

TC
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**MEDULLOBLASTOM SUBTİPLENDİRMESİNDE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YAKLAŞIM**

Dr. Berrin Babaoğlu

UZMANLIK TEZİ
Olarak hazırlanmıştır.

**ANKARA
2017**

TC
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**MEDULLOBLASTOM SUBTİPLENDİRMESİNDE
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YAKLAŞIM**

Dr. Berrin Babaoğlu

UZMANLIK TEZİ
Olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Figen Söylemezoğlu

**ANKARA
2017**

TEŞEKKÜR

(Bu araştırma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2016-11393 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir).

Nöropatolojiye olan ilgimin gelişmesine neden olan, beni moleküler patolojide kullanılan yöntemlerle tanıştıran ve her türlü problemime akılcı ve samimi bir şekilde çözüm bulan, danışmanlığında tezimi yaptığım Prof. Dr. Figen Söylemezoğlu'na,

Çalışmanın hazırlık sürecindeki yönlendirmeleri ve daha sonraki katkıları nedeniyle minnettar olduğum Prof. Dr. Ali Varan'a, Prof. Dr. Canan Akyüz'e, ve Prof. Dr. Ayşegül Üner'e,

Yanımda bulunduğum iki ay içerisinde nöropatoloji alanındaki tecrübelerini büyük bir samimiyetle aktaran, yanı sıra tezimdeki eksik noktaları gözden geçirmek için bana vakit ayıran Prof. Dr. Tarık Tihan'a ve Dr. Melike Pekmezci'ye,

Arşivden preparatların ve blokların teminini gerçekleştiren Lokman Kale'ye, kesitleri yapan ve FISH çalışmasında yardımını esirgemeyen Rahime Çiçek'e, doku mikrodizinlerinin oluşmasında ve immünohistokimyasal yöntemlerin uygulanmasında yardımcı olan teknisyenlerimiz Özlem Kalaycı ve Ziya Birinci'ye

Çalışmanın istatistiksel analizlerini yapan Dr. Anıl Dolgun'a

Asistanlığım boyunca iyi bir eğitim almamı önemseyen, geleceğe yönelik kaygılarımı bir nebze azaltan değerli hocalarıma ve birlikte çok güzel hatıralar biriktirdiğimiz asistan arkadaşlarıma,

Patoloji hayatımın başından beri bana olan desteklerini hiç esirgemeyen canım aileme ve

Sevgili eşim Dr. Ozan Babaoğlu'na içtenlikle teşekkür ederim.

ÖZET

Babaoglu B, Medulloblastom subtiplendirmesinde immünohistokimyasal yaklaşım, Hacettepe Üniversitesi, Patoloji Tezi, Ankara, 2017. Çocukluk çağının en sık izlenen malign beyin tümörü olan medulloblastomlar, DSÖ 2007 sınıflamasında histomorfolojiye dayalı olarak sınıflanmakta iken DSÖ 2016 moleküler grup ve histolojik fenotipin entegre edilmesi ile tanıya ulaşılmasını önermektedir.

Son yıllarda moleküler patolojide yaşanan gelişmeler doğrultusunda gen ekspresyon ve metilasyon profillerini baz alarak moleküler alt tiplerin kullanımı önerilmektedir. Bu doğrultuda WNT, SHH, Grup 3 ve Grup 4 olmak üzere 4 alt tip belirlenmiştir.

Bu çalışmada HÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nda 1981-2015 yılları arasındaki medulloblastom vakaları incelenmiştir. Çalışmaya demografik verilerine ulaşılabilen ve parafin bloklarında yeterli miktarda doku içeren olgular dahil edilmiştir.

Araştırmada formalin fikse parafine gömülü dokulardan oluşturulacak doku dizinlerinden elde edilen kesitler immünohistokimyasal protein (β -katenin, GAB1, YAP1, Filamin A ve p53 antikor paneli) ekspresyonu ve FISH yöntemleri (N-myc ve C-myc amplifikasyon varlığı) için kullanılmıştır.

Tümörler yaş, cinsiyet gibi epidemiyolojik özellikleri, rekürrens ve yayılım göstermeleri gibi klinik özelliklerine göre yeniden değerlendirilmiştir. Bölümümüzde medulloblastom tanısı almış 218 hastaya ait kesitler histomorfolojik özelliklerine göre yeniden gözden geçirilmiş; hastaların prognoz ve sağ kalım gibi klinik bilgileri ile histopatolojik fenotiplerin, moleküler medulloblastom alt tipleri ile ilişkisine bakılmıştır. Tüm değişkenler için tanımlayıcı istatistiksel çalışmalar yapılmış olup kategorize değişkenlerin arasındaki ilişkiler Fisher kesin test ve Fisher-Freeman-Halton ile değerlendirilmiştir; sağ kalım analizinde Kaplan Meier sağ kalım eğrisinden faydalanılmıştır.

Bu çalışmada moleküler yöntemlere gerek duymadan, immünohistokimyasal yöntem sonuçları ve histomorfolojik özellikler birleştirilerek medulloblastom subtiplendirmesinde somut verilere ulaşılabilecektir. Bu durum daha agresif seyredecek gruptaki hastalara yoğun bir tedavi protokolü sunulmasını, daha iyi prognoza sahip alt gruptaki hastaların gereksiz tedavi almasının önüne geçilmesini sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: medulloblastom, moleküler, pediatrik, immünohistokimya

ABSTRACT

Babaoglu B, Immunohistochemical approach in medulloblastoma sub typology, Hacettepe University, Pathology Thesis, Ankara, 2017. While medulloblastomas being the most observed malign brain tumor of childhood are classified based on histomorphology in DSÖ 2007 classification, they suggest the reaching of diagnosis by integrating DSÖ 2016 molecular group and histological phenotype.

The use of molecular subtypes is suggested by taking the gene expression and methylation profiles in direction of the developments experienced in molecular pathology in recent years. In this respect, 4 subtypes have been determined under the names of WNT, SHH, Group 3 and Group 4.

In this study, medulloblastoma cases between 1981-2015 at Pathology Department of Hacettepe University Medical School have been examined. Cases that can be reached in terms of demographic data and that include sufficient amount of tissue in paraffin embedded blocks are included in the study.

Sections obtained from tissue indexes to be created by tissues embedded in formalin fixed paraffin have been used for immunohistochemical protein (β -katinin, GAB1, YAP1, Filamin A and p53 antibody panel) expression and FISH methods (N-myc and C-myc amplification existence).

Tumors have been re-evaluated according to epidemiologic features such as age, gender and clinical features such as recurrence and showing dissemination. At our department, sections belonging to 218 patients with medulloblastoma diagnosis have been re-examined according to their histomorphological features; the relationship between molecular medulloblastoma subtypes and histopathological phenotypes with clinical information such as survival and prognosis of patients. Defining statistical studies for all variables have been done and the relationships among categorized variables have been evaluated with Fischer exact and Fischer-Freeman-Halton tests; for survival analysis Kaplan Meier survival curve has been used.

In this study, tangible data will be reached in medulloblastoma subtypology by combining immunohistochemical method results and histomorphological features without needing molecular methods. This situation will provide patients in a more aggressive group with an intense treatment protocol and prevent the unnecessary treatment of patients in subgroups with a better prognosis.

Key words: medulloblastoma, immunohistochemistry, molecular, pediatri

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xi
RESİMLER	xii
TABLolar	xiii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Medulloblastom genel bilgiler	2
2.1.1. İnsidans/epidemioloji	2
2.1.2. Klinik bulgular	2
2.1.3. Radyolojik bulgular	3
2.1.4. Histogenez	3
2.1.5. Genetik yatkınlık	6
2.2. Medulloblastomların histopatolojik sınıflaması	7
2.2.1. Klasik medulloblastom	7
2.2.2. Desmoplastik/nodüler medulloblastom	8
2.2.3. İleri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastom	10
2.2.4. . Büyük hücreli/anaplastik medulloblastom	11
2.3. Medulloblastomların moleküler sınıflaması	12
2.3.1. WNT yolağı aktif medulloblastom	12
2.3.2. SHH yolağı aktif medulloblastom	13
2.3.3. WNT/SHH yolağı aktif olmayan grup 3 medulloblastom	15
2.3.4. WNT/SHH yolağı aktif olmayan grup 4 medulloblastom	16
2.4. İmmunohistokimyasal belirteçler	17
2.4.1. Tanısal belirteçler	17

2.4.2. Moleküler alt tiplendirmede önerilen belirteçler	18
2.4.2.1. β -katenin	18
2.4.2.2. YAP1	19
2.4.2.3. GAB1	20
2.4.2.4. Filamin A	20
2.4.2.4. p53	21
2.4.3. Moleküler alt tiplendirmede önerilen diğer çalışmalar	22
2.4.3.1. N-myc	22
2.4.3.2. C-myc	24
2.5. Medulloblastomlarda prognostik ve prediktif faktörler	25
2.6. Tedavi protokolleri	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Olguların seçimi	29
3.2. Histopatolojik kriterlerin tanımlanması	29
3.3. İmmunohistokimyasal çalışma ve değerlendirme	30
3.3.1. β -katenin	32
3.3.2. YAP1	33
3.3.3. GAB1	33
3.3.4. Filamin A	34
3.3.5. p53	35
3.4. FISH çalışması	35
3.4.1. N-myc	35
3.4.2. C-myc	36
3.5. İstatistiksel analiz	37
4. BULGULAR	38
4.1. Genel bulgular	38
4.2. Histomorfolojik alt tiplendirme bulguları	40
4.2.1. Histolojik tip-cinsiyet ilişkisi	41
4.2.2. Histolojik alt tip-eksitus durumu	42
4.2.3. Histolojik alt tip-nüks durumu	42

4.2.4. Histolojik alt tip-risk klasifikasyon durumu	42
4.2.5. Histolojik alt tip-tanı anında metastaz ilişkisi	43
4.2.6. Histolojik alt tiplerin moleküler alt tip dağılımı	43
4.3. Moleküler alt tiplendirme bulguları	44
4.3.1. Moleküler alt tip-cinsiyet ilişkisi	46
4.3.2. Moleküler alt tip-eksitus durumu	47
4.3.3. Moleküler alt tip-nüks durumu	47
4.3.4. Moleküler alt tip-risk klasifikasyon durumu	47
4.3.5. Moleküler alt tip-tanı anında metastaz ilişkisi	48
4.3.6. Moleküler alt tiplerin histolojik alt tip dağılımı	48
4.4. N-myc ve C-myc amplifikasyon bulguları	49
4.4.1. Amplifikasyon ve eksitus durumu	50
4.4.2. Amplifikasyon ve nüks durumu	50
4.4.3. Amplifikasyon ve risk klasifikasyonu durumu	50
4.4.4. Amplifikasyon ve histolojik alt tip ilişkisi	51
4.4.5. Amplifikasyon ve moleküler alt tip ilişkisi	52
4.5. p53 mutasyon durumuna yönelik bulgular	53
4.6. Yaşam analizi sonuçları	54
4.6.1. Yaş faktörü	54
4.6.2. Cinsiyet faktörü	54
4.6.3. Histolojik alt tip faktörü	55
4.6.4. Moleküler alt tip faktörü	56
4.6.5. Tp53 mutasyon faktörü	57
4.6.6. N-myc amplifikasyon faktörü	57
4.6.7. C-myc amplifikasyon faktörü	58
4.6.8. Tanı anında metastaz faktörü	58
4.6.9. Cerrahi faktörü	59
4.6.10. Risk klasifikasyonu faktörü	60
4.6.11. Tüm yaşam analizlerinin birlikte değerlendirilmesi	61
5. TARTIŞMA	65

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
7. KAYNAKLAR	76
8. EKLER (incelenen hastaların biyopsi numaraları ve etik kurul onay belgesi)	

SİMGELER VE KISALTMALAR

APC	Adenomatosis poliposis koli
AT/RT	Atipik Teratoid/Rabdoid Tümör
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CBTRUS	The Central Brain Tumor Registry of the United States
DNM/DNMB	Desmoplastik nodüler medulloblastom
DSÖ/WHO	Dünya Sağlık Örgütü / <i>World Health Organization</i>
EFS	<i>Event-free survival</i> (rekürrens veya progresyona kadar geçen süre)
ENMB/MBEN	İleri derecede nodülarite gösteren medulloblastom
FAP	Familiyal adenomatöz poliposis
FISH	Floresan in-situ hibridizasyon
GAB1	<i>GRB2 associated-binding protein 1</i>
HÜTF	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
LCA/ABHM	Büyük hücreli/anaplastik medulloblastom
NeuN	Nöronal nükleer antijen
NGS	<i>Next generation sequencing</i> (yeni nesil dizileme)
NOSMB	Spesifiye edilemeyen medulloblastom
OS	<i>Overall survival</i> (genel sağkalım)
PNET	Primitif nöroektodermal tümör
PTCH	<i>Protein patched homolog 1</i>
SHH	<i>Sonic hedgehog</i>
SSS	Santral Sinir Sistemi
TCF	T hücre faktörü
TMA	<i>Tissue micro-array</i> (doku dizini)
YAP1	<i>Yes Associated Protein 1</i>

ŞEKİLLER

Şekil 1: CBTRUS (2009-2013) verilerine göre çocukluk dönemi beyin tümörlerinin dağılımı	2
Şekil 2: Medulloblastomların hücre orijinleri	5
Şekil 3: WNT yolağı ve β -katenin degradasyonu	13
Şekil 4: SHH yolağı	14
Şekil 5: Medulloblastom moleküler subgrupların yaşa bağlı dağılımı	16
Şekil 6: WNT yolağı ve tümörigenezis	19
Şekil 7: YAP1 ve Hippo yolağı	20
Şekil 8: N-myc proto-onkogeninin fonksiyonları	23
Şekil 9: N-myc ve C-myc'nin dokulardaki ekspresyon profili	24
Şekil 10: Cinsiyet-yaş dağılımı	38
Şekil 11: Olguların histomorfolojik dağılımı	41
Şekil 12: İmmunohistokimyasal yöntemler ile moleküler alt tiplerin Belirlenmesi	45
Şekil 13: Olguların moleküler dağılımı	46
Şekil 14: Yaş faktörüne göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	54
Şekil 15: Cinsiyet faktörüne göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	55
Şekil 16: Histolojik alt tipe göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	55
Şekil 17: Moleküler alt tipe göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	56
Şekil 18: N-myc amplifikasyonuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	57
Şekil 19: C-myc amplifikasyonuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	58
Şekil 20: Tanı anında metastaz durumuna göre Kaplan Meier genel sağkalım Eğrisi	59
Şekil 21: Cerrahi durumuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	60
Şekil 22: Risk klasifikasyonuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi	61

RESİMLER

Resim 1: Klasik medulloblastom ve Homer Wright rozetleri	8
Resim 2: Desmoplastik/nodüler medulloblastom ve retikülinden fakir nodüller	9
Resim 3: İleri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastom ve retikülinden fakir geniş nodüller	10
Resim 4: Anaplastik/büyük hücreli medulloblastom, belirgin pleomorfizm ve “ <i>cell wrapping</i> ” gösteren hücreler	11
Resim 5: Medulloblastom-histopatolojik sınıflandırma; klasik tip medulloblastom (sol üst), desmoplastik nodüler tip medulloblastom (sağ üst), anaplastik/büyük hücreli medulloblastom (sol alt), ileri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastom (sağ alt)	30
Resim 6: 4 mm’lik deri punch biyopsi setleri ile manuel olarak yapılmış doku mikrodizin parafin blokları	31
Resim 7: Nükleer β -katenin pozitifliği (sol) ve membranöz β -katenin Pozitifliği	32
Resim 8: Sitoplazmik YAP1 boyanması	33
Resim 9: Sitoplazmik GAB1 boyanması (2+ olarak kabul edilmiştir), nükleer GAB1 boyanması (1+ olarak kabul edilmiştir)	34
Resim 10: Sitoplazmik Filamin A boyanması	34
Resim 11: p53 mutant (sol) ve p53 <i>wild</i> tip (sağ) medulloblastom olguları	35
Resim 12: N-myc normal (sol), N-myc amplifiye örnekler	36
Resim 13: C-myc normal (sol), C-myc amplifiye örnekler	36

TABLOLAR

Tablo 1: Pediatrik Onkoloji Grubunun yaptığı medulloblastom risk grup klasifikasyonu	25
Tablo 2: İmmunohistokimya antikollarının marka, dilüsyon ve klonları	32
Tablo 3: Olguların klinik özellikleri	40
Tablo 4: Histolojik alt tip-cinsiyet dağılımı	41
Tablo 5: Histolojik alt tip-tanı anında metastaz durumu	43
Tablo 6: Histolojik alt tiplerin moleküler alt tiplere göre dağılımı	44
Tablo 7: Moleküler alt tiplerin immünohistokimyasal profili	44
Tablo 8: Moleküler alt tipler ile cinsiyet ilişkisi	47
Tablo 9: Moleküler alt tip-tanı anında metastaz durumu	48
Tablo 10: Moleküler alt tiplerin histolojik alt tiplere göre dağılımı	49
Tablo 11: Histopatolojik alt tipler içindeki N-myc ve C-myc amplifikasyon dağılımlarının ilişkisi	51
Tablo 12: Moleküler alt tipler içindeki N-myc ve C-myc amplifikasyon dağılımlarının ilişkisi	52
Tablo 13: Tek değişkenli analizlerde, OS açısından anlamlı bulunan değişkenler	62
Tablo 14. Çok değişkenli Cox orantisal hazard regresyon analizi sonucunda, tüm faktörler bir arada ele alındığında OS açısından anlamlı bulunan değişkenler.	63
Tablo 15. Çok değişkenli Cox orantisal hazard regresyon analizi sonucunda, geriye doğru eleme değişken seçim yöntemi kullanılarak OS açısından en anlamlı bulunan değişkenler	64

1. GİRİŞ

Santral sinir sistemi (SSS) embriyonel tümörleri, tercihen çocukları etkileyen kötü diferansiye malign tümörleridir. Genel olarak embriyonel SSS neoplazileri kategorisinde şu tümörler yer alır: Medulloblastom, santral sinir sisteminin primitif nöroektodermal tümörü (PNET), Atipik Teratoid/Rabdoid Tümör (AT/RT), çok katmanlı rozet oluşturan embriyonel tümör ve pineoblastom. Grup olarak bu lezyonlar hem kraniospinal radyasyon hem de kemoterapi ile agresif tedavi edilirler. Tedaviye verilen yanıt ve sağkalım farklı antiteler arasında değişmekle birlikte, SSS'nin tüm embriyonel tümörleri, malign ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) grade IV olarak kabul edilimektedir(1, 2).

2007 DSÖ SSS Tümörleri medulloblastom sınıflaması temelde histomorfolojiye dayalı olarak yapılmakta olup klasik, desmoplastik/nodüler, MBEN (ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom), büyük hücreli ve anaplastik alt tipleri mevcuttur(1).

Son zamanlarda moleküler patolojide yaşanan gelişmeler doğrultusunda medulloblastom alt tiplerini moleküler olarak sınıflamak ve bu alt tipleri prognozla ilişkilendirmek mümkün olmuştur. 2014 Haarlem Konsensus Toplantısı ve Uluslararası Medulloblastom Çalışma Grubu yanı sıra DSÖ 2016 bu amaçla gen ekspresyon ve metilasyon profillerini baz alarak moleküler alt tiplerin kullanımını önermiştir. Bu doğrultuda WNT, SHH, Grup 3 ve Grup 4 olmak üzere 4 genetik alt tip belirlenmiştir(3-5).

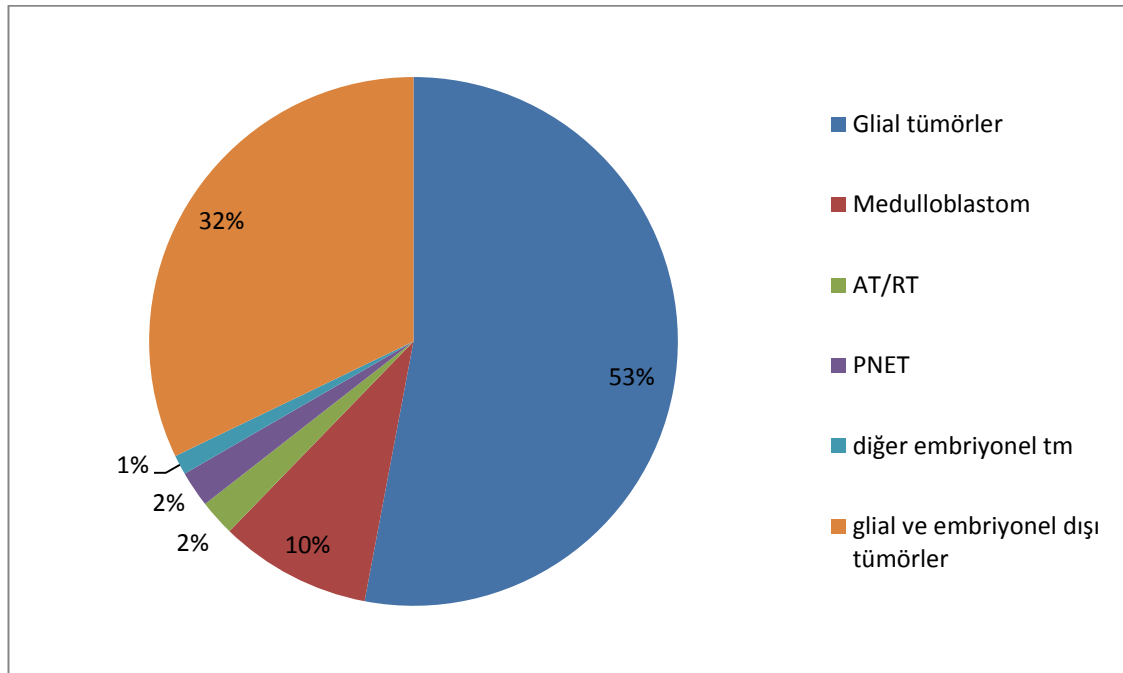
Bu tezde, immünohistokimyasal yöntemlerin moleküler alt tiplerin saptanmasında kullanılması ve belirlenen genetik alt tiplerin histolojik alt tiplerle ilişkisi yanı sıra prognozla ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Medulloblastom Genel Bilgiler

2.1.1. İnsidans ve epidemiyoloji

Çocuklarda meydana gelme eğilimindeki medulloblastomlar, bu yaş grubunda en sık görülen malign primer santral sistem malignitesi olup çocukluk döneminin pilositik astrositomdan sonra en sık görülen beyin tümörüdür. Olguların çoğu yaşamın ilk 4 yılında görülür ve insidans genç yetişkinlik boyunca gittikçe düşer. Nadiren de olsa, medulloblastomlar, yedinci on yıla kadar yaşlı hastalarda oluşabilir, bu yüzden hasta yaşı, tek başına medulloblastom tanısını ekarte ettirmez. Erkek kadın oranı 1.5:1 civarındadır. (1, 3, 6)



Şekil 1: CBTRUS (2009-2013) verilerine göre çocukluk dönemi beyin tümörlerinin dağılımı (7) no'lu referanstan revize edilmiştir.

2.1.2. Klinik bulgular

Medulloblastomlar, özellikle ependimomlar gibi, diğer posterior fossa kitlelerine benzer klinik öyküye sahiptir. Bebeklerde, tam kapanmamış kranial

sütürler nedeniyle artmış kafa içi basıncı kafa çevresinde genişlemeye neden olabilirken, biraz daha büyük çocuklarda, artmış intrakranial basınç ve hidrosefali, genellikle baş ağrısı, bulantı/kusma, baş dönmesi ve ataksi ile kendini belli eder(1, 8, 9)

2.1.3. Radyolojik bulgular

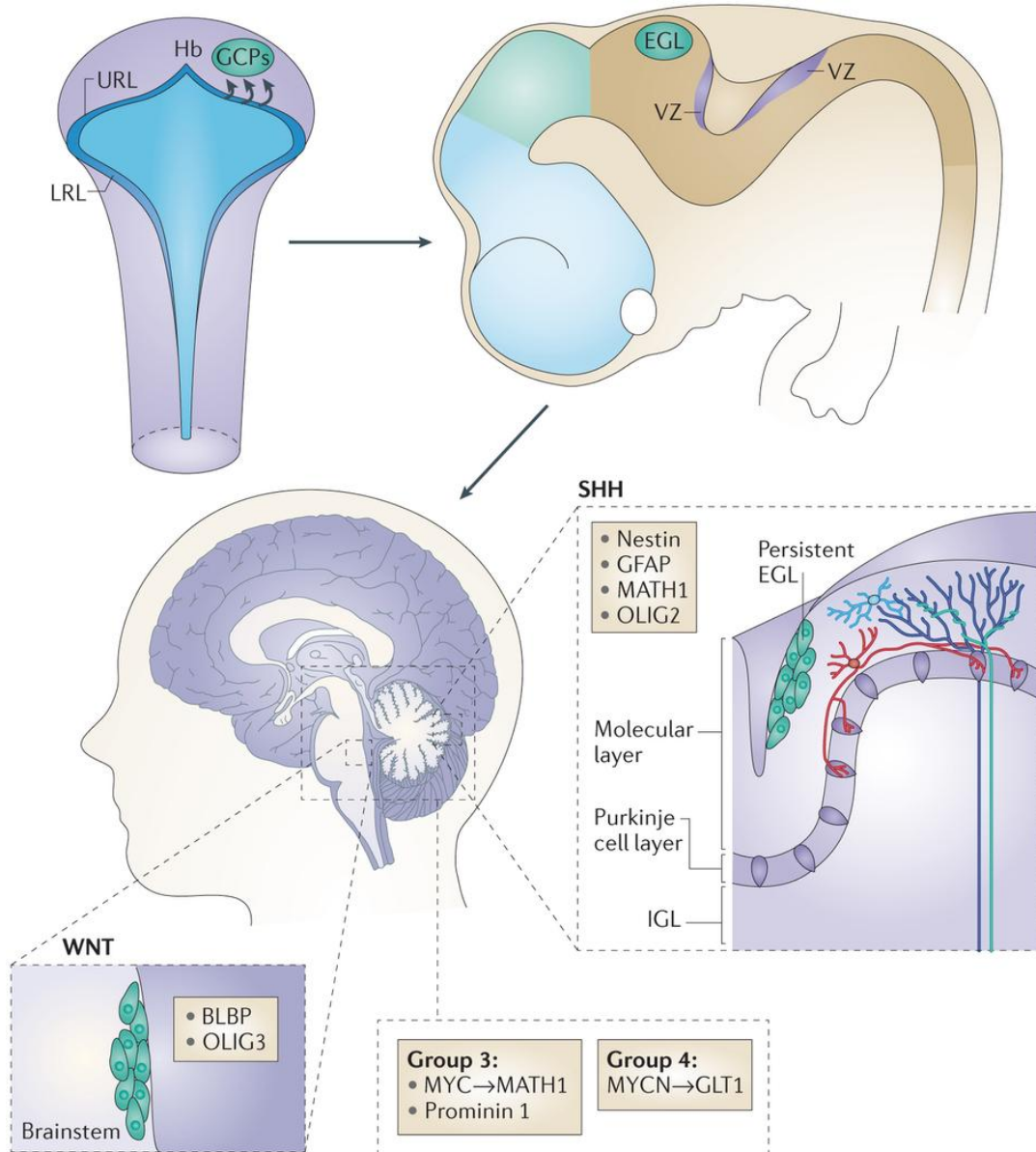
Tanım olarak, medulloblastomlar posterior fossada yerleşir. Olguların çoğu, serebellum orta hattı veya vermisten kaynaklanır ve bazen dördüncü ventrikül içine uzanarak BOS akışına engel olur. İleri derecede nodülerite gösteren medulloblastomlarda histolojik nodüler paternin yansıması olan “üzüm benzeri” nodülerite çok tipiktir. Erken çocukluk döneminde nodüler /desmoplastik medulloblastom, Gorlin sendromunun varlığını düşündürmektedir. Görüntüleme, medulloblastomlar, parlak bazen heterojen kontrast tutan, kesintili sınırlılık gösteren solid kitle olma eğilimindedir. Subaraknoid mesafeye uzak ekilim, nörogörüntüleme tespit edilebilir ve sağkalım oranlarında azalma ile ilişkilidir. Yaygın veya coğrafik nekroz, radyolojik incelemede nadirdir ve genellikle AT/RT için klinik şüphe uyandırmaktadır. Son zamanlarda gündeme gelen medulloblastom moleküler sınıflaması, radyolojik korelasyona dair yeni bilgilerin de gündeme gelmesine sebep olmuştur. Bu çalışmalardan bir kısmına göre; WNT aktif tümörler genellikle serebellar pedikül ve serebellopontin sisterna; SHH aktif tümörler serebellar hemisfer; grup 3 ve grup 4 tümörler ise ortahat yerleşimli olma eğilimindedir(1, 10, 11).

2.1.4. Histogenez

Medulloblastomlar dördüncü ventrikül çatısındaki pirimitif nöroektoderm remnatlarından köken alan bir tümör olarak kabul edilmekte olup halen medulloblastomların histogenezi net açıklanamamıştır. Bilindiği üzere serebellum gelişiminde, dışta ventriküler zon, içte ise serebellar eksternal granüler tabaka yer almaktadır. Hipotezlerden ilkinde göre medulloblastomlar serebellumun eksternal granüler tabakasından köken almaktadır. Bu tabakadaki prekürsör nöronların

kontrolünde SHH'un yer alması, ve bu yolağa ait reseptörlerden biri olan PTCH mutasyonunun sporadik medulloblastomlarda keşfedilmesi bu hipotezin bir kanıtı olarak sunulmaktadır (12). Bir diğer hipoteze göre ise medulloblastomlar birden fazla hücre orjinine sahiptir. Bu tümörler embriyonel hücrelerden veya gelişimin en erken safhasındaki immatür hücrelerden kaynaklandığı düşünülse de aslında hücre kökeni, alt gruba bağlı olarak değişiklik göstermektedir (13). WNT aktive medulloblastomların kökeni olan hücrelerin alt rombik dudaktan köken alan dorsal beyin sapı hücreleri olduğu kabul edilmektedir. (14) . SHH aktive medulloblastomlar ise internal granüler tabakaya göç etmeyen persistant eksternal granüler tabaka hücrelerinden köken almaktadır (12). Grup 3 ve grup 4 medulloblastomlar ise arka beyin veya beyin sapındaki nöral kök hücrelerinden köken almaktadır.

Yanısıra bu tümörlerin oluşumunda N-myc, C-myc veya ERBB2 gibi onkogenlerin rol aldığı ve genellikle kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13).



Nature Reviews | Cancer

Şekil 2: Medulloblastomların hücre orijinleri (13) no'lu referanstan aynen alınmıştır (WNT aktive medulloblastomlar alt rombik dudaktan köken alan dorsal beyin sapı hücrelerinden, SHH aktive medulloblastomlar persistant eksternal granüler tabaka hücrelerinden, Grup 3 ve grup 4 medulloblastomlar ise arka beyin veya beyin sapındaki nöral kök hücrelerinden köken almaktadır).

2.1.5. Genetik Yatkınlık

Medulloblastomların etiolojisinde halen aydınlatılmamış pek çok nokta vardır. Ancak bir grup medulloblastomun bazı genetik sendromlarla birlikte olabildiğinin görülmesi altta yatan mutasyonların da tanımlanması açısından yararlı olmuştur. Medulloblastom ile birlikte en fazla görülen sendromlar Gorlin ve Turcot sendromudur.

Gorlin ya da diğer adıyla bazal hücreli nevüs sendromu, PTCH tümör supresyon geninde germline mutasyon sonucu görülen nadir bir otozomal dominant hastalıktır. PTCH geni, SHH yolağında görevli bir transmembran proteinin kodlanmasından sorumludur. Gorlin sendromlu hastalar büyük vücut boyutuna sahip, iskelet anomalileri gösteren, bazal hücreli karsinom ve medulloblastomların artmış insidansının izlendiği bir hastalık grubudur. Bu hastaların yaklaşık %3-5'inde, genellikle yaşamın ilk 2 yılı içinde, özellikle SHH yolağının aktif olması sebebiyle desmoplastik/nodüler tip medulloblastomlar gelişir. (15)

Turcot sendromu ya da diğer adıyla beyin tümörü polipozis sendromu ise birden çok tümörün bir arada görülebildiği otozomal dominant nadir bir hastalıktır. Sendromun bir kolunda DNA tamir (*mismatch repair*) genlerindeki mutasyonlar sebebiyle Lynch sendromuna yatkınlık ve malign gliomlar görülmektedir. Diğer kolunda ise APC gen mutasyonuna bağlı olarak ailesel adenomatoz polipozis (FAP) sendromuna yatkınlık ve medulloblastom birlikteliği izlenmektedir(1). APC gen mutasyonu bu sendromun karakteristik özelliğidir. APC; Wnt sinyal yolağında görevli bir gen dir ve β -kateninin fosforilasyonunda görevlidir. (15)

Medulloblastomların eşlik ettiği bir diğer sendrom ise Li-Fraumeni sendromudur. Tp53 tümör supresör genindeki mutasyon sonucu izlenen bu sendromda sarkomlar, lösemi, premenopozal meme kanseri, beyin tümörleri ve adrenokortikal karsinomlar için artmış risk mevcuttur. Tp53 mutasyonu sporadik medulloblastomlarda daha nadir oranda bildirilmiştir (16, 17).

Geniş başparmak, mental retardasyon gibi bozukluklar ile karakterize nadir bir otozomal dominant sendrom olan Rubinstein-Taybi sendromu da medulloblastom ile ilişkili bulunmuştur(1, 9).

Son yıllarda OTX2 genindeki kazanılmış kopya sayısının medulloblastom olgularının yaklaşık %10'unda görülebildiğine dair yeni bilgiler de mevcuttur. Bu mutasyonların özellikle grup 3 ve grup 4 tümörlerde saptanmış olması non-WNT/non-SHH grubundaki tümörler için potansiyel hedefe yönelik tedavi seçenekleri umudu doğurmuştur(18).

2.2. Medulloblastomların Histopatolojik Sınıflaması

Geleneksel olarak medulloblastomlar histopatolojik alt tiplere ayrılarak sınıflandırılmaktadır. Histolojik alt tiplerin prognozla ilişkilendirilebilmeleri nedeniyle patoloji raporlarında yer alması önemsenmektedir(3, 19). Bu doğrultuda medulloblastomlar; klasik, desmoplastik/nodüler, ileri derecede nodüler farklılaşma gösteren ve anaplastik/büyük hücreli olmak üzere dört alt tipe ayrılmıştır(1, 3, 20).

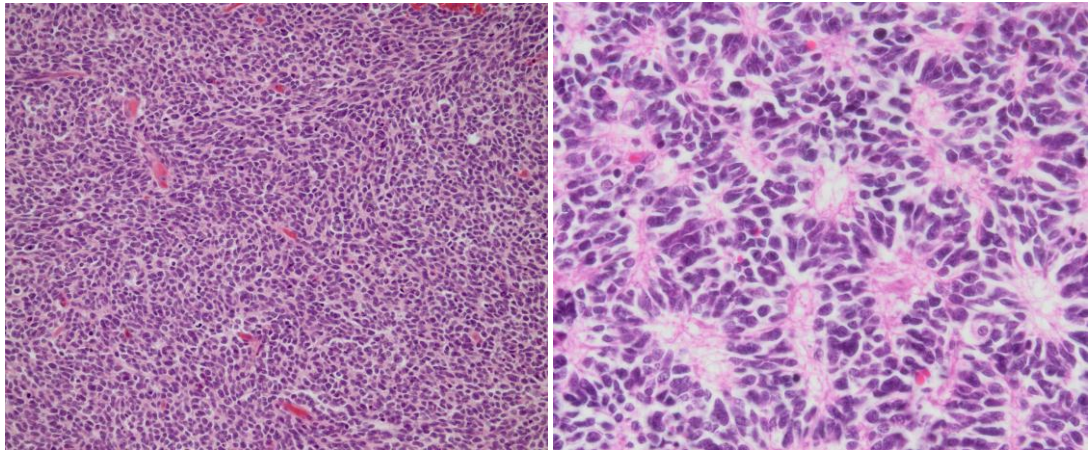
2.2.1. Klasik Medulloblastom

Klasik medulloblastom histolojik görünümü, “küçük mavi hücreli tümör”lere özgü dar sitoplazmalı monoton, az diferansiye hücre tabakalarından oluşur. Tabakalar halinde büyümeye ek olarak palizatlanma, belirgin rozetler ve perivasküler aselüler alanlar gibi diğer paternler de görülebilir. Neoplazmı oluşturan hücreler, serebellar granüler nöronlar ve bunların fetüs ve bebeklerdeki öncülleri olan dış serebellar granüler tabaka hücreleri ile benzer özellikleri paylaşırlar. Olguların yarısından azında bulunan fibriller veya nöroblastik rozetler (Homer Wright), medulloblastoma özgü değildir, bu nedenle de gerekli bir tanı kriteri sayılmaz. Ancak bunların varlığı immatür nöronal farklılaşma gösteren bir lezyonu destekler. Mitoz ve genellikle tümör kitlesinin sadece küçük bir kısmını içermesine rağmen nekroz sıktır. Tümör çekirdekleri, tipik olarak hiperkromatiktir ve şekilleri yuvarlak-düzenliden köşeliye dek değişir, yer yer nükleer kalıplanma (“*molding*”) gösterir. Nükleol genellikle farkedilmez. Bu hücreler çoğu kez leptomeninkslerin altında serebellum yüzeyi ve penetran damarların perivasküler boşlukları boyunca parankim içine uzanmaktadır. Bazen, tümör hücreleri ependimomlarda görülen

perivasküler psödorozet benzeri yapılar oluşturarak, kan damarlarının etrafında dizilenebilirler.

Medulloblastomlarda mezenkimal diferansiasyonun, kıkırdak, kas, adipöz ve melanositik dahil olmak üzere çeşitli türleri bildirilmiştir. 2007 DSÖ sınıflamasında ayrı bir patern olarak sınıflandırılmış olsa da myojenik farklılaşma gösteren medulloblastom hiçbir prognostik veya tedaviye yönelik öneme sahip değildir. Benzer şekilde melanositik farklılaşma gösteren medulloblastom ayırt edici klinik davranışı olmayan nadir morfolojik bir varyant olarak kabul edilir.

Bazen, önceden tedavi edilmiş medulloblastom hastasından alınan biyopside küçük mavi hücrelerden daha büyük, olgun ganglion hücrelerine neredeyse tam geçiş görülebilir. Bu durum, radyasyon ve kemoterapi ile tetiklenen rezidüel medulloblastom hücrelerinin olgunlaşmasını temsil etmektedir. Bu lezyonların proliferatif hızı çok düşüktür ve daha tipik tümör elemanları eşlik etmediği sürece rezidüel medulloblastom olarak rapor edilmemelidir. Bu gibi durumlarda, yüksek farklılaşma derecesini ve düşük proliferasyon hızını açıklayan bir yorum eşliğinde “ atipik ganglion hücre lezyonu” makul bir tanıdır. Bu değişikliğin uzun dönem klinik önemi şu anda bilinmemektedir(2, 9, 10).

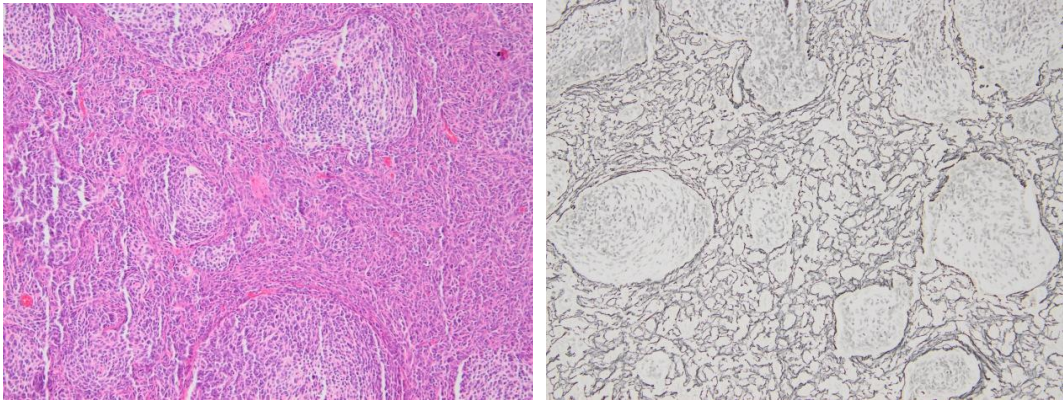


Resim 1: Klasik medulloblastom (küçük büyütme) ve Homer Wright rozetleri.

2.2.2. Desmoplastik/nodüler medulloblastom

Kavramsal olarak bu patern artmış nöronal farklılaşma odakları içeren medulloblastomu temsil eder. Prototip tümör, fibriler nöropil zeminde seyrek tümör

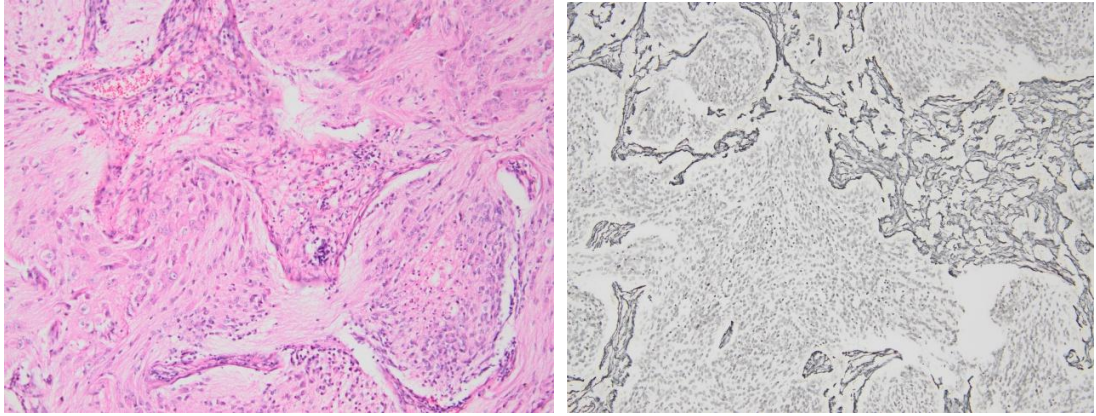
hücreleri içeren sınırlı, yuvarlak, retikülinden fakir nodüller ve bunları ayıran retikülinden zengin arka plan içinde yoğun tümör hücre dizilerinden oluşur. Soluk nodüller artmış sinaptofizin ve nörofilaman ekspresyonu, daha düzgün nükleer özellikler ve azalmış proliferasyon göstermektedir. Nodüller içinde olgunlaşan veya olgun ganglion hücreleri bulunabilir. Bunun aksine, internodüler doku daha az farklılaşmış, daha pleomorfik ve daha proliferatiftir. Bazen nodüller kolayca farkedilirler, ancak küçük büyütmelerde internodüler dokunun içine kaynaşmış olabilirler. Nodüller nadiren o kadar barizdir ki neredeyse internodüler doku olmaksızın birbirine bitişik görünürler. Bu patern lezyonun tamamını oluşturduğu zaman, DSÖ 2007 sınıflamasına göre yaygın nodülerite gösteren medulloblastom olarak kategorize edilebilir. Desmoplazi bazen, içinde hapsolmuş tümör hücreleri bulunduran yoğun kollajen odaklar olarak görülmektedir. Bu özellik, tek başına nodüler/desmoplastik patern teşkil etmez ve klasik veya nodüler/desmoplastik patern kapsamında meydana gelebilir(6).



Resim 2: Desmoplastik/nodüler medulloblastom ve retikülin boyasında tipik retikülinden fakir nodüller ve internodüler desmoplazi

2.2.3. İleri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastom

Genellikle yenidoğan ve genç çocukluk döneminde izlenen bu patern desmoplastik/nodüler tip medulloblastom ile histopatolojik ve genetik olarak büyük oranda benzerlikler göstermektedir. Nöropil zeminde nörositik ve ganglion hücrelerinin oluşturduğu retikülinden fakir geniş nodüller ve onları saran desmoplastik matris içindeki az diferansiye tümör hücrelerinden oluşmaktadır. Bu tümörlerde de desmoplastik/nodüler tip tümörler gibi Gorlin sendromu ile birliktelik bildirilmiştir. Serebrospinal sıvı yoluyla lokal relaps ve metastaz yapmasına karşın iyi prognoza sahiptirler. Kontrast verilmiş T1 ağırlıklı imajlarda “üzüm benzeri” görünüm bu tümörlerin radyolojik görünümleri için tipik bir bulgudur(1).

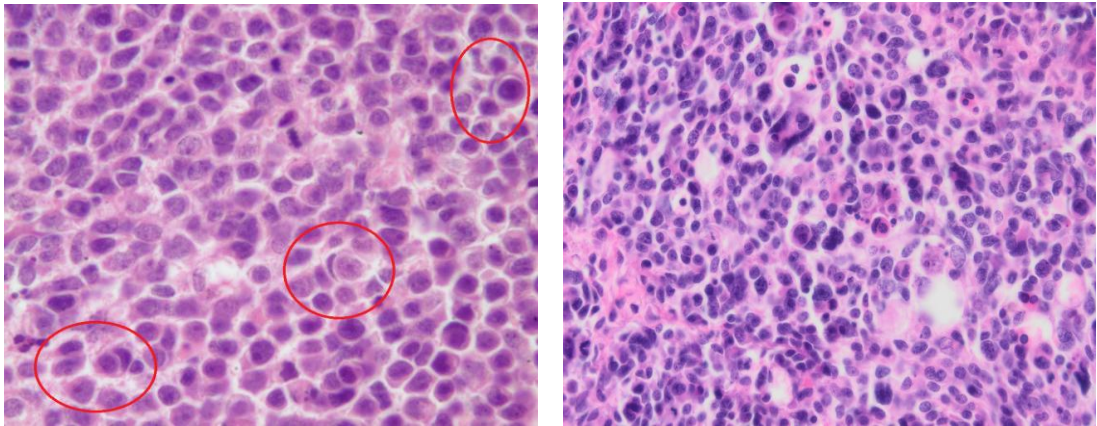


Resim 3: İleri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastom ve retikülinden fakir geniş nodüller

2.2.4. Büyük Hücreli / Anaplastik medulloblastom

Bu lezyonlar, yüksek derecede sitolojik atipi ve daha büyük hücre boyutu ile klasik medulloblastomdan farklıdır. Anaplastik terimi geniş, pleomorfik ve hiperkromatik çekirdeklerin mozaik benzeri bir paternde yan yana geldiği durumlarda kullanılır. Buna karşılık, büyük hücrelerin açık veya veziküler kromatinli, belirgin nükleollü, daha yuvarlak nükleusları ve ince bordür şeklinde eozinofilik sitoplazmaları vardır.

Her iki paternde de, artmış mitoz, sık apoptotik debri ve hücrelerin birbirini sardığı ("*cell wrapping*") görülür. 2007 DSÖ sınıflamasında, bu ikisi ayrı paternler olarak kabul edilse de büyük hücreli ve anaplastik medulloblastomun, artmış metastaz eğilimi ve tedaviye daha az elverişli olmaları nedeniyle benzer agresif fenotipleri temsil ettikleri düşünülmektedir. Pür büyük hücreli medulloblastom oldukça nadir olup sıklıkla anaplastik alanlar eşlik etmektedir(1).



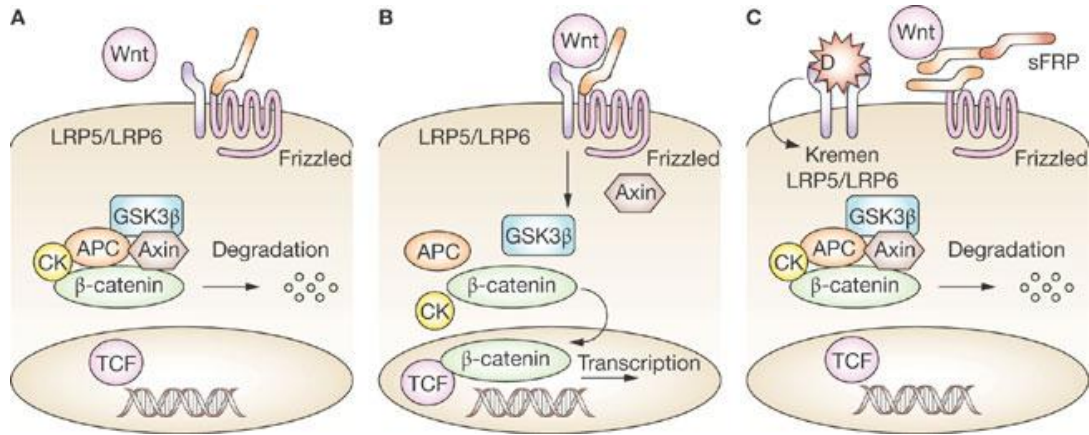
Resim 4: Anaplastik/büyük hücreli medulloblastom, belirgin pleomorfizm ve "*cell wrapping*" gösteren hücreler

2.3. Medulloblastomların Moleküler sınıflaması

Son zamanlarda moleküler patolojide yaşanan gelişmeler doğrultusunda medulloblastomlar moleküler olarak alt tiplere ayrılmış ve bu alt tipler prognozla ilişkilendirilmiştir. DSÖ 2016 bu amaçla gen ekspresyon ve metilasyon profillerini baz alarak moleküler alt tiplerin kullanımını önermiştir. Bu doğrultuda WNT, Shh, Grup 3 ve Grup 4 olmak üzere 4 alt tip belirlenmiştir(1, 3).

2.3.1. WNT yolağı aktif medulloblastom

WNT; gen ekspresyonu ve hücreler arası iletişimi koordine eden, embriyonik gelişimde rol alan bir proteindir. WNT sinyalleri hücre diferansiasyonu ve mitojenik stimülasyonu düzenler. İnsanda 19 tane WNT geni tanımlanmıştır. WNT geninin kullandığı 2 tip yolak vardır; birincisi "*canonical*" (doğal) yolaktır ki tümörogeneizde bu yolak önemli olup β -katenin üzerinden gen transkripsiyonu kontrol edilmektedir. Diğer "*non-canonical*" (doğal olmayan) yolak ise intraselüler kalsiyum salınımını düzenlemektedir. WNT yolağı ayrıca siklinD1, C-myc gibi bazı proteinlerin de transkripsiyonunu düzenler. WNT proteinleri transmembran aile üyesi olan *Frizzled* genine bağlanır, LDL reseptör ilişkili proteinle birlikte trimerik membran kompleksi oluşur ve interselüler sinyal üretimi başlar. Bu kompleks normalde β -katenin degradasyon kompleksine bağlanır ve β -katenini fosforile hale getirir. Eğer degradasyon ve fosforilasyon başarılı olmazsa β -katenin hücre nükleusunda birikmeye başlar (bknz: Şekil 3). Bu durum bazı genlerin (c-myc, siklin D1 gibi) transkripsiyonunu tetiklenir ve süreç tümör oluşumu ile sonlanır. APC gen kaybı da WNT yolağındaki süreçlerin bir parçası olduğu için FAP ve Turcot sendromlarındaki medulloblastom oluşma sebebi bu yolla açıklanmaktadır. Sporadik medulloblastomlarda izlenen β -katenin somatik mutasyonları (CTNNB1) da yine bu yolağı kullanan tümörlerde izlenen esas problemdir(21, 22).



Şekil 3: WNT yolağı ve β -katenin degradasyonu (23) no'lu referanstan aynen alınmıştır

WNT yolağı aktif tümörler tüm medullolastomların %10-14'ünü oluşturmaktadır(4, 22). Bu tümörler dorsal beyin sapındaki progenitör hücrelerden köken almaktadır. Genellikle serebellar pedinkül ve serebellopontin yerleşimlidir. Bu grupta sıklıkla klasik histoloji, daha az oranda ise anaplastik/büyük hücreli morfolojideki tümörler izlenmektedir.

Kromozom 6 kaybı, CTNNB1 (β -katenin) somatik mutasyonu yanısıra daha az oranda Axin, APC, Tp53, SMARCA4 ve DDX3X mutasyonları izlenebilir. Kromozom 6 kaybı yada CTNNB1 mutasyonu WNT yolağındaki tümörlerin %85'inde immünohistokimyasal veya gen ekspresyon profili ile saptanabilir. İmmünohistokimyasal olarak β -katenin mutasyonu nükleer pozitiflik ile saptanmakta olup nükleer pozitifliğin %5-10 hücreden fazla olması gerektiğini savunan yayınlar bulunmaktadır(21, 24).

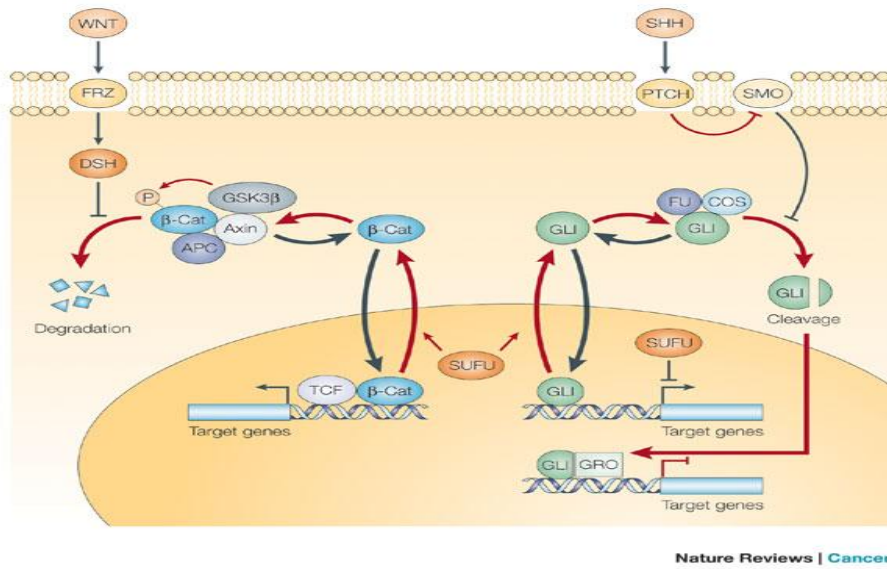
WNT yolağı aktif tümörler iyi prognoza sahiptir (1, 20, 22, 25, 26). Cerrahi ve adjuvan tedavi sonrası %100'e varan genel sağkalım mümkündür. SHH grubunun aksine Tp53 mutasyonunun da direk prognoza yansması bildirilmemiştir(1).

2.3.2. SHH yolağı aktif medulloblastom

Hh (hedgehog) geni 7. Kromozomun uzun kolunda yerleşen, notokord ve nöral tüp oluşumundan sorumlu bir gendir. İlk olarak drosophila'ların mutant

formdaki larvalarında vücut ve organ dismorfizmi ile ilişkili bulunmuştur. Vertebralılarda Desert Hh, Indian Hh ve Sonic Hh olmak üzere 3 homolog gen tariflenmiştir. SHH geni hücre büyümesi, hücre diferansiasyonu ve beyin, spinal kord, göz, ekstremitelerin normal şekillenmesinde önemli role sahiptir. Genin işlevindeki kusurlar holoprosensefali ve mikroftalmi gibi hastalıklara yol açmaktadır.

Hh geni yanısıra bu yolda SUFU, Gli3, SMO ve PTCH gibi gen mutasyonları da SHH yolağını aktive eden mutasyonlardır (20).



Şekil 4: SHH yolağı (27) no'lu kaynaktan aynen alınmıştır. SHH geni yanı sıra PTCH, SMO, SUFU, Gli3 genlerindeki mutasyonlar hem Gorlin sendromlu hastalarda hem de sporadik medulloblastomlarda SHH yolağını aktive eden mutasyonlardır.

SHH aktive tümörler tüm medulloblastomların %30'unu oluşturmaktadır. Serebellar granül nöron hücrelerinden gelişmektedir. Genellikle serebellar vermis ve hemisfer yerleşimlidirler. Bu grup tümörler prognostik açıdan belirgin farklılık göstermesi sebebiyle Tp53 mutasyonu varlığına göre "p53 mutant" ve "p53 mutant olmayan - *wild tip*" olarak iki ana gruba ayrılmaktadır (1, 28). Her yaş grubunda izlenmekle birlikte p53 mutant olan grup çocuklarda; mutant olmayan grup infant ve erişkinlerde daha siktir.

p53 mutant grupta klasik, büyük hücreli/anaplastik ve desmoplastik/nodüler morfoloji izlenebilmekte olup sıklıkla büyük hücreli/anaplastik morfoloji hakimdir.

p53 “*wild tip*” olan grupta ise klasik, büyük hücreli/anaplastik, desmoplastik/nodüler yanısıra ileri derecede nodülerite gösteren morfoloji izlenebilmekte olup sıklıkla desmoplastik/nodüler ve ileri derecede nodülerite gösteren morfoloji hakimdir.

Tp53 mutasyonu görülen grup SHH yolağını kullanan medulloblastomların %20’sini oluşturmakta ve bir kısmı Li-Fraumeni sendromu ile ilişki göstermektedir. Bu hastalarda p53 yanı sıra GLI2, MYCN, SHH mutasyonları ve kromozom 17q kaybı da sık görülmektedir. Bu tümörler daha yüksek SSS yayılımı ve metastaz riski taşıdıklarından dolayı kötü prognozla ilişkilendirilmiştir.

p53 mutant olmayan grupta ise PTCH1, SUFU, SMO ve TERT mutasyonları izlenmektedir. Bu grup tümörler Gorlin sendromu ile de ilişkilendirilmiştir(20, 22).

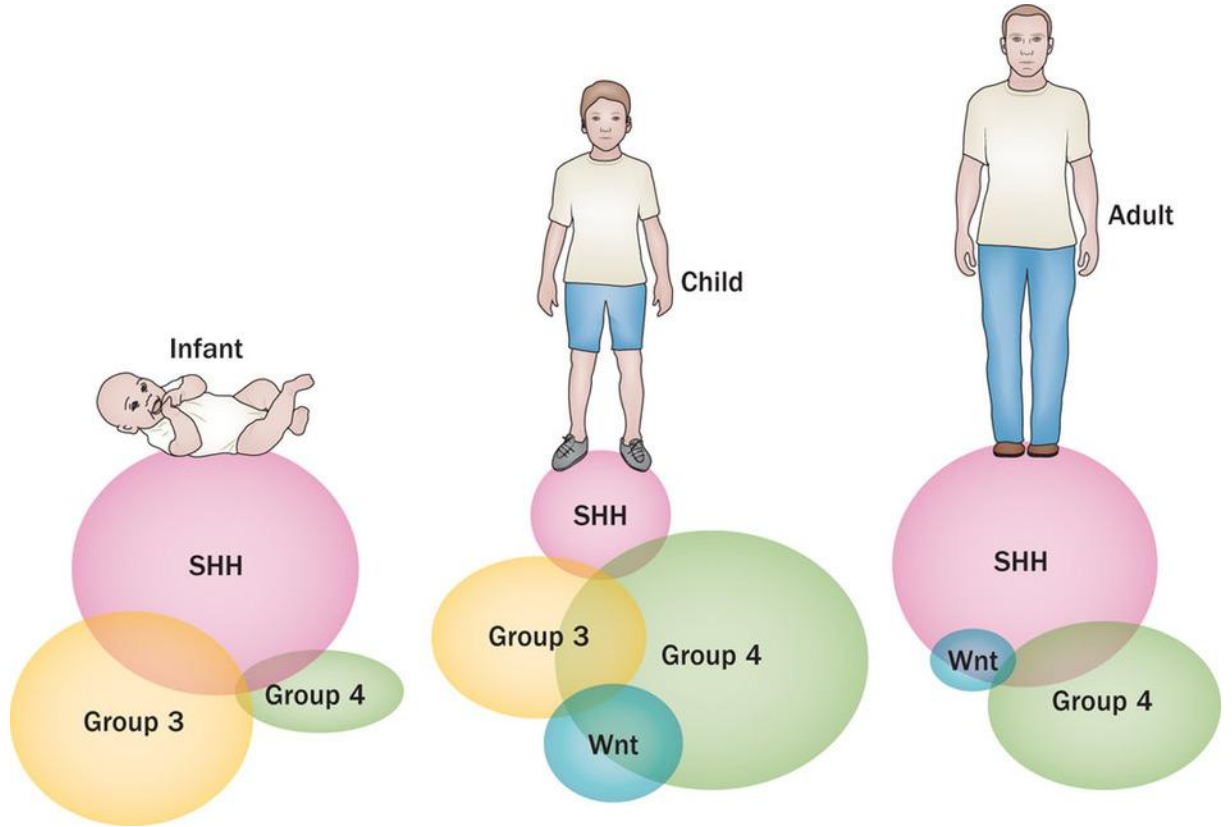
Son zamanlarda gündeme gelen moleküler sınıflandırmayı hedefleyen immünohistokimyasal çalışmalardan bazıları GAB1, YAP1 ve filamin A panelinin kullanımını önermektedir. Bu antikordardan GAB1, SHH aktivasyonunu veya PTCH1 mutasyonu gösterirken; YAP1 ve/veya Filamin A, SHH veya WNT yolağını göstermektedir.

2.3.3. WNT/SHH yolağı aktif olmayan grup 3 medulloblastom

Bu tümörler tüm medulloblastomların %20’sini oluşturmaktadır. Özellikle infant ve çocuklarda izlenir. Genellikle ortahat yerleşimli tümörlerdir. Çoğunlukla klasik histolojik morfoloji hakim olsa da non-WNT/non-SHH tümörler içinde büyük hücreli/ anaplastik morfolojinin daha sık izlendiği tümörler grup 3’tür. Bu tümörlerde GAB1, YAP1, Filamin A ve β -katenin negatiftir. Grup 3 tümörlerin %25’i C-myc amplifikasyonu gösterirler. Grup 3 tümörler genellikle kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir(4, 29, 30).

2.3.4. WNT/SHH yolağı aktif olmayan grup 4 medulloblastom

Bu grup tümörler tüm medulloblastomların %40'ını oluşturmaktadır. 5-15 yaş arası çocukluk dönemi en sık izlendiği dönemdir. Grup 3 tümörler gibi bu grup tümörlerde genellikle ortahat yerleşimlidir. Klasik histolojik tip nadiren de büyük hücreli/anaplastik morfoloji sergilerler. En sık KDM6A mutasyonu izlenmekte olup daha nadiren de SNCAIP, MYCN, CDK6, KMT2C, ZMYM3 mutasyonları izlenmektedir(4, 29, 30). Tıpkı grup 3 tümörler gibi GAB1, YAP1, Filamin A ve β -katenin negatiftir.



Şekil 5: Medulloblastom moleküler subgrupların yaşa bağlı dağılımı(31) no'lu kaynaktan aynen alınmıştır.

2.4. İmmunohistokimyasal ve moleküler belirteçler

2.4.1. Tanısal belirteçler

Medulloblastomlar aslında nöronal farklılaşma gösteren tümörlerdir fakat nöron dışı protein ekspresyonu da gösterebilirler. Sinaptofizin, nöropil benzeri fibriler alanları boyaması yanısıra özellikle desmoplastik/nodüler medulloblastom ve ileri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastomda nodülleri belirginleştirmektedir. NeuN, NSE, NCAM, MAP2'de sinaptofizin gibi nörositik farklılaşmanın bir belirteci olarak kullanılmaktadır. GFAP pozitifliği özellikle klasik medulloblastomların %10'una yakın izlenmekle birlikte genellikle reaktif astrositlerde boyanmaktadır. Özellikle küçük hücreli astrositik tümörlerle ayırıcı tanının yapıldığı olgularda GFAP pozitifliği açısından dikkatli olunmalıdır. Küçük hücreli astrositik tümörlerde GFAP pozitifliği hem daha yaygın olmakta hem de OLİG2 ekspresyonu ile birlikte izlenmektedir (1, 9, 10).

Desmoplastik/nodüler medulloblastomlarda ve ileri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastomlarda nodül periferlerinde yüksek Ki-67 proliferasyonu ve retikülin boyamasında belirgin retikülogenez izlenirken nodül içlerinde hem retikülogenez izlenmez hem de Ki-67 proliferasyonu oldukça düşüktür. Özellikle bu iki tip genetik olarak yeni tanımlanan SHH yolağı aktive tümörler grubunda izlenmekte olup Tp53 mutasyonu açısından da incelenmelidir. Tp53 mutasyonu gösteren tümörler genellikle daha agresif gidiş veya Li-Fraumeni sendromu ile birliktelik göstermesi açısından belirtilmelidir(1).

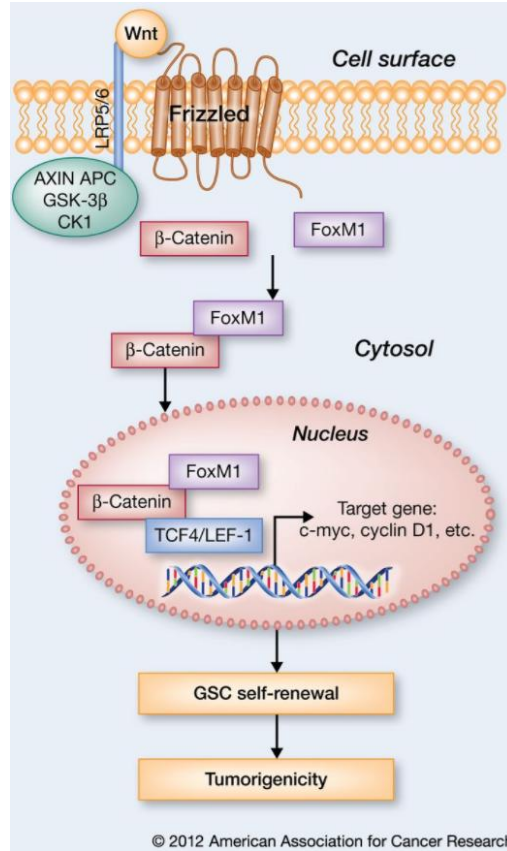
Son yıllarda genetik ve moleküler sınıflandırmanın hayatımıza girmesiyle popülerliği artan başka immünohistokimyasal yöntemler mevcuttur. Bunlardan ilki β -katenin olup bu belirtecin nükleer pozitifliği WNT yolağı aktif medulloblastomlar için karakteristiktir. Bu pozitifliğin %5 veya %10 tümör hücresinden daha fazlasında olması bu yolağı göstermede anlamlı bulunmuştur(21, 24). GAB1 boyaması ise SHH yolağını kullanan medulloblastomlarda izlenmektedir. YAP1 ve Filamin A pozitifliği WNT veya SHH yolağını kullanan medulloblastomları göstermektedir ki negatifliği bu yolaklar dışındaki grup 3 ve 4 tümörler için tipiktir(4, 14, 20, 22, 24, 32).

2.4.2. Moleküler alt tiplendirmede önerilen belirteçler

2.4.2.1. β -katenin (CTNNB1)

β -katenin; CTNNB1 geninde üretilen, kadherin-katenin kompleksleri aracılığıyla hücre adezyonunda görevli bir proteindir. Aynı zamanda WNT sinyal yolağında transkripsiyonel bir regülatuar protein olarak görev yapmaktadır. Normalde fosforile halde bulunan β -katenin eğer fosforile olamazsa, bu deregülasyon pek çok malignite oluşumunda önemli rol oynar. β -katenin sinyallerinin deregüle olması başta kolon kanseri olmak üzere medulloblastom, melanom, hepatoselüler karsinom, over ve endometrium kanserleri, pilomatriksoma ve prostat kanseri gibi pek çok kanserin oluşumundan sorumlu tutulmuştur. β -katenin sinyallerinin deregülasyonu β -katenin ile etkileşimde olan Axin, APC, GSK3-beta, T-cell faktör, C-myc, LEF (lenfoid enhancer factor), e-kadherin ve siklin D1 gibi moleküller aracılığı ile de tümör oluşumuna yol açabilir.

β -katenin hem nükleer hem de sitoplazmik eksprese edilebilir. Sitoplazmik β -katenin inaktiftir ve APC, GSK-3 β ve Aksin'i içeren multimerik protein kompleksi ile düzenlenmektedir (bknz: şekil 6). β -katenin bu inaktive fazda GSK-3 β tarafından fosforile hale gelerek ubikuitin-proteozom yolağına geçer. Bu degradasyon ve fosforilasyon başarılı olamazsa o durumda β -katenin hücre nükleusunda birikmeye ve T-hücre faktörü (TCF) ve LEF ("*lymphoid enhancer factor*") gibi transkripsiyon faktörlerine ko-aktivatör olarak davranmaya başlar ki bu süreç hücre siklus progresyonunu ve apoptozisi olumsuz etkiler. İşte bu nedenle nükleer β -katenin pozitifliği WNT sinyal yolağı aktivasyonunun bir belirteci olarak kullanılmaktadır(33-35).

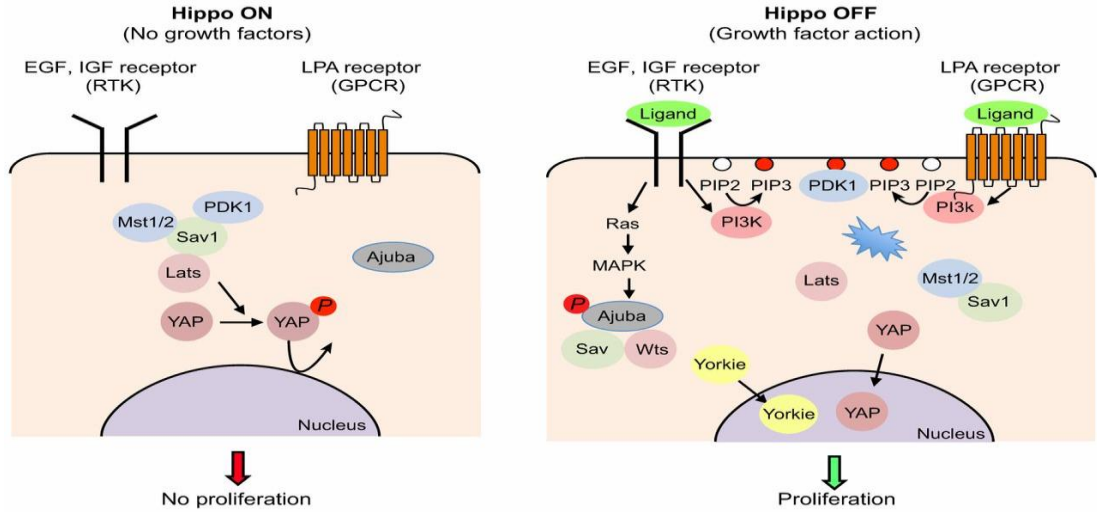


Şekil 6: WNT yolağı ve tümörigenezis (36) no'lu kaynaktan aynen alınmıştır.

2.4.2.2. YAP1 (*Yes associated protein 1*)

YAP1 geni tarafından üretilen 65 kDA ağırlığında bir proteindir. Bu gen gelişme, büyüme, onarım ve homeostazda görev alan Hippo sinyal yolağının düzenlenmesinde görevlidir. Bu genin, bu sinyal yolağının bir transkripsiyonel düzenleyicisi olarak birden fazla kanser gelişiminde ve ilerlemesinde rolü olduğu bilinmektedir ve kanser tedavisi için potansiyel bir hedef görevi görebilmektedir.

YAP1'in düzenlenmesi, medulloblastomların bir alt kümesinde, özellikle SHH ve WNT yolları tarafından düzenlenen medulloblastomlarda gösterilmiştir. YAP1 aynı zamanda medulloblastomların alt tipi için köken olarak gösterilen serebellar granül nöron prekürsörlerinde de düzenlenmektedir (37, 38).



Şekil 7: YAP1 ve Hippo yolağı; YAP1'in hücre nükleusunda bir grup molekül için transkripsiyon ko-aktivatörü olarak rol oynadığı görülmekte (39) no'lu kaynaktan aynen alınmıştır.

2.4.2.3. GAB1 (*GRB2 associated-binding protein 1*)

GAB1 geni tarafından üretilen bu protein dallanma tübülogenezinde önemli bir mediatördür ve hücresel büyüme, transformasyon ve apoptozda rol oynamaktadır. GAB1 ekspresyonu hücresel büyüme ve transformasyonu artırır. GAB1 aynı zamanda reseptör tirozin kinaz aktivasyonuna cevap olarak PI3 kinaz ve diğer efektör proteinleri işgal eder. GAB1 proteinin medulloblastomların bir kısmında eksprese edildiği bilinmektedir. Bu grup tümörler SHH grubu olarak ele alınmaktadır(40).

2.4.2.4. Filamin A

Filamin A, FLNA geni tarafından kodlanan 280 kDA ağırlığında bir proteindir. Hücre iskeletinin yenilenmesi, hücre şekli ve göçün modülasyonunda merkezi bir noktadır. Filamin A'nın upregülasyonu veya aşırı ekspresyonu, medulloblastomların da içinde bulunduğu çeşitli kanser tiplerinde gözlemlenmiştir. (32, 41) Günlük pratik kullanımda YAP1 ile kombine kullanılması WNT veya SHH aktive bir alt tipi işaret etmektedir (24).

2.4.2.5. Tp53

Tp53 geni bir tümör baskılayıcı gendir, yani aktivitesi tümör oluşumunu durdurur. Bir kişi Tp53 geninin yalnızca bir işlevsel kopyasını ebeveynden devralırsa, kansere yatkın olur ve genellikle yetişkinlik döneminde çeşitli dokularda birkaç bağımsız tümör gelişir. Bu durum nadirdir ve Li-Fraumeni sendromu olarak bilinir. Tp53'teki mutasyonların p53 proteinin kompleks moleküler olaylar silsilesine katkıda bulunarak tümör oluşumuna neden olmasıdır. Hücrede, p53 proteini DNA'yı bağlar ve bu da, bir hücre bölünmesini uyaran protein (cdk2) ile etkileşime giren p21 adlı bir protein üretmek üzere başka bir geni uyarır. P21, cdk2 ile kompleks hale getirildiğinde hücre bir sonraki hücre bölünmesine geçemez. Mutant p53 artık DNA'yı etkili bir şekilde bağlayamaz ve sonuç olarak p21 proteini, hücre bölünmesi için 'durdurma sinyali' olarak görev yapamaz. Böylece hücreler kontrolsüz olarak bölünür ve tümörler oluştururlar. İmmünohistokimyasal olarak ekspresyonu, Tp53 mutasyonunu iki farklı biçimde gösterebilir. Daha sık görülen patern, hücrelerin %60'ından fazlasında diffüz kuvvetli nükleer boyanma şeklindedir. Bu patern *missense* mutasyonu gösterir. *Nonsense* mutasyonu gösteren, tamamen boyanma yokluğu şeklinde izlenen diğer paternde p53 proteini tam oluşamaz. İmmunohistokimyasal olarak p53 antikoru ile %60'dan fazla hücrede nükleer pozitiflik gösteren olgular sekans analizlerinde %95'lere varan oranda Tp53 mutasyonu ile koreledir(42).

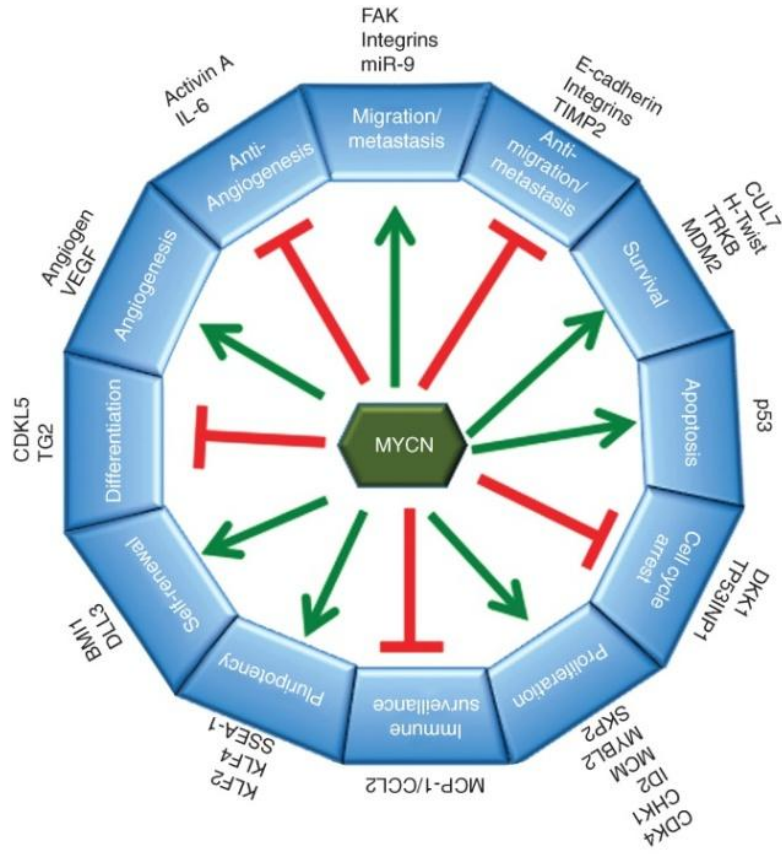
Sporadik medulloblastomların yaklaşık %10'unda Tp53 tümör baskılayıcı gende mutasyon görüldüğü rapor edilmiştir (4, 43). Tp53 mutasyonu WNT aktif tümörlerin aksine özellikle SHH aktif medulloblastomlar için kötü prognoza işaret etmektedir (20, 22, 28).

2.4.3. Moleküler alt tiplendirmede önerilen diğer çalışmalar

2.4.3.1. N-myc

N-myc proteinini kodlayan MYCN geni, gelişmekte olan beyinde yüksek ekspresyona sahip ve normal erişkin dokularda ise önemsiz ekspresyona sahip bir proto-onkogendir. Gen amplifikasyonu nöroblastom olgularının %25'inde izlenmekte olup aynı zamanda medulloblastomların %5'inde, glioblastomların %5'inde, alveoler rabdomiyosarkomların %25'inde, küçük hücreli akciğer kanserlerinin %15-20'sinde, nöroendokrin prostat kanserlerinin %40'ında ve prostat adenokarsinomlarının %5'inde izlenebilmektedir. N-myc amplifikasyonları agresif hastalık ve/veya kötü prognoz ile ilişkilidir. Varlığını saptamak hastaları agresif tedavi için kategorize etmek adına yararlı olabilir. Bu anlamda çok sayıda tedavi modalitesi geliştirilme aşamasındadır(44).

N-myc; metastaz, hayatta kalma, proliferasyon, rejenerasyon ve anjiogenez ile ilgili genlerin transkripsiyonunu aktive edebildiği gibi, farklılaşma, hücre siklus arresti yanısıra metastaz ve anjiogenezi antagonize eden genlerin ekspresyonunu baskılayabilir.



Şekil 8: N-myc pek çok malignite oluşumunda ve hücre siklus devamlılığında rolü olan bir proto-onkogen.(44) no'lu kaynaktan aynen alınmıştır.

N-myc insan nöroblastomunda ilk kez tanımlandığında V-myc ile homolog fakat C-myc ile farklı bir amplifiye gen olarak tanımlanmıştır. Yapısal olarak her ikisini de kodlayan gen bölgeleri benzer olsa da vücutta aktif olarak buldukları aşama ve yerleşim yerinde farklılıklar anlaşılmıştır. Biyolojik olarak C-myc, N-myc gibi sıçan embriyo fibroblastlarında transformasyonu teşvik etmekte ve hücre döngüsünün ilerlemesini indüklemektedir. C-myc veya N-myc fare embriyonik kök hücrelerinden farklı zamanlarda çıkarıldıklarında, farelerin yine de normal morfoloji göstermeleri C-myc ve N-myc'nin muhtemelen birbirlerini telafi ettiğini desteklemiştir(44).

N-myc ekspresyonu doku spesifiktir ve embriyonun erken gelişim evreleri sırasında bulunurken, C-myc ekspresyonu daha geneldir. N-myc ve C-myc için farklılık gösteren başka bir yapı ise serebellumdur. Sinir kökü ve progenitör

hücrelerde N-myc'nin kasıtlı olarak silinmesi serebellar granül sinir öncüllerinin çoğalmasını belirgin şekilde azaltmıştır. Bununla birlikte, bu etki C-myc'nin silinmesiyle görülmemiştir. Bu farklılık SHH aktive gruptaki medulloblastomlarda N-myc amplifikasyonunu açıklamaktadır(44, 45).

N-myc amplifikasyonu SHH grubu medulloblastomlar yanısıra grup 4 medulloblastomlarda izlenmektedir(4).



Şekil 9: N-myc sıklıkla nöral dokularda eksprese edilirken C-myc'nin diğer dokularda da eksprese olduğu görülmekte. N-myc yetişkin dönemde neredeyse hiç eksprese edilmezken, C-myc özellikle timus, dalak ve B hücrelerinde eksprese edilmeye devam etmekte(44). no'lu kaynaktan aynen alınmıştır.

2.4.3.2. C-myc

Bu gen tarafından kodlanan protein, hücre döngüsü ilerlemesinde, apoptozda ve hücrel transformasyonda rol oynayan çok işlevli, nükleer bir fosfoproteindir. Belirli hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. Bu genin mutasyonları, aşırı ekspresyonu, yeniden düzenlenmesi veya translokasyonu; Burkitt lenfoma da dahil olmak üzere çeşitli hematopoetik tümörler ile ilişkilendirilmiştir(44).

C-myc amplifikasyonları medulloblastomların %5-15'inde izlenmekte olup grup 3 tümörlerde %20'lere varan oranda saptanabilmektedir. Bunun dışında daha az oranda WNT aktif, SHH ve grup 4 medulloblastomlarda izlenebildiği bildirilmiştir (1, 22, 46).

2.5. Medulloblastomlarda prognostik ve prediktif faktörler

Medulloblastomların histopatolojik sınıflandırması her ne kadar prognozu bir miktar yansıtırsa da genetik ve moleküler sınıflandırmanın prognoza etkisi giderek artmaktadır. Spinal yayılım yanı sıra medulloblastomların %7'sinde kemik, lenf nodu, karaciğer ve akciğer gibi organlara yayılım izlenmektedir. Histopatolojik tip göz önüne alındığında özellikle desmoplastik/nodüler medulloblastom ve ileri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastomların prognozunun diğer tiplere oranla daha iyi olduğu görülmektedir(19). KT ve ameliyatla birlikte özellikle yenidoğanlarda 8 yıllık izlemde progresyonsuz sağ kalımın bu alt tiplerde %95'lere vardığı dikkati çekmektedir. Ancak bu tiplerin moleküler olarak ilişkili bulunduğu SHH yolağı içinde değerlendirildiğinde Tp53 mutasyonu gösteren olgular kötü gidiş göstermektedir. Büyük hücreli/anaplastik medulloblastomlar ise sık metastaz ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. 5 yıllık sağ kalım %30'lara kadar düşmektedir. Histopatolojik tipten bağımsız olarak tanı anında metastaz bulunmasını en kötü prognostik faktör olarak gösteren yayınlar mevcuttur(29, 45, 47, 48).

Hastanın izlemi sırasında prognozu öngörmek için kullanılan sistemlerin başında Pediatrik Onkoloji Grubunun yaptığı risk grup klasifikasyonu gelmektedir (49). Bu klasifikasyona göre hastalar standart ya da yüksek risk grubuna dahil edilerek RT ve KT planlaması yapılmaktadır.

	Standart risk	Yüksek risk
Yaş	>3	≤3
Metastaz (M)	Yok (M0)	Var (M+)
Postoperatif kalıntı	<1,5 cm ³	≥1,5 cm ³

Tablo 1: Pediatrik Onkoloji Grubunun Yaptığı medulloblastom risk grup klasifikasyonu

Daha önceleri tümör boyutu çok önemli bir kriterken artık prognoza etkisinin olmadığı anlaşılmış ve; yaş, tanı anında metastaz durumu ve genetik özellikler daha da önemli bir hal almıştır. Bu sınıflamaya göre standart risk grubuna dahil edilen hastalar; 3 yaşından büyük olan, metastazı bulunmayan ve postoperatif tümör yükü

1,5 cm³ den düşük olan hastalardır. Çünkü 3 yaşından küçük olan hastalarda hem tümör biyolojisi daha agresiftir, hem de total rezeksiyon şansı daha azdır. Bu hastalarda halen beyin gelişimi devam ettiği için radyoterapi verilememesi de bu durumun nedenlerinden biridir. 3 yaşından küçük olan, metastazı bulunan ve postoperatif tümör yükü 1,5 cm³ den fazla olan hastalar ise yüksek risk grubuna dahil edilir ve bu grupta yer alan hastalar için daha yakın klinik izlem ve daha agresif tedavi düşünülmelidir.(50, 51) DSÖ 2016 da belirtilen moleküler alt gruplar ele alındığında ise WNT grubu ve yenidoğanlardaki SHH aktif tümörler daha iyi prognoza sahipken, grup 3 ve MYC-N amplifikasyonuna sahip hastalar daha kötü prognoz sergilemektedir. Grup 4 ve yenidoğanlar dışında izlenen SHH grubu tümörler orta gidişata sahiptirler(45).

2.6. Tedavi protokolleri

Tedavide multimodal yaklaşım önerilmektedir. Cerrahi sonrasında radyoterapi ve kemoterapinin birlikte kullanımı tedavinin temelidir. Son yıllarda hedeflenmiş radyoterapi ve kemoterapi ilaç seçeneklerinin artması daha yüz güldürücü sonuçlar doğurmaktadır. Çocuk hastalarda tedavi erişkinlere göre daha zor olmaktadır. Bunun esas nedenlerinden bazıları; çocuklarda genellikle orta hat yerleşimi nedeniyle sınırlı cerrahi girişim, cerrahi morbidite ve mortalitenin yüksek olması, radyoterapi toleransının daha düşük olması ve 3 yaşından önce beyin gelişimini olumsuz etkilememek adına radyoterapi verilmemesidir.

Tedavi modalitelerinin belirlenmesinde 1969'dan beri kullanılan Chang evreleme sistemi esas olarak tümör boyutuna göre yapılmaktaydı. Daha sonraki yıllarda kullanılan Laurent ve arkadaşlarının evreleme sistemi ise radyoloji ve operasyon bulgularını kriter olarak almaktaydı. Ancak son yıllarda tercih edilen pediatrik onkoloji grubunun yaptığı risk klasifikasyonu yaş, operasyon sonrası tümör boyutu ve metastaz durumunu önemsemekte olup daha güncel ve sağlıklı bir yaklaşım sağlamaktadır(49, 52).

Hastalar öncelikle standart ya da yüksek riskli kategorisine konur. RT ve KT bu grup özelliklerine göre belirlenir. Daha önceleri tümör boyutu çok önemli bir kriterken artık prognoza etkisinin olmadığı anlaşılmış ve; yaş, metastaz durumu ve genetik özellikler önem kazanmıştır.(50, 51, 53)

3 yaştan küçük hastalarda hem total eksizyon şansı azalır hem de beyin gelişimini etkilememek amacıyla RT verilmez. Bu nedenle bunlarda metastaz olasılığı daha yüksektir. Tümör biyolojisi de daha agresiftir. Operasyon sonrası kalıntı yükü ise metastaz olmayan hastalarda bile kötü prognozla ilişkilendirilmiştir.

Cerrahi tedavide önemli olan güvenli marjinle maksimum tümör eksizyonudur. Bu hem tanı doğrulaması, hem kafa içi basıncın azaltılması hem de tümör yükünü azaltıp lokal kontrol sağlanması için önemlidir. Nörolojik komplikasyonların kontrolünü sağlamakta zorluk olabilecek durumlarda total eksizyondan kaçınılmalıdır. Çünkü son dönemlerde yapılan çalışmalarda geride kalan tümör boyutu yanı sıra histolojik ve moleküler alt tiplerin de prognoz ile daha yakın ilişki gösterdiği görülmüştür. (19)

Cerrahi öncesinde hidrosefalinin ağır olduğu olgularda deksametazon tedavisi ve ventriküloperitoneal şant uygulanması önerilir.

Radyoterapi ise 3 yaştan büyük hastalarda standart tedavi modalitesinin içinde yer almaktadır. Medulloblastom nispeten radyosensitif tümörler olarak kabul edilmektedir. Günümüzde YART (yoğunluk ayarlı RT) sayesinde direk tümöre radyasyon verilirken diğer normal dokular daha az etkilenir. Ancak yine de radyoterapinin nörokognitif bozukluk, nöroendokrin bozukluk ve sekonder malignite gelişim riski ile ilişkili komplikasyonları da bildirilmiştir.

Kemoterapi seçenekleri arasında en çok tercih edilen ilaçlar ise özellikle çocuk ve infantlarda etkinliği gösterilmiş karboplatin ve vinkristin yanı sıra lomustin (CCNU), sisplatin ve etopozid gibi ilaçlardır. Rekürrens hastalarda tirozin kinaz inhibitörleri bir başka seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Son dönemlerde gündeme gelen SHH grubu hastalara verilen SMO antagonisti vismodegib ve benzimidazol gibi ilaçlar

da kullanıma girmiştir. Yine rekürrens ile Cerb-B2 pozitifliği arasında ilişki gösterilmiş olup bu hastalarda transtuzumab kullanımı da önerilmektedir(50, 51, 53).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların seçimi

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan çalışma izni alındıktan sonra (karar no: GO 16/160) Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2016-11393 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

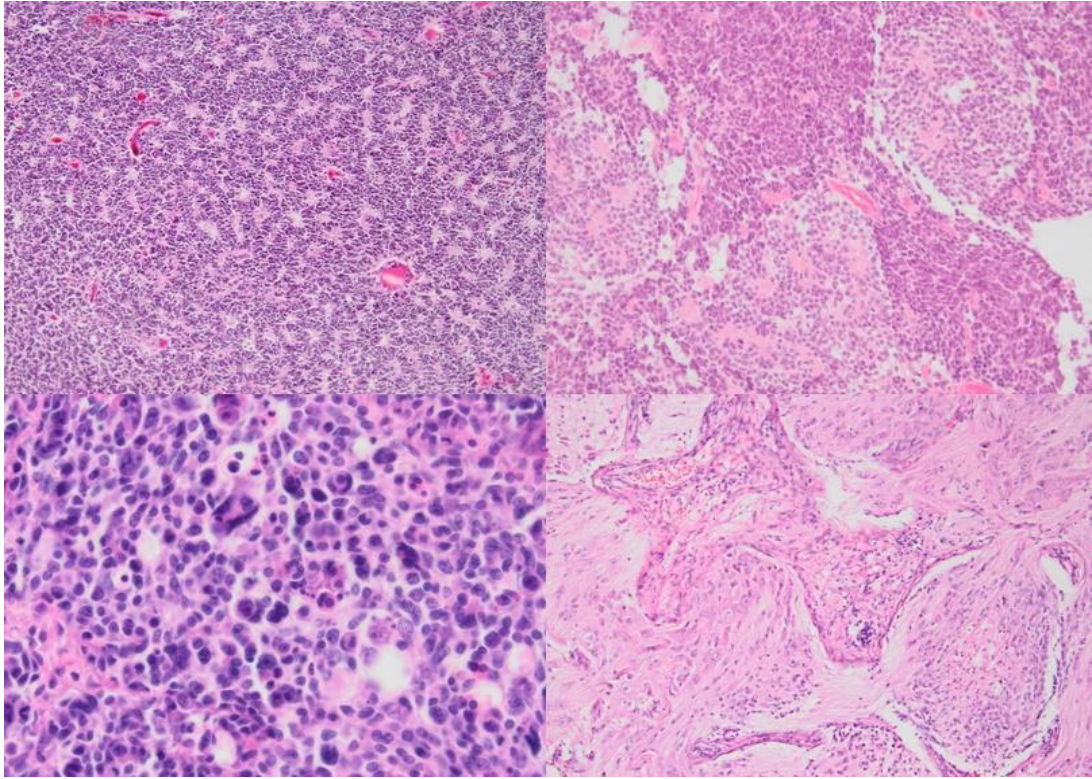
1981 ve 2015 yılları arasında bölümümüzde medulloblastom tanısı almış, parafin bloklarına ulaşılabilen ve parafin bloklarında yeterli doku bulunan 218 vaka değerlendirmeye alınmıştır. Değerlendirme biri nöropatoloji alanında deneyimli, proje yürütücüsü olmak üzere 2 patolog tarafından yapılmıştır. Hastalara ait klinik bilgilere Hacettepe Üniversitesi bilgisayar ağı veri giriş sistemi kullanılarak ulaşılmış, ancak 2000 yılı öncesindeki olguların büyük bir kısmı için hasta dosya arşivleri kullanılmıştır.

Hastaların yaş, cinsiyet, biyopsi ve dosya numaraları, operasyon tarihleri, rekürrens ve ölüm durumları, varsa rekürrens ve ölüm tarihleri yanısıra raporda yer alan tümör histopatolojik tipleri kaydedilmiştir. Ayrıca yapılan operasyonun total veya subtotal olması durumu, tanı anında yayılım ve risk klasifikasyonu verileri klinik dosyalardan elde edilmeye çalışılmıştır.

3.2. Histopatolojik Kriterlerin Tanımlanması

Çalışmaya elverişli olduğu düşünülen ve parafin bloklarında yeterli miktarda doku bulunan olgular histopatolojik olarak tekrar değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda retikülinden yoksun nodüller ve nodüllerin çevresinde yoğun retikülin lifleriyle karakterize olgular desmoplastik/nodüler medulloblastom, aşırı nodülerite ve nodüllerin içlerinde uniform, morfolojisi nörositleri andıran, ince fibriler bir zeminde yayılım gösteren hücrelerden oluşan olgular ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom, tipik Homer Wright rozetleri sergileyen, küçük yuvarlak hücreli malign tümör morfolojisine sahip olgular klasik tip medulloblastom, fokal ya

da yaygın olarak geniş sitoplazmalı veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü, yaygın “cell wrapping” sergileyen, pleomorfizm gösteren atipik hücrelerden oluşan olgular ise anaplastik/büyük hücreli medulloblastom olarak isimlendirilmiştir.



Resim 5: Medulloblastom-histopatolojik sınıflandırma; klasik tip medulloblastom (sol üst), desmoplastik/nodüler tip medulloblastom (sağ üst), anaplastik/büyük hücreli medulloblastom (sol alt), ileri derecede nodüler farklılaşma gösteren medulloblastom (sağ alt)

3.3. İmmunohistokimyasal Çalışma ve Değerlendirme

Kesitlerin morfolojik incelemeleri sırasında H&E boyalı preparatlardan doku mikrodizini oluştururken kullanılacak alanlar işaretlenmiştir. İşaretli olan alanlardan 4 mm’lik deri punch biyopsi setleri kullanılarak parafin bloklara biyopsi numaraları sıralanarak dizilmiş ve manuel olarak TMA (*tissue micro array*) (doku dizin) blokları hazırlanmıştır. Hazırlanan bu bloklardan elde edilen kesitler (+) yüklü lamlara

alınarak GAB1, YAP1, Filamin A, β -katenin ve p53 immünohistokimyasal boyamaları için kullanılmıştır.

Seçilen insan primer tümör olgularının parafin bloklarından boyasız kesitler hazırlandıktan sonra 60°C'de deparafinize edilmiştir. Daha sonra ksilen ve dereceli alkol solüsyonlarından geçirilen kesitlere rehidrasyon yapılmıştır. Endojen peroksidaz özelliği %3'lük H₂O₂ solüsyonu ile ortadan kaldırıldıktan sonra sitrat ile antijen retrieval işlemi yapılmıştır. Daha sonra kullandığımız antikor ile streptavidin biotin peroksidaz metodu kullanılarak (DAKO Kit) primer antikor 1 saat süre ile oda sıcaklığında uygulanmıştır. Sekonder antikor ile reaksiyonun tamamlanması sonrasında ise işaretleme reaksiyonunun gerçekleşmesi için son aşamada DAB (3,3'-Diaminobenzidine) kullanılarak ışık mikroskopunda reaksiyon süresi değerlendirilerek işlem tamamlanmıştır. Zıt boyama için Hematoksilen kullanıldıktan sonra slaytlar ılık musluk suyunda yarım saat yıkanmıştır. Dehidrasyon için dereceli alkolden geçirilen slaytlar, ksilen solüsyonunda bekletildikten sonra balsam ile kapatılarak mikroskopik olarak değerlendirilmiştir.



Resim 6: 4 mm'lik deri punch biyopsi setleri ile manuel olarak yapılmış doku mikrodizin parafin blokları

İmmünohistokimyasal çalışmalar için tablo 2’de belirtilen dilüsyonlar ve belirtilen klonlar; Tp53 ve β -katenin için kolon adenokarsinomu, filamin A için normal kolon mukozası, GAB1 ve YAP1 için ise meme duktal karsinomu ve tonsilden oluşan kontrol bloğu kullanılarak uygulanmıştır.

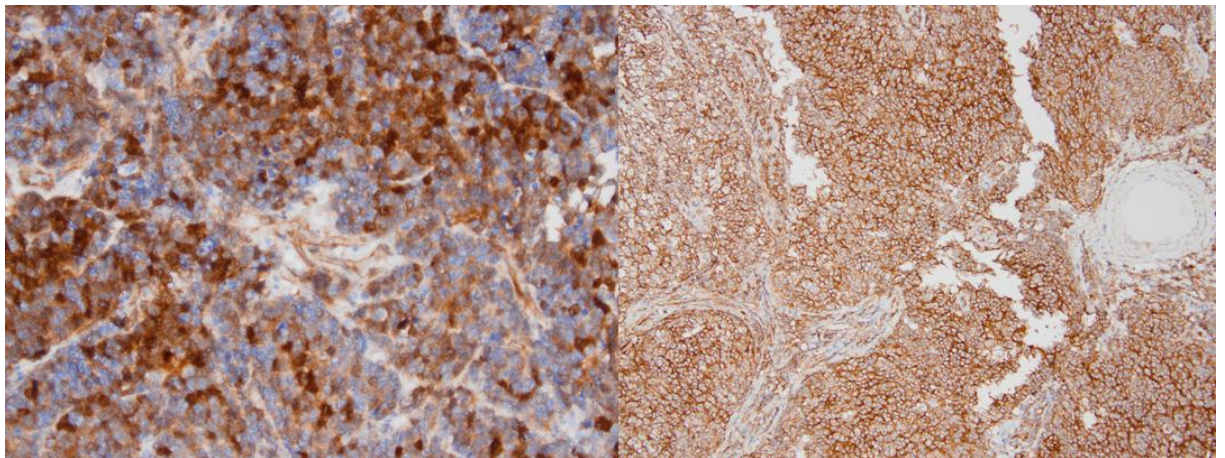
ANTİKOR	DİLÜSYON	MARKA	KLON
β -katenin /CTNNB1	1/400 EDTA	Biocare	14
GAB1	1/400 EDTA	Gene Tex	GTX111253
YAP1	1/400 EDTA	Gene Tex	GTX129151
Filamin A	1/400 EDTA	Gene Tex	GTX61826
p53	1/200 EDTA	Biocare	DO-7

Tablo 2: İmmünohistokimya antikorlarının marka, dilüsyon ve klonları

3.3.1. β -katenin

Bu çalışmada β -kateninin pozitifliğinin %5’ten fazla hücrede olması nükleer pozitiflik olarak değerlendirilmiş ve bu olgular 2+ olarak; <%5 hücrede nükleer pozitiflik veya sitoplazmik pozitiflik bulunması 1+ boyanma; hiç boyanma olmaması ise 0 olarak değerlendirilmiştir.

β -katenin ile 2+ olan vakalar WNT yolağı aktif tümörler kategorisine alınmıştır.

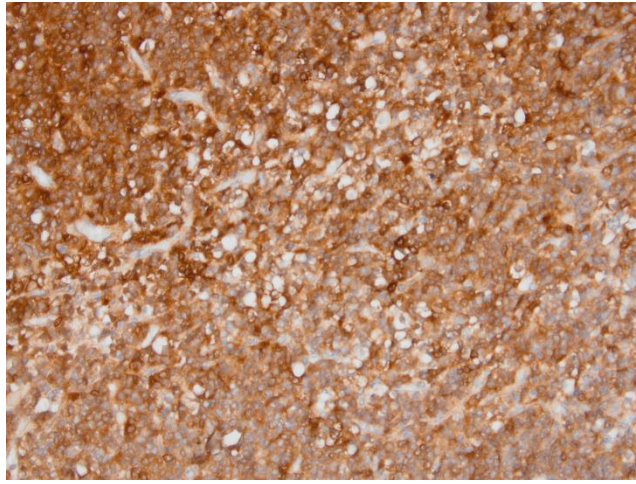


Resim 7: %5’ten fazla nükleer β -katenin pozitifliği (sol) ve membranöz β -katenin pozitifliği

3.3.2. YAP1

Bu çalışmada YAP1'in %50 ve daha fazla hücrede sitoplazmik ve/veya nükleer boyanması 2+; %50'den az hücrede boyanma olması 1+; hiç boyanma olmaması ise 0 olarak değerlendirilmiştir.

YAP1 immünohistokimyasal boyama sonuçları Filamin A ile kombine edilerek değerlendirilmiş olup pozitif olgular WNT veya SHH grubu tümörler kategorisine alınmıştır.

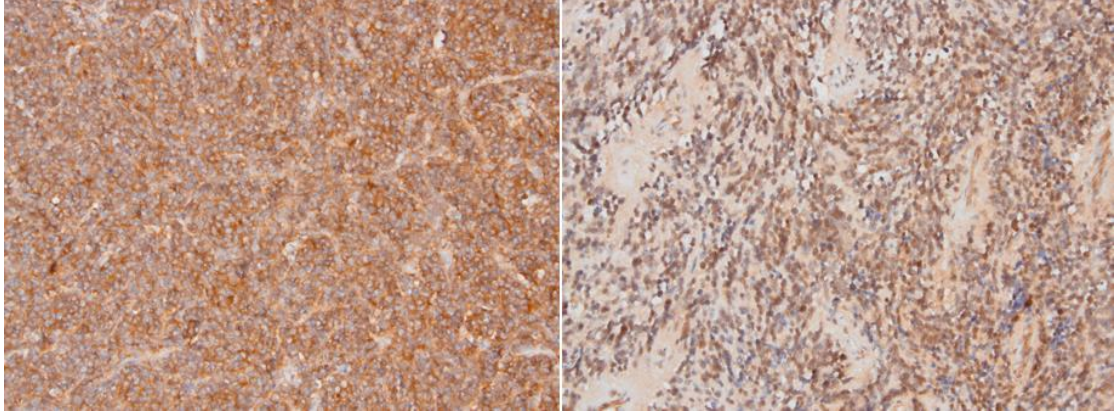


Resim 8: Sitoplazmik YAP1 boyanması

3.3.3. GAB1

Bu çalışmada GAB1'in %50 ve daha fazla hücrede sitoplazmik boyanması 2+; %50'den az hücrede sitoplazmik boyanma olması veya tümör hücrelerinde nükleer boyanma olması 1+; hiç boyanma olmaması ise 0 olarak değerlendirilmiştir.

GAB1 immünohistokimyası ile 2+ boyanma gösteren vakalar SHH grubu olarak kategorize edilmiştir.

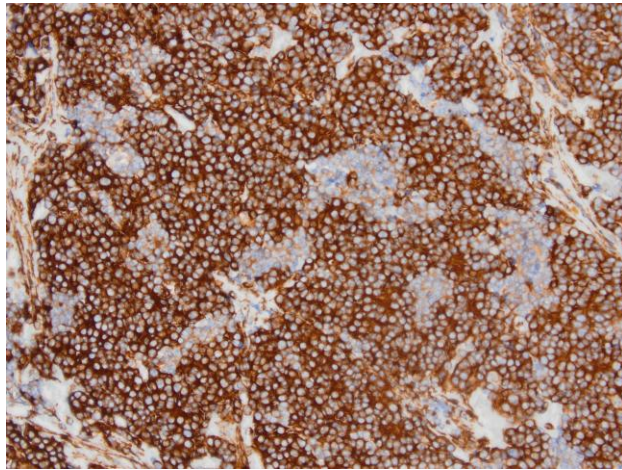


Resim 9: Sitoplazmik GAB1 boyanması (2+ olarak kabul edilmiştir), nükleer GAB1 boyanması (1+ olarak kabul edilmiştir)

3.3.4. Filamin A

Bu çalışmada Filamin A'nın %50 ve daha fazla hücrede sitoplazmik boyanması 2+; %50'den az hücrede sitoplazmik boyanma olması veya tümör hücrelerinde nükleer boyanma olması 1+; hiç boyanma olmaması ise 0 olarak değerlendirilmiştir.

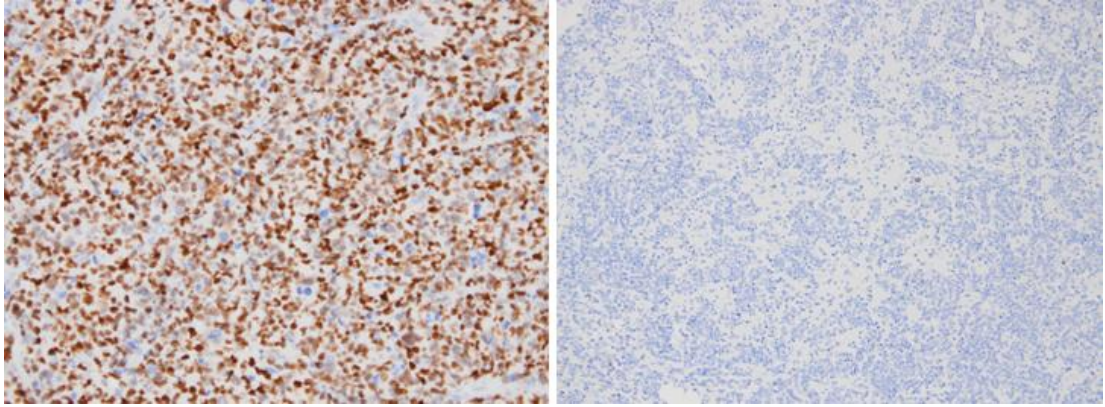
Filamin A immünohistokimyasal boyama sonuçları YAP1 ile kombine edilerek değerlendirilmiş olup pozitif olgular WNT veya SHH grubu tümörler kategorisine alınmıştır.



Resim 10: Sitoplazmik Filamin A boyanması

3.3.5. p53

Bu çalışmada p53 immün boyaması literatürde (54) belirtildiği gibi hücrelerin %50'sinden fazlasında kuvvetli boyanma olması ya da tümüyle negatif olması durumunda mutant olarak değerlendirilmiş olup hücrelerde %1-50 arası boyanmalar fokal patern olarak kabul edilip mutant olmayan (*wild-tip*) kategorisinde değerlendirilmiştir.



Resim 11: p53 mutant (sol) ve p53 *wild* tip (sağ) medulloblastom olguları

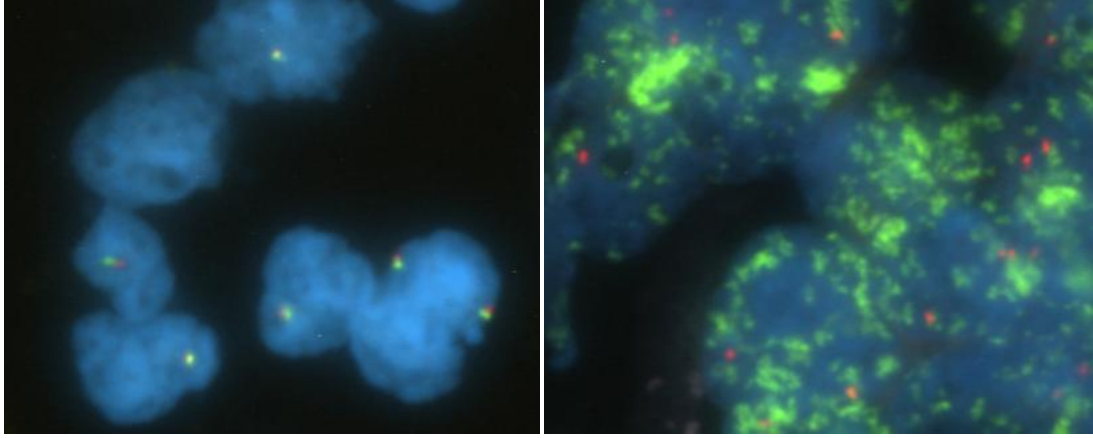
3.4. Moleküler Çalışmalar

Yapılacak olan N-myc ve C-myc FISH çalışmaları için maliyeti ve dolayısıyla blok sayısını azaltmak amacıyla immünohistokimyasal çalışmalar için kullanılan manuel olarak yapılmış TMA blokları yerine, tümör işaretli alanlardan 1 mm çaplı tümöral dokular yeniden alınarak, doku mikrodizin cihazı "*Advanced Tissue Arrayer*" (ATA100 CTR scientific) aracılığıyla parafin bloklar tekrar oluşturulmuştur. Hazırlanan bu yeni parafin bloklardan elde edilen kesitler ise FISH çalışmasında kullanılmıştır.

3.4.1. N-myc

FISH çalışmasında; 4 adet kontrol vakası içeren 1 mm'lik tümör örneklerine sahip doku mikro dizin bloklarından (+) yüklü lamlara alınan 4 mikron kalınlığındaki kesitlere *ZytoLight SPEC MYCN/2q11 Dual Color Probe* kullanılarak ışık mikroskopunda 100x'lik incelemede amplifikasyon durumlarına bakıldı. Hücre

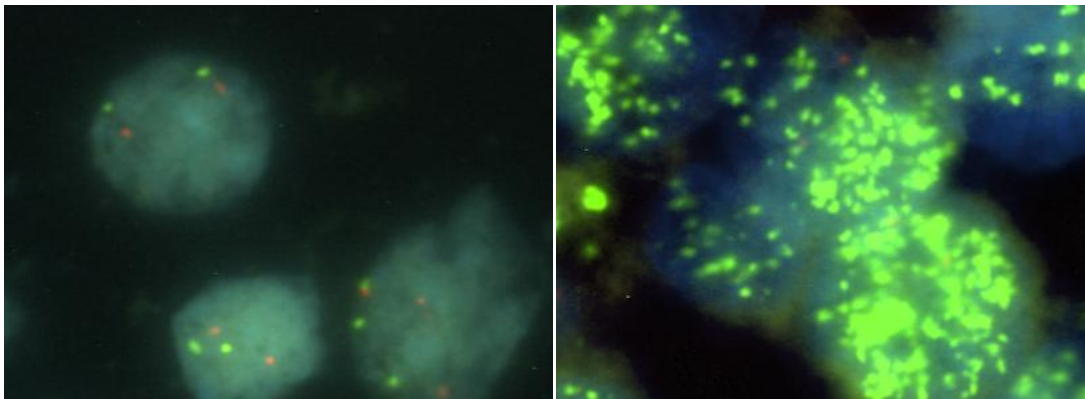
başına düşen iki kırmızı ve iki yeşil sinyal normal olarak; 10'dan fazla sinyal içeren veya sayısız sıkı kümelere sahip hücreler tümör hücrelerinin %10'undan fazla ise N-myc amplifikasyonu olarak değerlendirilmiştir.



Resim 12: N-myc normal (sol), N-myc amplifiye (sağ) örnekler

3.4.2. C-myc

FISH çalışmasında; 4 adet kontrol vakası içeren 1 mm'lik tümör örneklerine sahip doku mikro dizin bloklarından (+) yüklü lamlara alınan 4 mikron kalınlığındaki kesitlere *ZytoLight SPEC MYC Dual Color Break Apart Probe*'ları kullanılarak ışık mikroskopunda 100x'lik incelemede amplifikasyon durumlarına bakıldı. Hücre başına düşen iki kırmızı ve iki yeşil sinyal normal olarak; 10'dan fazla sinyal içeren veya sayısız sıkı kümelere sahip hücreler tümör hücrelerinin %10'undan fazla ise C-myc amplifikasyonu olarak değerlendirilmiştir.



Resim 13: C-myc normal (sol), C-myc amplifiye (sağ) örnekler

3.5. İstatistiksel Analiz

218 olguya ait klinik veriler (yaş, cinsiyet, operasyon tarihi, histopatolojik tip, varsa rekürrens ve ölüm tarihleri, cerrahilerinin total veya subtotal yapılma durumu, risk klasifikasyon grupları) belirlenmiş, tarihler ay olarak hesaplanmıştır. Tüm veriler Hacettepe Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda "IBM-SPSS statistics 23" medikal istatistik paket programına aktarılmıştır. Tanımlayıcı istatistiklerden, kategorik değişkenler için sayı ve yüzde değerleri ile sayısal değişkenler için ortanca, ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri kullanıldı. Nitel değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Fisher kesin test ve Fisher-Freeman-Halton testi kullanılmıştır. Sağ kalım sürelerinin hesaplanmasında Kaplan Meier analizi kullanılarak sağ kalım eğrileri çizilmiş, log-rank testi ile sağ kalımlar ve çeşitli diğer değişkenler arasındaki ilişkiler tek değişkenli olarak incelenmiştir. Çok değişkenli sağ kalım analizi için geriye doğru değişken eleme tekniği kullanılarak Cox orantısız hazard regresyon analizi kullanılmıştır.

Bütün kullanılan istatistiksel testler için, yanılma düzeyi (α) 0,05 olarak seçilmiş ve 0,05'den küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

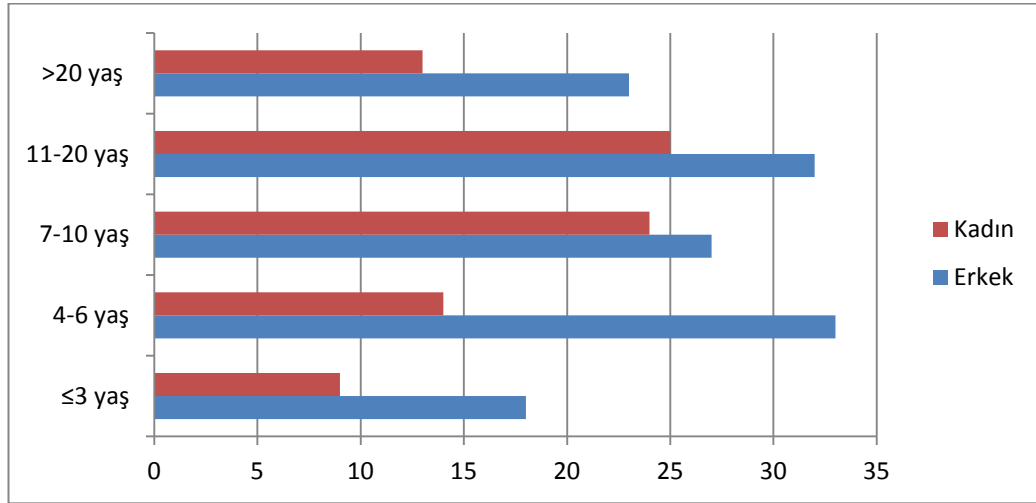
EFS ("*event-free survival*") - progresyonsuz sağkalım) tanıdan progresyon veya rekürrense kadar geçen süre, OS ("*overall survival*") - genel sağkalım) ise tanıdan ölüme kadar geçen süreyi ifade etmektedir.

4. BULGULAR

Parafin bloklarında yeterli doku bulunan, eksizyon materyalleri incelenen 218 hasta histomorfolojik, immünohistokimyasal ve moleküler özelliklerine göre gruplandırıldı.

4.1 Genel bulgular

Olguların 133'ü erkek (%61); 85'i kadındır (%39). İlk tanı anında olguların ortalama yaşı $11,6 \pm 9,2$ 'dir. En genç hasta 6 aylık, en yaşlı hasta ise 51 yaşındadır. Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10: Cinsiyet-yaş dağılımı

İzlemlerine ulaşılabilen hastalar ölen hastalar dahil edilmediğinde minimum 43, maksimum 206 ay takip edilmiştir. Hastaların ortalama takip süreleri 69 aydır.

73 hasta (%33,5) takip süreleri içinde eksitus olmuştur. 49 hasta (%22,5) sağ olarak izlenmektedir. 96 hastaya (%44) ait eksitus durumuna ulaşılamamıştır.

218 hastanın 58'inde (%26,6) hastalığa bağlı nüks izlenmektedir. 55 hastada (%25,2) nüks izlenmemiştir. 105 hastanın ise (%48,2) nüks bilgilerine ulaşılamamıştır.

Tanı anında metastaz (ya da spinal yayılım) olan hasta sayısı 23'tür (%10,6). 42 hastada (%19,3) tanı anında metastaz izlenmemiştir. 153 hastanın ise (%70,2) tanı anında metastazı olup olmadığı bilinmemektedir.

218 hastanın 84'ünde (%38,5) tümör cerrahi ile total olarak çıkarılabilmmiştir. 32 hastada (%14,7) subtotal cerrahi yapılmıştır. 102 hastada ise (%46,8) cerrahinin subtotal mi total mi yapılmış olduğu bilgisine ulaşamamıştır.

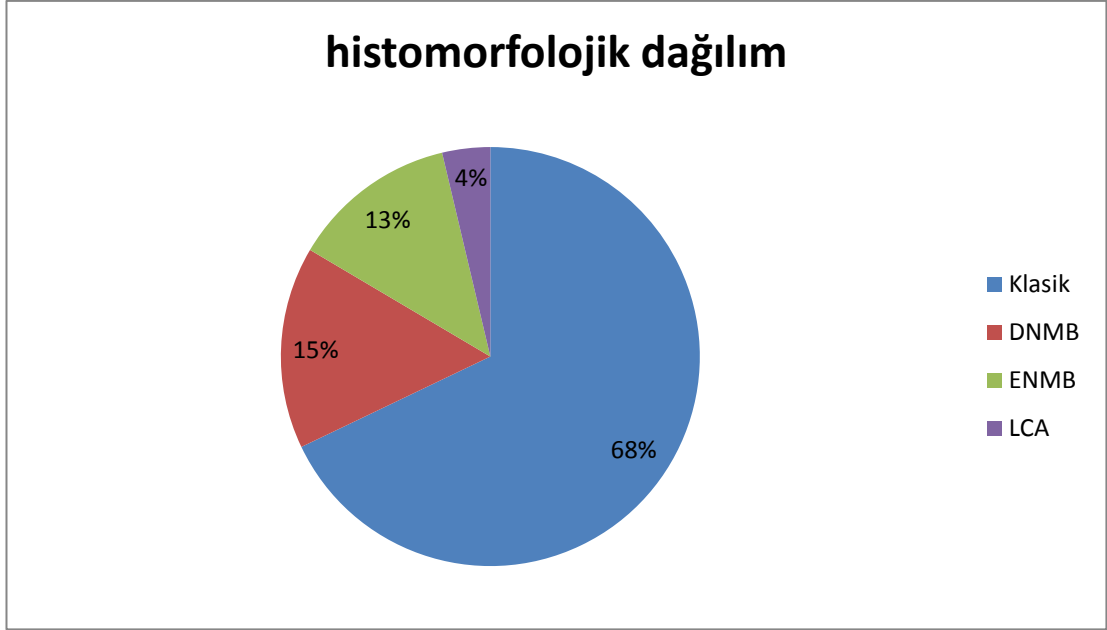
Pediyatrik onkolojik risk klasifikasyonu baz alındığında, hastaların 3 yaşın altında olması, tanı anında metastaz bulunması ve subtotal cerrahi işlem yapılmış olmasına göre bu hastalar yüksek risk kategorisinde ele alınırken, tam tersi durumda ise standart risk kategorisinde değerlendirilmektedir. Bu risk klasifikasyonu olgularımıza uygulandığında 144 hasta (%66,1) standart risk; 74 hasta (%33,9) yüksek risk kategorisinde yer almıştır. Bu oran literatür ile uyumludur (49).

Cinsiyet	N(%)
Kadın	85 (%39)
Erkek	133 (%61)
Tanı yaşı	Yıl
Minimum-maksimum	0,5-50,5
Ortalama	11,6
Eksitus durumu	N(%)
Sağ	49 (%22,5)
Eksitus	73 (%33,5)
Bilinmiyor	96 (%44)
Nüks durumu	N(%)
Nüks var	58 (%26,6)
Nüks yok	55 (%25,2)
Nüks bilinmiyor	105 (%48,2)
Cerrahi durumu	N(%)
Total cerrahi	84 (%38,5)
Subtotal cerrahi	32 (%14,7)
Bilinmiyor	102 (%46,8)
Tanı anında metastaz durumu	N(%)
Var	23 (%10,6)
Yok	42 (%19,3)
Bilinmiyor	153 (%70,2)
Risk klasifikasyonu	N(%)
Yüksek risk	74 (%33,9)
Standart risk	144 (%66,1)
Takip süresi	Ay
Minimum-maksimum	43-206
Ortalama	69

Tablo 3: Olguların klinik özellikleri

4.2. Histomorfolojik alt tiplendirme bulguları

218 hasta histomorfolojik özellikleri baz alınarak 4 farklı DSÖ medulloblastom histolojik alt tipine ayrılmış olup dağılımları şu şekildedir: 148 hasta (%67,9) klasik tip, 34 hasta (%15,6) nodüler / desmoplastik tip, 28 hasta (%12,8) anaplastik/büyük hücreli tip, 8 hasta (%3,7) ise ileri derecede nodülerite gösteren tip medulloblastom.



Şekil 11: Olguların histomorfolojik dağılımı

4.2.1. Histolojik alt tip-cinsiyet ilişkisi

Histolojik tipleri cinsiyet dağılımına göre incelediğimizde genel olarak her 4 grupta da erkek hasta hakimiyeti olduğu görülmektedir. İleri derecede nodülarite gösteren tipte diğer tiplere oranla erkek insidansı; desmoplastik/nodüler tipte ise kadın insidansı nispeten yüksek olmakla birlikte histolojik tipler ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,503$).

Histolojik alt tip	Kadın (N-%)	Erkek (N-%)
Klasik	59 (%39,9)	89 (%60,1)
DNMB	14 (%41,2)	20 (%58,8)
ENMB	1 (%12,5)	7 (%87,5)
LCA	11 (%39,3)	17 (%60,7)

Tablo 4: Histolojik alt tip-cinsiyet dağılımı

4.2.2. Histolojik alt tip-eksitus durumu

218 hastanın 73'ü takip dönemi içinde kaybedilmiştir. Klasik tip medulloblastomlarda 48 hasta (%32,4), desmoplastik/nodüler medulloblastomlarda 10 hasta (%29,4), ileri derecede nodülerite gösteren tip medulloblastomlarda 3 hasta (%37,5), anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlarda ise 12 hasta (%42,9) eksitus olmuştur. Bu durum anaplastik morfolojinin prognoza olan olumsuz yansımalarının bir göstergesi olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,842$).

4.2.3. Histolojik alt tip- nüks durumu

Hastaların histolojik alt tipleri ile nüks durumları incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,6$). Bununla birlikte klasik tip medulloblastomlarda 38 hastada (%25,7), desmoplastik/nodüler medulloblastomlarda 7 hastada (%20,6), ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastomlarda 3 hastada (%37,5), anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlarda 10 hastada (%35,7) nüks saptanmıştır. Anaplastik/büyük hücreli morfoloji literatür ile uyumlu olarak nüks ve eksitus lehine önemli bir özelliktir. Serimizde ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom olgularındaki nüks ve eksitus oranları literatürde bildirilenden yüksektir; bu durumun serimizdeki sınırlı olgu sayısı ile açıklanabileceği düşünülmüştür.

4.2.4. Histolojik alt tip-risk klasifikasyon durumu

Risk klasifikasyonuna bakıldığında olguların çoğunluğunun (144-%66,1) standart risk kategorisinde olduğu görülmüştür.

Klasik tip medulloblastomlarda 95 hasta (%64,2), desmoplastik/nodüler medulloblastomlarda 23 hasta (%67,6), ileri derecede nodülerite gösteren tip medulloblastomlarda 4 hasta (%50), anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlarda ise 22 hasta (%78,6) standart risk kategorisindedir.

Ancak histolojik alt tipler ile risk klasifikasyonu arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,375$).

İleri derecede nodülarite gösteren medulloblastom vakaları sıklıkla 3 yaşın altında ve total cerrahinin mümkün olmadığı hastalar olmakta ve bu hastalar yüksek risk kategorisinde kabul edilmektedir. Daha olumlu prognoz göstermesine rağmen bu vakaların yarısının yüksek risk kategorisinde olması yaş ve subtotal cerrahi ile ilişkilendirilmiştir.

4.2.5. Histolojik alt tip-tanı anında metastaz ilişkisi

Tanı anında oransal olarak klasik MB ve anaplastik/büyük hücreli medulloblastomda daha yüksek metastaz varlığı, desmoplastik/nodüler tipte daha düşük oranda metastaz izlenmesi istatistiksel olarak anlamlı gözükmemektedir ($p=0,045$). Ancak klinik takiplerine ulaşılamayan olgu sayısının yüksekliği bu veriye gölge düşürmektedir (bkz: Tablo 5).

Histolojik alt tip	Metastaz var	Metastaz yok	Bilinmiyor
Klasik	19 (%12,8)	24 (%16,2)	105 (%70,9)
DNM	2 (%5,9)	7 (%20,6)	25 (%73,5)
ENMB	0	0	8 (%100)
LCA	2 (%7,1)	11 (%39,3)	15 (%53,6)

Tablo 5: Histolojik alt tip-tanı anında metastaz durumu

4.2.6. Histolojik alt tiplerin moleküler alt tip dağılımı

Histolojik tiplerin moleküler alt tip dağılımına baktığımızda literatürle uyumlu (1, 22) olarak desmoplastik/nodüler ve ileri derecede nodülarite gösteren medulloblastomlarının tümünün SHH grubunda izlendiği dikkati çekmiştir. Klasik medulloblastomların büyük kısmı (%68,9) non-WNT/non-SHH grubuna dahildir. Anaplastik/büyük hücreli medulloblastomların ise en sık (%35,7) SHH-p53 mutant olmayan grupta izlendiği görülmüştür. Histolojik tiplerin moleküler sınıflandırmadaki dağılımları tablo 6'da görüldüğü gibidir.

	WNT aktif	SHH aktif-p53 Mutant	SHH aktif-p53 "wild" tip	non-WNT/ non-SHH	Toplam
Klasik	13 (%8,8)	6 (%4,1)	27 (%18,2)	102 (%68,9)	148
DNMB	0	4 (%11,8)	30 (%88,2)	0	34
ENMB	0	1 (%12,5)	7 (%87,5)	0	8
LCA	6 (%21,4)	4 (%14,3)	10 (%35,7)	8 (%28,6)	28
Toplam	19	15	74	110	218

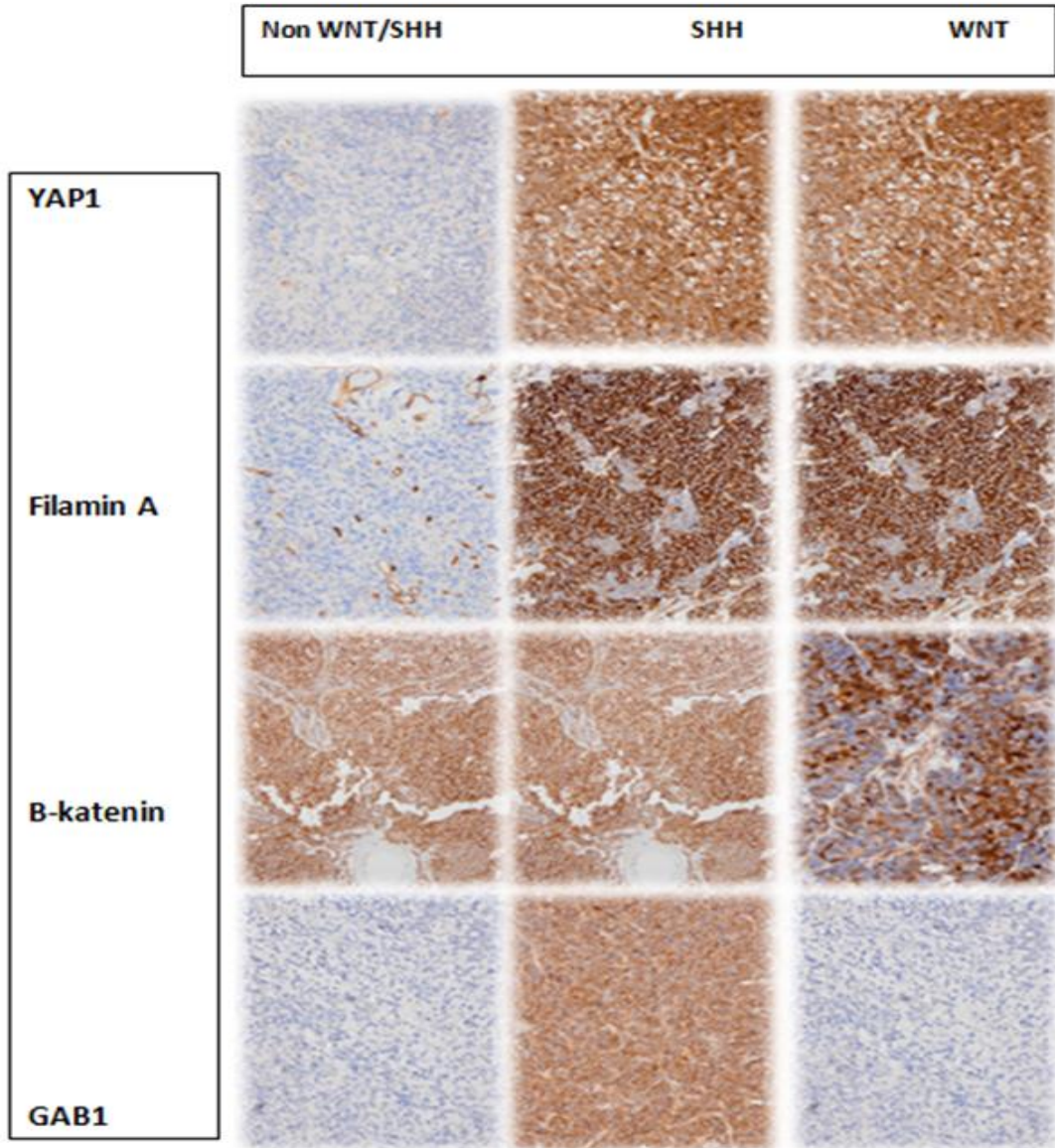
Tablo 6: Histolojik alt tiplerin moleküler alt tiplere göre dağılımı

4.3. Moleküler alt tiplendirme bulguları

218 hasta DSÖ 2016'ya göre GAB1, YAP1, Filamin A ve β -katenin immünohistokimyasal boyamaları yapılarak WNT aktif, SHH aktif ve non-WNT/non-SHH olarak sınıflandırılmıştır. Bu yöntemleri en basit ve en temel şekilde kullandığımızda YAP1 ve/veya Filamin A pozitifliği WNT aktif ya da SHH aktif bir gruba işaret etmektedir. Her iki antikora bir diğerininin daha zayıf boyandığı durumlarda tamamlayıcı olarak kullanılabilir. Bu iki antikorda izlenen pozitiflik yanında GAB1 ile sitoplazmik pozitiflik SHH aktive bir grubu, Beta-katenin ile %5 hücre ve daha fazlasında nükleer pozitiflik ise WNT aktive bir grubu temsil etmektedir. Beta-kateninde nükleer pozitiflik olmaması, GAB1 boyamasında non-spesifik nükleer pozitif boyanma veya hiç boyanmama olması, YAP1 ve Filamin A negatifliği ise bir tümörü non-WNT/non-SHH grubuna dahil etmektedir (bkz tablo 7 ve şekil 12)(1, 24)

	GAB1	YAP1	Filamin A	B-katenin
WNT aktif	Negatif	Nükleer veya sitoplazmik	Sitoplazmik	>%5 nükleer pozitif
SHH aktif	Sitoplazmik	Nükleer veya sitoplazmik	Sitoplazmik	Sitoplazmik + veya negatif
non-WNT / non-SHH	Negatif	Negatif	Negatif	Sitoplazmik + veya negatif

Tablo 7: Moleküler alt tiplerin immünohistokimyasal profil

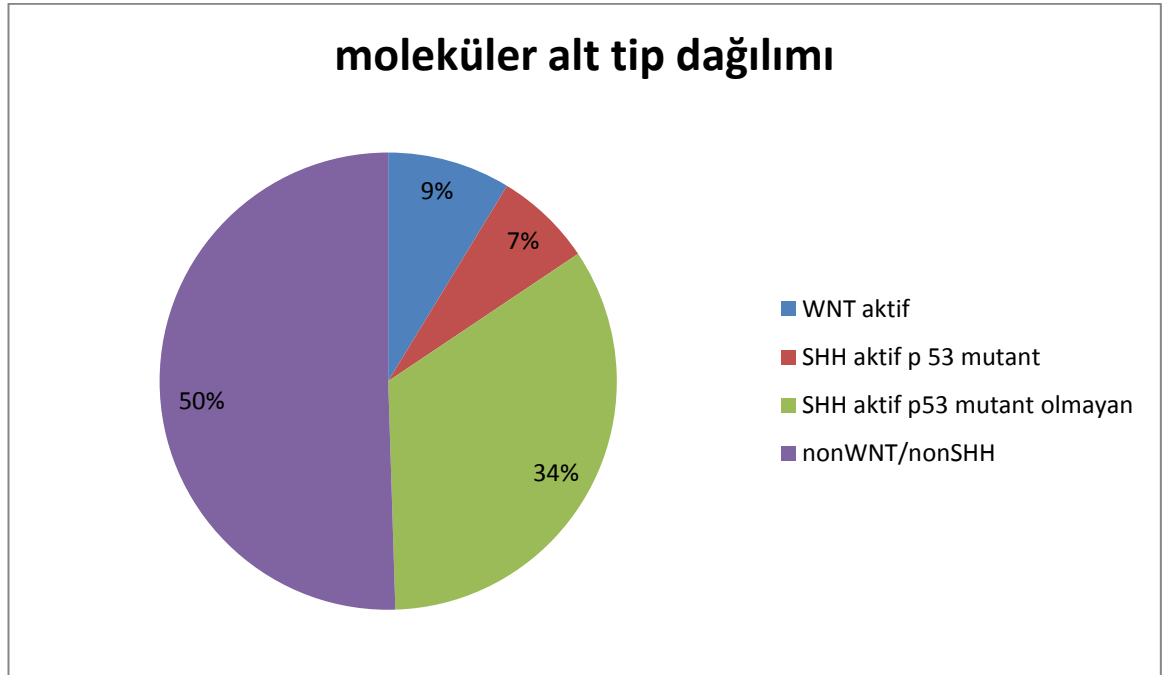


Şekil 12: İmmünohistokimyasal yöntemler ile moleküler alt tiplerin belirlenmesi

Grup 3 ve Grup 4 ayrımı için immünohistokimyasal yöntemler ve FISH çalışmaları tek başına yeterli olmadığından bu sınıf sadece non-WNT/non-SHH grubu olarak tiplendirilmiştir.

Buna göre; WNT aktif olan grupta 19 hasta (%8,7), SHH aktif grupta 89 hasta (%40,8), non-WNT/non-SHH grubunda ise 110 hasta (%50,5) bulunmaktadır. SHH grubundaki hastalar prognostik önemi açısından p53 mutant ve p53 mutant

olmayan (“wild”) olarak iki kategoriye ayrıldığında ise SHH grubu p53 mutant olan 15 hasta (%6,9), p53 mutant olmayan 74 hasta (%33,9) bulunmaktadır.



Şekil 13: Olguların moleküler dağılımı

4.3.1. Moleküler alt tip-cinsiyet ilişkisi

Moleküler alt tipler ile cinsiyet arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttur (**p=0,012**). Bu fark SHH aktif tümörler, non-WNT/non-SHH grubu tümörlerde izlenen erkek hakimiyetinin WNT aktif tümörlerde izlenmemesidir. Bu durum literatür ile uyumlu olarak gözlenmiştir(4). WNT aktif tümörlerde olguların %73,7’si kadın hasta olup, SHH aktif-p53 mutant tümörlerde bu oran %40, SHH aktif-p53 “wild” tümörlerde %33,8, non-WNT/non-SHH grubu tümörlerde ise %36,4’tür. Bu durum tablo 8’de özetlenmiştir.

	Erkek	Kadın	Toplam
WNT aktif	5 (%26,3)	14 (%73,7)	19
SHH aktif-p53 mut.	9 (%60)	6 (%40)	15
SHH aktif-p53 <i>wild</i>	49 (%66,2)	25 (%33,8)	74
Non-WNT/non-SHH	70 (%63,6)	40 (%36,4)	110
Toplam	133	85	218

Tablo 8: Moleküler alt tipler ile cinsiyet ilişkisi

4.3.2. Moleküler alt tip-eksitus durumu

Moleküler alt tipler ile eksitus durumuna bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Ancak eksitus olan hastaların oranı nispeten literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. WNT aktif grupta 3 hasta (%15,8), SHH-p53 “*wild*” tip grupta 22 hasta (%29,7), SHH aktif p53 mutant grupta 5 hasta (%33,3) ve non-WNT/non-SHH grubunda 43 hasta (%39,1) eksitus olmuştur ($p=0,30$).

4.3.3. Moleküler alt tip-nüks durumu

Aynı şekilde moleküler alt tiplerin nüks durumları eksitus durumlarına paralel bir dağılım sergilemekte ve literatür ile uyumlu seyretmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir. WNT aktif grupta 1 hasta (%5,3), SHH-p53 “*wild*” tip grupta 18 hasta (%24,3), SHH aktif-p53 mutant grupta 4 hasta (%26,7) ve non-WNT/non-SHH grupta ise 35 hasta (%31,8) takip süresince nüks göstermiştir ($p=0,29$).

4.3.4. Moleküler alt tip-risk klasifikasyon durumu

Risk klasifikasyonuna bakıldığında olguların çoğunluğunun ($n=144$, %66,1) standart risk kategorisinde olduğu görülmüştür. WNT aktif grupta 12 hasta (%63,2), SHH aktif p53 mutant grupta 12 hasta (%80), SHH aktif p53 “*wild*” grupta 50 hasta (%67,6), non-WNT/non-SHH grupta 70 hasta (%63,6) standart risk kategorisindedir.

Ancak moleküler alt tipler ile risk klasifikasyonu arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,629$)

4.3.5. Moleküler alt tip-tanı anında metastaz ilişkisi

Tanı anında metastaz durumu ve moleküler alt tipler arasındaki ilişki incelendiğinde WNT aktif tümörlerin hiç birinde tanı anında metastaz bulunmadığı dikkati çekmiştir. Non-WNT/non-SHH grubu ise tanı anında en fazla metastaz izlenen olguların bulunduğu gruptur. Bu durum istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p=0,042$). SHH aktif-p53 “wild” tip grupta 4 hastada (%5,4), SHH aktif-p53 mutant grupta 1 hastada (%6,7), non-WNT/non-SHH grubunda 18 hastada (%16,4) tanı anında metastaz izlenmiştir.

Moleküler alt tip	Metastaz var	Metastaz yok	Bilinmiyor
WNT aktif	0	7 (%36,8)	12 (%63,2)
SHH / p53 mutant	1 (%6,7)	3 (%20)	11 (%73,3)
SHH/ p53 <i>wild</i>	4 (%5,4)	11 (%14,9)	59 (%79,7)
non-WNT/non-SHH	18 (%16,4)	21 (%19,1)	71 (%64,5)

Tablo 9: Moleküler alt tip-tanı anında metastaz durumu

4.3.6. Moleküler alt tiplerin histolojik alt tip dağılımı

Moleküler grupların histopatolojik tip dağılımına baktığımızda ise yine literatür ile uyumlu veriler elde edilmiştir(1, 22). DSÖ 2016’ya göre ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastomların neredeyse tümünün SHH aktive-p53 “wild” grupta olduğu bilinmesine karşın SHH aktive-p53 mutant grupta bir olgu ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom olarak sınıflandırılmıştır. Bu durumun olgunun konsültasyon olması ve neoplazmin küçük bir alanının değerlendirilmiş olması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

WNT aktif tümörler klasik veya anaplastik/büyük hücreli medulloblastomları, SHH aktif tümörler tüm morfolojideki medulloblastomları, non-WNT/non-SHH tümörler ise klasik veya anaplastik/büyük hücreli medulloblastomları içermektedir.

Moleküler alt tiplerin histopatolojik sınıflamadaki dağılımı tablo 10'da görüldüğü gibidir.

	Klasik	DNMB	ENMB	LCA	Toplam
WNT aktif	13 (%68,4)	0	0	6 (%31,6)	19
SHH aktif-p53 mutant	6 (%40)	4 (%26,7)	1 (%6,7)	4 (%26,7)	15
SHH aktif-p53 "wild"	27 (%36,5)	30 (%40,5)	7 (%9,5)	10 (%13,5)	74
Non-WNT/non-SHH	102(%92,7)	0	0	8 (%7,3)	110
Toplam	148	34	8	28	218

Tablo 10: Moleküler alt tiplerin histolojik alt tiplere göre dağılımı

4.4. N-myc ve C-myc amplifikasyonu bulguları

Tüm hastalar moleküler ve histolojik tiplerinden bağımsız olarak N-myc ve C-myc amplifikasyon durumlarına göre de değerlendirilmiştir. 11 hastada (%5) N-myc amplifikasyonu, 19 hastada (%8,7) C-myc amplifikasyonu saptanmıştır.

166 hasta (%76,1) N-myc amplifikasyonu 162 hasta (%74,3) C-myc amplifikasyonu göstermemektedir.

N-myc için 41 hastada (%18,8), C-myc için ise 37 hastada (%17,7) doku dizini parafin bloklarında meydana gelen dökülme nedeniyle FISH çalışmasından sonuç alınamamıştır.

N-myc amplifikasyonu gösteren hiçbir hastada C-myc amplifikasyonu; aynı şekilde C-myc amplifikasyonu gösteren hiçbir hastada N-myc amplifikasyonu izlenmemiştir.

4.4.1. Amplifikasyon ve eksitus durumu

N-myc ile eksitus durumu ilişkisine bakıldığında amplifikasyon izlenen grupta 11 hastanın 5'inin (%45,5), non-amplifiye gruptaki 166 hastanın ise 63'ünün (%38) eksitus olduğu ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (**p=0,012**).

C-myc ile eksitus durumu ilişkisine bakıldığında amplifikasyon izlenen 19 hastanın 7'sinin (%36,8), non-amplifiye gruptaki 162 hastanın ise 58'inin (%35,8) eksitus olduğu görülmüştür. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemekle birlikte C-myc amplifikasyon varlığının eksitus durumu lehine olduğu görülmüştür (p=0,265).

4.4.2. Amplifikasyon ve nüks durumu

Aynı şekilde N-myc amplifikasyonu ile nüks ilişkisi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (**p=0,030**). Amplifikasyon izlenen 11 hastanın 6'sında (%54,5), amplifikasyon izlenmeyen 166 hastanın ise 46'sında (%27,7) takip süreleri içinde nüks izlenmiştir.

C-myc amplifikasyonu ve nüks ilişkisi incelendiğinde amplifikasyon gösteren 19 hastanın 5'inde (%26,3); amplifikasyon göstermeyen 162 hastanın 45'inde (%27,8) nüks izlenmiştir. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,536).

4.4.3. Amplifikasyon ve risk klasifikasyonu durumu

Risk klasifikasyonuna bakıldığında olguların çoğunluğunun (144-%66,1) standart risk kategorisinde olduğu görülmüştür.

N-myc amplifiye olan 9 hasta (%81,8) standart; 2 hasta (%18,2) yüksek risk kategorisindedir. N-myc amplifikasyonu ile risk klasifikasyonu arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,403$)

C-myc amplifiye olan 14 hasta (%73,7) standart; 5 hasta (%26,3) yüksek risk kategorisindedir. C-myc amplifikasyonu ile risk klasifikasyonu arasında anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,739$)

4.4.4. Amplifikasyon ve histolojik alt tip ilişkisi

Bizim olgularımızda histopatolojik tipler içindeki C-myc ve N-myc amplifikasyon dağılımlarının ilişkisi tablo 9'de gösterildiği gibidir. Buna göre C-myc amplifikasyonu klasik tip ve anaplastik/büyük hücreli tipte daha sık izlenirken ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom vakalarında izlenmemiştir, ve bu durum istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,008$). N-myc amplifikasyonu da C-myc amplifikasyonu gibi klasik ve LCA alt tiplerinde daha sık izlenmiş, ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom vakalarımızda saptanmamıştır. Fakat bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,81$).

	C-myc amp.	C-myc nonamp	N-myc amp.	N-myc nonamp.
Klasik	11 (%57,9)	105 (%64,8)	5 (%45,5)	110 (%66,3)
DNMB	1 (%5,3)	31 (%19,1)	2 (%18,2)	30 (%18,1)
ENMB	0	7 (%4,3)	0	7 (%4,2)
LCA	7 (%36,8)	19 (%11,7)	4 (%36,4)	19 (%11,4)
Toplam	19	162	11	166

Tablo 11: Histopatolojik alt tipler içindeki N-myc ve C-myc amplifikasyon dağılımlarının ilişkisi

4.4.5. Amplifikasyon ve moleküler alt tip ilişkisi

Literatüre baktığımızda C-myc amplifikasyonları Grup 3 ve Grup 4 tümörlerde, daha nadiren ise WNT aktif tümörlerde izlenmektedir. N-myc amplifikasyonları ise daha sıklıkla grup 4 tümörlerde izlenirken, daha az oranda SHH grubu tümörlerde izlenmektedir(30). Her iki amplifikasyon da kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. (4)

Bizim olgularımızda moleküler alt tipler içindeki N-myc ve C-myc amplifikasyon durumuna baktığımızda ise literatürle uyumlu olarak N-myc amplifikasyonu non-WNT/non-SHH grubu ve SHH aktive grupta izlenirken, WNT aktif tümörlerde N-myc amplifikasyonu saptanmamıştır. Bununla birlikte bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,441$).

C-myc amplifikasyonu ise tüm moleküler alt gruplarda değişen oranlarda izlenmekle birlikte anlamlı biçimde non-WNT/non-SHH grubunda saptanmıştır ($p=0,006$).

SHH aktive tümörlerde N-myc amplifikasyonu yanı sıra nadiren oranda C-myc amplifikasyonunun da görülebileceğini gösteren yayınlar bulunmaktadır(46).

Moleküler alt tipler içindeki C-myc ve N-myc amplifikasyon dağılımlarının ilişkisi tablo 12’de gösterildiği gibidir.

	C-myc amp.	C-myc nonamp	N-myc amp.	N-myc nonamp.
WNT aktif	5 (%26,3)	11 (%6,8)	0	15 (%9)
SHH-p53 mut	1 (%5,3)	12 (%7,4)	1 (%9,1)	11 (%6,6)
SHH-p53 <i>wild</i>	3 (%15,8)	65 (%40,1)	6 (%54,5)	59 (%35,5)
Non-WNT/non-SHH	10 (%52,6)	74 (%45,7)	4 (%36,4)	81 (%48,8)
Toplam	19	162	11	166

Tablo 12: Moleküler alt tipler içindeki N-myc ve C-myc amplifikasyon dağılımlarının ilişkisi

4.5. Tp53 mutasyonuna ait bulgular

Tüm hastalar moleküler ve histolojik tiplerinden bağımsız olarak immünohistokimyasal yöntem ile Tp53 mutasyonu açısından da değerlendirilmiş; 20 hastada (%9,2) p53 ile mutant paternde kuvvetli boyanma izlenmiştir. 198 hastada ise (%90,8) p53 “wild” tip boyanmıştır. Bu oran literatür ile uyumludur (43, 46)

Tp53 mutasyonu yine literatürle uyumlu olarak anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlarda daha yaygın izlenmektedir(22, 28). Bununla birlikte histolojik alt tip dağılımına baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,636$). Anaplastik/büyük hücreli medulloblastomların 4’ünde (%14,3); ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastomların 1’inde (%12,5); desmoplastik/nodüler MB’ların 4’ünde (%11,8) ve klasik medulloblastomların 11’inde (%7,4) p53 mutant paternde boyanma göstermiştir.

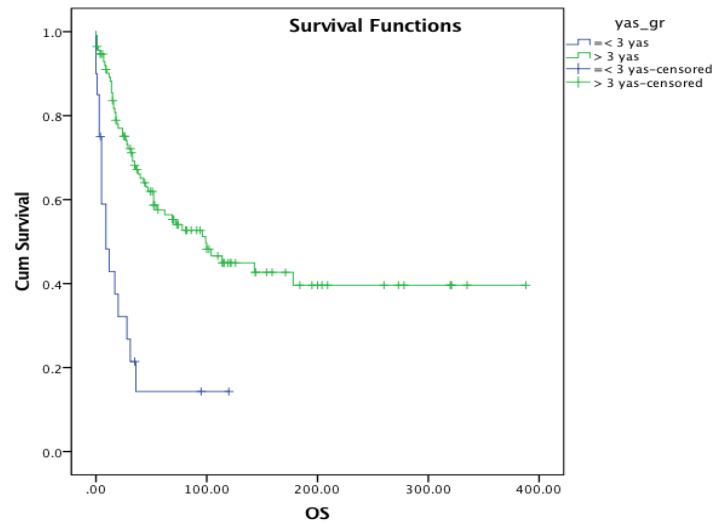
p53 mutant 20 hastanın moleküler alt tip dağılımına baktığımızda literatür ile uyumlu olarak 15 hastanın (%75) SHH aktif, 3 hastanın (%15) WNT aktif, 2 hastanın (%10) ise non-WNT/non SHH grupta olduğu görülmüştür (28). SHH aktif p53 mutant ve p53 wild tip olarak kategorize edildiğinden dolayı p değeri sağlıklı hesaplanamamaktadır.

Tp53 mutasyonu ile N-myc amplifikasyonu ($p=0,82$), C-myc amplifikasyonu ($p=0,863$), eksitus durumu ($p=0,757$), nüks durumu ($p=0,79$), tanı anında metastaz durumu ($p=0,715$) ve risk klasifikasyonu ($p=0,218$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

4.6. Yaşam analizi sonuçları

4.6.1. Yaş faktörü

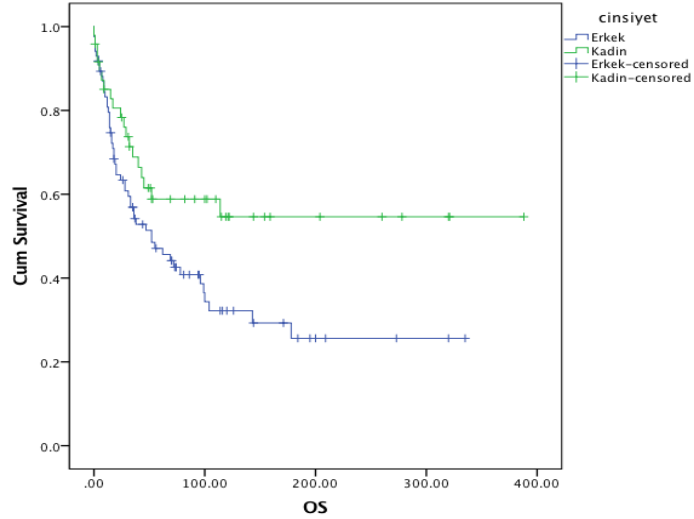
Hastaları Pediatrik Onkoloji grubu risk klasifikasyonunda eşik değer olarak belirtilen 3 yaşına göre sınıflandırdığımızda 3 ve 3 yaşın altındaki hastalarda medyan sağ kalım süresi 9 ay, 3 yaşından büyük hastalarda ise 99 ay olduğu görülmektedir. Bu durum genel sağkalım ("*overall survival*") analizlerinde p değeri **<0,001** olacak şekilde anlamlı bulunmuştur.



Şekil 14: Yaş faktörüne göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi

4.6.2. Cinsiyet faktörü

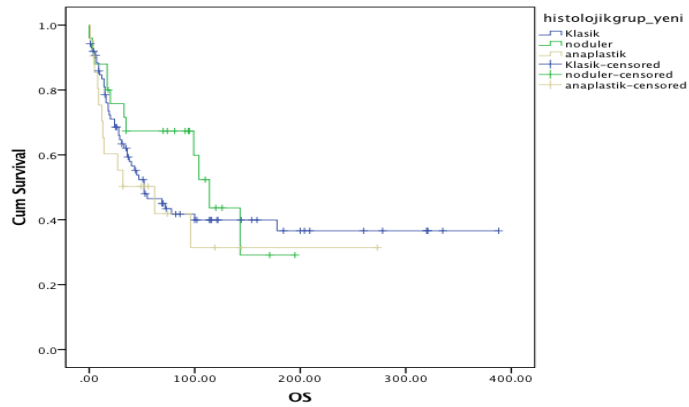
Kadın ve erkek cinsiyetin prognoza olan etkisine baktığımızda kadın cinsiyetin literatürde belirtildiği gibi (26) olumlu prognostik bir faktör olduğu gösterilmiştir. Kadın hastaların halen yarıdan fazlası yaşıyor olduğundan medyan sağ kalım süresi hesaplanamamış; erkek hastalarda bu süre 52 ay olarak bulunmuştur. Kadın cinsiyetin genel sağkalıma olan etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır (**p=0,031**).



Şekil 15: Cinsiyet faktörüne göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi

4.6.3. Histolojik alt tip faktörü

Hastalar histolojik alt tiplere göre genel sağkalım açısından incelendiğinde ortalanca değerler desmoplastik/nodüler alt tip 114 ay, ileri derecede nodülarite gösteren tip 104 ay, anaplastik büyük hücreli alt tip 62 ay, klasik alt tip ise 52 ay olarak hesaplanmıştır. Desmoplastik/nodüler ve ileri derecede nodülarite gösteren alt grupları genel sağkalım analizlerinde nispeten benzer sonuçlarından dolayı nodüler medulloblastomlar olarak tek bir grupta birleştirdiğimizde literatür (20, 22) ile uyumlu bulgular elde edilmiş ancak bu değer sayısal olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,687$).

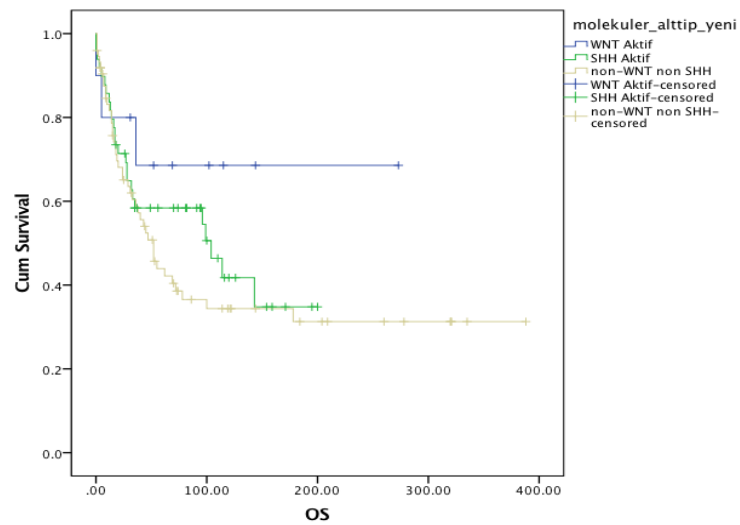


Şekil 16: Histolojik alt tipe göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi

EFS (*event-free survival*) analizlerinde ise rekürrens veya progresyona kadar geçen süre klasik MB'da 33 ay, desmoplastik/nodüler medulloblastomda 141 ay, ileri derecede nodülerite gösteren MB'da 92 ay, anaplastik/büyük hücreli medulloblastomda ise 15 ay olarak hesaplanmıştır ($p=0,684$).

4.6.4. Moleküler alt tip faktörü

Moleküler alt tiplerin medyan sağkalım süreleri hesap edildiğinde SHH aktif p53 *wild* tip olan medulloblastomların 104 ay ile en uzun ortanca değere sahip olduğunu saptadık. Non-WNT/non-SHH grupta 52 ay, SHH aktif p53 mutant grupta ise bu değer 32 aydır. WNT aktif olan gruptaki hastaların yarıdan fazlası halen yaşıyor olduğundan medyan sağ kalım değeri hesaplanamamıştır. Genel sağkalım analizlerinde literatür (20) ile uyumlu bir grafik çizilmiş olmasına karşın klinik izlemine ulaşılan hastaların oransal azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ($p=0,468$).



Şekil 17: Moleküler alt tipe göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi.

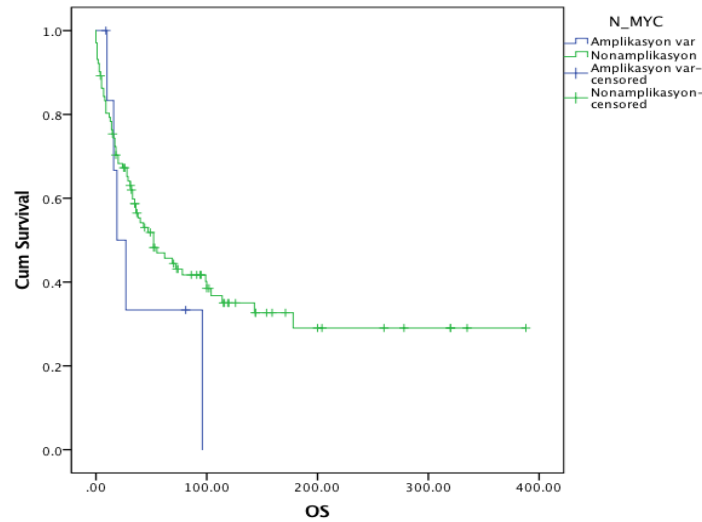
EFS (*event-free survival*) analizlerinde ise rekürrens veya progresyona kadar geçen süre SHH aktif-p53 *wild* tip olan grupta 70 ay, SHH aktif p53 mutant grupta 25 ay, non-WNT/non-SHH grupta 23 ay olarak hesaplanmıştır ($p=0,291$). WNT aktif medulloblastomların yarıdan fazlasında rekürrens ve progresyon izlenmediğinden EFS ortanca değeri hesaplanamamıştır ($p=0,291$).

4.6.5. Tp53 mutasyon faktörü

Tüm medulloblastom olguları histolojik ve moleküler alt tipten bağımsız olarak Tp53 mutasyonu açısından incelendiğinde immünohistokimyasal olarak kuvvetli nükleer p53 eksprese eden olgular p53 mutant kabul edilmiş ve bu grup hastalarda medyan sağkalım süresi 25 ay, “wild” tip patern gösteren hastalarda ise 35 ay olarak belirlenmiştir. Bu durum literatür ile uyumlu bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,553$).

4.6.6. N-myc amplifikasyon faktörü

N-myc amplifikasyonu gösteren olgularda genel sağkalım süresi 19 ay iken, nonamplifiye olgularda 52 aydır. Tek değişkenli genel sağkalım analizlerinde N-myc amplifikasyonu kötü prognostik faktör olarak belirlenmiştir ($p=0,009$).

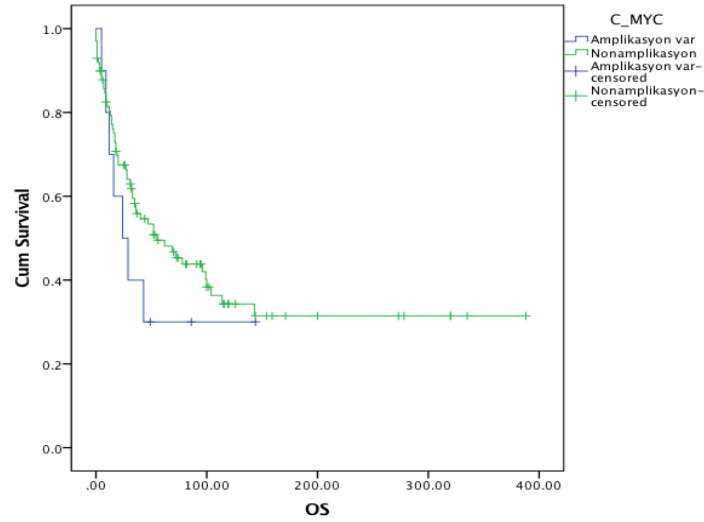


Şekil 18: N-myc amplifikasyonuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi

EFS (*event-free survival*) analizlerinde ise rekürrens veya progresyona kadar geçen süre N-myc amplifiye olgularda 14 ay iken, non-amplifiye olgularda 33 ay olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,012$).

4.6.7. C-myc amplifikasyon faktörü

C-myc amplifikasyonu gösteren olgularda medyan sağkalım süresi 24 ay iken, nonamplifiye olgularda 55 aydır. Tek değişkenli genel sağkalım analizlerinde C-myc amplifikasyonu kötü prognostik faktör olarak belirlenmiştir (**p=0,034**).

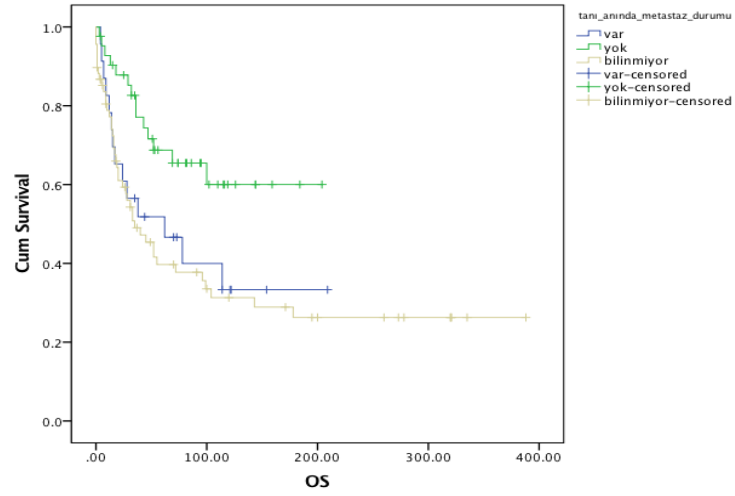


Şekil 19: C-myc amplifikasyonuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi

EFS (*event-free survival*) analizlerinde ise rekürrens veya progresyona kadar geçen süre C-myc amplifiye olgularda 20 ay, non-amplifiye olgularda 31 ay olarak hesaplanmıştır (**p=0,137**).

4.6.8. Tanı anında metastaz faktörü

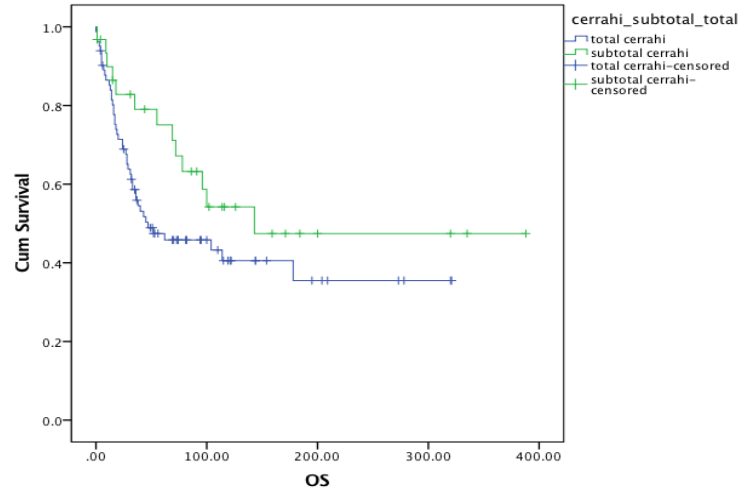
Tanı anında metastaz bulunan hastaların medyan sağkalım süresi 62 aydır. Metastaz olmayan hastaların yarıdan fazlası halen yaşamakta olduğundan ortanca sağ kalım süresi hesaplanamamıştır. Bu hastalarda ortalama yaşam süresi 138 ay olarak belirlenmiştir. Genel sağkalım analizlerinde metastaz varlığı önemli bir kötü prognostik faktör olarak belirlenmiştir (**p=0,008**).



Şekil 20: Tanı anında metastaz durumuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi

4.6.9. Cerrahi faktörü

Subtotal cerrahi geçirilmiş olması bilindiği gibi kötü prognostik faktör olup aynı zamanda hastanın yüksek risk kategorisinde değerlendirilmesine sebep olmaktadır. Serimizdeki 218 hastanın 84'ünde (%38,5) tümör cerrahi ile total olarak çıkarılabildiği görülmüştür. 32 hastada (%14,7) subtotal cerrahi yapılmıştır. 102 hastada ise (%46,8) cerrahinin subtotal mi total mi yapılmış olduğu bilgisine ulaşılamamıştır. Takip edilen hastalarda medyan sağkalım total cerrahi geçirmiş hastalar için 47 ay iken, subtotal cerrahi geçirmiş hastalar için 143 ay olarak hesaplanmıştır. Bu durum literatür ile uyumsuz olup cerrahinin boyutuna ulaşılamamış hastaların oranının yüksekliği ile ilişkili olabilir.

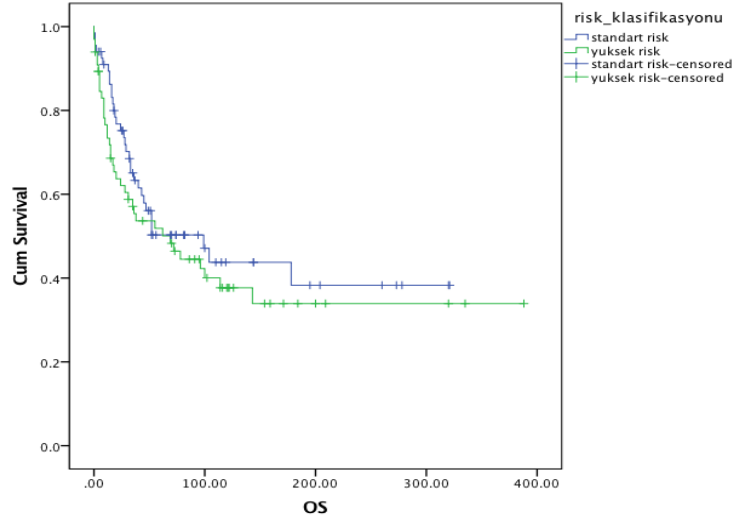


Şekil 21: Cerrahi durumuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi

4.6.10. Risk klasifikasyonu faktörü

Standart risk kategorisinde olmak yüksek risk kategorisinde olmaya göre daha az nüks ve eksitus oranları ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişkilendirilmiştir. Standart risk kategorisindeki 144 hastanın 34'ü (%23,6); yüksek risk kategorisindeki 74 hastanın ise 39'u (%52,7) eksitus olmuştur ve bu durum istatistiksel olarak anlamlıdır (**p<0,05**). Standart risk kategorisindeki 144 hastanın 29'unda (%20,1); yüksek risk kategorisindeki 74 hastanın ise 29'unda (%39,2) takip süreleri içinde nüks izlenmiştir ve bu durum istatistiksel olarak anlamlıdır (**p<0,05**).

Tek değişkenli genel sağkalım analizlerinde ise standart risk kategorisindeki hastaların medyan sağkalım süresi 99 ay iken, yüksek risk kategorisindeki hastalarda 69 ay olarak hesaplanmıştır. Bu durum literatür ile uyumlu (55) ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,349).



Şekil 22: Risk klasifikasyonuna göre Kaplan Meier genel sağkalım eğrisi.

4.6.11. Tüm yaşam analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

Tek değişkenli analizler sonucunda, genel sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunan faktörler yaş, cinsiyet, N-myc amplifikasyonu, C-myc amplifikasyonu ve tanı anında metastaz durumu olarak belirlenmiştir (Tablo 13). Buna göre 3 yaşın altında olmak, erkek cinsiyet, N-myc veya C-myc amplifikasyonu göstermek ve tanı anında metastaz izlenmesi kötü prognostik faktörler olarak öne çıkmaktadır.

Değişkenler	Alt grup	OS (medyan) (ay)	Ki-kare değeri*	P değeri
Yaş	<3 yıl	9	23,937	<0,001
	>3 yıl	99		
Cinsiyet	Kadın	NA	4,639	0,031
	Erkek	52		
Histolojik alt tip	Klasik	52	1,481	0,687
	DNMB	114		
	MBEN	104		
	A/LC	62		
Moleküler alt tip	WNT	NA	2,541	0,468
	SHH p53 mutant	32		
	SHH p53 wild	104		
	Non-WNT/non-SHH	52		
p53	Wild	35	0,352	0,553
	Mutant	25		
N-myc amplifikasyonu	Yok	52	9,33	0,009
	Var	19		
C-myc amplifikasyonu	Yok	55	6,75	0,034
	Var	24		
Tanı anında metastaz	yok	NA	9,59	0,008
	Var	62		
Cerrahi	Total	47	2,37	0,123
	Subtotal	143		
Risk grubu	Düşük	99	0,878	0,349
	Yüksek	69		

Tablo 13: Tek değişkenli analizlerde, sağkalım açısından anlamlı bulunan değişkenler (*Log rank ki-kare testine göre. NA: Vakaların %50 sinden fazlası halen yaşıyor olduğundan medyan sağkalım hesaplanamamaktadır).

Tüm faktörler bir arada değerlendirildiğinde prognoza en olumsuz veya en olumlu yansıyan bağımsız özelliklerin araştırılması için çok değişkenli Cox orantısal hazard regresyon analizi kullanılmıştır. Bu analiz sonucunda OS açısından istatistiksel olarak anlamlı bir faktör saptanmamıştır (Tablo 14).

Değişkenler	Alt grup*	Hazard Oranı	P değeri
Yaş	<3 yıl	2,911	0.088
	>3 yıl	Ref	
Cinsiyet	Kadın	Ref	0.077
	Erkek	1.812	
Histolojik alt tip	Klasik	Ref	0,836
	DNMB	0,895	
	MBEN	0,261	
	A/LC	1,572	
Moleküler alt tip	WNT	Ref	0,688
	SHH p53 mutant	0,561	
	SHH p53 wild	1,232	
	Non-WNT/non-SHH	2,480	
p53	Wild	Ref	0,348
	Mutant	2,921	
N-myc amplifikasyonu	Yok	Ref	0,226
	Var	1,902	
C-myc amplifikasyonu	Yok	Ref	0,396
	Var	1,511	
Tanı anında metastaz	yok	1,626	0.407
	Var	Ref	
Cerrahi	Total	1.555	0.303
	Subtotal	Ref	
Risk grubu	Düşük	Ref	0.613
	Yüksek	1.436	

Tablo 14. Çok değişkenli Cox orantısız hazard regresyon analizi sonucunda, tüm faktörler bir arada ele alındığında sağkalım açısından anlamlı bulunan değişkenler. (Ref: Hazard Oranı hesaplamalarında referans alınan grup)

Kurulan Cox orantısız hazard modeli için $-2 \text{ Log-likelihood} = 506,641$, $p < 0.001$, model anlamlı, ancak değişkenlerin bireysel önemliliğine bakıldığında hiçbiri istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Bu durumda çoklu bağlantı (*multicollinearity*) sorunundan şüphelenilmiş ve dolayısıyla bir sonraki aşamada geriye doğru eleme yöntemi kullanılarak değişken seçimine geçilmiştir (Tablo 15).

Değişkenler	Alt grup*	Hazard Oranı	P değeri
Yaş	<3 yıl	3,108	0.001
	>3 yıl	Ref	
Cinsiyet	Kadın	Ref	0.041
	Erkek	1.924	
Histolojik alt tip	Klasik	Ref	0.133
	DNMB	0.558	
	MBEN	0.179	
	A/LC	1.422	
Tanı anında metastaz	yok	1.580	0.242
	Var	Ref	
Cerrahi	Total	1.22	0.608
	Subtotal	Ref	

Tablo 15. Çok değişkenli Cox orantısız hazard regresyon analizi sonucunda, geriye doğru eleme değişken seçim yöntemi kullanılarak sağkalım açısından en anlamlı bulunan değişkenler. (Ref: Hazard Oranı hesaplamalarında referans alınan grup).

Buna göre tüm faktörler dikkate alındığında ortalama yaşam süresini en anlamlı olarak etkileyen faktörler yaş, cinsiyet ve histolojik alt grup bulunmuştur. Yaşı 3 yaş ve daha küçük olanlar 3 yaşından büyük olanlara göre 3,108 kat daha fazla ölüm riski taşımakta ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı çıkmaktadır (**p=0,001**).

Erkekler kadınlara göre 1,924 kat daha fazla ölüm riski taşımaktadır (**p=0,041**).

Histolojik alt tiplere baktığımızda klasik MB'lu hastaların ölüm riski, MBEN alt tipine göre 5.58 kat daha fazladır (**p=0.011**).

5. TARTIŞMA

Moleküler çalışmalarındaki gelişmeler, saptanan yeni mutasyonlar, gen ekspresyon ve metilasyon profillerinin belirlenmesi ile, diğer sistemlerde olduğu gibi nöropatolojide ve medulloblastomlarda da genetik kökenin aydınlatılmasını, güncel tedavi modalitelerinin geliştirilmesini ve daha sağlıklı prognostik verilere ulaşılmasını sağlamıştır. Bu anlamda özellikle son 10 yıl içerisinde moleküler mekanizmanın keşfedilmesine ve moleküler alt grupların belirlenmesine yönelik pek çok araştırma yapılmıştır (4, 20, 22, 30, 47, 56-58).

Moleküler alt tiplerin tanımlanması yalnızca medulloblastomun kökenini anlamamızı sağlamakla kalmamış, kliniğe de tedavi ve prognozla ilgili önemli bilgiler vermiştir(22, 43). Örneğin WNT aktif tümörlerin daha iyi prognozlu olduğu veya SHH aktif tümörler için SUFU, SMO antagonistleri gibi ilaçların kullanılabileceği bu çalışmalar sonunda keşfedilmiştir(5, 56, 59).

Bu bağlamda yapılan ilk çalışma 2006 yılında Thompson ve arkadaşları tarafından metilasyon profilleri kullanılarak yapılan ve medulloblastomları A'dan E'ye kadar 5 farklı moleküler alt tipe ayıran 46 vakalık seri olmuştur (60). Çalışmada "B" ve "D" olarak adlandırılan alt grupların sonraki çalışmalarda WNT ve SHH aktif tümörleri temsil ettiği anlaşılmıştır.

Bu çalışmadan iki yıl sonra Kool ve arkadaşları 62 vakalık bir seri ile Thompson ve ark.nın yapmış oldukları çalışmayı tekrarlamış ancak alt tipleri harf yerine aktif olduğu genetik yolak ile isimlendirmenin adımlarını atmışlardır(32).

2010 yılında Cho ve ark. yanı sıra Northcott ve ark. birbirinden bağımsız olarak iki farklı çalışma yapmış ve DNA kopya sayısı, mRNA profili ve klinik gidişe bakarak medulloblastomları moleküler olarak sınıflandırmışlardır. Her iki araştırmanın sonucunda benzer 4 farklı moleküler alt tip oluşturulmuştur (29, 61).

2010 yılında Boston'da bir araya gelen ve ortak sonuçlu çalışmaları olan bu gruplar bir uzlaşma toplantısı yapmış ve WNT aktif, SHH aktif, Grup 3 ve Grup 4 olmak üzere 4 farklı moleküler alt tip olduğunu bildirmişlerdir (30).

2014 yılında Haarlem’de düzenlenen bir konferans ile moleküler alt grupların histolojik alt gruplar ile birlikte tanıya entegre edilmesine karar verilmiştir (5).

Tüm bu çalışma ve toplantıların sonucunda ise sadece histomorfolojik sınıflamayı esas alan yaklaşım yerine moleküler alt grupların kullanımının da öneminin arttığı yaklaşım 2016 yılında yayınlanan DSÖ sinir sistemi tümörleri sınıflamasında yerini almıştır (1, 3). Klasik medulloblastom, desmoplastik/nodüler medulloblastom, ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom ve büyük hücreli/anaplastik medulloblastom olarak 4 histolojik alt tip yanı sıra medulloblastomların WNT aktif, SHH aktif, Grup 3 ve Grup 4 olmak üzere 4 moleküler alt tipinin de belirtilmesinin gerekliliği vurgulanmıştır (1).

Ancak transkripsiyon-metilasyon profili ve gen ekspresyonları baz alınarak oluşturulan bu yeni moleküler alt tipler pratik kullanımda kolay uygulanabilir ve uygun bütçeli olmadığı için bu konuda immünohistokimya başta olmak üzere patoloğların kolaylıkla uygulayabileceği alternatif arayışlar gündeme gelmiştir.

İlk olarak 2011 yılında Nortcott ve ark. DKK1, SFRP1, NPR3 ve KCNA1 panelinden oluşan immünohistokimyasal çalışmalar yardımıyla moleküler alt tipleri belirlemeye çalışmışlardır (29). Bu çalışmada gen ekspresyon profilleri ve DNA kopya sayısı da araştırılmış olan 294 medulloblastom vakası incelenmiştir. Birbiri ile çakışmayan 4 farklı moleküler alt grubun immünohistokimyasal panel ile oluşturulan moleküler alt gruplar ile tutarlılığı incelemişlerdir. Buna göre DKK1 antikoruna WNT aktif tümörleri, SFRP1 antikoruna SHH aktif tümörleri, NPR3 antikoruna grup 3 tümörleri, KCNA1 antikoruna ise grup 4 tümörleri %98 oranında seçebilmektedir.

Daha sonrasında yine Northcott ve ark. tarafından yeni nesil dizileme (NGS-*“next generation sequencing”*) yöntemi ile 22 adet medulloblastom alt grup spesifik gen tanımlanmıştır (57). Buna göre WNT aktif (WIF1, TNC, GAD1, DKK2, EMX2), SHH aktif (PDLIM3, EYA1, HHIP, ATOH1, SFRH1), grup 3 (IMPG2, GABRA5, EGFL11, NRL, MAB21L2, NPR3) ve grup 4 (KCNA1, EOMES, KHDRBS2, RBM24, UNC5D, OAS1) medulloblastomlara spesifik genler tanımlanmış olup bu genlere yönelik immünohistokimyasal yöntemlerin kullanılabilirliği gündeme gelmiştir. NGS’nin

immunohistokimyasal yöntemle göre daha net sonuçlarına karşın yavaş ve pahalı olması kullanımını en çok sınırlandıran faktör olarak nitelendirilmiştir. Bu sebeple rutin kullanımda, özellikle de gelişmekte olan ülkelerdeki ticari problemler sebebiyle yaygın kullanıma geçilemeyeceğinden bahsedilmiştir.

Zaman içinde özellikle Ellison ve ark. yapmış oldukları çalışmalarda daha az sayıda immünohistokimyasal belirteç kullanımı ile WNT aktif, SHH aktif ve non-WNT/non-SHH gruplarının daha pratik şekilde yapılabileceğini öne sürmüşlerdir(24).

Bu öneriye göre; YAP1 ve Filamin A birbirinin kombinasyonu olarak kullanılmakta ve WNT veya SHH yolağını işaret etmektedir. Bu iki antikorda pozitiflik görülmesi durumunda belirleyici olan iki immunohistokimyasal boyama ise GAB1 ve β -katenin'dir. GAB1'in sitoplazmik pozitifliği SHH yolağını; β -katenin ile en az %10 hücrede nükleer pozitiflik görülmesi ise WNT yolağını işaret etmektedir. YAP1, Filamin A, GAB1 negatifliği yanı sıra β -katenin ile nükleer pozitiflik görülmemesi durumunda ise olgular non-WNT/non-SHH MB olarak sınıflandırılmaktadır.

Kaur ve ark. yanı sıra Goschzik ve ark.nın yapmış oldukları benzer çalışmalarda ise β -katenin ile boyanma sınırı %5 olarak belirtilmiştir (21, 47).

Tüm bu sınıflandırmaların erişmeye çalıştıkları esas amaç ise hem prognostik anlamda daha fazla veriye ulaşabilmek, hem de hedefe yönelik ilaçların kullanımı için olanak sağlamaktır.

Literatürdeki immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak yapılan en geniş seride (Ellison ve ark.) medulloblastomların histolojik sınıflamasında klasik MB'lar %72, desmoplastik MB'lar %17, anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlar ise %10 oranında olarak belirtilmiştir. Desmoplastik medulloblastomların yaklaşık %70'i desmoplastik/nodüler alt tip, %20'si ileri derecede nodülerite gösteren alt tip olarak yorumlanmıştır.

Bu çalışmada medulloblastomları moleküler olarak sınıflandırdıklarında ise WNT aktif grupta %14, SHH aktif grupta %31, noWNT/nonSHH grupta ise %55 olgu olduğu görülmüştür(22).

Serimizdeki histolojik alt tipler içinde en baskın grup klasik alt tip (%67,9), sırasıyla desmoplastik/nodüler alt tip (%15,6), anaplastik/büyük hücreli alt tip (%12,8) ve ileri derecede nodülerite gösteren alt tip (%3,7) olarak bulunmuş; moleküler alt tipler içinde ise en baskın grup non-WNT/non-SHH (%50,5), SHH aktif tip (%40,8) ve WNT aktif tip (%8,7) olarak belirlenmiştir. Bu durum literatür ile uyum sergilemektedir(22).

Moleküler sınıflamaya göre WNT aktif tümörler çoğunlukla klasik histolojik alt tip, daha az oranda ise büyük hücreli/anaplastik morfoloji göstermektedir. Grup 3 ve grup 4 tümörler klasik ve büyük/hücreli anaplastik morfoloji sergilemektedir. Desmoplastik/nodüler MB ve ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastomların tümü SHH aktif tümörlerdir. Desmoplastik MB'lar dışında daha az oranda klasik ve büyük hücreli/anaplastik tip MB'lar da SHH aktif grupta yer almaktadır. SHH aktif tümörler Tp53 mutasyonu açısından değerlendirildiğinde p53 mutant grupta anaplastik/büyük hücreli morfolojinin p53 *wild* tip olan gruba baskınlığı dikkati çekmektedir (1, 4, 22)

Serimizdeki histolojik tiplerin moleküler alt tip dağılımına baktığımızda literatürle uyumlu olarak desmoplastik/nodüler ve ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastomlarının tümünün SHH grubunda izlendiği dikkati çekmiştir. Bununla birlikte klasik medulloblastomların büyük kısmı (%68,9) non-WNT/non-SHH grubuna dahildir. Anaplastik/büyük hücreli medulloblastomların ise en sık (%35,7) SHH-p53 mutant olmayan grupta izlendiği görülmüştür.

Moleküler tiplerin histolojik dağılımı verilerimize göre ise WNT aktif tümörler klasik veya anaplastik/büyük hücreli medulloblastomları, SHH aktif tümörler tüm morfolojideki medulloblastomları, WNT/SHH dışı tümörler ise klasik veya anaplastik/büyük hücreli medulloblastomları içermektedir. WNT aktif tümörlerin %68,4'ü klasik morfoloji, %31,6'sı anaplastik/büyük hücreli morfoloji göstermektedir. SHH aktif grupta desmoplastik medulloblastomlar sıklıkla p53 *wild* iken, anaplastik/büyük hücreli morfoloji sergileyenler de daha ziyade p53 mutant

olarak izlenmiştir. Non-WNT/non-SHH tümörlerde %92,7 oranında klasik morfoloji, %7,3 oranında ise anaplastik/büyük hücreli morfoloji görülmüştür.

Zhukova ve arkadaşlarının Tp53 mutasyonuna yönelik yapmış oldukları çalışmada tüm medulloblastomların %10'unda p53 mutasyonu izlenmiştir. p53 mutant hastaların yaklaşık olarak %68'i SHH, %27'si WNT aktif, %2,4'ü ise non-WNT/non-SHH grubuna dahildir. Genel sağkalım analizlerine göre p53 mutant ve p53 *wild* grupları karşılaştırdıklarında SHH aktif grupta yer alan olgularda mutasyon varlığının ciddi bir kötü prognostik faktör olduğu, WNT aktif gruptaki olgularda ise anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı dikkati çekmektedir (28).

Bu nedenle özellikle SHH aktif grubu Tp53 mutasyon durumuna göre kategorize etmek prognostik açıdan önemlidir.

Serimizdeki 218 hastanın 20'sinde (%9,2) p53 ile mutant paternde kuvvetli boyanma izlenmiştir. 198 hastada ise (%90,8) p53 "*wild*" tip boyanmıştır.

Tp53 mutasyonu oransal olarak literatürle uyumlu olarak anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlarda daha yaygın izlenmektedir. Bununla birlikte histolojik alt tip dağılımına baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p=0,636$). Anaplastik/büyük hücreli medulloblastomların 4'ünde (%14,3); ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastomların 1'inde (%12,5); desmoplastik/nodüler MB'ların 4'ünde (%11,8) ve klasik medulloblastomların 11'inde (%7,4) p53 mutant paternde boyanma göstermiştir.

p53 mutant 20 hastanın moleküler alt tip dağılımına baktığımızda literatür ile uyumlu olarak 15 hastanın (%75) SHH aktif, 3 hastanın (%15) WNT aktif, 2 hastanın (%10) ise non-WNT/non SHH grupta olduğu görülmüştür(28).

Bizim serimizde Tp53 mutasyonu tek başına anlamlı bir prognostik faktör olarak bulunmamış olsa ($p=0,553$) da SHH p53 mutant grubun SHH p53 mutant olmayan gruba göre daha fazla eksitus ve nüks oranına sahip olduğu dikkati çekmektedir.

Literatürde medulloblastomların prognozuna histolojik ve moleküler alt tipler kadar etkisi olan sitogenetik değişiklikler de tanımlanmıştır. Genellikle FISH (floresan in situ hibridizasyon) yöntemi ile bakılan bu değişikliklerden bir kısmı N-myc ve C-myc amplifikasyonları, monozomi 6, GLI2 ve OTX2 amplifikasyonları, 1q kazancı, 17p kaybı, 17q kazancı, izokromozom 17, 10q kaybı ve CDK6 amplifikasyonudur. Bu değişiklikler içinde en sık görüleni (%80) izokromozom 17'dir. Monozomi 6 genellikle WNT aktif tümörlerde tanımlanmış olup iyi prognozla ilişkilendirilmiştir. Diğer sitogenetik değişiklikler ise genellikle kötü prognoz göstergesidir.(1, 62, 63)

Grup 3 ve grup 4 tümörleri ayırt etmek için ise gold standart transkripsiyon profillerine bakılmasıdır (30).

WNT aktif tümörler, grup 3 tümörler ve daha az oranda SHH aktif tümörler C-myc amplifikasyonu, SHH aktif tümörler N-myc amplifikasyonu, grup 4 tümörler ise düşük oranda N-myc ve C- amplifikasyonu göstermektedirler. Histolojik ve moleküler alt tiplerden bağımsız olarak N-myc ve C-myc amplifikasyonları kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (21, 22, 24, 30, 47, 48, 58, 61).

Serimizde 11 hastada (%5) N-myc amplifikasyonu, 19 hastada (%8,7) C-myc amplifikasyonu saptanmıştır. Bu dağılım literatür ile uyumludur (46). N-myc amplifikasyonu gösteren hiçbir hastada C-myc amplifikasyonu; aynı şekilde C-myc amplifikasyonu gösteren hiçbir hastada N-myc amplifikasyonu izlenmemiştir.

C-myc amplifikasyonu klasik tip ve anaplastik/büyük hücreli tipte daha sık izlenirken ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom vakalarında izlenmemiştir, ve bu durum istatistiksel olarak anlamlıdır (**p=0,008**). N-myc amplifikasyonu da C-myc amplifikasyonu gibi klasik ve LCA alt tiplerinde daha sık izlenmiş, ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastom vakalarımızda saptanmamıştır. Fakat bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p= 0,81).

Bizim olgularımızda moleküler alt tipler içindeki N-myc ve C-myc amplifikasyon durumuna baktığımızda ise literatürle uyumlu olarak N-myc

amplifikasyonu non-WNT/non-SHH grubu ve SHH aktive grupta izlenirken, WNT aktif tümörlerde N-myc amplifikasyonu saptanmamıştır. Bununla birlikte bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,441$).

C-myc amplifikasyonu ise tüm moleküler alt gruplarda değişen oranlarda izlenmekle birlikte anlamlı biçimde non-WNT/non-SHH grubunda saptanmıştır (**$p=0,006$**). C-myc amplifikasyonu gösteren 19 hastanın 4'ü ise SHH aktif grupta yer almaktadır. Grup 3 ve WNT aktif tümörlere oranla daha az oranda da olsa SHH aktif tümörlerde de C-myc amplifikasyonunu bildiren yayınlar mevcuttur(22, 64).

N-myc (**$p=0,034$**) ve C-myc (**$p=0,009$**) amplifikasyonu, histolojik ve moleküler alt tiplerden ve diğer faktörlerden bağımsız olarak kötü prognostik faktör olarak saptanmıştır.

Kool ve ark'nın yapmış olduğu 402 vakalık seride histolojik alt tiplerin prognostik özelliklerine bakıldığında desmoplastik medulloblastomların en iyi, klasik medulloblastomların orta, anaplastik/büyük hücreli medulloblastomların ise en kötü seyirli olduğu görülmüştür (20). Desmoplastik medulloblastomları kendi içinde incelediğimizde ise ileri derecede nodülerite gösteren MB'ların desmoplastik/nodüler tipe göre çok daha iyi prognozlu olduğu bilinmektedir (1)

Massimino ve ark.nın yapmış olduğu başka bir çalışmada medulloblastom histolojik alt tiplerinin prognoza en önemli katkı yapan faktör olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmaya göre 5 yıllık EFS (*event-free survival*) oranlarına histolojik varyantların katkıları incelenmiş ve desmoplastik medulloblastomlarda %82, klasik medulloblastomlarda %78, anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlarda ise %44 bulunmuştur ($p=0,01$) (19)

Moleküler alt tiplerin prognoza olan yansımalarına bakıldığında ise WNT aktif tümörlerin iyi, SHH aktif ve grup 4 tümörlerin orta, grup 3 tümörlerin ise kötü prognozlu oldukları gösterilmiştir.(22, 24, 47, 56, 61, 62)

Serimizde histolojik alt tiplere göre genel sağkalım açısından desmoplastik/nodüler alt tip 114 ay, ileri derecede nodülerite gösteren tip 104 ay,

anaplastik büyük hücreli alt tip 62 ay, klasik alt tip ise 52 ay olarak izlenmiştir. Desmoplastik/nodüler ve ileri derecede nodülerite gösteren alt grupları genel sağkalım analizlerinde nispeten benzer sonuçlarından dolayı nodüler medulloblastomlar tek bir grupta birleştirdiğimizde literatür ile uyumlu bulgular elde edilmiş ancak bu değer sayısal olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,687$).

Moleküler alt tiplerin prognoza olan yansımalarına baktığımızda ise medyan sağkalım süreleri SHH aktif p53 *wild* tip olan medulloblastomlarda 104 ay, non-WNT/non-SHH grupta 52 ay, SHH aktif p53 mutant grupta ise 32 aydır. WNT aktif olan gruptaki hastaların yarısından fazlası halen yaşıyor olduğundan medyan sağ kalım değeri hesaplanamamıştır. Genel sağkalım analizlerinde literatür ile nispeten uyumlu bir grafik çizilmiş olmasına karşın klinik izlemine ulaşılan hastaların oransal azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ($p=0,468$).

Çalışmamızda beklenilenin aksine (22, 24, 47, 56, 61, 62) non-WNT/non-SHH gruptaki hastalar, SHH aktif p53 mutant gruba göre daha uzun medyan sağ kalım süresine sahiptir. Ancak bu durum daha detaylı incelendiğinde moleküler alt grupların prognoza olan etkilerinde, yaş faktörünün de önemli bir yansıması olduğudur. Schwalbe ve ark. yanı sıra Kool ve ark.nın yapmış oldukları çalışmalarda SHH aktif tümörlerin infantlarda daha iyi prognozlu iken; çocuk ve yetişkinlerde daha kötü seyredebileceği görülmüştür (20, 58). Bu durum non-WNT/non-SHH grubundaki tümörlerle prognostik olarak karşılaştırıldığında yaşa bağlı olarak farklı sonuçlar çıkmasına sebep olmuştur.

Tek değişkenli analizler sonucunda, genel sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunan faktörler yaş, cinsiyet, N-myc amplifikasyonu, C-myc amplifikasyonu ve tanı anında metastaz durumu olarak belirlenmiştir. Buna göre 3 yaşın altında olmak, erkek cinsiyet, N-myc veya C-myc amplifikasyonu göstermek ve tanı anında metastaz izlenmesi kötü prognostik faktörler olarak öne çıkmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar:

- 1) Bu çalışma ile bölümümüzde medulloblastom tanısı alan 218 olgu histomorfolojik özelliklerine göre yeniden incelenmiş; GAB1, YAP1, Filamin A, β -katenin ve p53 immünohistokimyasal yöntemleri kullanılarak DSÖ 2016'ya göre moleküler alt tiplendirme yapılmıştır. Tüm hastalar yaşam süreleri analizleri ve karşılaştırmalı analizler ile değerlendirilmiştir.
- 2) Tüm vakalarda FISH yöntemi kullanılarak N-myc ve C-myc amplifikasyonları değerlendirilmiştir.
- 3) Serimizdeki histolojik ve moleküler alt tip dağılımları, amplifikasyon oranları ve prognostik veriler literatür ile uyumlu bulunmuştur.
- 4) WNT aktif olan grupta 19; SHH aktif grupta 89, non-WNT/non- SHH grubunda ise 110 hasta bulunmaktadır. SHH grubundaki hastalar prognostik önemi açısından p53 mutant ve p53 mutant olmayan olarak iki kategoriye ayrıldığında ise SHH grubu p53 mutant olan 15, p53 mutant olmayan 74 hasta izlenmiştir.
- 5) Prognostik olarak olgular incelendiğinde desmoplastik/nodüler ve ileri derecede nodülerite gösteren medulloblastomlar iyi, klasik tip medulloblastomlar orta, anaplastik/büyük hücreli medulloblastomlar ise en kötü prognozlu grup olarak belirlenmiştir.
- 6) Moleküler alt tipleri prognostik olarak incelediğimizde ise WNT aktif grup iyi, SHH aktif p53 "wild" tip orta, SHH aktif p53 mutant ve non-WNT/non-SHH grubu ise kötü prognozlu olarak değerlendirilmiştir.
- 7) Tp53 mutasyonu tüm olgular ele alındığında anlamlı bir kötü prognostik faktör olarak bulunmamıştır ancak SHH aktif gruptaki tümörler arasında p53 mutant olanlar p53 "wild" tip olan gruba göre daha kısa medyan sağ kalım süresine sahiptir.

8) Tek değişkenli analizler sonucunda, genel sağ kalım açısından istatistiksel olarak en anlamlı bulunan faktörler yaş, cinsiyet, N-myc amplifikasyonu, C-myc amplifikasyonu ve tanı anında metastaz durumu olarak belirlenmiştir. Buna göre 3 yaşın altında olmak, erkek cinsiyet, N-myc veya C-myc amplifikasyonu göstermek ve tanı anında metastaz varlığı kötü prognostik faktörler olarak öne çıkmaktadır.

9) Geriye doğru eleme değişken seçim yöntemi kullanılarak yapılan çok değişkenli Cox orantısal *hazard* regresyon analizi sonucunda genel sağkalımı en anlamlı olarak etkileyen faktörler yaş, cinsiyet ve histolojik alt grup olarak bulunmuştur. 3 yaşın altında olmak, erkek cinsiyet kötü prognostik faktör iken MBEN histolojik alt grubuna dahil olmak iyi prognostik faktördür.

10) Yaş, metastaz durumu ve postoperatif tümör yükü değerlendirilerek tanı anında oluşturulan risk klasifikasyonu prognostik açıdan halen değerlidir.

11) İmmunohistokimyasal yöntemlerle oluşturulan moleküler alt grupların karşılaştırmasını yapmak amacıyla literatürde gold standart olarak transkripsiyon profili ve sitogenetik çalışmalar ile gen mutasyonlarının gösterilmesi yer almaktadır (30). Yanısıra prognostik önemleri açısından tüm medulloblastom olgularında özellikle izokromozom 17 ve monozomi 6 varlığı araştırılmalıdır(65).

12) Çalışmamızın en önemli eksiği bu karşılaştırmayı yapabilmek adına yeterli teknolojik imkana sahip olmayışımızdır. Bununla birlikte kullandığımız immünohistokimyasal panel ile oluşturulan moleküler alt gruplar hem dağılım, hem de prognostik olarak literatürle uyumlu veriler elde edilmesini sağlamıştır.

Öneriler

1) Medulloblastomların histomorfolojik alt tip yanı sıra moleküler alt tip olarak sınıflandırılması prognostik açıdan çok önemlidir.

2) Moleküler yöntemlerin özellikle ülkemiz şartlarında her labarotuarda bulunmaması göz önüne alındığında daha pratik bir yöntem olan

immünohistokimyasal yöntemler ile bu alt tiplerin belirlenmesi hastaların takibi ve muhtemel tedavileri açısından anlamlıdır.

3) YAP1 ve/veya Filamin A yanı sıra GAB1, β -katenin ve p53 bu moleküler yöntemleri en pratik şekilde oluşturmada kullanılacak olan immünohistokimyasal antikordur.

4) Moleküler alt tiplerin belirlenmesi ve patoloji raporlarında histopatolojik alt tipler ile birlikte, entegre tanı olarak kullanılması kliniğe daha somut bilgiler verecektir.

5) Mümkün olduğu her durumda, histopatolojik ve moleküler alt tipler yanı sıra tüm medulloblastom olgularının, prognostik açıdan önemi olacağı düşünülerek N-myc, C-myc amplifikasyon durumları ve Tp53 mutasyon durumu da değerlendirilmelidir.

6) Teknolojinin ve imkanların genişlemesi durumunda immunohistokimyasal panel kullanılarak oluşturulan moleküler alt grupların doğrulanması için transkripsiyon profillerine bakılması, sitogenetik çalışmalar yapılması veya NGS ile tüm gen analizinin çıkarılması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Louis DN. WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System. 2016.
2. Juan R. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 2011.
3. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta neuropathologica*. 2016;131(6):803-20.
4. Northcott PA, Dubuc AM, Pfister S, Taylor MD. Molecular subgroups of medulloblastoma. *Expert review of neurotherapeutics*. 2012;12(7):871-84.
5. Louis DN, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, Deimling A, et al. International Society of Neuropathology-Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain pathology*. 2014;24(5):429-35.
6. Louis D. WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System. 2007.
7. Ostrom QT, Gittleman H, Xu J, Kromer C, Wolinsky Y, Kruchko C, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2009–2013. *Neuro-Oncology*. 2016;18(suppl_5):v1-v75.
8. Perry A. *Practical Surgical Neuropathology*. 2010.
9. Mark C. *Brain tumors* 2010.
10. Hannes V. *Nervous System Cambridge Illustrated Surgical Pathology*. 2009.
11. Perreault S, Ramaswamy V, Achrol A, Chao K, Liu T, Shih D, et al. MRI surrogates for molecular subgroups of medulloblastoma. *American Journal of Neuroradiology*. 2014;35(7):1263-9.
12. Grammel D, Warmuth-Metz M, von Bueren AO, Kool M, Pietsch T, Kretzschmar HA, et al. Sonic hedgehog-associated medulloblastoma arising from the cochlear nuclei of the brainstem. *Acta neuropathologica*. 2012;123(4):601-14.
13. Marshall GM, Carter DR, Cheung BB, Liu T, Mateos MK, Meyerowitz JG, et al. The prenatal origins of cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2014;14(4):277-89.
14. Gibson P, Tong Y, Robinson G, Thompson MC, Currie DS, Eden C, et al. Subtypes of medulloblastoma have distinct developmental origins. *Nature*. 2010;468(7327):1095-9.
15. Rossi A, Caracciolo V, Russo G, Reiss K, Giordano A. Medulloblastoma: from molecular pathology to therapy. *Clinical cancer research*. 2008;14(4):971-6.
16. Varley JM, Evans D, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome--a molecular and clinical review. *British journal of cancer*. 1997;76(1):1.
17. Adesina AM, Nalbantoglu J, Cavenee WK. p53 gene mutation and mdm2 gene amplification are uncommon in medulloblastoma. *Cancer Research*. 1994;54(21):5649-51.
18. Northcott PA, Nakahara Y, Wu X, Feuk L, Ellison DW, Croul S, et al. Multiple recurrent genetic events converge on control of histone lysine methylation in medulloblastoma. *Nature genetics*. 2009;41(4):465-72.

19. Massimino M, Antonelli M, Gandola L, Miceli R, Pollo B, Biassoni V, et al. Histological variants of medulloblastoma are the most powerful clinical prognostic indicators. *Pediatric blood & cancer*. 2013;60(2):210-6.
20. Kool M, Korshunov A, Remke M, Jones DT, Schlanstein M, Northcott PA, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta neuropathologica*. 2012;123(4):473-84.
21. Goschzik T, Zur Mühlen A, Kristiansen G, Haberler C, Stefanits H, Friedrich C, et al. Molecular stratification of medulloblastoma: comparison of histological and genetic methods to detect Wnt activated tumours. *Neuropathology and applied neurobiology*. 2015;41(2):135-44.
22. Ellison DW, Dalton J, Kocak M, Nicholson SL, Fraga C, Neale G, et al. Medulloblastoma: clinicopathological correlates of SHH, WNT, and non-SHH/WNT molecular subgroups. *Acta neuropathologica*. 2011;121(3):381-96.
23. Corr M. Wnt- β -catenin signaling in the pathogenesis of osteoarthritis. *Nature clinical practice Rheumatology*. 2008;4(10):550-6.
24. Ellison D. Methods and compositions for typing molecular subgroups of medulloblastoma. Google Patents; 2015.
25. Ellison DW, Onilude OE, Lindsey JC, Lusher ME, Weston CL, Taylor RE, et al. β -Catenin status predicts a favorable outcome in childhood medulloblastoma: the United Kingdom Children's Cancer Study Group Brain Tumour Committee. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(31):7951-7.
26. Riffaud L, Saikali S, Leray E, Hamlat A, Haegelen C, Vauleon E, et al. Survival and prognostic factors in a series of adults with medulloblastomas. *Journal of neurosurgery*. 2009;111(3):478-87.
27. Scotting PJ, Walker DA, Perilongo G. Childhood solid tumours: a developmental disorder. *Nature Reviews Cancer*. 2005;5(6):481-8.
28. Zhukova N, Ramaswamy V, Remke M, Pfaff E, Shih DJ, Martin DC, et al. Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(23):2927-35.
29. Northcott PA, Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Eberhart CG, Mack S, et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;29(11):1408-14.
30. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, Remke M, Cho Y-J, Clifford SC, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta neuropathologica*. 2012;123(4):465-72.
31. Gajjar AJ, Robinson GW. Medulloblastoma [mdash] translating discoveries from the bench to the bedside. *Nature reviews Clinical oncology*. 2014;11(12):714-22.
32. Kool M, Koster J, Bunt J, Hasselt NE, Lakeman A, Van Sluis P, et al. Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PloS one*. 2008;3(8):e3088.


33. Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. *Cell*. 2006;127(3):469-80.
34. Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell*. 2012;149(6):1192-205.
35. Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes & development*. 2000;14(15):1837-51.
36. Gong A, Huang S. FoxM1 and Wnt/ β -catenin signaling in glioma stem cells. *Cancer research*. 2012;72(22):5658-62.
37. Fernandez-L A, Northcott PA, Dalton J, Fraga C, Ellison D, Angers S, et al. YAP1 is amplified and up-regulated in hedgehog-associated medulloblastomas and mediates Sonic hedgehog-driven neural precursor proliferation. *Genes & development*. 2009;23(23):2729-41.
38. Rosenbluh J, Nijhawan D, Cox AG, Li X, Neal JT, Schafer EJ, et al. β -Catenin-driven cancers require a YAP1 transcriptional complex for survival and tumorigenesis. *Cell*. 2012;151(7):1457-73.
39. Gumbiner BM, Kim N-G. The Hippo-YAP signaling pathway and contact inhibition of growth. *J Cell Sci*. 2014;127(4):709-17.
40. Itoh M, Yoshida Y, Nishida K, Narimatsu M, Hibi M, Hirano T. Role of Gab1 in heart, placenta, and skin development and growth factor- and cytokine-induced extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase activation. *Molecular and Cellular Biology*. 2000;20(10):3695-704.
41. Robertson SP, Twigg SR, Sutherland-Smith AJ, Biancalana V, Gorlin RJ, Horn D, et al. Localized mutations in the gene encoding the cytoskeletal protein filamin A cause diverse malformations in humans. *Nature genetics*. 2003;33(4):487-91.
42. Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, Lu D, Marks MA, Shih IM, et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Modern pathology*. 2011;24(9):1248-53.
43. Gilbertson RJ, Ellison DW. The origins of medulloblastoma subtypes. *Annu Rev pathmechdis Mech Dis*. 2008;3:341-65.
44. Huang M, Weiss WA. Neuroblastoma and MYCN. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013;3(10):a014415.
45. Park AK, Lee S-J, Phi JH, Wang K-C, Kim DG, Cho B-K, et al. Prognostic classification of pediatric medulloblastoma based on chromosome 17p loss, expression of MYCC and MYCN, and Wnt pathway activation. *Neuro-oncology*. 2012;14(2):203-14.
46. Lau J, Schmidt C, Markant SL, Taylor MD, Wechsler-Reya RJ, Weiss WA. Matching mice to malignancy: molecular subgroups and models of medulloblastoma. *Child's Nervous System*. 2012;28(4):521-32.
47. Kaur K, Kakkar A, Kumar A, Mallick S, Julka PK, Gupta D, et al. Integrating molecular subclassification of medulloblastomas into routine clinical practice: A simplified approach. *Brain Pathology*. 2015.

48. Pomeroy SL, Loeffler JS, Wen PY, Gajjar A, Eichler AF. Histopathology and molecular pathogenesis of medulloblastoma. UpToDate, edited by AF Eichler, UpToDate, Waltham, MA. 2015.
49. Fisher PG, Burger PC, Eberhart CG. Biologic risk stratification of medulloblastoma: the real time is now. *American Society of Clinical Oncology*; 2004.
50. Gottardo NG, Gajjar A. Current therapy for medulloblastoma. *Current treatment options in neurology*. 2006;8(4):319-34.
51. Rood BR, MacDonald TJ, Packer RJ, editors. *Current treatment of medulloblastoma: recent advances and future challenges*. *Seminars in oncology*; 2004: Elsevier.
52. Landier W, Bhatia S, Eshelman DA, Forte KJ, Sweeney T, Hester AL, et al. Development of risk-based guidelines for pediatric cancer survivors: the Children's Oncology Group Long-term Follow-up Guidelines from the Children's Oncology Group Late Effects Committee and Nursing Discipline. *Journal of Clinical Oncology*. 2004;22(24):4979-90.
53. Zeltzer PM, Boyett JM, Finlay JL, Albright AL, Rorke LB, Milstein JM, et al. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children's Cancer Group 921 randomized phase III study. *Journal of Clinical Oncology*. 1999;17(3):832-.
54. Köbel M, Reuss A, Bois Ad, Kommos S, Kommos F, Gao D, et al. The biological and clinical value of p53 expression in pelvic high-grade serous carcinomas. *The Journal of pathology*. 2010;222(2):191-8.
55. Zhao F, Ohgaki H, Xu L, Giangaspero F, Li C, Li P, et al. Molecular subgroups of adult medulloblastoma: a long-term single-institution study. *Neuro-oncology*. 2016;18(7):982-90.
56. Ellison DW, Kocak M, Dalton J, Megahed H, Lusher ME, Ryan SL, et al. Definition of disease-risk stratification groups in childhood medulloblastoma using combined clinical, pathologic, and molecular variables. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;29(11):1400-7.
57. Northcott PA, Shih DJ, Remke M, Cho Y-J, Kool M, Hawkins C, et al. Rapid, reliable, and reproducible molecular sub-grouping of clinical medulloblastoma samples. *Acta neuropathologica*. 2012;123(4):615-26.
58. Schwalbe EC, Lindsey JC, Nakjang S, Crosier S, Smith AJ, Hicks D, et al. Novel molecular subgroups for clinical classification and outcome prediction in childhood medulloblastoma: a cohort study. *The Lancet Oncology*. 2017.
59. Rudin CM, Hann CL, Laterra J, Yauch RL, Callahan CA, Fu L, et al. Treatment of medulloblastoma with hedgehog pathway inhibitor GDC-0449. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(12):1173-8.
60. Thompson MC, Fuller C, Hogg TL, Dalton J, Finkelstein D, Lau CC, et al. Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations. *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24(12):1924-31.

61. Cho Y-J, Tsherniak A, Tamayo P, Santagata S, Ligon A, Greulich H, et al. Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;29(11):1424-30.
62. Shih DJ, Northcott PA, Remke M, Korshunov A, Ramaswamy V, Kool M, et al. Cytogenetic prognostication within medulloblastoma subgroups. *Journal of Clinical Oncology*. 2014;32(9):886-96.
63. Korshunov A, Remke M, Werft W, Benner A, Ryzhova M, Witt H, et al. Adult and pediatric medulloblastomas are genetically distinct and require different algorithms for molecular risk stratification. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(18):3054-60.
64. Roussel MF, Robinson GW. Role of MYC in Medulloblastoma. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013;3(11):a014308.
65. Pfister S, Remke M, Benner A, Mendrzyk F, Toedt G, Felsberg J, et al. Outcome prediction in pediatric medulloblastoma based on DNA copy-number aberrations of chromosomes 6q and 17q and the MYC and MYCN loci. *Journal of clinical oncology*. 2009;27(10):1627-36.

EKLER

1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 33

Konu :
ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 05.04.2016 SALI
Toplantı No : 2016/07
Proje No : GO 16/160 (Değerlendirme Tarihi : 05.04.2016)
Karar No : GO 16/160 - 12

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Figen SOYLEMEZOĞLU' nun sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Canan AKYÜZ, Prof. Dr. Ali VARAN ve Yrd. Doç. Dr. Aml DOLGUN ile birlikte çalışacakları ve Dr. Berrin BABAOĞLU' nun tezi olan, GO 16/160 kayıt numaralı ve "**Medulloblastom Subtıplendirmesinde İmmunohistokimyasal Yaklaşım**" başlıklı proje önerisi araştırmannın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

1. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU (Başkan)	10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye)
2. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Üye)	11. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM (Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA (Üye)	12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye)
4. Prof. Dr. Cenk SÖKMENSÜER (Üye)	13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye)
5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye)	14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye)
6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye)	15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüseyin TURNAGÖL (Üye)
7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye)	16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye)
8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye)	17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN (Üye)
9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye)	18. Av. Meltem ONURLU (Üye)

IZINLI

Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
06100 Sıhhiye-Ankara
Telefon: 0 (312) 305 1082 • Faks: 0 (312) 310 0580 • E-posta: goetik@hacettepe.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi için:

2. İncelenen hastaların biyopsi numaraları

hasta no	yıl	biyopsi no	histolojik alt tip	TP53 mutasyonu	moleküler alt tip	N-MYC	C-MYC	TMA blok no
1	1981	1158	1	2	3	2	2	1
2	1981	1361	1	2	1	2	2	1
3	1981	3634	1	2	4	3	3	1
4	1981	3964	1	2	3	3	3	1
5	1981	4252	1	2	4	3	3	1
6	1981	4494	1	2	4	2	2	1
7	1981	5990	1	2	3	2	2	1
8	1981	6205	1	2	4	2	2	1
9	1982	549	1	2	4	2	2	1
10	1982	716	1	2	4	2	2	1
11	1982	811	1	2	4	2	2	1
12	1982	1548	1	2	4	2	2	1
13	1982	3075	1	2	4	2	2	1
14	1982	4669	1	2	4	2	1	1
15	1982	6335	4	2	4	2	1	14
16	1982	7053	2	2	3	2	2	1
17	1982	9534	1	2	1	2	1	2
18	1983	393	1	1	4	2	2	2
19	1983	2448	2	2	3	1	2	2
20	1983	2691	1	2	3	3	3	2
21	1983	4960	1	2	4	2	2	2
22	1983	5374	1	2	4	2	2	2
23	1983	5375	1	2	4	2	2	2
24	1983	5607	1	2	4	2	2	2
25	1983	6468	1	1	2	3	2	2
26	1983	7336	3	2	3	2	2	2
27	1983	7940	1	2	4	3	3	2
28	1984	916	2	2	3	2	2	2
29	1984	2251	1	2	4	3	3	2
30	1984	2840	1	2	4	2	2	2
31	1984	3508	1	2	4	2	2	2
32	1984	3828	1	2	3	2	2	3
33	1984	6168	4	2	1	3	2	3
34	1984	7131	1	2	3	3	3	3
35	1984	8666	1	2	3	2	2	3
36	1985	580	1	2	4	3	3	3
37	1985	2367	1	2	3	2	2	3

38	1985	2903	1	2	4	1	2	3
39	1985	5091	1	2	4	2	2	3
40	1985	5925	1	2	4	2	1	3
41	1985	6101	4	2	1	2	1	14
42	1985	6779	1	2	4	2	2	3
43	1985	7590	1	2	4	2	2	3
44	1985	7625	1	2	4	2	2	3
45	1985	8432	1	2	3	2	1	3
46	1985	9093	3	2	3	2	2	3
47	1986	173	1	2	3	2	2	3
48	1986	2979	1	2	4	2	1	4
49	1986	4876	1	2	4	3	3	4
50	1986	6540	1	2	4	2	2	4
51	1986	7022	2	2	3	2	1	4
52	1986	9169	2	2	3	2	2	4
53	1986	9964	2	1	2	2	2	4
54	1986	11095	1	2	4	1	2	4
55	1987	805	2	2	3	2	2	4
56	1987	3066	1	2	4	2	2	4
57	1987	6056	1	2	4	2	2	4
58	1987	7403	3	1	2	3	3	4
59	1987	7971	1	2	4	2	2	4
60	1987	9372	2	2	3	2	2	4
61	1987	10775	1	2	4	2	2	4
62	1988	82	1	2	4	3	2	4
63	1988	2185	1	2	3	1	2	5
64	1988	2683	1	2	1	2	2	5
65	1988	4465	1	2	1	2	2	5
66	1988	5153	1	2	4	2	2	5
67	1988	7002	1	1	1	2	2	5
68	1988	9441	1	2	4	2	2	5
69	1988	9615	1	2	3	2	2	5
70	1988	10081	1	2	4	2	2	5
71	1988	11284	2	2	3	2	2	5
72	1988	11425	4	2	4	2	2	14
73	1989	7152	2	2	3	2	2	5
74	1989	8289	2	1	2	2	2	5
75	1989	8561	1	2	4	3	3	5
76	1989	9156	2	2	3	2	2	5
77	1989	9983	2	2	3	2	2	5
78	1989	11439	1	2	4	2	2	5
79	1990	2252	1	2	4	3	3	6
80	1990	5792	1	2	4	3	3	6
81	1990	6122	1	2	4	2	2	6

82	1990	6869	1	2	4	2	2	6
83	1990	9779	1	2	4	2	2	6
84	1990	11312	1	2	4	2	2	6
85	1990	11451	1	2	4	2	2	6
86	1990	11588	1	2	3	2	2	6
87	1990	12734	1	2	3	3	3	6
88	1991	4121	1	2	4	2	2	6
89	1991	8344	1	2	3	2	2	6
90	1991	12719	1	2	4	3	2	6
91	1991	13822	1	2	4	2	2	6
92	1992	26	2	2	3	2	2	6
93	1992	210	1	2	3	2	2	6
94	1992	357	1	1	2	2	2	7
95	1993	3579	1	2	4	2	2	7
96	1993	3588	1	2	1	2	2	7
97	1993	5533	1	1	4	2	2	7
98	1993	6105	1	2	4	3	2	7
99	1993	7679	1	1	2	2	2	7
100	1993	9748	1	2	4	2	2	7
101	1994	2536	4	2	3	1	2	14
102	1994	2687	1	1	2	2	2	7
103	1994	7340	1	2	4	3	3	7
104	1994	12627	4	2	3	1	2	14
105	1995	4311	1	2	4	2	1	7
106	1995	5273	1	2	4	2	2	7
107	1995	5559	1	2	4	2	1	7
108	1995	11555	1	2	4	1	2	7
109	1995	14817	1	2	4	2	2	7
110	1995	16454	1	2	3	2	2	8
111	1996	6238	1	2	4	3	2	8
112	1996	9343	4	2	3	1	2	8
113	1996	10522	3	2	3	2	2	8
114	1996	12359	4	2	4	3	2	14
115	1996	14056	2	2	3	2	2	8
116	1996	15197	2	2	3	2	2	8
117	1997	1455	1	2	4	3	2	8
118	1997	1808	1	2	4	2	3	8
119	1997	5379	2	2	3	2	2	8
120	1997	17809	1	2	4	2	2	8
121	1998	907	2	2	3	2	2	8
122	1998	1514	1	2	3	2	2	8
123	1998	5471	1	2	4	2	2	8
124	1998	7951	1	2	4	2	3	8
125	1998	8332	1	2	4	3	3	8

126	1998	9043	1	2	4	2	3	9
127	1998	10664	1	2	4	2	3	9
128	1998	10962	1	2	4	3	3	9
129	1998	12625	3	2	3	2	2	9
130	1998	13176	5	1	2	2	3	9
131	1998	13848	4	2	1	2	1	14
132	1999	674	1	2	4	2	3	9
133	1999	5907	1	2	4	3	3	9
134	2004	3298	4	2	1	2	1	9
135	2004	3591	1	2	4	2	2	9
136	2004	6781	1	2	4	2	1	9
137	2004	7148	2	2	3	2	2	9
138	2004	11222	1	2	3	2	2	9
139	2004	12520	1	2	4	2	2	9
140	2004	12797	1	1	2	2	2	10
141	2004	15009	2	2	3	2	2	10
142	2004	15786	1	2	4	2	2	10
143	2004	15788	4	2	3	2	2	15
144	2004	16704	1	2	4	2	2	10
145	2004	16896	1	2	4	3	3	10
146	2005	3397	2	2	3	2	2	10
147	2005	3686	1	2	4	2	2	10
148	2005	7331	1	2	4	2	2	10
149	2005	13079	2	1	2	2	2	10
150	2005	18232	1	2	1	2	2	10
151	2005	18302	1	2	4	2	2	10
152	2006	239	4	2	4	2	2	15
153	2006	5854	2	2	3	3	3	10
154	2006	9096	1	2	4	2	3	10
155	2006	9951	1	1	1	3	3	10
156	2006	14289	1	2	1	2	2	10
157	2006	15923	1	2	4	3	3	10
158	2006	17058	4	2	3	3	1	15
159	2006	17168	1	2	3	2	2	11
160	2007	354	2	2	3	2	2	11
161	2007	1211	4	2	3	2	2	15
162	2007	4493	1	2	4	2	2	11
163	2007	5212	2	2	3	1	2	11
164	2007	6068	1	2	4	3	3	11
165	2007	6770	1	2	4	2	2	11
166	2007	7111	2	2	3	3	2	11
167	2007	11821	5	1	2	2	2	11
168	2007	13384	1	2	1	2	2	11
169	2007	13469	1	2	4	2	1	11

170	2007	18855	4	2	4	2	2	11
171	2008	2249	1	2	4	3	3	11
172	2008	4614	1	2	3	2	2	11
173	2008	5238	1	2	3	2	2	11
174	2008	5695	1	2	4	2	2	11
175	2008	9410	4	2	1	2	1	11
176	2008	11631	2	2	3	2	2	11
177	2008	12602	1	2	4	2	2	11
178	2008	13671	2	2	3	2	2	12
179	2008	18128	4	1	2	3	2	15
180	2008	19793	1	2	4	2	2	12
181	2008	20527	1	1	2	2	2	12
182	2008	21481	1	2	4	2	2	12
183	2009	2853	1	2	3	3	3	12
184	2009	3374	4	2	3	2	2	12
185	2009	6564	1	2	3	3	2	15
186	2009	7383	1	2	4	2	2	12
187	2009	8618	2	2	3	2	2	12
188	2009	11502	4	2	3	2	2	12
189	2009	14625	1	2	1	2	2	12
190	2009	19519	1	2	3	2	2	12
191	2010	3774	1	2	4	2	1	12
192	2010	4631	2	2	3	2	2	12
193	2010	5736	1	2	4	2	2	12
194	2010	7597	3	2	3	2	2	13
195	2010	11822	2	2	3	2	2	13
196	2010	18009	4	2	4	3	3	13
197	2010	19162	3	2	3	2	2	13
198	2011	4730	4	2	4	2	3	13
199	2011	8752	1	2	4	2	1	13
200	2011	10360	1	2	4	2	2	13
201	2011	11581	1	2	4	2	2	13
202	2011	12611	1	2	3	2	2	13
203	2011	13771	1	1	1	3	3	13
204	2011	19565	1	2	4	1	2	13
205	2012	2618	1	2	4	2	2	13
206	2012	4649	4	1	2	1	2	15
207	2012	18099	4	2	3	2	2	15
208	2012	18101	4	1	2	2	1	15
209	2013	1660	4	2	1	2	2	13
210	2013	1937	1	2	4	3	3	13
211	2013	10580	4	2	3	2	2	15
212	2014	3684	2	2	3	2	2	13
213	2014	8573	3	2	3	2	2	13

214	2014	8946	1	2	3	2	2	13
215	2014	10176	4	2	4	2	2	15
216	2014	10191	1	2	1	3	3	14
217	2014	12079	1	2	4	2	2	14
218	2014	13009	2	2	3	2	2	14

Veri girişleri: Histolojik alt tip: 1:klasik tip, 2:DNMB, 3:ENMB, 4:LCA

Tp53 mutasyonu: 1:mutant, 2:"wild" tip

Moleküler alt tip: 1: WNT aktif, 2: SHH aktif p53 mutant, 3: SHH aktif p53 "wild" tip, 4: Non-WNT/non-SHH

C-myc veya N-myc: 1: amplifiye, 2: non-amplifiye, 3:dökülme sebebiyle sonuç alınamayanlar