna vardık.

Carrillo ve ark.'nin¹²⁵ çalışmalarında IDH1 mutasyonunda görülen ve anlamlı olarak bulunan frontal lob yerleşimi, büyük tümör boyutu, kist ve satellit varlığı gibi radyolojik özellikler yanısıra, çalışmamızda tümörün lokalizasyonu, ödem, nekroz, hemoraji-kalsifikasyon varlığı ve multifokalite gibi diğer radyolojik özelliklerle de IDH1 mutasyonu ilişkisi değerlendirdik, ancak anlamlı sonuç saptayamadık ve bu parametrelerin IDH1 mutasyonunu öngörmeye kullanılabilecek başlıca parametreler olmadığı sonucuna vardık.

5.1 Çalışmamızın kısıtlılıkları

Çalışmamız bölümümüzde tanı almış toplam 109 olguda yapılmak üzere planlanmış olup; bu olguların bir kısmının konsültasyon olması nedeniyle bloklarına-preparatlarına ulaşılamaması ve bir kısmının preoperatif görüntülerinin hastanemiz otomasyon sisteminde

bulunmaması nedeniyle histopatolojik-immünohistokimyasal çalışmaların, RT-PCR'ın uygulanabileceği ve görüntülemelerin tekrar değerlendirilebileceği 70 olgu çalışmaya dahil edilebilmiştir. Dolayısıyla, istatistiksel analiz yapabilmek için karşılaştırılacak bazı gruplarda örneklem sayısı orantısız-az olduğundan, tüm parametreler için anlamlılık değerlendirilememiştir.

Ayrıca, tümörde RT-PCR yöntemi ile sadece IDH-R132H mutasyonu değerlendirilmiş, çok daha nadir olarak izlenen diğer mutasyonlar araştırılmamış, sekanslama yapılmamıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Glioblastom tanısı almış 70 olgunun klinik, radyolojik, histopatolojik, immünohistokimyasal ve RT-PCR bulgularını değerlendirdiğimiz çalışmamızda;

- En genç olgu 29, en yaşlı olgu ise 79 yaşında olup; yaş ortalaması $53,3 \pm 10,9$ olarak saptandı ve bu literatür ile uyumluluk göstermekteydi. IDH-mutant olan olguların yaş ortalaması $51,4 \pm 11,6$, IDH-wild-tip olguların yaş ortalaması ise $53,8 \pm 10,8$ 'di. IDH-mutant olgular daha genç yaşta görülmekle birlikte, yaş ve IDH1 mutasyonu arasında istatistiksel açıdan anlamlı sonuç saptanmadı.

- Glioblastom görülme oranı erkek cinsiyette daha fazlaydı; erkek / kadın oranı 2,3 / 1'di ve bu literatür ile uyumluluk göstermekteydi. Cinsiyet ile IDH1 mutasyonu varlığı arasında anlamlı ilişki yoktu.

- Olguların hastanemize en sık başvuru şikayetleri genel literatür bilgilerine benzer şekilde, baş ağrısı ve bir vücut yarımında güçsüzlük ile uyuşmaydı.

- Tümörler sıklıkla serebrum yerleşimli olup, sadece 2 olgu serebellum yerleşimliydi. En sık tutulum yeri ise frontal lobdu ve tümörler daha sıklıkla sol lobda lokalizeydi. Tümörün yerleşimi ile IDH1 mutasyonu arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

- Tümör boyutu 3-13 cm arasında olup; ortalama tümör boyutu $7,3 \pm 2,1$ cm idi. IDH-mutant olgulardaki ortalama tümör boyutu $7,6 \pm 2,4$ cm, IDH-wild tip olgulardaki ortalama tümör boyutu $7,2 \pm 2,1$ cm. idi ve tümör boyutu ile IDH mutasyonunun varlığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki görülmedi.

- Tümörün morfolojik özellikleri değerlendirildiğinde, sellülarite, heterojenite, vasküler tromboz, mikrovasküler proliferasyon, nekroz çevresi palizatlanma ile IDH1 mutasyonu arasında ilişki saptanmadı. Bu morfolojik parametrelerin hem IDH-mutant hemde IDH-wild tip glioblastomlarda değişen oranlarda görüldüğü ve histopatolojiyi değerlendirirken, IDH mutasyonunu öngörmeye kullanılabilecek parametreler olmadıkları düşünüldü.

- Hücrelerde izlenen pleomorfizm ve RT-PCR ile IDH1 mutasyonu arasında bir ilişki bulunamadı ancak PCR pozitif olgularda pleomorfizmin şiddeti, PCR negatif olgulara göre daha fazlaydı. Ayrıca; immünohistokimyasal olarak IDH pozitifliği ile pleomorfizmin arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu görüldü ve pleomorfizm-IDH1 mutasyonu ilişkisinin daha fazla olgu sayıları ile planlanacak çalışmalarda araştırılmasının gerektiği; belirgin pleomorfizm görülen tümörlerin rutinde immünohistokimyasal veya RT-PCR ile IDH mutasyonu açısından değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünüldü.

- Histopatolojik olarak ortalama nekroz miktarı tüm olgularda %26, IDH-mutant olgularda %15, IDH-wild tip olgularda %23'tü. Nekroz varlığı ve nekrozun yaygınlığı ile IDH1 mutasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmamakla birlikte, IDH-wild tip tümörlerde nekrozun daha yaygın olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamsızlığın vaka gruplarına düşen tümör sayılarının az olmasından kaynaklanabileceği; nekroz varlığı / yaygınlığının IDH mutasyonunu öngörmeye kullanılabilecek bir parametre olabileceği düşünüldü.

- Olgular baskın hücre tiplerine göre sınıflandırıldığında, en fazla (%68,6) oranda konvansiyonel tip izlendi. Baskın hücre tipi ile IDH1 mutasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

- IDH1 mutasyonu real time PCR yöntemi ile değerlendirildiğinde, 15 olgu (%21,4) IDH-mutant, 55 olgu IDH-wild tip olarak saptandı.

- İmmünohistokimyasal olarak 13 (%18,6) olguda IDH1 boyanması saptandı. IDH1 mutasyonu açısından RT-PCR yöntemi ve İHK yöntemi arasındaki ilişki istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu. İmmünohistokimyasal olarak IDH1 boyanmasının sensitivitesi %86,6, spesifitesi ise %100 olarak saptandı ve IDH1 boyanmasının IDH-mutant tip glioblastomların saptanması ve glioblastomların alt tiplenişi açısından rutinde kullanılabileceği, ancak yalancı negatifliklerinin bulunabileceği; özellikle klinik olarak IDH mutasyonu açısından şüpheli olgularda bu bulguların RT-PCR ile desteklenmesi ve konfirme edilmesi gerektiği düşünüldü.

- Mitotik indeks 10 BBA'da değerlendirildiğinde; mitoz sayısı 1-112 arasında değişmekte olup, ortalama mitoz sayısı 22 idi. IDH-mutant olgularda mitoz ortalaması 12 (median:8) iken, IDH-wild tiplerde mitoz ortalaması 25 (median:21)'di ve IDH1 mutasyonu varlığı ile mitoz sayısı arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı bir ilişki saptandı.

- Benzer şekilde, Ki67 proliferasyon indeksi median değeri %30 (ortalama %34,6)'du. Ki67 proliferasyon indeksi IDH-mutant olgularda ortalama $24,0 \pm 20,7$ (median: %15) iken, IDH-wild tip olgularda ortalama $37,5 \pm 17,2$ (median: %33) idi ve Ki67 proliferasyon indeksi ortalama ve median değerleri ile IDH1 mutasyonu varlığı arasında anlamlı ilişki mevcuttu. Yüksek proliferasyon gösteren (yüksek mitotik aktivite ve yüksek Ki67 proliferasyon indeksi) tümörlerin daha çok IDH-wild tip oldukları görüldü ve mitozda olduğu gibi, genellikle buna korele olan Ki67 proliferasyon indeksinin de IDH

mutasyon durumunu ve dolayısıyla klinik gidişi öngörmeye kullanılabilecek birer parametre olabileceği sonucuna varıldı.

- Tümörün preoperatif MR görüntülemeleri ile radyolojik özelliklerinin değerlendirilmesinde, ödem, nekroz, kist, hemoraji-kalsifikasyon, satelit varlığı ve multifokalite ile IDH1 mutasyonu açısından istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar saptanmadı.

- Tümörün radyolojik özellikleri ile IDH1 mutasyonunun varlığı değerlendirildiğinde, 11 olgu IDH-mutant, 59 olgu IDH-wild tip olarak saptandı. Radyolojik olarak saptanan IDH mutasyonu ve altın standart yöntem olan RT-PCR yöntemi ile saptanan IDH mutasyonu arasında anlamlı ilişki bulundu. Ancak preoperatif görüntülemeler ile IDH1 mutasyonunun saptanmasının sensitivitesi %33,3, spesifitesi ise %89'du ve IDH1 mutasyonunu öngörmeye preoperatif görüntüleme yöntemlerinin kullanılabileceği; ancak bunun yanı sıra pozitiflik ve negatifliklerinin olabileceği için, postoperatif cerrahi spesmenlerine uygulanacak immünohistokimyasal veya moleküler yöntemlerle teyid edilmesi gerektiği düşünüldü.

- IDH1 mutasyonunun varlığının, tedavi ve yaşam süresini değiştireceği için tanıda belirtilmesi önemlidir. Bu nedenle planladığımız ve IDH1 mutasyonunu saptamaya yönelik yöntem ve parametreleri araştırdığımız çalışmamızda; RT-PCR'ın her olguya uygulanmadığı durumlarda, noninvaziv bir yöntem olması nedeniyle radyolojik görüntüleme yöntemlerinin ve hızlı, ucuz bir yöntem olması ve birçok patoloji laboratuvarında bulunması nedeniyle immünohistokimyasal yöntemlerin IDH1 mutasyonunu saptamak için kullanılabileceği sonucuna varıldı. Ancak, sensitiviteyi daha düşük olan bu yöntemler ile değerlendirmede bazen IDH-mutant olguların atlanabileceği ve klinik olarak IDH-mutant olabilecek olgularda (genç hasta, büyük tümör boyutu, öncesinde düşük dereceli glial tümör hikayesinin bulunması gibi) bu yöntemlerin sonuçlarının altın standart yöntem olan RT-PCR ile konfirme edilmesinin uygun olabileceği düşünüldü. Ayrıca, bazılarında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemese de histopatolojik olarak pleomorfizm, nekroz yaygınlığı, mitoz sayısı ve Ki67 proliferasyon indeksinin de IDH1 mutasyonunu öngörmek için kullanılabilecek parametreler olabileceği düşünüldü.

7. ÖZET

Glioblastom olgularında IDH-1 mutasyonunun immünohistokimyasal ve real-time PCR yöntemleri ile değerlendirilmesi ve radyolojik bulgular ile korelasyonu

Giriş-amaç: Glioblastom, erişkinde en sık görülen malign beyin tümörüdür. Hızlı ilerler ve ölümcül seyrederek. Primer ve sekonder olarak iki gruba ayrılır. Bu iki grup arasında klinik gidiş ve yaşam süresi farklılık göstermektedir. Bu farklılık yapılan çalışmalarda IDH mutasyonunun varlık/yokluğuna dayandırılmıştır. IDH mutasyonunu saptamak hastanın yaşam süresini ve tedavi yaklaşımını değiştirmesi açısından önemlidir. Biz bu çalışmamızda, tanıda altın standart olan RT-PCR, çoğu patoloji laboratuvarında bulunan, hızlı ve daha ucuz olan İHK ve non-invaziv bir yöntem olan preoperatif MR görüntülemeleri ile glioblastomlarda IDH1 mutasyonu varlığını değerlendirip; bu yöntemlerin birbirleri ile olan ilişkilerini araştırdık. Ayrıca, glioblastom tanısı için gerekli olan veya sık görülen ve IDH1 mutasyonunu öngörmede kullanılacak histopatolojik parametreleri araştırdık.

Gereç-yöntem: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda Ocak 2009-Ocak 2020 tarihleri arasında glioblastom tanısı almış 70 olgu çalışma grubunu oluşturdu. Bu olguların demografik özellikleri otomasyon sisteminden kaydedilip, histopatolojik özellikleri, immünohistokimyasal boyanma özellikleri ve preoperatif MR görüntülemeleri tekrar değerlendirildi. Histopatolojik olarak olgular sellülarite, pleomorfizm, heterojenite, vasküler tromboz, mikrovasküler proliferasyon, mitoz, nekroz, nekroz çevresi palizatlanma, baskın hücre tipi ve dev hücre varlığı açısından incelendi. Olguların hepsinin yeterli tümör volümü bulduran bloklarına IDH1-R132H mutasyonu varlığı açısından RT-PCR yapıldı ve aynı bloklara immünohistokimyasal olarak IDH1 boyaması uygulandı. Radyolojik olarak da olguların preoperatif MR görüntülemeleri maksimum tümör boyutu, lokalizasyon, ödem, nekroz, kist, hemoraji-kalsifikasyon, satellit varlığı, multifokalite ve kontrastlanmayan solid komponent (NCET) varlıkları açısından incelendi ve kaydedildi.

Bulgular: Olgularımızın yaş ortalaması 53,3 olup, erkek baskındı. IDH-mutant olgular IDH-wild tip olgulara göre daha genç yaşta görülmekteydi. En sık başvuru sebebi baş ağrısıydı. Olguların 28'i frontal lob yerleşimli olup, ortalama tümör çapı 7,3 cm. idi.

Histopatolojik olarak en sık astrositik hücre baskın tip (konvansiyonel glioblastom) izlendi. IDH-mutant olgularda pleomorfizmin şiddeti IDH-wild tip olgulara göre daha yüksekti; ama bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. İmmünohistokimyasal yöntemle IDH boyanması ve pleomorfizm arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0,018$). On BBA 'nında değerlendirilen mitoz sayısının IDH-wild tip olgularda anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p=0,009$). Ki67 proliferasyon indeksinin tüm hastalarda ortalama değeri %34,6, IDH-mutant olgularda ortalama değeri $24,0\pm 20,7$, IDH-wild tip olgularda ortalama değeri $37,5\pm 17,2$ idi ve IDH-wild tip olgularda Ki67 proliferasyon indeksinin anlamlı derecede arttığı görüldü ($p=0,05$). RT-PCR ile değerlendirme sonucunda 15 olgu (%21,4) IDH-mutant, 55 olgu IDH-wild tip olarak saptanırken; radyolojik değerlendirme sonucunda 11 olgu (%15,7) IDH-mutant, 59 olgu IDH-wild tip; İHK değerlendirme sonucunda 13 olgu (%18,6) IDH-mutant, 57 olgu IDH-wild tip olarak tespit edildi. RT-PCR ile saptanan IDH1 mutasyonu temel alınarak bakıldığında, hem İHK yöntemi hem de radyolojik yöntemle IDH1 mutasyonu varlığının saptanması istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p=0,034$ ve $p=0,000$). IDH1 mutasyonunun İHK yöntemi ile saptanmasının sensitivitesi %86,6, spesifitesi %100; radyolojik olarak preoperatif görüntülemeler ile saptanmasının ise sensitivitesi %33,3, spesifitesi %89 olarak tespit edildi.

Sonuç: IDH1 mutasyonunu saptamak için altın standart olan RT-PCR'ın her olguya uygulanamadığı durumlarda noninvaziv bir yöntem olması nedeniyle radyolojik görüntüleme yöntemlerinin ve hızlı, ucuz bir yöntem olması ve birçok patoloji laboratuvarında bulunması nedeniyle immünohistokimyasal yöntemlerin bu amaçla kullanılabilmesi sonucuna varıldı. Ancak, bu yöntemlerle bazen IDH-mutant olguların atlanabileceği ve gerekli durumlarda bu yöntemlerin sonuçlarının RT-PCR ile konfirme edilmesinin uygun olabileceği düşünüldü. Ayrıca, histopatolojik olarak pleomorfizm, nekroz yaygınlığı, mitoz sayısı ve Ki67 proliferasyon indeksinin de IDH1 mutasyonunu öngörmek için kullanılacak parametreler olabileceği, ancak özellikle pleomorfizm, nekroz yaygınlığı, baskın hücre tipi gibi bazı özelliklerin bu amaçla kullanımının daha fazla olgu sayıları ile yapılacak çalışmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Glioblastom, IDH1 proteini, immünohistokimya, polimeraz zincir reaksiyonu, manyetik rezonans görüntüleme

8. İNGİLİZCE ÖZET

Evaluation of IDH-1 mutation in glioblastoma cases by immunohistochemical and real-time PCR methods and its correlation with radiological findings

Introduction and aim: Glioblastoma; It is the most common malignant brain tumor in adults. It rapidly progresses and has a fatal course. It is divided into two groups as primary and secondary. Clinical course and survival time differ between these two groups. This difference has been deduced from the presence/ absence of IDH mutation in the cited studies. Detecting the IDH mutation is important in terms of changing the patient's survival time and treatment approach. In this study; we evaluated the presence of IDH1 mutation in glioblastomas with RT-PCR, which is the gold standard in diagnosis, IHC, which is faster and cheaper in most pathology laboratories, and preoperative MRI, which is a non-invasive method, and investigated the relationship between these methods. Also; we investigated the histopathological parameters that are necessary for the diagnosis of glioblastoma or which are common and can be used to predict IDH1 mutation.

Material and method: Seventy cases diagnosed with glioblastoma in Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Pathology between January 2009 and January 2020 formed the study group. The demographic characteristics of these cases were acquired from the automation system records, and histopathological features, immunohistochemical staining characteristics and preoperative MRI imaging were re-evaluated. Cases were histopathologically examined for cellularity, pleomorphism, heterogeneity, vascular thrombosis, microvascular proliferation, mitosis, necrosis, palisade around necrosis, type of dominant cell and presence of giant cells. RT-PCR was performed for the presence of IDH1-R132H mutations in blocks with sufficient tumor volume of all the cases, and IDH1 staining was applied immunohistochemically to the same blocks. Radiologically, preoperative MRI images of the cases were examined and recorded in terms of maximum tumor size, localization, edema, necrosis, cyst, hemorrhage-calcification, presence of satellite, multifocality and presence of non-enhancing solid component (NCET).

Results: The average age of our cases is 53.33, and male number is dominant. IDH-mutant cases were seen at younger ages than IDH-wild type cases. The most common reason for admission was headache. 28 of the cases were located in the frontal lobe and the

mean tumor diameter was 7.33cm. Histopathologically, astrocytic cell predominant type (conventional glioblastoma) was most frequently observed. The severity of pleomorphism was higher in IDH-mutant cases than in IDH-wild type cases, but this was not statistically significant. There was a statistically significant difference between IDH staining by immunohistochemical method and pleomorphism ($p = 0.018$). It was observed that the number of mitoses evaluated in 10 HPF was significantly higher in IDH-wild type cases ($p = 0.009$). The mean value of Ki67 proliferation index was 34.64% in all patients, $24.00 \pm 20.75\%$ in IDH-mutant cases, $37.55 \pm 17.23\%$ in IDH-wild type cases, and in IDH-wild type cases Ki67 Proliferation index was observed to increase significantly ($p = 0.05$). The result of RT-PCR evaluation was identified, 15 cases (21.4%) as IDH-mutant, 55 cases as IDH-wild type; Radiological evaluation revealed 11 cases (15.7%) IDH-mutant, 59 cases IDH-wild type; and 13 cases (18.6%) were identified as IDH-mutant and 57 cases as IDH-wild type as a result of IHC evaluation. Based on the IDH1 mutation detected by RT-PCR, detection of IDH1 mutation by both IHC method and radiological method was found as statistically significant ($p = 0.034$ and $p = 0.000$, respectively). The sensitivity of detection of IDH1 mutation by IHC method was 86.6%, specificity was 100%, and the sensitivity and specificity of radiological detection by preoperative imaging was 33.3% and 89% respectively.

Conclusion: It was concluded that radiological imaging methods with its noninvasive characteristic and immunohistochemical methods which are fast, inexpensive and available in many pathology laboratories can be used in the case of nonapplicability of RT-PCR which is the gold standard for detecting IDH1 mutation. But; It was thought that IDH-mutant cases could sometimes be missed with these methods and it would be appropriate to confirm the results of these methods with RT-PCR when necessary. Also; It was concluded that histopathologically, pleomorphism, necrosis prevalence, mitosis number and Ki67 proliferation index may also be parameters that can be used to predict IDH1 mutation, but the use of some features such as, necrosis prevalence, dominant cell type and especially pleomorphism for this purpose should be supported by studies with higher case numbers.

Key words: Glioblastoma, IDH1 protein, immunohistochemistry, polymerase chain reaction, magnetic resonance imaging

9. KAYNAKÇA

1. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, ve ark. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016;131(6):803–820.
2. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2005;64(6):479–489.
3. Ostrom QT, Gittleman H, Xu J, ve ark. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2009-2013. *Neuro Oncol.* 2016;18:v1–v75.
4. Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations as molecular signature and predictive factor of secondary glioblastomas. *Clin Cancer Res.* 2009;15(19):6002–6007.
5. Lai A, Kharbanda S, Pope WB, ve ark. Evidence for sequenced molecular evolution of IDH1 mutant glioblastoma from a distinct cell of origin. *J Clin Oncol.* 2011;29(34):4482–4490.
6. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, ve ark. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97–109.
7. Capper D, Sahm F, Hartmann C, ve ark. Application of mutant IDH1 antibody to differentiate diffuse glioma from nonneoplastic central nervous system lesions and therapy-induced changes. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(8):1199–1204.
8. Capper D, Weißert S, Balss J, ve ark. Characterization of r132h mutation-specific idh1 antibody binding in brain tumors. *Brain Pathol.* 2010;20(1):245–254.
9. Lasocki A, Tsui A, Gaillard F, ve ark. Reliability of noncontrast-enhancing tumor as a biomarker of IDH1 mutation status in glioblastoma. *J Clin Neurosci.* 2017;39:170–175.
10. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, ve ark. Genetic pathways to glioblastoma: A population-based study. *Cancer Res.* 2004;64(19):6892–6899.
11. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, ve ark. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer.* 2019;144(8):1941–1953.
12. Kara F, Keskinliç B ed. Türkiye kanser istatistikleri 2016, 1.basım. Ankara: Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı. 2019:14.

13. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA. Cancer J Clin.* 2019;69(1):7–34.
14. Virchow R. Cellular pathology: as based upon physiological and pathological histology. Twenty lectures delivered in the pathological institute of Berlin during the months of February, March and April. 1858.
15. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumours. In: *Brain Pathology.* Vol 3.; 1993:255–268.
16. Kleihues P, Sobin LH. World Health Organization classification of tumors. *Cancer.* 2000;88(12):2887–2887.
17. Louis DN. The next step in brain tumor classification: “let us now praise famous men”. Or molecules? *Acta Neuropathol.* 2012;124(6):761–762.
18. Louis DN, Perry A, Burger P, ve ark. International Society Of Neuropathology-Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. In: *Brain pathology (Zurich, Switzerland).* Vol 24.; 2014:429–435.
19. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro Oncol.* 2012;14.
20. Scherer HJ. Cerebral astrocytomas and their derivatives. *Am J Cancer.* 1940;40(2):159–198.
21. Crespo I, Vital AL, Gonzalez-Tablas M, ve ark. Molecular and genomic alterations in Glioblastoma Multiforme. *Am J Pathol.* 2015;185(7):1820–1833.
22. Yan H, Parsons DW, Jin G, ve ark. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med.* 2009;360(8):765–773.
23. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin. Cancer Res.* 2013;19(4):764–772.
24. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, ve ark. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007–2011. *Neuro Oncol.* 2014;16:iv1–iv63.
25. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, ve ark. The epidemiology of glioma in adults: A state of the science review. *Neuro Oncol.* 2014;16(7):896–913.
26. Frappaz D, Ricci AC, Bret P, Mottolese C, Kohler R. Diffuse brain stem tumor in an adolescent with multiple enchondromatosis (Ollier’s disease). *Child’s Nerv Syst.*

1999;15(5):222–225.

27. Haliloglu G, Jobard F, Oguz KK, ve ark. L-2-hydroxyglutaric aciduria and brain tumors in children with mutations in the L2HGDH gene: Neuroimaging findings. *Neuropediatrics*. 2008;39(2):119–122.

28. Dohrmann GJ, Farwell JR, Flannery JT. Glioblastoma multiforme in children. *J Neurosurg*. 1976;44(4):442–448.

29. Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults. *N Engl J Med*. 2008;359(5):492–507.

30. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, ve ark. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2002;61(3):215–225.

31. Hadjipanayis CG, Machaidze R, Kaluzova M, ve ark. EGFRvIII antibody-conjugated iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging-guided convection-enhanced delivery and targeted therapy of glioblastoma. *Cancer Res*. 2010;70(15):6303–6312.

32. Stupp R, Dietrich PY, Kraljevic SO, ve ark. Promising survival for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme treated with concomitant radiation plus temozolomide followed by adjuvant temozolomide. *J Clin Oncol*. 2002;20(5):1375–1382.

33. Glastonbury CM, Tihan T. Practical neuroimaging of central nervous system tumors for surgical pathologists. *Surg Pathol Clin*. 2015;8(1):1–26.

34. Metaweh NAK, Azab AO, Basmy AAEH El, Mashhour KN, Mahdy WM El. Contrast-enhanced perfusion MR imaging to differentiate between recurrent/residual brain neoplasms and radiation necrosis. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2018;19(4):941–948.

35. Burger PC, Heinz ER, Shibata T, Kleihues P. Topographic anatomy and CT correlations in the untreated glioblastoma multiforme. *J Neurosurg*. 1988;68(5):698–704.

36. Zagzag D, Esencay M, Mendez O, ve ark. Hypoxia- and vascular endothelial growth factor-induced stromal cell-derived factor-1 α /CXCR4 expression in glioblastomas: One plausible explanation of Scherer's structures. *Am J Pathol*. 2008;173(2):545–560.

37. Smoll NR, Villanueva E V. The epidemiology of extraneural metastases from primary brain, spinal cord, and meningeal tumors. *Neurosurgery*. 2010;67(5):E1470–E1471.

38. Hamilton JD, Rapp M, Schneiderhan TM, ve ark. Glioblastoma multiforme metastasis outside the CNS: Three case reports and possible mechanisms of escape. *J Clin*

Oncol. 2014;32(22).

39. Bernstein JJ, Woodard CA. Glioblastoma cells do not intravasate into blood vessels. *Neurosurgery*. 1995;36(1):124–132.

40. Jimshelishvili S, Alshareef AT, Papadimitriou K, ve ark. Extracranial glioblastoma in transplant recipients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(5):801–807.

41. Gasco J, Franklin B, Fuller GN, Salinas P, Prabhu S. Multifocal epithelioid glioblastoma mimicking cerebral metastasis: Case report. *Neurocirugia*. 2009;20(6):550–554.

42. Burger PC, Kleihues P. Cytologic composition of the untreated glioblastoma with implications for evaluation of needle biopsies. *Cancer*. 1989;63(10):2014–2023.

43. Jaros E, Perry RH, Adam L, ve ark. Prognostic implications of p53 protein, epidermal growth factor receptor, and Ki-67 labelling in brain tumours. *Br J Cancer*. 1992;66(2):373–385.

44. Arshad H, Ahmad Z, Hasan SH. Gliomas: Correlation of histologic grade, Ki67 and p53 expression with patient survival. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2010;11(6):1637–1640.

45. Cai J, Zhang C, Zhang W, ve ark. ATRX, IDH1-R132H and Ki-67 immunohistochemistry as a classification scheme for astrocytic tumors. *Oncoscience*. 2016;3(7-8):258–265.

46. Rong Y, Durden DL, Meir EG Van, Brat DJ. “Pseudopalisading” necrosis in glioblastoma: A familiar morphologic feature that links vascular pathology, hypoxia, and angiogenesis. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2006;65(6):529–539.

47. Burger PC, Green SB. Patient age, histologic features, and length of survival in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer*. 1987;59(9):1617–1625.

48. Rossi MI, Jones NR, Candy E, ve ark. The mononuclear cell infiltrate compared with survival in high-grade astrocytomas. *Acta Neuropathol*. 1989;78(2):189–193.

49. Yang I, Tihan T, Han SJ, ve ark. CD8+ T-cell infiltrate in newly diagnosed glioblastoma is associated with long-term survival. *J Clin Neurosci*. 2010;17(11):1381–1385.

50. Li W, Graeber MB. The molecular profile of microglia under the influence of glioma. *Neuro Oncol*. 2012;14(8):958–978.

51. Homma T, Fukushima T, Vaccarella S, ve ark. Correlation among pathology, genotype, and patient outcomes in glioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol*.

2006;65(9):846–854.

52. Perry A, Aldape KD, George DH, Burger PC. Small cell astrocytoma: An aggressive variant that is clinicopathologically and genetically distinct from anaplastic oligodendroglioma. *Cancer*. 2004;101(10):2318–2326.

53. Perry A, Miller CR, Gujrati M, ve ark. Malignant gliomas with primitive neuroectodermal tumor-like components: A clinicopathologic and genetic study of 53 cases. *Brain Pathol*. 2009;19(1):81–90.

54. Joseph NM, Phillips J, Dahiya S, ve ark. Diagnostic implications of IDH1-R132H and OLIG2 expression patterns in rare and challenging glioblastoma variants. *Mod Pathol*. 2013;26(3):315–326.

55. He J, Mokhtari K, Sanson M, ve ark. Glioblastomas with an oligodendroglial component: A pathological and molecular study. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001;60(9):863–871.

56. Watanabe K, Tachibana O, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Role of gemistocytes in astrocytoma progression. *Lab Investig*. 1997;76(2):277–284.

57. Ortega A, Nuño M, Walia S, ve ark. Treatment and survival of patients harboring histological variants of glioblastoma. *J. Clin. Neurosci*. 2014;21(10):1709–1713.

58. Harris CP, Townsend JJ, Brockmeyer DL, Heilbrun MP. Cerebral granular cell tumor occurring with glioblastoma multiforme: Case report. *Surg Neurol*. 1991;36(3):202–206.

59. Geddes JF, Thom M, Robinson SFD, Révész T. Granular cell change in astrocytic tumors. *Am J Surg Pathol*. 1996;20(1):55–63.

60. Rosenblum MK, Erlandson RA, Budzilovich GN. The lipid-rich epithelioid glioblastoma. *Am J Surg Pathol*. 1991;15(10):925–934.

61. Mørk SJ, Rubinstein LJ, Kepes JJ, Perentes E, Uphoff DF. Patterns of epithelial metaplasia in malignant gliomas II. Squamous differentiation of epithelial-like formations in gliosarcomas and glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1988;47(2):101–118.

62. Gokden M. If it is not a Glioblastoma, then what is it? A differential diagnostic review. *Adv Anat Pathol*. 2017;24(6):379–391.

63. Kozak KR, Moody JS. Giant cell glioblastoma: A glioblastoma subtype with distinct epidemiology and superior prognosis. *Neuro Oncol*. 2009;11(6):833–841.

64. Peraud A, Watanabe K, Schwechheimer K, ve ark. Genetic profile of the giant cell

glioblastoma. *Lab Investig.* 1999;79(2):123–129.

65. Galanis E, Buckner JC, Dinapoli RP, ve ark. Clinical outcome of gliosarcoma compared with glioblastoma multiforme: North Central Cancer Treatment Group results. *J Neurosurg.* 1998;89(3):425–430.

66. Han SJ, Yang I, Otero JJ, ve ark. Secondary gliosarcoma after diagnosis of glioblastoma: Clinical experience with 30 consecutive patients. *J Neurosurg.* 2010;112(5):990–996.

67. Feigin IH, Gross SW. Sarcoma arising in glioblastoma of the brain. *Am J Pathol.* 1955;31(4):633–653.

68. Actor B, Ludwig Cobbers JMJ, Büschges R, ve ark. Comprehensive analysis of genomic alterations in gliosarcoma and its two tissue components. *Genes Chromosom. Cancer.* 2002;34(4):416–427.

69. Beaumont TL, Kupsy WJ, Barger GR, Sloan AE. Gliosarcoma with multiple extracranial metastases: Case report and review of the literature. *J Neurooncol.* 2007;83(1):39–46.

70. Schuss P, Ulrich CT, Harter PN, ve ark. Gliosarcoma with bone infiltration and extracranial growth: Case report and review of literature. *J Neurooncol.* 2011;103(3):765–770.

71. Broniscer A, Tatevossian RG, Sabin ND, ve ark. Clinical, radiological, histological and molecular characteristics of paediatric epithelioid glioblastoma. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2014;40(3):327–336.

72. Ishizawa K, Komori T, Shimada S, Hirose T. Olig2 and CD99 are useful negative markers for the diagnosis of brain tumors. *Clin Neuropathol.* 2008;27(3):118–128.

73. Arai H, Ikota H, Sugawara K ichi, ve ark. Nestin expression in brain tumors: Its utility for pathological diagnosis and correlation with the prognosis of high-grade gliomas. In: *Brain Tumor Pathology.* Vol 29.; 2012:160–167.

74. Takami H, Yoshida A, Fukushima S, ve ark. Revisiting TP53 mutations and immunohistochemistry - A comparative study in 157 diffuse gliomas. In: *Brain Pathology.* Vol 25.; 2015:256–265.

75. Schittenhelm J, Mittelbronn M, Nguyen TD, Meyermann R, Beschorner R. WT1 expression distinguishes astrocytic tumor cells from normal and reactive astrocytes. *Brain Pathol.* 2008;18(3):344–353.

76. Brat DJ, Verhaak RGW, Aldape KD, ve ark. Comprehensive, integrative genomic analysis of diffuse lower-grade gliomas. *N Engl J Med.* 2015;372(26):2481–2498.
77. Ohgaki H, Burger P, Kleihues P. Definition of primary and secondary glioblastoma - Response. *Clin Cancer Res.* 2014;20(7):2013.
78. Ichimura K, Schmidt EE, Miyakawa A, Goike HM, Collins VP. Distinct patterns of deletion on 10p and 10q suggest involvement of multiple tumor suppressor genes in the development of astrocytic gliomas of different malignancy grades. *Genes Chromosom. Cancer.* 1998;22(1):9–15.
79. Biernat W, Huang H, Yokoo H, Kleihues P, Ohgaki H. Predominant expression of mutant EGFR (EGFRvIII) is rare in primary glioblastomas. *Brain Pathol.* 2004;14(2):131–136.
80. McLendon R, Friedman A, Bigner D, ve ark. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature.* 2008;455(7216):1061–1068.
81. Tohma Y, Gratas C, Biernat W, ve ark. PTEN (MMAC1) mutations are frequent in primary glioblastomas (de novo) but not in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1998;57(7):684–689.
82. Reifenberger G, Liu L, Ichimura K, Schmidt EE, Collins VP. Amplification and overexpression of the MDM2; gene in a subset of human malignant gliomas without p53 mutations. *Cancer Res.* 1993;53(12):2736 LP – 2739.
83. Biernat W, Kleihues P, Yonekawa Y, Ohgaki H. Amplification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1997;56(2):180–185.
84. Nakamura M, Watanabe T, Klangby U, ve ark. p14ARF deletion and methylation in genetic pathways to glioblastomas. *Brain Pathol.* 2006;11(2):159–168.
85. Nonoguchi N, Ohta T, Oh JE, ve ark. TERT promoter mutations in primary and secondary glioblastomas. *Acta Neuropathol.* 2013;126(6):931–937.
86. Wiestler B, Capper D, Holland-Letz T, ve ark. ATRX loss refines the classification of anaplastic gliomas and identifies a subgroup of IDH mutant astrocytic tumors with better prognosis. *Acta Neuropathol.* 2013;126(3):443–451.
87. Hashiba T, Izumoto S, Kagawa N, ve ark. Expression of WT1 protein and correlation with cellular proliferation in glial tumors. *Neurol Med Chir. (Tokyo).*

2007;47(4):165–170.

88. Parsons DW, Jones S, Zhang X, ve ark. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008;321(5897):1807–1812.

89. Margittai É, Bánhegyi G. Isocitrate dehydrogenase: A NADPH-generating enzyme in the lumen of the endoplasmic reticulum. *Arch Biochem Biophys*. 2008;471(2):184–190.

90. Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol*. 2009;174(4):1149–1153.

91. Hartmann C, Hentschel B, Wick W, ve ark. Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: Implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathol*. 2010;120(6):707–718.

92. Pessina F, Navarra P, Cozzi L, ve ark. Role of surgical resection in recurrent glioblastoma: prognostic factors and outcome evaluation in an observational study. *J Neurooncol*. 2017;131(2):377–384.

93. Biau J, Chautard E, Schlichting E De, ve ark. Radiotherapy plus temozolomide in elderly patients with glioblastoma: a “real-life” report. *Radiat Oncol*. 2017;12(1):197.

94. Smith KA, Ashby LS, Gonzalez F, ve ark. Prospective trial of gross-total resection with Gliadel wafers followed by early postoperative Gamma Knife radiosurgery and conformal fractionated radiotherapy as the initial treatment for patients with radiographically suspected, newly diagnosed glioblastomas. *J Neurosurg*. 2008;109 Suppl:106–117.

95. Brock CS, Newlands ES, Wedge SR, ve ark. Phase I trial of temozolomide using an extended continuous oral schedule. *Cancer Res*. 1998;58(19):4363–4367.

96. Brown TJ, Brennan MC, Li M, ve ark. Association of the extent of resection with survival in glioblastoma: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2016;2(11):1460–1469.

97. Reifenberger G, Weber RG, Riehm V, ve ark. Molecular characterization of long-term survivors of glioblastoma using genome- and transcriptome-wide profiling. *Int J Cancer*. 2014;135(8):1822–1831.

98. Wick W, Meisner C, Hentschel B, ve ark. Prognostic or predictive value of MGMT promoter methylation in gliomas depends on IDH1 mutation. *Neurology*.

2013;81(17):1515–1522.

99. Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, ve ark. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol.* 2009;11(4):341–347.

100. Jiao Y, Killela PJ, Reitman ZJ, ve ark. Frequent ATRX, CIC, FUBP1 and IDH1 mutations refine the classification of malignant gliomas. *Oncotarget.* 2012;3(7):709–722.

101. Agarwal S, Sharma MC, Jha P, ve ark. Comparative study of IDH1 mutations in gliomas by immunohistochemistry and DNA sequencing. *Neuro Oncol.* 2013;15(6):718–726.

102. Kato Y, Jin G, Kuan CT, ve ark. A monoclonal antibody IMab-1 specifically recognizes IDH1R132H, the most common glioma-derived mutation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;390(3):547–551.

103. Hartmann C, Meyer J, Balss J, ve ark. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: A study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol.* 2009;118(4):469–474.

104. Johannessen AL, Torp SH. The clinical value of Ki-67/MIB-1 labeling index in human astrocytomas. *Pathol Oncol Res.* 2006;12(3):143–147.

105. Wong E, Nahar N, Hau E, ve ark. Cut-point for Ki-67 proliferation index as a prognostic marker for glioblastoma. *Asia Pac J Clin. Oncol.* 2019;15(1):5–9.

106. Popova SN, Bergqvist M, Dimberg A, ve ark. Subtyping of gliomas of various WHO grades by the application of immunohistochemistry. *Histopathology.* 2014;64(3):365–379.

107. Lee KS, Choe G, Nam KH, ve ark. Immunohistochemical classification of primary and secondary glioblastomas. *Korean J Pathol.* 2013;47(6):541–548.

108. Montgomery RM, Queiroz LDS, Rogerio F. Análise imunoistoquímica para EGFR, p53, IDH-1 e MDM2 em glioblastoma: Correlação terapêutica e prognóstica. *Arq Neuropsiquiatr.* 2015;73(7):561–568.

109. Combs SE, Rieken S, Wick W, ve ark. Prognostic significance of IDH-1 and MGMT in patients with glioblastoma: One step forward, and one step back? *Radiat Oncol.* 2011;6(1):115.

110. Senhaji N, Louati S, Chbani L, ve ark. EGFR Amplification and IDH mutations in Glioblastoma patients of the northeast of Morocco. *Biomed Res Int.* 2017;2017.

111. Paldor I, Pearce FC, Drummond KJ, Kaye AH. Frontal glioblastoma multiforme may be biologically distinct from non-frontal and multilobar tumors. *J Clin Neurosci*. 2016;34:128–132.
112. Habberstad AH, Lind-Landström T. The histopathological spectrum of primary human glioblastomas with relations to tumour biology. *J Clin Exp Pathol*. 2012;02(03).
113. Öztürk M, Kamer S, Ertan Y, ve ark. Ege Üniversitesi hastanesinde glioblastomaların epidemiyolojik ve sağ kalım özellikleri. *Epidemiological and survival features of glioblastomas in Ege University Hospital*. *Ege Tıp Dergisi*. 2019;58:19–25.
114. Kurian KM, Haynes HR, Crosby C, Hopkins K, Williams M. IDH mutation analysis in gliomas as a diagnostic and prognostic biomarker. *Br J Neurosurg*. 2013;27(4):442–445.
115. Chaurasia A, Park SH, Seo JW, Park CK. Immunohistochemical analysis of ATRX, IDH1 and p53 in glioblastoma and their correlations with patient survival. *J Korean Med Sci*. 2016;31(8):1208–1214.
116. Sanson M, Marie Y, Paris S, ve ark. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol*. 2009;27(25):4150–4154.
117. Kaymakçı, Fatma Dilek. Glioblastoma ve histolojik varyantlarında ATRX, IDH1, p53 mutasyonlarının Ki67 proliferasyonu ve prognozla ilişkisi. İstanbul: Marmara üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2014.
118. Çakmakçı, Pınar. Glioblastomlarda immünohistokimyasal olarak IDH-1 ve p53 mutasyon analizi; P13K/AKT/mTOR yolağının immünohistokimyasal olarak pAKT ve RPS6 ekspresyon düzeylerine göre değerlendirilmesi. Ankara: Gazi üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2019.
119. Akyol, Sevda. Glioblastomalardaki klinikopatolojik özelliklerin, Ki67 proliferasyon indeksi, IDH1, EGFR, p53 mutasyonlarının prognozla ilişkisinin retrospektif olarak değerlendirilmesi. Bursa: Uludağ üniveristesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2020.
120. Stoyanov GS, Dzhankov DL, Kitanova M, Donev IS, Ghenev P. Correlation between Ki-67 index, World Health Organization grade and patient survival in glial tumors with astrocytic differentiation. *Cureus*. 2017;79(6).
121. Saha R, Chatterjee U, Mandal S, ve ark. Expression of phosphatase and tensin

homolog, epidermal growth factor receptor, and Ki-67 in astrocytoma: A prospective study in a tertiary care hospital. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2014;35(2):149–155.

122. Wakimoto H, Aoyagi M, Nakayama T, ve ark. Prognostic significance of Ki-67 labeling indices obtained using MIB-1 monoclonal antibody in patients with supratentorial astrocytomas. *Cancer.* 1996;77(2):373–380.

123. Nobusawa S, Lachuer J, Wierinckx A, ve ark. Intratumoral patterns of genomic imbalance in glioblastomas. *Brain Pathol.* 2010;20(5):936–944.

124. Su CQ, Lu SS, Zhou MD, ve ark. Combined texture analysis of diffusion-weighted imaging with conventional MRI for non-invasive assessment of IDH1 mutation in anaplastic gliomas. *Clin Radiol.* 2019;74(2):154–160.

125. Carrillo JA, Lai A, Nghiemphu PL, ve ark. Edema, IDH1 mutational status, MGMT Promoter. *Ajnr. Am J Neuroradiol.* 2012;(August):1–7.

126. Ellingson BM, Lai A, Harris RJ, ve ark. Probabilistic radiographic atlas of glioblastoma phenotypes. *Am J Neuroradiol.* 2013;34(3):533–540.