

## GLİOBLASTOMA' DA PROGNOZU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Murat DÖŞOĞLU\* , Metin ORAKDÖĞEN\*\*

Glioblastom (GB) genellikle beyinde yerleşmesine karşın, beyincik, beyin sapı ve omurilikte de yerleşebilir. GB'de birçok tedavi modellerinin kullanılmasına rağmen yaşam süreleri henüz arzulanan düzeylerde değildir. Prognoz; yaş, cins, öykü süresi, başlangıç ve tedavi sonrası klinik tablo (Karnofsky Performans Skalası-KPS), tümör boyutu ve yerleşimi, cerrahi rezeksiyon oranı, brakiterapi, radyoterapi (RT) ve/veya kemoterapi uygulanması ve bu tedavilere yanıtı, histopatolojik olarak nekroz, hemoraji ve tromboz varlığı gibi bulgulara bağlı olarak değişmektedir (1,2,6).

Beklenen yaşam süreleri agresif cerrahi ve ilave tedavilere karşın genellikle 1 yıldır, ancak 10 yıla kadar uzayan nadir yaşam süreleri bildirilmiştir (2,6,14,17).

### Yaşam Sürelerini Etkileyen Klinik ve Radyolojik Faktörler

GB'de yaş ile yaşam süreleri arasında ters, yaş ile malignite arasında ise paralel ilişki vardır (5). Yaş, KPS puanı, rezeksiyon oranı, nekroz ve rekürrens süresi prognostik tahmininde önemli belirteçlerdir (1,14). Genç hastalarda yaşam süreleri anlamlı derecede uzundur. KPS puanı 80'den az olan grupta yaşam süreleri anlamlı olarak kısadır (1). Rezeksiyon oranı biyopsi (%10'dan az rezeksiyon), subtotal (%10-90) ve gross total rezeksiyon (%90'dan fazla) olarak sınıflandırılır (1,2). Gross total rezeksiyon yaşam süresi ile yakın ilişki gösterir. Rekürrens ne kadar geç ise yaşam kalitesi ve süresi o kadar iyidir (1,6). Rekürrens dönemlerinde iyi klinik tablonun varlığı da prognozu olumlu etkiler. İyi klinik tablo,

tümörün yerleşimi ile ve/veya tekrarlayan lezyonun erken yakalanması ile ilgili olabilir. Rekürrens cerrahisinde RT veya kemoterapiye dirençli tümör sınırının sitoredüksiyon ile küçültülerek yaşam süresinin uzatılması amaçlanır. Ancak yararları halen tartışmalıdır (3). Radyolojik olarak belirgin sınır varlığı tümörün daha rezeke edilebilir olacağını gösterir. Ön frontal veya yüzeysel yerleşim ise daha geniş rezeksiyon sağlaması açısından iyi prognostik işaret olarak kabul edilir (8,14). Barker ve ark. ameliyat ve RT sonrası erken radyolojik bulguların prognostik tahminindeki öneminden bahsetmişlerdir (2). Ameliyat sonrası ilk 3 gündeki bulgular, RT sonrası ilk 3 gündeki tetkikler için indeks olarak alınmış ve RT'ye yanıtlar radyolojik bulgularla sınırlanmıştır. Cerrahi sonrası geç dönem incelemelerdeki boyanma daha çok cerrahi inflamasyona, RT sonrası erken boyanma ise tümör progresyonundan çok radyasyona bağlanmıştır (2).

### Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Faktörler

Histopatolojik kriterler hipersellülarite, nükleer ve sitoplazmik pleomorfizm, ve vasküler endotelial hiperplazidir. Nekroz, oliguların %8-34'ünde görülmediğinden GB'nin histolojik tiplendirmesinde tanı kriteri olarak kabul edilmez (1,9,10,16). Nekroz genellikle yaşlılarda görülür ve kötü prognostik işaretidir (1). Vasküler ve endotelial proliferasyon tanıda en önemli kriterlerdir.

Doku örneklerinde proliferasyon kapasite-ri; yeni sentez edilmiş DNA'nın timidin veya

"Bromodeoxyuridine" (BUdR) ile işaretlenmesi veya hücre siklusu belirteci antijenlere karşı oluşan antikörlerin gösterilmesiyle değerlendirilebilir. Bu antikörler Ki-67, DNA polimeraz, ve "Proliferating Cell Nuclear Antigene" (PCNA)'ya karşı oluşmuş antikörlerdir. Günümüzde en sık kullanılan antikör, Ki-67'ye karşı oluşan MIB-1'dir. Ayrıca kötücül hücre yüzey antijenlerine karşı spesifik antiglioma antikörleri da bulunmaktadır. Glioma biyolojisinde "basic Fibroblast Growth Factor" (bFGF), "Platelet-derived Growth Factor" (PDGF), "Vascular Endothelial Growth Factor" (VEGF), "Epidermal Growth Factor"(EGF), "Endothelial cell Growth Factor" (ECGF), "Fibroblast Growth Factor (FGF), "Insuline-like Growth Factor" (IGF-I ve II) ve "Transforming Growth Factor" (TGF- $\alpha$ ,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 ve  $\beta$ 3) gibi büyüme, mitojenik ve anjiyojenik immunohistokimyasal faktörler bildirilmiştir (13,15,19).

### Moleküler Biyoloji ve Genetik Çalışmalar

GB'lerde 2 tip genden bahsedilebilir. Bunlardan onkogen'ler, hücre büyümesini kontrol eden normal genlerin (proto-onkogenler) mutasyona uğraması ile oluşan sis, myc, erb-B, ras, mos ve fos gibi genlerdir. Diđeri ise mutasyona uğramış tümör supresör genidir. Her iki durumda da hücre büyümesi kontrol dışına çıkmıştır. En iyi bilinen tümör supresör geni, normalde kromozom 17'nin kısa kolu üzerinde yerleşmiş p53'tür (7). p53, hücre siklusunu G1 fazında durdurup DNA tamirine olanak sağlar ve kötücül dönüşümü engeller. DNA'nın tamir edilemeyecek kadar hasarlı durumlarında ise hücre ölümüne yol açar. p53'ün mutasyonuna bağlı GB'ler genellikle gençlerde ve kadınlarda görülür. p53 pozitifliği GB'lerin %65'inde bulunur (15). Murine double minute 2 (*mdm2*) artışı ile oluşan onkojen etki birçok tümörde gösterilmiştir. *mdm2* artışı, p53 proteini ile bir kompleks oluşturarak p53'ün tüm normal

fonksiyonlarını bozar ve GB'lerde kuvvetli negatif prognostik faktördür (15). EGF reseptör (EGFR) gen amplifikasyonu veya aşırı yapımı GB'leri %50-95'inde gösterilmiştir. Bu tip GB'ler yaşlılarda ve erkeklerde görülür. p53 ve EGFR (+) ve EGFR amplifikasyonlu GB'lerde yaşam süreleri, EGFR (-) ve EGFR amplifikasyonu olmayanlara göre belirgin şekilde kısadır (15,19). EGFR immunopozitif seçilmiş olgular, direkt EGFR'e karşı antikör ile tedavi edilmişlerdir (18). GB'lerde DNA veya protein düzeyinde p53, EGFR ve *mdm2* değişiklikleri ve aşırı yapımı görülebilir (15).

*Leon ve ark.* tarafından faktör 8 ile ilişkili antijen ile yapılan vasküler evrelemede GB, evre 4 olarak tanımlanmıştır (11). Vasküler yoğunluğun artması yaşam süresi için bağımsız bir negatif prognostik faktör olarak bulunmuştur. İncelemenin uzun sürmesi ve damarlanmanın homojen olmaması yöntemin dezavantajlarıdır.

Hücre siklusunda kritik G<sub>1</sub>-S fazlarını kontrol eden CDKN2/p16 geninde delesyon oluşması, GB' de MIB-1 indeksinde artışa neden olur (19). MIB-1 sıklıkla kullanılan proliferasyon işaretleyicisi Ki-67'nin bir varyantıdır. *Ellison ve ark.* tarafından yapılan klinik çalışmada MIB-1 indeksi ve p53 immunopozitifliğinin yaşam süreleri ile ilişkili olduğu ancak bağımsız gösterge olmadıkları saptanmıştır (7). Hücrenin S fazı, PCNA ve BUdR işaretleme indeksleri (PCNA LI ve BUdR LI) ile gösterilir. Ancak, PCNA LI daha çok düşük evreli tümörler için kullanılır (19). BUdR LI yönteminde, ameliyat esnasında BUdR infüze edildikten sonra, çıkartılan tümör parçaları HE ile boyanır. İşaretlenmiş hücreler monoklonal anti-BUdR ile immunohistokimyasal olarak tespit edilir. Boyanmış hücrelerin tüm hücrelere oranı BUdR LI olarak tanımlanır. Bu oran tümörün proliferasyon potansiyelinin değerlendirilmesinde önemlidir (17). Yüksek oran tümörün biyolojik agresif yapısının ve kötü

prognozun göstergesidir. Ancak bu potansiyelin tespitinin tümörün biyolojik davranışının tam göstergesi olması beklenmemelidir (17). Çünkü hücre siklusunun diğer fazları bu yöntemde işaretlenemez. Bir monoklonal antikor olan Ki-67, hücre siklusunda G<sub>1</sub>, S<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve M fazlarını henüz isimlendirilmemiş bir nükleer antijeni tanıyarak gösterebilir. Ancak gliomlarda büyüme oranını olduğundan daha az ve daha çok gösterebilir.

DNA analizi, ploidi (DNA içeriği) ve proliferasyon kapasitesi (özellikle siklusun S fazı) tespiti ile yapılır. Normalde diploid olan hücrelerin DNA içeriğinin delesyon, amplifikasyon, kırılma ve translokasyon gibi nedenlerle kaybolarak aneuploidik olması prognostik olarak önemlidir. DNA içeriği ve proliferasyon kapasitesi flow sitometri ve BUdR işaretlemesi ile gösterilir. Hücre siklusunun 3 fazından (G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>/M) büyüme aşamasını gösteren S-fazı GB'lerin davranışları ile ilişkilidir.

Anti-DNA polimeraz - $\alpha$ ; G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, ve M fazlarında gösterilebilen ve DNA sentezinde çok önemli bir enzimdir. *Bindal ve ark.* beyin tümörlerinde bazı proteolitik enzimlerin prognoz açısından öneminden bahsetmişlerdir. Plasminojen aktivatör inhibitör 1 ve ürokinaz tipi plasminojen aktivatörünün artmış, doku tipi plasminojen aktivatörünün ise azalmış miktarının kötücül tümörlerde agresif davranışa ve kısa yaşam sürelerine neden olduğunu bildirmişlerdir (4). Ayrıca sistein proteaz katepsin B'nin tümör invazyon ve klinik progresyon işareti olabileceği bilinmektedir (12).

Bu işaretleyicilerden hiçbiri hücrenin G<sub>0</sub> fazını ve buradan diğer fazlara geçişi dolayısıyla sellüler biyokinetiği gösteremediklerinden prognoz tayininde tam emniyetle kullanılamazlar. Ancak tümörlerin proliferasyon potansiyelini o anki bulgularla gösterebilirler. Ancak bu gösterge çekilmiş bir fotoğraf

karesi gibi statik bir işarettir. Biyokinetiği gösteren bir video bandı değildir.

### Yeni Tedavi Yöntemleri

Moleküler biyolojideki bu buluşlar, GB'lerde yeni tedavi modellerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Bunlar arasında "Interleukin 2" veya ışınlanmış tümör hücreleriyle aşılama yolu ile immunoterapi, tümör öldüren timidin kinaz gibi genlerin transferi, kötücül hücre çoğalmasında ras yolunun "farnesyl transferase inhibitör" (FTI), fas yolunun ise fas ligandı (Fas L) ile engellenmesi, mikrodalga anteni, laser veya ferromanyetik implantlar ile interstisyel termoterapi, sadece tümör hücrelerinin işaretlenmesi ile manyetik alanda intrasellüler hipertermi, tümör hücrelerinin floresan madde ile işaretlenip görülür hale getirilmesi ile daha geniş rezeksiyon sağlanması, antitümör ajanların beyin-tümör bariyerini geçmesi için mannitol, nitroz oksit gibi maddelerin kullanılması, intraoperatif radyasyon tedavisi, derin yerleşimli tümörlerde perkütan stereotaktik kriyoterapi gibi yöntemler sayılabilir (20,21).

Günümüzde uygulanan histopatolojik, immunohistokimyasal ve genetik yeni tanı yöntemleri, GB'li olgularda tümör biyokinetiğini sadece alınmış örnekte, o andaki bulgularla tahmin etmeye yönelik fırsatlar tanımaya başlamıştır. Bu gelişmeler GB'de yeni tedavi uygulamalarına ve prognoz tahminine olanaklar sağlamaktadır. Sonuç olarak; genç yaş, frontal yerleşim, fonksiyonel iyilik, %90 üzerinde rezeksiyon oranı, cerrahi sonrası RT ve kemoterapi varlığı prognoz tahmininde iyi işaretlerdir. Cerrahi sonrası erken görüntülemeye boyanmanın varlığı; MIB-1 ve Ki-67 antikorları, PCNA ve BUdR LI'nın pozitif olması; kromozom 10 ve 17 kaybı, EGFR amplifikasyonu, p53 gen mutasyonu, mdm 2 geni varlığı kötü prognoz işaretleridir.

## KAYNAKLAR

1. Barker FG, Davis RL, Chang SM, Prados MD: Necrosis as a prognostic factor in Glioblastoma multiforme. *Cancer* 77:1161 (1996).
2. Barker FG, Prados MD, Chang SM, Gutin PH, Lamborn KR, Larson DA, Malec MK, McDermott MW, Sneed PK, Wara MW, Wilson CB: Radiation response and survival time in patients with glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 84:442 (1996).
3. Barker FG, Chang SM, Gutin PH, Malec MK, McDermott MW, Prados MD, Wilson CB: Survival and functional status after resection of recurrent glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 42:709 (1998).
4. Bindal AK, Hammoud M, Shi WM, Wu SZ, Sawaya R, Rao JS: Prognostic significance of proteolytic enzymes in human brain tumors *J Neurooncol* 22:101 (1994).
5. Burger PC, Vogel FS, Green SB, Strike TA: Glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma. Pathologic criteria and prognostic implications. *Cancer* 56:1106 (1985).
6. Durmaz R, Erken S, Arslantaş A, Atasoy MA, Bal C, Tel E: Management of glioblastoma multiforme: with special reference to recurrence. *Clin Neurol Neurosurg* 99:117 (1997).
7. Ellison DW, Steart PV, Bateman AC, Pickering RM, Palmer JD, Weller RO: Prognostic indicators in a range of astrocytic tumours: an immunohistochemical study with Ki-67 and p53 antibodies. *J Neurol Neurosurg Psych* 59:413 (1995).
8. Jeremic B, Grujicic D, Antunovic V, Djuric L, Stojanovic M, Shibamoto Y: Influence of extent of surgery and tumor location on treatment outcome of patients with glioblastoma multiforme treated with combined modality approach. *J Neurooncol* 21:177 (1994).
9. Kim TS, Halliday AL, Hedley-White ET, Convery K: Correlates of survival and Daumas-Duport grading system for astrocytomas. *J Neurosurg* 74:27 (1991).
10. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW: Histologic typing of tumours of the central nervous system. Springer-Verlag, Berlin. (1993).
11. Leon SP, Folkert RD, Black PM: Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors. *Cancer* 77: 362 (1996).
12. Mikkelsen T, Yan PS, Ho KL, Sameni M, Sloane BF, Rosenblum ML: Immunolocalization of cathepsin B in human glioma: implications for tumor invasion and angiogenesis. *J Neurosurg* 83:285 (1995).
13. Morrison RS, Yamaguchi F, Bruner JM, Tang M, McKechan W, Berger MS: Fibroblast growth factor receptor gene expression and immunoreactivity are elevated in human glioblastoma multiforme. *Cancer Res* 54: 2794 (1994).
14. Pollak L, Gur R, Walach N, Reif R, Tamir L, Schiffer J: Clinical determinants of long-term survival in patients with glioblastoma multiforme. *Tumori* 83: 613 (1997).
15. Rainov NG, Dobberstein KU, Bahn H, Holzhausen H-J, Lautenschläger C, Heidecke V, Burkert W: Prognostic factors in malignant glioma: Influence of the overexpression of oncogene and tumor suppressor gene products on survival. *J Neurooncol* 35: 13(1997).
16. Revesz T, Scaravilli F, Coutinho L, Cockburn H, Sacares P, Thomas DG: Reliability of histological diagnosis including grading in gliomas biopsied by image-guided stereotactic technique. *Brain* 116:781 (1993).
17. Ritter AM, Sawaya R, Hess KR, Levin VA, Bruner JM: Prognostic significance of Bromodeoxyuridine-labeling in primary and recurrent glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 35: 192 (1994).
18. Schober R, Bilzer T, Waha A, Reifenberger G, Wechsler W, von Deimling A, Wiestler OD, Westphal M, Kemshead JT, Vega F: The epidermal growth factor receptor in glioblastoma: genomic amplification, protein expression, and patient survival data in a therapeutic trial. *Clin Neuropathol* 14:169 (1995).
19. Stemmer-Rachmaninov AO, Louis DN: Histopathologic and immunohistochemical prognostic factors in malignant tumors. *Curr Opin in Oncol* 9:230 (1997).
20. 66th Annual Meeting of AANS. Scientific Program. Philadelphia, Pennsylvania: The American Association of Neurological Surgeons, April 25-30, (1998).
21. 66th Annual Meeting of AANS. Poster Program. Philadelphia, Pennsylvania: The American Association of Neurological Surgeons, April 25-30, 227 (1998).