



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANA BİLİM DALI



Başkan: Prof. Dr. Büge ÖZ

**SUPRATENTORYUM VE POSTERİOR FOSSA YERLEŞİMLİ
EPENDİMOMLARDA FISH İLE RELA FÜZYONU BAKILMASI VE
İMMÜNHİSTOKİMYASAL L1CAM İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

TIBBİ PATOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Cansu TÜRKER SARIÇOBAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Büge ÖZ

İSTANBUL – 2020

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANA BİLİM DALI**

Başkan: Prof. Dr. Büge ÖZ

**SUPRATENTORYUM VE POSTERİOR FOSSA YERLEŞİMLİ
EPENDİMOMLARDA FISH İLE RELA FÜZYONU BAKILMASI VE
İMMÜNHİSTOKİMYASAL L1CAM İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

TIBBİ PATOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Cansu TÜRKER SARIÇOBAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Büge ÖZ

İSTANBUL – 2020



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje ID: 33752

This study was funded by Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University – Cerrahpaşa.

Project Number: 33752

ÖNSÖZ

Çalışma şevkini, özverisini ve hiç bitmeyen enerjisini her daim örnek aldığım, bilgi birikimi ve deneyimleriyle her zaman yolumu aydınlatan, dekan yardımcılığı ve ana bilim dalı başkanlığı görevlerinin yoğunluğuna ilaveten benim tez danışmanlığımı da üstlenen değerli hocam Prof. Dr. Büge Öz'e saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Asistanlık eğitimim boyunca, her konuda bilgi ve deneyimlerinden faydalanma şansı bulduğum, sorularımı her zaman yanıtlayan, üzerimdeki emekleri çok büyük olan saygıdeğer hocalarım ve uzmanlarıma teşekkür ediyorum.

Kendisine her konuda danışabildiğim, daima yanımda hissettiğim sevgili Dr. Öğr. Üyesi Şebnem Batur'a ve kısa bir süre için bile olsa, kendisiyle tanışma ve çalışma şansı yakaladığım sevgili Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sar'a teşekkür ederim.

Buraya adım attığımız ilk günden itibaren desteklerini daima hissettiğim, hiç çekinmeden yardım isteyebildiğim, çömezliğin uzun akşamlarını eğlenceli kılan, bu süreçte birbirimizi yetiştirdiğimizi düşündüğüm sevgili Kerem ve Cansu Yol; sizlerle eşkıdem olmaktan dolayı kendimi hep çok şanslı hissettim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Selçuk, Özce, Zehra, Zeynep, Deniz, Nil, Şirin, Ayşehanım ve Merve;

Şu an uzman olarak hayatlarına devam eden, birlikte çalışma fırsatı bulmaktan mutluluk duyduğum, en başta Özden ve Gamze olmak üzere diğer tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimi hazırlamamdaki emeklerinden dolayı başta Banu abla ve Bülent abi olmak üzere, Onur'a, Şermin ablaya ve Özge'ye; tezimin istatistiği konusunda yardımlarını esirgemeyen dostlarım Elif Özlem'e ve Evrim'e; tezime yaptığı dokunuşlar için dostum Tara'ya da çok teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım diğer teknisyen arkadaşlara ve personele teşekkür ediyorum.

Beni her konuda destekleyen aileme sonsuz teşekkürler; iyi ki varsınız.

Son teşekkürüm ise hayat arkadaşım, dostum, sevgilim Can'a... Sen olmasan tüm bu zorluklarla baş edemezdim.

Dr. Cansu Türker Sarıçoban

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
GRAFİK LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ TÜMÖRLERİNİN TARİHİ GELİŞİM SÜRECİ	4
2.2. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ TÜMÖRLERİNDE SON (2016) SINIFLAMADAKİ DEĞİŞİKLİKLER.....	5
2.2.1. DİFÜZ GLİOMLAR	6
2.2.2. EPENDİMOMLAR.....	11
2.2.3. MEDULLOBLASTOMLAR	11
2.2.4. DİĞER EMBRİYONEL TÜMÖRLER	12
2.3. EPENDİMOMLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ VE SON DÖNEMDE YAPILAN ÇALIŞMALARIN SINIFLAMAYA ETKİSİ	14
2.4. EPENDİMOMLARIN ALT TIPLERİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ.....	28
2.4.1. SUBEPENDİMOM	28
2.4.2. MİKSOPAPİLLER EPENDİMOM	30
2.4.3. KLASİK EPENDİMOM	31
2.4.3.1. PAPİLLER EPENDİMOM.....	34
2.4.3.2. BERRAK HÜCRELİ EPENDİMOM.....	34
2.4.3.3. TANİSİTİK EPENDİMOM.....	34
2.4.4. RELA FÜZYON POZİTİF EPENDİMOM	34

2.4.5.	ANAPLASTİK EPENDİMOM.....	35
2.5.	RELA FÜZYONU.....	36
2.6.	FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON.....	37
2.7.	İMMÜNOHİSTOKİMYA YÖNTEMİ.....	38
3.	MATERYAL VE METOT.....	39
3.1.	OLGULARIN SEÇİMİ, VERİ TOPLANMASI VE ÇALIŞMANIN DİZAYNI.....	39
3.2.	FISH UYGULAMASI VE ANALİZİ (RELA).....	40
3.3.	İMMÜNOHİSTOKİMYA UYGULAMALARI.....	42
3.4.	İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	42
4.	BULGULAR.....	44
4.1.	VAKALARIN KLİNİK VE HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ.....	44
4.2.	VAKALARIN HİSTOMORFOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ.....	49
4.3.	FISH SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ, KLİNİK PARAMETRELER VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL L1CAM İLE KARŞILAŞTIRILMASI.....	53
4.4.	KLİNİK ÖZELLİKLERE VE FISH SONUÇLARINA GÖRE PROGNOZ VE SAĞKALIM.....	62
5.	TARTIŞMA.....	70
6.	SONUÇLAR.....	86
7.	CONCLUSION.....	88
8.	KAYNAKLAR.....	90

KISALTMALAR

SSST	: Santral sinir sistemi tümörleri
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ST	: Supratentoryal
PF	: Posterior fossa
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
SE	: Subependimom
KE	: Klasik ependimom
AE	: Anaplastik ependimom
ST-SE	: Supratentoryal yerleşimli subependimom
PF-SE	: Posterior fossa yerleşimli subependimom
ST-EPN-RELA	: Supratentoryal RELA-füzyon pozitif ependimom
ST-EPN	: Supratentoryal RELA-füzyon negatif ependimom
PF-EPN	: Posterior fossa yerleşimli ependimom
SSS	: Santral sinir sistemi
SP	: Spinal
MVP	: Mikrovasküler proliferasyon
MPE	: Miksopapiller ependimom
RT	: Radyoterapi
ST-EPN-YAP1	: Supratentoryal YAP1-füzyon pozitif ependimom
PF-EPN-A	: Posterior fossa ependimom grup A
PF-EPN-B	: Posterior fossa ependimom grup B
H&E	: Hematoksilen ve eozin
NOS	: Tanımlanmamış/Başka türlü sınıflandırılmamış (not otherwise specified)
PA	: Pilositik astrositom
PMA	: Pilomiksoid astrositom
SEGA	: Subependimal dev hücreli astrositom
PXA	: Pleomorfik ksantoastrositom
DA	: Difüz astrositom
AA	: Anaplastik astrositom
GBM	: Glioblastom
OD	: Oligodendrogliom
BBA	: Büyük büyütme alanı

AOD	: Anaplastik oligodendrogliom
OA	: Oligoastrocitom
DOHG	: Difüz orta hat gliomu
NEC	: Başka yerde sınıflandırılmamış (not elsewhere specified)
MDB	: Medulloblastom
ETMR	: Çok katlı rozet yapan embriyonel tümör
AT/RT	: Atipik teratoid/rabdoid tümörler
KT	: Kemoterapi
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
RT-PCR	: Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (reverse transcriptase-polimerase chain reaction)
SP-SE	: Spinal yerleşimli subependimom
SP-MPE	: Spinal yerleşimli mikropapiller ependimom
SP-EPN	: Spinal yerleşimli ependimom
ST-AE	: Supratentoryal yerleşimli anaplastik ependimom

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 glial tümör sınıflamaları.....	10
Tablo 2: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 ependimom sınıflamaları.....	11
Tablo 3: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 medulloblastom sınıflamaları.....	11
Tablo 4: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 embriyonel tümör sınıflamaları.....	13
Tablo 5: Anatomik yerleşim yeri ve moleküler alt gruplarına göre modifiye edilmiş ependimom sınıflaması. D: Derece, E: Erkek, K: Kadın	17
Tablo 6: 2011 - 2017 yılları arasında tanı almış glial tümörlerin sayısı ve ependimomların oranı.....	44
Tablo 7: Olguların klinik, histomorfolojik ve moleküler özellikleri.....	45
Tablo 8: Tanı gruplarına göre, cinsiyete göre ve toplamda yaş dağılımı	48
Tablo 9: RELA füzyon pozitif vakaların klinik özellikleri ve immünohistokimyasal L1CAM sonuçları	55

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: 11. Kromozom üzerinde RELA geninin lokalizasyonu 37



GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: ST yerleşimli vakaların histopatolojik tanılarına göre oranları	46
Grafik 2: PF yerleşimli vakaların histopatolojik tanılarına göre oranları	46
Grafik 3: ST ve PF yerleşimli KE ve AE vakalarında morfolojik varyantların görülme yüzdeleri	50
Grafik 4: ST (Grup 1) ve PF (Grup 2) yerleşimli ependimomların sağkalım grafiği	62
Grafik 5: Entegre tanı grupları ile sağkalım arasındaki ilişki	63
Grafik 6: Vakaların histopatolojik tanı/derecesi ile sağkalım ilişkisi	64
Grafik 7: Histolojik derece II ve III vakalar ile sağkalım ilişkisi.....	65
Grafik 8: Vakalarda cinsiyet ile sağkalım ilişkisi	66
Grafik 9: Vakalarda yaş grupları ile sağkalım ilişkisi.....	67
Grafik 10: 18 yaş altı ve 18 yaş üstü gruplarda yaş ile sağkalım ilişkisi	68

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Vakalardan bazılarının morfolojik ve immünohistokimyasal özellikleri	52
Resim 2: ST-EPN-RELA örneği	57
Resim 3: ST-EPN-RELA örneği	58
Resim 4: RELA füzyon pozitif vaka örneği; yakın break-apart paterni.....	59
Resim 5: RELA füzyon negatif vaka örneği	60
Resim 6: RELA füzyon negatif vakada gen kopya sayı artışı.....	61
Resim 7: L1CAM x200, dokunun periferindeki (sağ üst köşe) daha iyi fikse olmuş alanda izlenen daha kuvvetli immünpozitiflik.....	80

ÖZET

SUPRATENTORYUM VE POSTERİOR FOSSA YERLEŞİMLİ EPENDİMOMLARDA FISH İLE RELA FÜZYONU BAKILMASI VE İMMUNHİSTOKİMYASAL L1CAM İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Santral sinir sistemi tümörlerindeki (SSST) genetik incelemeler diagnostik, prognostik ve prediktif açıdan çok önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2016 sınıflaması ile birlikte, SSST'ye tanı koyma konusunda genetik incelemeler, morfoloji kadar önem kazanmıştır. Ependimomlar için, 'RELA füzyon pozitif ependimom' adı altında yeni bir varyant sınıflamaya eklenmiştir.

Çalışmamızda 2011 - 2019 arası ependimom tanısı almış olgular içerisinde supratentoryal (ST) ve posterior fossa (PF) yerleşimli olanlarda RELA füzyonu pozitif olguların saptanması ve L1CAM immünohistokimya pozitifliği ile korelasyonunun araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca sonuçların, klinik ve morfolojik özelliklerle ne derece uyumlu olduğu, tanısal değeri ve olguların sağkalımları değerlendirilmiş, prognostik önemi olup olmadığına bakılmıştır.

Materyal ve metot: Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı'nda tanı almış, ST ve PF yerleşimli, 39 adet derece I, II ve III ependimom vakası alınmıştır. Bu vakalarda floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği ile RELA füzyon varlığı değerlendirilmiştir. Yine tüm vakalara immünohistokimyasal olarak L1CAM antikoruna uygulanmıştır. Her iki sonucun birbirleriyle korelasyonuna bakılmıştır. RELA füzyon pozitifliğinin diagnostik ve prognostik değerleri araştırılmıştır. SPSS 21.0 istatistik programından seçilen testler ile bulguların analizi gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Değerlendirilen ST yerleşimli 24 vakanın 4'ü (%17) subependimom (SE), 6'sı (%25) klasik ependimom (KE), 14'ü (%58) anaplastik ependimom (AE); PF yerleşimli 15 vakanın 1'i (%7) SE, 9'u (%60) KE ve 5'i (%33) AE tanılıdır. PF yerleşimli vakalarda ve 4 adet ST yerleşimli derece I SE vakasında RELA füzyon pozitifliği saptanmadı. 20 ST yerleşimli derece II KE ve derece III AE vakasının 13'ünde FISH çalışması sonucunda sinyal elde edildi. Bu 13 vakanın 7'sinde (%54) RELA füzyon pozitifliği saptandı. RELA füzyon pozitifliği gösteren vakaların tamamı derece III AE vakasıydı. Bu 7 vakanın 6'sında berrak hücre morfolojisi izlenirken, 1'inde belirgin morfolojik varyant seçilmedi. RELA füzyon pozitif vakaların tamamında immünohistokimyasal L1CAM pozitifliği gözlemlendi.

RELA füzyon pozitif vakaların sağkalım oranları RELA füzyon negatif vakalardan daha yüksekti. Takip bilgilerine ulaşılabilen vakalar, sayılarıyla birlikte şu şekilde gruplandırıldı: 1 PF yerleşimli SE (PF-SE), 3 ST yerleşimli SE (ST-SE), 7 RELA füzyon pozitif ependimom (ST-EPN-RELA), 3 RELA füzyon negatif ependimom (ST-EPN) ve 10 PF yerleşimli derece II + III ependimom (PF-EPN). Bu tanı gruplarının sağkalım oranları arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. Histolojik derecenin, yaşın, cinsiyetin, tümör yerleşim bölgesinin (ST veya PF) sağkalım oranlarına etkisi bulunamadı.

Sonuç: RELA füzyon pozitif ependimomlar, DSÖ 2016 SSST sınıflamasının ependimomlar grubuna kazandırılmış ilk moleküler varyant olması açısından değerlidir. Bir sonraki sınıflamada ependimal tümörlerin, lokalizasyonlarına ve gösterdikleri moleküler ve genetik değişikliklere bağlı olarak gruplandırılması öngörülmektedir. Genetik ve moleküler değişikliklerin diagnostik katkılarının yanısıra prognostik ve prediktif etkileri de saptanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Ependimom, RELA füzyon, DSÖ 2016 SSST sınıflaması, L1CAM

ABSTRACT

Objectives: Genetic studies in central nervous system tumors (CNST) play an important role for diagnostic, prognostic and predictive factors. With the 2016 classification of the World Health Organization (WHO), genetic investigations have become as important as morphology in diagnosing CNSTs. For ependymomas, a new variant was defined in the last classification: ‘RELA fusion positive ependymoma’.

We aimed to determine RELA fusion positivity in ependymomas that located in supratentorium (ST), and posterior fossa (PF) which were diagnosed in our department between the years 2011 - 2019, and to investigate its correlation with L1CAM immunoreactivity. In addition, the results were evaluated according to their clinical and morphological features, diagnostic value and survival, and whether they had prognostic significance.

Materials and methods: The study included 39 cases of grade I, II and III ependymomas diagnosed in Istanbul University - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Pathology Department. In these cases, presence of RELA fusion was evaluated by fluorescence in situ hybridization (FISH) technique. Again, L1CAM antibody was applied immunohistochemically to all cases. The correlation between the two results was examined. The diagnostic and prognostic values of RELA fusion positivity were investigated. The findings were analyzed with the tests selected from SPSS 21.0 statistical program.

Results: Of the 24 cases with ST localization, 4 (17%) were subependymoma (SE), 6 (25%) were classic ependymoma (CE), 14 (58%) were anaplastic ependymoma (AE); Of 15 cases with PF localization, 1 (7%) was SE, 9 (60%) were CE and 5 (33%) were AE. RELA fusion positivity wasn’t exist in PF localized cases and in 4 ST localized grade I SE cases. In 13 of the 20 ST localized grade II CE and grade III AE cases, the signal was obtained as a result of the FISH study. RELA fusion positivity was found in 7 (54%) of these 13 cases. All cases showing RELA fusion positivity were grade III AE. While clear cell morphology was observed in 6 of these 7 cases, no significant morphological variant was selected in 1 of them. Immunohistochemical L1CAM positivity was observed in all RELA fusion positive cases.

The survival rates of RELA fusion positive cases were better than RELA fusion negative cases. As a consequence of the follow-up data that we reached, cases were grouped as follows: 1 PF-SE, 3 ST-SE, 7 RELA fusion positive ependymomas (ST-EPN-RELA), 3 RELA fusion negative ependymomas (ST-EPN) and 10 PF localized grade II + III ependymoma (PF-EPN).

A statistically significant relationship was found between the survival rates of these diagnostic groups. Histologic grade, age, sex, tumor location (ST or PF) did not affect survival rates.

Conclusion: RELA fusion positive ependymomas are valuable for being the first molecular variant of the ependymal tumors group of the WHO 2016 CNST classification. In the next classification, it is envisaged to group ependymal tumors depending on their localization, and their molecular and genetic changes. In addition to diagnostic contributions of genetic and molecular changes, prognostic and predictive effects are also determined.

Key words: Ependymoma, RELA fusion, WHO 2016 classification of the CNST, L1CAM



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Glial tümörler santral sinir sisteminin (SSS) en sık görülen primer tümörleridir. Ependimomlar ise nispeten daha nadir görülen glial tümörler olup tüm SSST'nin yaklaşık %6,8'ini oluşturmakta; çocukluk çağında ise en sık görülen SSST içinde 3. sırada yer almaktadır. Pediatrik ependimomlar daha çok PF ve ST yerleşimliken, spinal (SP) ependimomlar özellikle erişkinlerde daha sık görülür (1).

Morfolojik olarak fibriler matriks içinde küçük, yuvarlak ependimal hücrelerden oluşan ependimomlarda psödorozet veya gerçek ependimal rozet yapıları karakteristik bulgudur. KE ve AE'ler; papiller, berrak hücreli veya tanisitik olmak üzere 3 farklı histolojik varyantta görülebirlirler. Selüler ependimom tanımı artık kullanılmamaktadır (2).

İmmünohistokimyasal olarak GFAP ile genelde psödorozet yapılarında pozitiflik görülmekle birlikte, rozet ve papilla yapıları gibi diğer tümör elemanlarında da değişken pozitiflik görülmektedir. Ependimomlar ayrıca, tipik olarak S100 ve vimentin ekspresyonu gösterirler (3). İmmünohistokimyasal EMA pozitifliği ise perinükleer noktasal veya sitoplazmik halkasal pozitiflik şeklinde görülebileceği gibi bazı ependimal rozetlerin luminal yüzeyinde de pozitiflik görülebilmektedir (4).

Derecelendirme mitoz, mikrovasküler proliferasyon (MVP) ve nekroz değerlendirilerek yapılmaktadır. MVP ve nekroz (özellikle palizadlanan nekroz) AE'de görülmekte olup buna, KE'ye göre artmış hücresellik, artmış nükleositoplazmik oran ve artmış mitotik indeks eşlik eder. SE'ler ve miksopapiller ependimomlar (MPE) derece I, KE'ler derece II, AE'ler derece III tümörlerdir (1). Histolojik derecenin biyolojik davranış ve sağkalımla bağlantısının olmadığı görüşü, günümüzde önem kazanmaktadır (5-7).

Ependimomların klinik gidişi değişken olup öncelikle tümörün cerrahi olarak tamamının çıkarılabilmesine, adjuvan radyoterapi (RT) almasına, yaşa, tümör yerleşim yerine ve son olarak, yeni tanımlanan moleküler grubuna bağlıdır (8-10). Tümör yerleşim yeri önemli bir prognostik faktör olup, özellikle çocuklarda ST ependimomlar, PF neoplazmlarına göre daha iyi sağkalım oranına sahiptirler. SP ependimomlar ise intrakranyal tümörlere oranla daha iyi klinik gidişe sahip olup geç rekürrensler gösterebilirler (11,12).

2015'te yayınlanan Pajtler ve ark.'ın çalışmasında, ST ve infratentoryal yerleşimli ependimomlar ikişer alt grup olarak sınıflandırıldı: ST yerleşimli tümörler için RELA füzyon pozitif ve YAP-1 füzyon pozitif (ST-EPN-YAP1); infratentoryal tümörler için ise posterior

fossa grup A (PF-EPN-A) ve posterior fossa grup B (PF-EPN-B) (9). Ancak DSÖ'nün yeni sınıflamasında sadece 'RELA füzyon pozitif ependimomlar' yeni bir varyant olarak yer aldı (1). Özellikle çocukluk çağındaki ST yerleşimli ependimomların %70'inde 11. kromozom üzerinde bulunan C11orf95 geni ile NF-κB yolağını kodlayan RELA arasında füzyon saptanmıştır (9,13). PF ve SP yerleşimli ependimomlarda bu füzyon görülmemektedir (9,13). RELA füzyon pozitif ependimomlar, anaplazinin eşlik ettiği veya etmediği değişken histopatolojik özelliklere sahip olabilirler. DSÖ derece II ve III ependimomlarda bu füzyon saptanmış olup derece I tümörlerde görülmemiştir (1).

RELA füzyon pozitif ependimomlar spesifik bir morfolojiye sahip değildirler. Ancak genelde ST ependimomlarda görülen standart yapısal ve sitolojik özellikleri göstermekle beraber RELA füzyon pozitif ependimomlarda, dallanan kapillerlerin oluşturduğu belirgin vasküler patern ve berrak hücre değişikliği saptanmıştır (13).

RELA füzyon pozitif ependimomlar, diğer ependimomlarda olduğu gibi immünohistokimyasal olarak GFAP ve EMA ile pozitiflik göstermelerinin yanı sıra, diğer ependimomlardan farklı olarak L1CAM ile sitoplazmik ve membranöz pozitiflik göstermektedirler (13). Ancak L1CAM pozitifliği başka beyin tümörlerine de eşlik edebilmektedir (14).

C11orf95-RELA füzyonu, ependimomlarda en sık görülen yapısal varyanttır (9,13,15). RELA füzyon pozitif ependimomlar, NF-κB yolağının aktivasyonunu gösterir; RELA kodlu transkripsiyon faktörü p65, bu yolakta anahtar rolü olan bir efektördür (1). C11orf95-RELA füzyon gen varlığı çeşitli yöntemlerle gösterilebilir. Ancak bunu göstermenin en basit yolu, formolle tespit edilmiş, parafin ile gömülmüş dokudan hazırlanmış bloklardan alınan kesitlerden break-apart probu ile FISH çalışmasıdır (1). RELA füzyon pozitif ependimomlar, ST moleküler gruplar içinde en kötü klinik gidişe sahip olan gruptur (9). Ancak yapılan son çalışmalarda farklı yönde sonuçlar da elde edilmiştir (16–18).

Çalışmamızda, prognostik önemi ve takibi açısından tanı almasının gerekli olduğunu, ileride bu grup için hedefe yönelik tedavilerin geliştirilme ihtimaline karşılık da tanımlanmış olmasının avantaj olacağını düşündüğümüz RELA füzyon pozitif ependimomlar üzerinde durulmuştur. Bununla birlikte füzyon pozitifliğinin görüldüğü vakalarda L1CAM immünopozitifliğinin de eşlik etmesi sebebiyle ve laboratuvarlarda uygulanmasının daha pratik olması nedeniyle L1CAM bakılması da çalışmamıza dahil edilmiştir.

Çalışmamızda, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı'nda, 2011 - 2019 arası ependimom tanısı almış olgular içerisinde ST ve PF yerleşimli olanlarda RELA füzyonu pozitif olan olguların saptanması, L1CAM immünohistokimya pozitifliği ile korelasyonunun araştırılması, klinik bulgularının, anatomik lokalizasyonlarının ve morfolojik özelliklerinin tekrar değerlendirilmesi ve sağkalımlarının hesaplanıp karşılaştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ TÜMÖRLERİNİN TARİHİ GELİŞİM SÜRECİ

Cruveilhier tarafından ilk kez 1829 yılında makroskopik olarak tanımlanan beyin tümörleri, 1836'da Bressler tarafından makroskopik olarak sınıflandırılmıştır. Virchow 1860'ta nörogliaı tanımlamış, beyin tümörlerinin makroskopileri ve mikroskopileri arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmış ve ilk kez 'gliom' kavramını tariflemiştir (19).

1926'da Bailey ve Cushing SSST'nin histopatolojik sınıflamasını oluşturmuş; tümörleri, SSS'yi oluşturan astrositik, oligodendrogial, ependimal hücreler gibi hücrelere morfolojik olarak benzerliklerine göre isimlendirip bunları da farklılaşma derecelerine göre alt sınıflara gruplamışlardır (20). Kernohan, 1949'da 5 glial tümör kategorisi (astrositik, ependimal, nöroastrositik, medulloblastik ve oligodendrogial) ve 4'lü histolojik derecelendirme sistemini içeren bir sınıflama getirmiştir (21). Ringertz ise 1950'de 3'lü derecelendirme sistemini önermiş, 3. ve 4. derece tümörler arasında ve 1. ve 2. derece tümörler arasında prognoz açısından anlamlı bir fark olmadığını öne sürmüştür (22). 1988 yılında Catherine Dumas-Duport, St Anne-Mayo ismiyle bilinen 4 basamaklı bir derece sistemini ortaya koymuştur (23). Bu derecelendirme nükleer atipi, mitoz sayısı, MVP ve nekroza dayanmakla birlikte difüz astrositomlar için kullanılmaktaydı.

DSÖ'nün ilk sınıflaması 1993'te yayınlanmış ve tümörler, 'derece I-IV' olarak sınıflanmıştır; ekspansif büyüme gösteren tümörlerin bir kısmının derece I tümörler olduğu, difüz infiltratif büyüme gösteren tümörlerin ise derece II-IV arasında olduğu bildirilmiştir (24). Bu tarihten itibaren sınıflama, belirli aralıklarla güncellenerek 2000 ve 2007 yıllarında yeniden yayınlanmıştır.

Sadece morfolojiye dayanan sınıflamanın gözlemciler arası farklılıklardaki payını azaltmak ve tanıyı kesinleştirmek amaçlı olarak 2000'li yılların başından itibaren genetik/epigenetik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların sonuçlarının yeni sınıflamaya entegre edilmesi 2016'daki son sınıflamada mümkün olmuşsa da, bu araştırmalardan en azından bilgi düzeyinde bahsedilmesi 2007 DSÖ SSST sınıflamasına dayanmaktadır. Gelişmiş ülkeler dahil olmak üzere birçok ülkenin moleküler çalışmalar için laboratuvar imkanları henüz geliştirilemediğinden, moleküler-genetik temelleri tam olarak içeren sınıflama, 2007'deki DSÖ SSST sınıflamasına adapte edilememiştir (25).

2014'te Uluslararası Nöropatoloji Birliği (ISN) Hollanda'nın Haarlem kentinde bir toplantı düzenlemiştir (26). Bir sonraki sınıflamada, beyin tümörlerinin tanısına, moleküler çalışma sonuçları da dahil edilerek entegre bir tanı verilmesinin gerekliliği konusunda görüş birliğine varılmıştır. Böylece hem tanıların daha objektif hale getirilmesiyle gözlemciler arası farklılıklar ortadan kalkacak, hem de histolojik derecelendirmeye göre moleküler grupların prognoza çok daha etkili olduğu anlaşıldığından prediktif ve prognostik değerler de belirlenmiş olacaktır.

Böylece 2016 yılında SSST sınıflaması Haarlem'de alınan kararlara göre yenilenmiş, morfolojik ve genetik özelliklerin beraber yazıldığı entegre tanı sistemine geçilmiştir (26).

2.2. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ TÜMÖRLERİNDE SON (2016) SINIFLAMADAKİ DEĞİŞİKLİKLER

2016 DSÖ SSST sınıflamasından önce beyin tümörleri, orijin aldıkları hücelere mikroskopik olarak benzerliklerine göre isimlendirilmekte ve farklılaşma derecelerine göre sınıflandırılmakta idi. Buna göre bu sınıflandırma, hematoksilin ve eozin (H&E) kesitlerin ve immünohistokimyasal boya sonuçlarının ışık mikroskopunda değerlendirilmesi ile yapılmaktaydı (2). Bailey ve Cushing'in 1926 yılında SSST'ni histomorfolojik olarak sınıflandırmalarından itibaren birkaç değerlik dışında neredeyse bir yüzyıl boyunca aynı devam eden bu sınıflamanın, o dönemler tedavi ve prognoz ile uyumlu olduğu düşünölmekteydi. Son dönemde yapılan moleküler ve genetik çalışmalar sonucunda anlaşıldı ki, artık bu sınıflamanın güncellenmesi gerekmektedir (26). 2007 DSÖ SSST sınıflamasında ilk kez bu moleküler ve genetik değerliklerden bahsedilmiş olsa da, koşulların henüz uygun olmaması sebebiyle bu çalışmalar, tanı kriteri olarak yer almamıştı (25).

Histopatolojik sınıflamanın hakim olduğu o dönemlerde birçok çalışma yapılmış ve nöropatologlar arasında tanı koymadaki farklılıklar ortaya konulmuştur. Aldape ve ark.'ın yaptığı San Francisco yetişkin gliom çalışmasında 457 vaka ele alınmış ve tanılardaki uyumsuzluk oranı %23 olarak belirlenmiş olup bunların %16'sında hastaların tedavi ve prognozları ciddi oranda etkilenmiştir (27). Coons ve ark.'ın 244 vakayı ele aldığı ve 4 set halinde değerlendirdiği prospektif bir çalışmada ise 4 patoloğ arasında aynı tanıyı verme oranları ilk oturumda %52 olarak bulunmuşken, farklı tanıların verildiği vakalar 4 patoloğ arasında beraber tekrar değerlendirildiğinde bu oran %69'a yükselmiştir (28). Yapılan tüm bu

çalışmalar, moleküler ve genetik çalışmalara paralel olarak yeni sınıflamanın gerekliliğini desteklemekteydi.

2016 DSÖ SSST sınıflamasında tümörlerin histopatolojik isimleri, genetik özellikleri ve histolojik dereceleri birlikte verilmektedir; difüz oligodendrogliom, IDH mutant, 1p19q kodelesyonu (+), derece II, DSÖ 2016 gibi. Henüz genetik parametrelere bakabilecekleri teknik imkanları sağlayamamış olan merkezler ise ‘NOS (tanımlanmamış/başka türlü sınıflandırılmamış)’ ibaresini kullanmaktadır (2). Morfolojik tanı yeni sınıflamada tamamen dışlanmamış olsa da, moleküler çalışma sonucunun morfoloji ile uyumsuz olduğu takdirde tanı, moleküler çalışma sonucuna göre verilir. Sınıflamada en büyük değişiklikler; difüz gliomlar, medulloblastomlar ve diğer embriyonel tümörler grubunda meydana gelmiştir (2).

2.2.1. DİFÜZ GLİOMLAR

2007 DSÖ SSST sınıflamasında ‘astroitik tümörler’ adı altında pilositik astrositom (PA), pilomiksoid astrositom (PMA), subependimal dev hücreli astrositom (SEGA), pleomorfik ksantoastrositom (PXA), difüz astrositom (DA), anaplastik astrositom (AA), glioblastom (GBM) ve gliomatozis serebri bulunmaktaydı. Oligodendrogliomlar (OD) ise bu gruptan tamamen ayrı olarak ‘oligodendrogliyal tümörler’ başlığı altındaydı.

Yapılan çalışmaların sonucunda DA’ların ve OD’lerin hem benzer büyüme paterni ve klinik davranışa sahip oldukları, hem de her iki tümör grubunun da IDH1 veya IDH2 mutasyonu gösterdikleri görülmüştür. Bu nedenle bu iki tümör grubu ‘difüz astroitik ve oligodendrogliyal tümörler’ başlığı altında bir araya getirilmiştir (2). PA, PMA, PXA ve SEGA’nın ise IDH1 ya da IDH2 mutasyonu göstermediği ancak BRAF yolağı mutasyonları (BRAF V600E mutasyonu, BRAF-KIAA1549 füzyonu) veya TSC1/TSC2 mutasyonları gösterdiği saptanmıştır. Bu 4 tümör ‘diğer astroitik tümörler’ adıyla ayrı bir şekilde gruplanmış ve bu gruba ‘anaplastik pleomorfik ksantoastrositom, DSÖ derece III’ eklenmiştir (2). Anaplastik PXA, DSÖ derece III tanısı koyabilmek için 10 büyük büyütme alanında (BBA) 5 veya üzeri mitoz saymak gerekli olup buna nekroz da eşlik edebilmektedir. Ancak mitoz sayısının 5 veya 5’in altında olduğu durumlarda sadece nekrozun eşlik etmesiyle bu tanının verilip verilemeyeceği henüz netleştirilmemiştir (29).

DSÖ derece II DA ve DSÖ derece III AA’lar; IDH-mutant, IDH-mutant olmayan ve NOS kategorilerine ayrılmıştır. DA, IDH-mutant olmayan diyebilmek için hem immünohistokimyasal olarak R132H IDH1 protein ekspresyonunun hem de IDH1 kodon 132

ve IDH2 kodon 172 gen mutasyonları için yapılan sekanslama sonuçlarının negatif olması gerekmektedir. Ancak bu varyant çok nadir görüldüğünden, bu tanıyı koymadan önce çok iyi bir ayırıcı tanı yapılmalı ve diğer olasılıklar dışlanmalıdır. Aynı şekilde AA, IDH-mutant olmayan tanısı vermeden önce de özellikle IDH mutant olmayan GBM açısından vaka gözden geçirilmeli ve bu lezyonun GBM öncesi bir lezyon olabileceği düşünülmelidir (30,31). Eğer morfoloji, DA veya AA yönünde düşündürüyorsa, ancak tanı vermek için IDH testi (immünohistokimyasal ve moleküler) yoksa veya testler mevcut olmasına rağmen çalışma yarım kalmış ya da sonuçlandırılmamışsa, o zaman 'NOS' olarak gruplandırılmalıdır. IDH-mutant tümörlerin prognozu, IDH-mutant olmayan tümörlere göre çok daha iyidir.

DA'nın varyantlarından olan 'protoplazmik astrositom' ve 'fibriler astrositom' terminolojileri artık kullanılmamaktadır; sadece 'gemistositik astrositom', IDH-mutant, DA'nın bir varyantı olarak yeni sınıflamada yer almaktadır (2). Gliomatozis serebri ise yeni sınıflamada artık bir tanı olarak değil, IDH-mutant astrositik ve oligodendrogliyal tümörlerin ve IDH-mutant olmayan GBM'lerin beyinde bilateral ve yaygın invazyon gösterdiği büyüme paterni olarak kullanılmaktadır (32,33).

OD ve anaplastik oligodendrogliom (AOD) tanıları verebilmek için hem IDH mutasyonunun hem de 1p/19q kodelasyonunun gösterilmesi gerekmektedir. İmmünohistokimyasal olarak IDH1'in negatif olduğu durumlarda sekanslama ile IDH1 ve IDH2 mutasyonuna bakılması önerilir. Bu testlerin yapılamadığı durumlarda ise tanı 'NOS' olarak verilmelidir ve böyle bir durumda AOD için GBM olma ihtimali de göz önünde bulundurulmalıdır (30). Çocukluk çağı tümörleri içinde OD benzeri vakalarda IDH mutasyonu ve 1p/19q kodelasyonu gösterilememiş olup bu grup tümörler, morfolojik olarak benzerlik gösterdikleri PA, disembriyoplastik nöroepitelyal tümör ve berrak hücreli ependimom dışlandıktan sonra 'NOS' kategorisinde tanımlanmalıdır (2).

2016 sınıflaması öncesi oligoastrositom (OA) tanısı almış olan vakaların neredeyse tamamı, yapılan moleküler ve genetik çalışmalar sonucu ya astrositik ya da oligodendrogliyal özellikte bulunmuştur. Bu durum, OA kavramının sorgulanmasına neden olmuştur (34,35). Ancak yine yapılan çalışmalar sonucunda hem morfolojik hem de genetik olarak OD ve astrositom özelliklerini aynı anda barındıran nadir birkaç vaka literatürde tanımlanmıştır (36,37). Bu nedenle 2016 DSÖ SSST sınıflamasında OA, NOS ve anaplastik OA, NOS tanıları geçici antiteler olarak yer almış olup bu tanıları, genetik testlerin yapılamadığı durumlarda

morfoloji bu yönde düşündürdüğünde veya aynı tümörde genetik olarak dual diferansiyasyonun gösterilebildiği durumlarda verilmelidir.

GBM'ler de yeni sınıflamada 3 grup olarak yer almıştır: GBM, IDH-mutant olmayan, GBM, IDH-mutant ve GBM, NOS. IDH-mutant olmayan grup çok daha sık görülmekte olup GBM vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Daha genç hastalarda görülen ve daha düşük dereceli bir gliomdan geliştiği düşünülen IDH-mutant GBM'lerin görülme sıklığı ise tüm GBM'ler içinde yaklaşık %10'dur (38). IDH-mutant olmayan GBM'lerin varyantları olan 'gliosarkom' ve 'dev hücreli glioblastom'a, 3. varyant olarak 'epiteloid glioblastom' eklenmiştir. Eiteloid GBM daha çok çocuklarda ve gençlerde görülmekte olup sıklıkla BRAF V600E mutasyonu göstermektedir (39–41).

Primitif nöronal bileşenli GBM, yeni tanımlanan bir GBM paterni olup herhangi bir histolojik derecedeki astrositom veya nadiren de OD ile keskin geçiş gösteren, iyi sınırlı, nöronal farklılaşma gösteren primitif hücrelerden oluşmaktadır. MYC veya NMYC amplifikasyonu eşlik edebilir (42). Küçük hücreli GBM/astrositom ve granüler hücreli GBM/astrositom paternleri bu sınıflamada da yer almaktadır.

Son olarak, 2016 DSÖ SSST sınıflamasında, difüz astrositik ve oligodendrogial tümörler grubu içinde 'difüz orta hat gliomu (DOHG), H3 K27M mutant' adıyla yeni bir grup tanımlanmıştır. Daha çok çocuklarda görülen, nadiren erişkinleri de etkileyen bu tümör, beyinde orta hat yerleşimi gösteren, infiltratif, agresif gidişli, çoğunlukla astrositik yönde farklılaşma gösteren, DSÖ derece IV bir tümördür (Tablo 1). H3 F3A veya HIST1H3B/C geninde K27M mutasyonu görülmektedir (43,44).

2018'de Louis ve ark. DSÖ'nün bu son sınıflamasındaki değişiklikleri gözden geçirip eksik ya da arada kalan durumlar için önerilerde bulunmuşlardır. 'cIMPACT-NOW update' başlığı altında yayınlanan makale grubunun ilkinde NOS terminolojisine değinilmiştir. Buna göre NOS; tanısal açıdan gerekli olan moleküler testlerin yapılamadığı durumlarda veya testlerin mevcut olduğu ancak tamamlanamadığı durumlarda kullanılmalıdır. Buna ek olarak, sadece palyatif amaçlı eksizyon yapıldığında da (örneğin 55 yaş üstü GBM morfolojisinde, immünohistokimyasal IDH1'in negatif olduğu vakalarda, bunun zaten beklenen bir durum olması sebebiyle, tanının GBM, NOS şeklinde verilmesi gibi) NOS terminolojisinin kullanılabileceğini savunmuşlardır. Ancak, tanı için gerekli olan moleküler testlerin yapıldığı ve sonucun negatif olup herhangi bir spesifik tanıya gidilemediği durumlarda NOS yerine NEC

(‘Not Elsewhere Classified’/‘Başka Yerde Sınıflandırılmamış’) terminolojisinin daha uygun olacağını savunmuşlardır. Hem böylece, NEC başlığı altındaki, başka yerde sınıflandırılmamış tümörlerin de araştırılarak daha spesifik yeni alt grupların oluşturulup bir sonraki DSÖ sınıflamasına kazandırılması amaçlanmaktadır (45).

H3 K27M mutasyonunun, difüz orta hat gliomları dışında, PF-EPN-A grubu tümörleri gibi başka beyin tümörlerinde de saptanması üzerine, bu tanının verilebilmesi için, tümörde bu mutasyonun görülmesi dışında tümörün difüz olması, orta hat yerleşimli olması ve glial kökenli olduğunun ispatlanması şartları getirilmiştir (46). Ayrıca IDH mutasyonu gösteren derece II ya da III astrositomlardan bahseden ‘cIMPACT-NOW update’ makale grubunun ikincisinde, bu tanılarının verilebilmesi için immünohistokimyasal olarak IDH1 pozitifliği, ATRX nükleer ekspresyon kaybı ve/veya difüz, kuvvetli p53 immünopozitifliğinin gösterildiği takdirde, 1p19q delesyonu bakılmasına gerek olmadığı belirtilmiştir (46). Böylece sadece immünohistokimyasal teknikle derece II/III IDH mutant DA/AA entegre tanısının verilmesi mümkün hale gelmektedir.

IDH mutant olmayan derece II/III DA/AA’ların, IDH-mutant olan gruba göre daha kötü gidişli olduğu bilinmektedir. Ancak bu grup kendi içinde heterojen olup henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Morfolojik olarak, GBM’ye ait MVP ya da palizadlanan nekroz gibi özelliklerin izlenmediği, ancak klinik olarak derece IV GBM gibi gidiş gösteren, IDH mutant olmayan derece II/III DA/AA vakaları tanımlanmıştır. Bu vakaların ortak özelliği: (1) EGFR amplifikasyonu, (2) 7. kromozom kazanımı ya da 10. kromozom kaybı, (3) TERT mutasyonu gibi genetik değişikliklerden bir veya birkaçının görülmesidir. Böyle bir durumda ‘DSÖ derece IV GBM’nin moleküler özelliklerini taşıyan, IDH mutant olmayan difüz astrositik gliom’ tanısı verilmesi uygun görülmüştür (47).

Diğer taraftan IDH mutant olmayan/H3 mutant olmayan DSÖ derece II difüz gliomlarda BRAF V600E mutasyonu, FGFR1 alterasyonları, MYB veya MYBL1 yeniden düzenlenmesi ya da diğer MAPK yolağı değişiklikleri görüldüğünde bu tümörlerin çok daha iyi klinik gidiş gösterdikleri anlaşılmıştır. Daha çok çocukluk çağında veya genç erişkinlerde ortaya çıkan bu genetik değişikliklerin görüldüğü durumlarda, buna uygun entegre tanının (MYB alterasyonu gösteren difüz gliom, FGFR1 mutant difüz gliom gibi) verilmesinin hem prognostik hem terapötik açıdan gerekliliğinden bahsedilmiştir (48).

Tablo 1: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 glial tümör sınıflamaları

DSÖ 2007 SINIFLAMASI	DSÖ 2016 SINIFLAMASI
ASTROSİTİK TÜMÖRLER	DİFÜZ ASTROSİTİK VE OLİGODENDROGLİAL TÜMÖRLER
Pilositik astrositom -Pilomiksoid astrositom	Difüz astrositom, IDH-mutant -Gemistositik astrositom, IDH-mutant
Subependimal dev hücreli astrositom	Difüz astrositom, IDH-mutant olmayan tip
Pleomorfik ksantoastrositom	Difüz astrositom, NOS
Difüz astrositom -Fibriler astrositom -Gemistositik astrositom -Protoplazmik astrositom	Anaplastik astrositom, IDH-mutant
Anaplastik astrositom	Anaplastik astrositom, IDH-mutant olmayan tip
Glioblastom -Dev hücreli glioblastom -Gliosarkom	Anaplastik astrositom, NOS
Gliomatozis serebri	Glioblastom, IDH-mutant olmayan tip -Dev hücreli glioblastom -Gliosarkom -Epiteloid glioblastom
OLİGODENDROGLİAL TÜMÖRLER	Glioblastom, IDH-mutant
Oligodendrogliom	Glioblastom, NOS
Anaplastik oligodendrogliom	Difüz orta hat gliomu, H3 K27M-mutant
OLİGOASTROSİTİK TÜMÖRLER	Oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q kayıplı (kodelesyonlu)
Oligoastrositom	Oligodendrogliom, NOS
Anaplastik oligoastrositom	Anaplastik oligodendrogliom, IDH-mutant ve 1p/19q kayıplı (kodelesyonlu)
	Anaplastik oligodendrogliom, NOS
	Oligoastrositom, NOS
	Anaplastik oligoastrositom, NOS
	DİĞER ASTROSİTİK TÜMÖRLER
	Pilositik astrositom -Pilomiksoid astrositom
	Subependimal dev hücreli astrositom
	Pleomorfik ksantoastrositom
	Anaplastik pleomorfik ksantoastrositom

2.2.2. EPENDİMOMLAR

Ependimomlarla ilgili yapılan çalışmalarda, anatomik yerleşim yerlerine göre değişkenlik gösteren bazı moleküler ve genetik özellikler tanımlanmıştır. Bunlardan bir tanesi olan ‘RELA füzyon pozitif ependimom’ 2016 DSÖ SSST sınıflamasında yer almıştır. Özellikle çocukluk çağındaki ST yerleşimli ependimomların çoğunda görülmekte olup kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. RELA füzyon pozitifliği, FISH yöntemiyle gösterilebilmektedir. İmmünohistokimyasal L1CAM pozitifliği de RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalara paralel olarak saptanmıştır (13,15). 2007 DSÖ SSST sınıflamasında, bir ependimom varyantı olan ‘selüler ependimom’ ise artık kullanılmamaktadır (Tablo 2).

Tablo 2: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 ependimom sınıflamaları

DSÖ 2007 SINIFLAMASI	DSÖ 2016 SINIFLAMASI
EPENDİMAL TÜMÖRLER	EPENDİMAL TÜMÖRLER
Subependimom	Subependimom
Miksopapiller ependimom	Miksopapiller ependimom
Ependimom -Selüler ependimom -Papiller ependimom -Berrak hücreli ependimom -Tanisitik ependimom	Ependimom -Papiller ependimom -Berrak hücreli ependimom -Tanisitik ependimom
Anaplastik ependimom	Ependimom, RELA füzyon pozitif
	Anaplastik ependimom

2.2.3. MEDULLOBLASTOMLAR

Medulloblastomlarda (MDB) histomorfolojik olarak tanımlanmış 4 alt grup mevcuttur; klasik MDB, desmoplastik/nodüler MDB, yoğun nodülerite gösteren MDB ve anaplastik/büyük hücreli MDB. 2016 DSÖ SSST sınıflamasında bunlara ek olarak 4 moleküler grup tanımlandı; ‘WNT-aktive’, ‘SHH-aktive (TP53-mutant veya TP53-mutant olmayan)’ ve WNT ya da SHH yolağı ile ilişkisi olmayan iki grup olan ‘grup 3’ ve ‘grup 4’ (49). Diğer SSST’de olduğu gibi, artık MDB’larda da hem histomorfolojik hem de moleküler grubun bir arada verildiği entegre tanı sistemi kullanılmaktadır. Özellikle SHH-aktive, TP53 mutant grubun ve grup 3 MDB’lerin kötü prognozlu olduğu saptanmış ve bu nedenle bu sınıflama önem kazanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 medulloblastom sınıflamaları

DSÖ 2007 SINIFLAMASI	DSÖ 2016 SINIFLAMASI
MEDULLOBLASTOM	MEDULLOBLASTOM, GENETİK OLARAK TANIMLANMIŞ
Desmoplastik/nodüler medulloblastom	Medulloblastom, WNT-aktive
Yoğun nodularite gösteren medulloblastom	Medulloblastom, SHH-aktive -TP53-mutant -TP53-mutant olmayan
Anaplastik medulloblastom	Medulloblastom, non-WNT/non-SHH -Medulloblastom, grup 3 -Medulloblastom, grup 4
Büyük hücreli medulloblastom	MEDULLOBLASTOM, MORFOLOJİK OLARAK TANIMLANMIŞ
	Medulloblastom, klasik
	Medulloblastom, desmoplastik/nodüler
	Medulloblastom, yoğun nodularite gösteren
	Medulloblastom, büyük hücreli/anaplastik
	MEDULLOBLASTOM, NOS

2.2.4. DİĞER EMBRİYONEL TÜMÖRLER

Diğer embriyonel tümörler grubunda yer alan ‘primitif nöroektodermal tümör (PNET)’ tanımı yeni sınıflamada artık kullanılmamaktadır.

19. Kromozom üzerinde (19q13.42) C19MC loküsünde amplifikasyon veya füzyon gibi değişikliklerin izlendiği, prognozu kötü olan, DSÖ derece IV yeni bir tümör tanımlanmıştır. Bu tümör, nöropil zemininde çok katlı rozetlerden oluşup ismini bu özelliklerden almıştır: ‘C19MC alterasyonu gösteren, çok katlı rozet yapan embriyonel tümör’. İmmünohistokimyasal olarak LİN28A pozitifliği göstermektedir. Yaygın nöropil ve gerçek rozet yapıları içeren embriyonel tümör, ependimoblastom ve medulloepitelyom olmak üzere 3 histomorfolojik varyantı mevcuttur (50). Histomorfolojinin bu yönde düşündürdüğü ancak C19MC alterasyonunun negatif olduğu veya çalışmanın yapılamadığı durumlarda ‘çok katlı rozet yapan embriyonel tümör, NOS’ (ETMR, NOS) tanısı verilmelidir (1). Ancak bu durum bir istisna içermektedir; eğer tümör, histomorfolojik varyant olarak medulloepitelyoma benziyor fakat C19MC alterasyonu göstermiyor veya çalışma yapılamıyor ise sadece ‘medulloepitelyom’ tanısı verilir. Çünkü bu tümör, çok katlı rozet içeren embriyonel tümörden genetik olarak farklı bir tümör olup, sınıflamada ayrı bir grup olarak yer almaktadır (1).

Atipik teratoid/rabdoid tümörlerde (AT/RT) ise SMARCB1 (INI1) veya daha nadiren SMARCA4 (BRG1) kaybı gösterilmiş olup tanı koymak için bunlardan birinin kaybının kanıtlanmış olması şarttır (51,52). İmmünohistokimyasal olarak bu iki proteinden birinin ekspresyon kaybını göstermek yeterlidir. Histomorfolojinin AT/RT yönünde düşündürdüğü ancak SMARCB1 veya SMARCA4 kaybının olmadığı veya testlerin yapılamadığı durumlarda tanı, ‘SSS’nin rabdoid özellikler içeren embriyonel tümörü’ şeklinde verilmelidir (1) (Tablo 4).

Louis ve ark.’ın yayınladığı cIMPACT-NOW güncellemesinin ilkinde, ETMR tanısı verilebilmesi için gerekli olan moleküler testlerin yapılamadığı veya yarım kaldığı durumlarda ETMR, NOS terminolojisinin kullanılmasının uygun olacağına üzerinde durulmuş, testlerin yapılıp da sonucun negatif olduğu durumlarda ise tanının ETMR, NEC olarak verilmesi önerilmiştir. Yine aynı şekilde, morfolojinin AT/RT düşündürdüğü ancak moleküler olarak SMARCB1 (INI1) veya SMARCA4 (BRG1) kaybının olmadığı durumlar için tanının ‘SSS’nin rabdoid özellikler içeren embriyonel tümörü, NEC’ olarak verilmesi uygun görülmüştür (45).

Tablo 4: DSÖ 2007 ve DSÖ 2016 embriyonel tümör sınıflamaları

DSÖ 2007 SINIFLAMASI	DSÖ 2016 SINIFLAMASI
EMBRİYONEL TÜMÖRLER	EMBRİYONEL TÜMÖRLER
Medulloblastom (Bkz Tablo 3)	Medulloblastom (Bkz Tablo 3)
SSS’nin primitif nöroektodermal tümörü -SSS’nin nöroblastomu -SSS’nin ganglionöroblastomu -Medulloepitelyoma -Ependimoblastoma	C19MC alterasyonu gösteren, çok katlı rozet yapan embriyonel tümör
Atipik teratoid/rabdoid tümör	Çok katlı rozet yapan embriyonel tümör, NOS
	Diğer embriyonel tümörler -Medulloepitelyoma -SSS’nin nöroblastomu -SSS’nin ganglionöroblastomu -SSS’nin embriyonel tümörü, NOS
	Atipik teratoid/rabdoid tümör
	SSS’nin rabdoid özellikler gösteren embriyonel tümörü

2.3. EPENDİMOMLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ VE SON DÖNEMDE YAPILAN ÇALIŞMALARIN SINIFLAMAYA ETKİSİ

Glial tümörler SSST'nin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Astrositik, oligodendrogial ve ependimal hücrelerden kaynaklanarak sırasıyla astrositom, OD ve ependimom isimlerini almaktadırlar. Ependimomlar, tüm SSST içinde %6,8'lik bir dilimi oluşturmaktadır (2). Çocukluk çağında ise ependimomlar, SSS'de astrositom ve MDB'den sonra 3. en sık görülen tümör grubudur (53). Erişkinlerde daha çok SP yerleşimli ependimomlar görülmekteyken, çocuklarda sıklık, intrakranyal yerleşimli ependimomlar lehinedir (2).

DSÖ'nün SSST sınıflamasında ependimomların birkaç histopatolojik varyantı tanımlanmıştır. SE'ler daha çok erişkinlerde görülen, genelde intraventriküler yerleşimli, egzofitik büyüyen, hücresellikten yoksun, pleomorfizm göstermeyen, MVP ve nekrozun izlenmediği, iyi seyirli, derece I tümörlerdir. MPE'ler de derece I tümörler olup çoğunlukla konus medullaris, kauda equina ve filum terminale yerleşimlidir. Daha çok erişkinlerde görülürler. Mukoid fibrovasküler korların etrafında radyal biçimde dizilmiş, uzun ependimal hücrelerden oluşan, mitozun izlenmediği, iyi prognozlu tümörlerdir. Derece II KE'ler, ST, PF veya SP yerleşimli olabilen (çocuklarda daha çok intrakranyal, erişkinlerde ise SP yerleşim), perivasküler veya gerçek rozetlerden oluşan, hücreliliği az, hafif pleomorfik, mitotik indeksi düşük, MVP ve nekroz içermeyen, prognozu değişken olabilen tümörlerdir. AE'ler ise hücresellik artışı ve belirgin pleomorfizmin eşlik ettiği, mitoz artışının izlendiği, MVP ve nekrozun da görülebildiği, ağırlıklı olarak intrakranyal yerleşimli, nadiren SP yerleşimli de olabilen, hem çocukluk çağında hem de erişkinlerde saptanabilen derece III tümörlerdir. Son sınıflamada ependimom grubuna 'RELA füzyon pozitif ependimom' adıyla yeni bir varyant eklenmiştir. Ependimom varyantları içinde, moleküler ve genetik özelliklerine göre isimlendirilmiş ve sınıflamada yer almış ilk varyant olması açısından önemlidir (2).

2007 sınıflamasından yeni sınıflamaya kadar olan süreçte ependimomlar açısından tartışılan en önemli konulardan biri prognozu etkileyen faktörler ve özellikle de histopatolojik derecelendirmenin prognozla ne kadar uyumlu olup olmadığı ile ilgiliydi (6). O zamana kadar yapılan çalışmalarda tanı alma yaşı, cerrahi rezeksiyon genişliği, histolojik derece, RT ve kemoterapinin (KT), klinik gidişi etkileyen faktörler olduğu düşünülmekteydi (7,11,54–60).

2006'da Mendrzyk ve ark.'ın yaptığı 68 ependimom vakasını genetik açıdan inceleyen bir çalışmada 1q kazanımı gösteren intrakranyal ependimomlarda anlamlı olarak rekürrens saptanmış olup; 1q ve EGFR ile ilgili görülen değişikliklerin bağımsız prognostik faktör

olduğu, EGFR'nin hedefe yönelik tedaviler açısından bir belirteç olabileceği savunulmuştur (61). 2010'da Korshunov ve ark.'ın yaptığı çalışmada ependimomlar için tanı aldıkları yaşın, 1q kazanımının ve CDKN2A (p16)'nın homozigot delesyonunun en güçlü kötü prognoz göstergesi olduğu, 9. kromozom, 18. kromozom ve 15q kazanımı ile 6. kromozom kaybının iyi prognozla ilişkili olduğu, dolayısıyla ependimomlarda hastalığın ilerlemesi açısından genetik değişikliklerin önemli belirteçler olduğu savunulmuştur (62).

2011'de Witt ve ark. PF yerleşimli ependimom vakalarını iki gruba ayırarak bunları genetik, klinik ve demografik açıdan incelemişlerdir. Bu araştırmaya göre sadece PF yerleşimli tümörler 'Grup A', PF ve SP yerleşimin birlikte görüldüğü ependimomlar 'Grup B' olarak sınıflandırılmıştır. Grup A tümörlerin yaş ortalamasını daha genç hastalar oluşturmaktayken (medyan yaş 2,5), Grup B hastaların yaş ortalaması daha ileridir (medyan yaş 20). Grup A tümörler daha dengeli genomik yapıya sahip olup, artmış oranda 1q kazanımı izlenmekteyken Grup B tümörlerin çok daha fazla sayıda sitogenetik anomaliler içerdikleri (1, 2, 3, 6, 8, 10, 14q, 17q ve 22q kaybı ile 4, 5q, 7, 9, 11, 12, 15q, 18, 20 ve 21q kazanımı) ve daha heterojen bir grup oldukları izlenmiştir. Buna göre Grup A tümörler daha yüksek risk (rekürrens, metastaz ve ölüm oranı daha yüksek) grubundayken, Grup B tümörler daha düşük riskli bir profili yansıtmaktadır (63).

2013 yılında Raghunathan ve ark.'ın yaptığı bir çalışmada 238 adet derece II ve III ependimom vakası, yerleşim yerlerine göre ST, PF ve SP olarak gruplandırılmış ve her grubun demografik, histopatolojik ve klinik özellikleri prognoz açısından değerlendirilmiştir. Buna göre PF yerleşimli ependimomlarda hüresellik artışı, mitoz artışı, MVP ve nekroz varlığı sağkalım ile ters oranda ilişkilendirilmiştir. ST yerleşimli tümörlerde ise PF'dekilere benzer şekilde MVP ve mitoz artışı klinik gidişle ilişkilendirilmişken, hüresellik artışı ve nekrozun sağkalım ile anlamlı olarak ilişkisi saptanmamıştır. SP yerleşimli tümörlerde ise sadece MVP kötü klinik gidişle ilişkili bulunmuştur (64).

2014 yılında Pietsch ve ark. ST yerleşimli 19 ependimom vakasını ele almışlar, bunların 14'ünde, Sanger sekanslama tekniği ile 11. kromozomun uzun kolunda NF-κB yolağının aktivasyonu ile ilişkili C11orf95-RELA füzyonunu saptamışlardır. Füzyon pozitifliği gösteren vakalarda spesifik bir histomorfolojinin görülmediğini, ancak bazı vakalarda berrak hücre değişikliklerinin izlendiğini gözlemlemişler ve RELA füzyon pozitif vakaların tamamını kadın hastaların oluşturduğunu saptamışlardır (15). NF-κB yolağı, hücre çoğalması ve apoptozu kontrol eden bir sinyal yolağı olup vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve

reseptörlerini upregüle ederek tümörün vaskülarizasyonunun artmasını ve böylece tümör progresyonunu indükler (65).

Aynı yıl Parker ve ark. parafin bloklardan FISH ile C11orf95-RELA translokasyonuna bakmışlardır. 21 adet ST endimom vakasının 14'ünde (%67) bu translokasyon pozitif saptanmışken, 64 adet PF yerleşimli endimom vakasının hiçbirinde bu translokasyon görülmemiştir. Ayrıca translokasyon pozitifliği gösteren vakaların berrak hücreli morfoloji ve zeminde ince dallanmış vasküler yapılardan zenginlik gösterdikleri fark edilmiştir (13). Daha sonra translokasyonun pozitif olduğu vakalara ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniğini ekleyerek füzyon transkriptlerini göstermişler, tam 7 farklı olgun C11orf95-RELA füzyon transkripti saptamışlardır. Bunlardan en sık görüleni RELA FUS1 olup (C11orf95 ekzon 2 - RELA ekzon 2), RELA FUS1'in görülmediği daha nadir durumlarda RELA FUS2 - RELA FUS7 arasındaki diğer 6 transkripsiyon faktöründen biri saptanmaktadır (13).

2015 yılında Pajtlar ve ark. 500 tümörlü olguyu içeren geniş bir çalışma yapmış ve DNA metilasyon profillerine göre endimomları, her anatomik yerleşim bölgesine ait (ST, PF ve SP) 3'er ayrı moleküler alt grup olmak üzere toplamda 9 moleküler alt grup çatısı altında sınıflandırmıştır. SP endimomlar için SE (SP-SE), mikropapiller endimom (SP-MPE) ve endimom (SP-EPN) olmak üzere 3 alt grup oluşturulmuştur (9). PF yerleşimli endimomlar için SE (PF-SE) ve 2011'de Witt ve ark.'ın çalışmasında (63) olduğu gibi Grup A (PF-EPN-A) ve Grup B (PF-EPN-B) olmak üzere toplam 3 alt grup oluşturulmuştur. ST endimomlar için SE (ST-SE) ve 2014'te Parker ve ark.'ın çalışmasında (13) olduğu gibi ST-EPN-RELA ve ST YAP1 füzyon pozitif endimom (ST-EPN-YAP1) olmak üzere toplam 3 alt grup oluşturulmuştur (Tablo 5). PF-SE ve SP-SE grupları, 6. kromozomda kopya sayısı değişiklikleri göstermekteyken, ST-SE grubunda böyle bir özellik bulunamamıştır. SE alt grupları (SP-SE, PF-SE ve ST-SE) histolojik olarak derece I tümörlerdir ve buna paralel olarak klinik açıdan iyi gidişlidir. Yine SP-MPE ve SP-EPN de sırasıyla derece I ve derece II/III tümörler olup biyolojik davranışları da dereceleri ile uyumluluk göstermektedir. Ancak geriye kalan moleküler alt grupların (PF-EPN-A, PF-EPN-B, ST-EPN-RELA ve ST-EPN-YAP1) histolojik dereceleri ve biyolojik davranışları arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. PF-EPN-A ve ST-EPN-RELA'nın moleküler alt gruplar içinde kötü prognozla ilişkili olan iki alt grup oldukları bu çalışma ile teyit edilmiş ve böylece moleküler gruplamanın risk belirleme açısından histolojik derecelendirmeden daha anlamlı olduğu gösterilmiştir (9).

Tablo 5: Anatomik yerleşim yeri ve moleküler alt gruplarına göre modifiye edilmiş ependimom sınıflaması

MOLEKÜLER ALT GRUP	ST-SE	ST-EPN-RELA	ST-EPN-YAP1	PF-SE	PF-EPN-A	PF-EPN-B	SP-SE	SP-MPE	SP-EPN
ANATOMİK YERLEŞİM YERİ	ST	ST	ST	PF	PF	PF	SP	SP	SP
HİSTOPATOLOJİ	SE, D I	KE/AE D II/III	KE/AE D II/III	SE D I	KE/AE D II/III	KE/AE D II/III	SE D I	MPE D I	KE/AE D II/III
GENETİK ÖZELLİK	Dengeli genom	Kromotripsis RELA füzyonu	YAP1 füzyonu	Dengeli genom	Dengeli genom	kromozomal instabilite	6q del.	kromozomal instabilite	kromozomal instabilite (NF2 mut.)
YAŞ GRUBU	Erişkin	İnfant + Çocuk + Erişkin	İnfant + Çocuk	Erişkin	İnfant + Çocuk	Çocuk + Erişkin	Erişkin	Erişkin	Erişkin
CİNSİYET DAĞILIMI	E>K	E>K	K>E	E>K	E>K	K>E	K=E	K=E	E>K
SAĞKALIM	iyi	kötü	iyi	iyi	kötü	orta-iyi	iyi	iyi	iyi

D: Derece, E: Erkek, K: Kadın

DSÖ 2016’da difüz astrositik ve oligodendrogial tümörler başlığı altında ‘H3 K27M mutasyonu gösteren DOHG’ adıyla yeni bir varyant tanımlanmış ve H3 K27M mutasyonunun, bu tümöre özgü bir genetik değişiklik olduğu belirtilmiştir. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda bu mutasyonun başka SSST’de de görüldüğü saptanmıştır. Gessi ve ark.’ın 2016’da yayınladığı bir çalışmada bu mutasyonun, PF-EPN-A tümörlerinde görülebildiği ve bu vakaların agresif klinik gidiş ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır (66). Bunun üzerine H3 K27M mutasyonu gösteren DOHG tanısı verilebilmesi için, tümörün orta hat yerleşimli olması, difüz olması, glial kökenli olması ve bu mutasyonu göstermesi koşullarının tümünün karşılanmış olmasının gerektiği açıklanmıştır (46).

Pajtler ve ark. 2017 yılında da endimomlar üzerine yapılan moleküler çalışmaları özetleyen bir makale yayınlamış ve Eylül 2015'te Kanada'da endimomlar üzerine gerçekleşen konferansa değinmişlerdir. Buna göre; anatomik lokalizasyonlarına (ST, PF ve SP) göre her grup için 3'er adet olmak üzere toplamda 9 moleküler, klinik ve demografik alt grup olduğu konusunda görüş birliğine varılmıştır. Histolojik derecelendirmenin tedaviyi belirleyici bir kriter olmadığına, ancak moleküler alt gruplara yönelik tedavi yöntemlerinin de henüz geliştirilmediğinin altı çizilmiştir. Yine 3 anatomik yerleşim bölgesine ait alt gruplardan birinin derece I SE olduğuna, özellikle SP yerleşimli endimomlarda ise geri kalan 2 alt grubun da histomorfolojiye uygun şekilde sınıflandırıldığına (Derece I SP-MPE ve derece II/III SP-EPN), ancak PF ve ST yerleşimli tümörlerde SE dışındaki alt grupların moleküler sınıflandırmaya göre oluşturulduğuna dikkat çekilmiştir (67).

Chiang ve Ellison'ın 2017 yılında yayınladığı, çocukluk çağında görülen SSST'deki moleküler değişikliklerin anlatıldığı makalede endimomlara da değinilmiştir. RELA füzyonunun izlenmediği ST endimomlarda MAMLD1-YAP1 füzyonu veya daha nadiren FAM118B-YAP1 füzyonunun görüldüğü ve bunların daha çok, erken çocukluk döneminde ortaya çıktığı anlatılmıştır. Çocukluk çağında, özellikle infantlarda görülen endimomların daha kötü gidişli olduklarından bahsedilmiş, tüm endimomların 2/3'ünü oluşturan ST-EPN-RELA'nın ve PF-EPN-A'nın sağkalımının çok daha düşük olduğunun altı çizilmiştir (68).

2018 yılında Malgulwar ve ark.'ın yaptıkları çalışmaya 2007 ile 2016 yılları arasında tanı almış 88 endimom vakası dahil edilmiş olup bunların 10'u derece I (6'sı intrakranial SE, 4'ü SP-MPE), 78'i derece II ve III'tür. Derece I endimomlarda RELA füzyonu saptanmamış olup füzyon pozitifliği gösteren endimomlar derece II ve III endimomlardır. 23 PF yerleşimli, 8 SP yerleşimli endimomun hiçbirinde RELA füzyon pozitifliği görülmemiş, geriye kalan 47 ST yerleşimli derece II ve III endimom vakasının 27'sinde (%57,1) Sanger sekanslaması ve RT-PCR ile RELA füzyon pozitifliği saptanmıştır. RELA füzyon pozitif endimomların %81,4'ü pediatrik, %18,5'i erişkin hasta olup pozitif vakaların yaş ortalaması 9'dur. Füzyon pozitif vakaların %81,5'i derece III, %70,3'ü berrak hücre morfolojisinde olup, immünohistokimyasal olarak %95,7'si Nestin ile, %72'si VEGF ile, %79'u L1CAM ile, %64'ü p53 ile pozitiflik göstermiştir. MIB-1 L1 indeksinin %10'un üzerinde görülme oranı %77,8 olup kötü klinik gidiş ile ilişkilendirilmiştir. Yine L1CAM immünopozitifliği de kötü klinik gidiş ile ilişkilendirilmiş olup RELA füzyon pozitifliği ile %81 uyum göstermektedir. YAP1-MAMLD1 füzyonu sadece tek bir RELA füzyon negatif erişkin ST yerleşimli AE (ST-AE)

vakasında pozitif bulunmuştur. Yine RELA füzyon pozitifliği gösteren vakaların kötü gidişli olduklarının üzerinde durulmuştur (69).

2018'de Stucklin ve ark.'ın pediatrik beyin tümörlerinde moleküler sınıflama ve tedavi yöntemleri ile ilgili yayınladıkları araştırmalarında ependimomların yaş dağılımı, yerleşim yeri ve biyolojik özelliklerine göre 9 moleküler alt gruba ayırdıklarından, sadece ST-EPN-RELA'nın yeni DSÖ sınıflamasında yer aldığından, ancak diğer grupların da gelecekte sınıflamaya dahil edileceğinden söz etmişlerdir. ST ependimomların büyük bir kısmında C11orf95-RELA gen füzyonunun görülüp, geri kalan kısmında da YAP1 onkogen füzyonunun görüldüğünden bahsetmişlerdir. YAP1 füzyonunun iyi prognozla, RELA füzyonunun ise kötü prognozla ilişkili olduğunu söylemiş, yine de prognozla ilgili net kanıya varabilmek açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu vurgulamışlardır. PF-EPN-A'ların daha çok ilk dekatta görülüp medyan yaşın 3 olduğundan, daha kötü gidişli olup daha sık rekürrens gösterdiklerinden, metastaz olasılığının daha yüksek olduğundan, buna karşılık PF-EPN-B'lerin ise adolesan ve genç erişkinlerde daha sık görüldüğünden bahsetmişlerdir. Yine de bu moleküler sınıflamaya göre tedavi modalitelerinin henüz geliştirilmediğini, tedavinin yaşa, lokalizasyona ve cerrahi rezeksiyonun genişliğine göre verildiğini vurgulamışlardır (70).

2018'de Jung ve ark. ependimomların moleküler alt gruplarına göre tedavi modalitelerinin düzenlenmesini özetledikleri bir makale yayınlamışlardır. Ependimomların histolojik derecelendirmesinin tarihe karışacağını savunup, gelecekte moleküler grupları bilinmeden tedavi edilemeyeceklerini belirtmişlerdir (71).

Bazıları tartışmalı olsa bile hala en önemli prognostik faktörler başta cerrahi rezeksiyonun genişliği olmak üzere yaş, lokalizasyon ve histolojik derecedir. Bu nedenle aslında patolojik derece ve lokalizasyona bakılmaksızın en etkili tedavi yöntemi total cerrahi rezeksiyondur. Pediatrik ependimomlarda maksimum güvenli cerrahi rezeksiyonu takiben uygulanan RT, günümüzde uygulanan standart tedavidir (72). Pediatrik ST ependimomlarda eğer patoloji, derece III AE değilse ve tümör güvenli sınırlarla çıkarılabilmisse RT olmaksızın total rezeksiyon yeterli olabilir (73). Erişkinlerde ise derece II ependimomlarda total cerrahi rezeksiyondan sonra izlem ve subtotal rezeksiyondan sonra adjuvan RT standart tedavi yöntemidir (74–76). Geniş rezidü hastalık durumunda veya tanı AE ise RT önerilmektedir; ancak farklı histolojik derecelerdeki ependimomların tedavileri henüz standart hale getirilmemiştir. 3 yaşın altındaki çocuklar için RT tehlikeli olsa da, çocuklarda cerrahi rezeksiyondan 2 yıl sonra verilen RT'nin, 1 yıl sonra verilene göre klinik gidiş açısından

anlamli olarak çok daha kötü olduğu görülmüştür. Bu nedenle, 12 aydan büyük çocuklar için cerrahi rezeksiyon + RT'nin standart tedavi yöntemi olmasına karar verilmiştir. Birçok KT ajanıyla kombine tedaviler denendiyse de klinik gidiş veya sağkalıma herhangi bir katkısı bulunmadığından rutin kullanımları tavsiye edilmemektedir. Moleküler alt gruplara yönelik tedavilere bakılacak olursa; PF-EPN-B için tek başına total cerrahi rezeksiyon yeterli olup, ancak subtotal cerrahi uygulandığında RT eklenebilecekken, prognostik açıdan daha kötü olduğu gösterilmiş olan PF-EPN-A için maksimum güvenli cerrahi rezeksiyona eklenen adjuvan RT'nin en iyi tedavi yöntemi olduğu söylenmektedir (71). ST endimomlar için ise ST-EPN-RELA veya ST-EPN-YAP1 ile ilişkilendirilmiş bir tedavi yöntemi henüz bulunmamaktadır. Ancak ST-EPN-RELA için gelecekte hedefe yönelik tedavi ajanı olarak NF-κB inhibitörlerinin, ST-EPN-YAP1 için YAP1 inhibitörlerinin, PF-EPN-A içinse DNA CpG metilasyon inhibitörlerinin kullanılabileceği öngörülmektedir.

Gerstner ve Pajtler'in 2018'de yayınladıkları makalede, çocuklar ve adolesanlarda görülen endimomlar için 9 moleküler alt gruba ek olarak H3 K27M mutasyonundan bahsedilmiştir. H3K27me3 kaybı, PF-EPN-A grubu için nadir görülmekle birlikte güçlü bir belirteçtir. Özellikle PF-EPN-A ve ST-EPN-RELA grupları için rekürrens nadir görülen bir durum olmayıp, rekürrens durumlarında tedavi ile ilgili olarak cerrahi ve RT önerilmektedir. Takipler için ise; tedaviden sonraki ilk 2 yıl 3 ayda bir, 3. yıldan itibaren 3 yıl boyunca 6 ayda bir MR ile kontrol önerilmektedir. Erişkinlerde ise çocuklardan farklı olarak özellikle intrakranyal endimomlarda TERT mutasyonlarının görülebildiği saptanmıştır. 1q kazanımı, EGFR ekspresyonu ve nükleolin ekspresyonu da hem erişkinlerdeki hem de çocuklardaki endimomlarda görülebilen mutasyonlardan olup klinik anlamı henüz bilinmemektedir. Erişkinlerde, cerrahi veya RT'nin verilemediği durumlarda KT de bir seçenektir. SE'ler için ise cerrahi tedaviye ek bir tedavi vermeye gerek duyulmamaktadır (77).

Fukuoka ve ark. 2018'de 113 endimom vakasının moleküler özelliklerinin incelendiği bir çalışma yapıp ST ve PF yerleşimli tümörleri gruplamışlar, özellikle ST RELA füzyon negatif endimomların diğer moleküler ve genetik özellikleri üzerinde durmuşlardır. Vakaların 38'i ST, 63'ü PF, 12'si SP yerleşimlidir. 38 ST endimom vakası histolojik özelliklerine göre yeniden değerlendirilmiş, 9'unun endimomdan farklı tümörler olduğu saptanıp çalışmadan çıkarılmıştır. Kalan 29 ST endimomun 19'unda RT-PCR, FISH ya da RNA sekanslama ile RELA füzyon pozitifliği saptanmıştır. RT-PCR ya da FISH ile füzyon pozitifliği saptanmamış vakaların 1'inde kopya sayı analizi yapılarak RELA füzyonu saptanmıştır. Bu vakada immünohistokimyasal olarak L1CAM ile kuvvetli pozitiflik

görülmüştür. Vakaların yalnızca 1'inde YAP-1 füzyon pozitifliği izlenmiştir. RELA füzyon ve YAP-1 füzyon pozitifliği gösteren vakaların tümü histolojik derece III tümörlerdir. Kalan 8 ST yerleşimli ependimom vakası yeniden gözden geçirilmiş, 3'ünün ependimomun histolojik özelliklerini taşıyan derece II KE veya derece III AE olduğu onaylanmış, kalan 5'inin ise ependimal farklılaşma gösteren ancak astrositik hücreler, tanisitik hücreler, vakuollü hücreler veya mikrokistler gibi sıradışı özellikleri de barındıran farklı tümörler olduğu anlaşılmıştır. RELA füzyon ya da YAP-1 füzyon negatif olan bu tümörlere yapılan RNA sekanslama sonucu, bunların genetik ve moleküler açıdan heterojen bir grup olduğu, spesifik bir özellik göstermedikleri anlaşılmış ve ayrı tek bir grup çatısı altında toplanması görüşüne varılmıştır. PF yerleşimli ependimom vaka grubuna yapılan genetik ve moleküler incelemeler sonucunda PF-EPN-A grubunu daha genç yaş ortalamasına sahip hastaların oluşturduğu, çoğunun derece III tümörler olduğu ve medial yerleşim gösteren PF-EPN-B grubuna kıyasla anatomik olarak daha laterale yayılma eğilimlerinin olduğu saptanmıştır. Ayrıca 1q kazanımı görülen vakaların PF-EPN-A grubuna mensup olup daha yaşlı hastalar oldukları ve bu hastalarda SP yayılım oranının arttığı izlenmiştir. Ayrıca immünohistokimyasal olarak uygulanan H3K27me3 antikoru ile, 29 adet PF-EPN-A vakasının tamamında ekspresyon kaybı izlenmiştir. EZH2 proteini ve TERT mRNA ekspresyonlarının artması negatif prognostik faktör olarak kabul edilirken, bu oran en yüksek ST yerleşimli ependimom grubunda, özellikle de RELA füzyon pozitifliği gösteren grupta tespit edilmiştir. Derece III vakaların, PF-EPN-A grubunun ve 1q kazanımının hastalısız sağkalımla ters orantılı ilişkisi gösterilmiş, yine derece III tümörlerin ve PF-EPN-A grubunun daha kısa süreli genel sağkalımla ilintili olduğu saptanmıştır (78).

Chavali ve ark. Ocak 2011 ile Haziran 2016 yılları arasında kendi merkezlerinde tanı almış 65 adet derece III ST-AE vakasına immünohistokimyasal L1CAM ve p65 çalışmışlar ve pozitif vakalarda yaş, morfoloji, yerleşim yeri ve prognoz ilişkisine bakmışlardır. ST yerleşimli ependimomlarda RELA füzyon pozitifliğinin immünohistokimyasal L1CAM pozitifliği ile olan korelasyonunun ve bunların daha kötü prognozlu olduklarının altını çizdikten sonra kendi vakalarında immünohistokimyasal kuvvetli, membranöz ve sitoplazmik L1CAM pozitiflik oranını %26 (17/65) olarak açıklamışlardır. Bunların 15'i pediatrik, 2'si erişkin ependimom vakası olup, anlamlı olarak pediatrik grupta pozitiflik saptandığını konfirme etmişlerdir. Yine pozitif vakaların anlamlı bir kısmının frontoparyetal yerleşimli (%94, 16/17 vaka) olduğunu, yoğun paranükleer noktasal EMA pozitifliği (%88, 15/17 vaka) gösterdiğini, çoğunun berrak hücre morfolojisinde olup kalsifikasyon içerdiğini ve anlamlı olarak immünohistokimyasal p65 ile kuvvetli, nükleer pozitif boyandığını göstermişlerdir (10).

2019'un başında yayınlanmış olan Gessi ve ark.'in çalışmasında ise 30'u pediatrik, 12'si erişkin olmak üzere 42 ST endimom vakasında RT-PCR ve Sanger sekanslama ile C11orf95-RELA füzyonu, C11orf95-YAP1 füzyonu, C11orf95-MAML2 füzyonu, YAP1-MAMLD1 füzyonu bakılmış, immünohistokimyasal p65/RELA ve L1CAM antikorları uygulanmış, sonuçlar karşılaştırılmıştır. 42 vakanın 17'sinde C11orf95-RELA füzyon pozitifliği, 1 vakada ise YAP1-MAMLD1 füzyon pozitifliği saptanmıştır. 42 vakanın 7'si pediatrik, 4'ü erişkin olmak üzere 11'i berrak hücreli varyant endimom morfolojisinde olup pediatrik olanların 5'inde RELA füzyon pozitifliği izlenmiştir. 17 RELA füzyon pozitif vakanın 16'sı derece III iken, sadece 1'i derece II'dir. RELA füzyon pozitifliği gösteren 17 vakanın 15'inde HTERT ekspresyonu bakılabilmiş olup 1'i hariç 14 vakada ekspresyon artışı tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal p65/RELA antikoruna ile 19 vakada pozitiflik saptanmış, bunların 17'sinde RELA füzyon pozitifliği izlenmiştir. 23 immünohistokimyasal negatif vakanın 23'ü de füzyon negatifliği gösteren vakalardır (%92 duyarlılık, %100 özgüllük). İmmünohistokimyasal L1CAM ile pozitiflik gösteren 22 vakanın 16'sı RELA füzyon pozitif, 6'sı füzyon negatifken; L1CAM negatif 20 vakanın 19'u RELA füzyon negatif, 1'i RELA füzyon pozitifdir (%94 duyarlılık, %76 özgüllük). Her iki immünohistokimyasal belirteç birlikte değerlendirildiğinde her ikisinin de pozitif veya negatif olduğu vakalarda duyarlılık %100'e, özgüllük %94,4'e ulaşmaktadır. Füzyon pozitif vakaların sağkalım ile ilişkisine bakılamamıştır. Dolayısıyla, RELA füzyon pozitifliğinin prognostik gösterge olarak ele alındığı prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (79).

Lillard ve ark.'ın 2019'da yayınlanan pediatrik çağda ortaya çıkan ST yerleşimli endimomları kapsayan çalışmalarında 1990-2014 yılları arasında tanı almış 73 vakada yaş, histolojik derecelendirme, total ya da subtotal cerrahi rezeksiyon ve moleküler alt grupların genel sağkalıma ve hastalıksız sağkalıma olan etkileri araştırılmış, buna göre yaşın ve tümör derecesinin genel sağkalım ya da hastalıksız sağkalıma etkisi olmadığı istatistiksel olarak gösterilmiştir. Vakaların %80'ine geniş total rezeksiyon yapılmışken yaklaşık %20'sinin tümörü subtotal rezeksiyonla çıkarılabilmektedir. Geniş total rezeksiyonun hastalıksız sağkalımla ilişkisi olduğu görülmüş ancak genel olarak sağkalım açısından subtotal rezeksiyona herhangi bir üstünlüğü saptanamamıştır. FISH ile RELA füzyonu veya yeniden düzenlenmesi 73 vakanın 51'inde bakılabilmiş olup bunların 34'ünde C11orf95-RELA füzyonu, 8'inde ise C11orf95 gen yeniden düzenlenmesi saptanmıştır. Şaşırtıcı olarak bu çalışmada RELA füzyon/C11orf95 yeniden düzenlenme varlığının kötü prognostik etkisi gösterilememiş olup tam tersine RELA füzyon/C11orf95 yeniden düzenlenmesi pozitif olan vakaların sağkalımının daha yüksek

olduğu saptanmıştır. Ancak geniş total rezeksiyon oranının yüksekliğinin, sonuçların bu şekilde çıkmasına etkisi olduğu düşünülmüş, agresif cerrahinin RELA'nın olumsuz etkilerini sildiği savunulmuştur (16).

Zapotocky ve ark.'ın 1985-2014 yılları arasında tanı almış 72 çocukluk çağı (<17 yaş) PF yerleşimli ependimom vakasında yaptıkları moleküler alt grup-sağkalım ve klinik gidiş ilişkisini gösteren, 2019 başında yayınlanmış çalışmalarına göre 3 vaka, yeterli doku elde edilememesi nedeniyle çalışma dışı bırakılmış, kalan 69 vakanın 60'ı (%89) PF-EPN-A, 9'u ise PF-EPN-B olarak gruplandırılmıştır. PF-EPN-B grubundaki 9 vakada rekürrens saptanmamakla birlikte vaka sayısının azlığı nedeniyle PF-EPN-A grubu ile karşılaştırmanın sağlıklı olmayacağı kanısına varılmış; çalışma PF-EPN-A grubu vakaları üzerinden devam ettirilmiştir. Hidrosefali varlığı, tanı aldığı yaş ve geçirdiği cerrahi rezeksiyon sayısı risk faktörü olarak alınmış, istatistiksel olarak hidrosefalinin ve tanı aldığı yaşın klinik gidişe etkisi olmadığı, ancak cerrahi rezeksiyon sayısının kötü klinik gidişle doğru orantılı olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmaya alınmış tüm vakalarda 5 yıllık ve 10 yıllık hastalıksız sağkalım oranları sırasıyla %48,7-%42,1 iken, 5 yıllık ve 10 yıllık genel sağkalım oranları sırasıyla %72,4-%58,1'dir. Dönem dönem tedavi modalitelerinde revizyona gidildiğinden, PF-EPN-A grubu vakaları 10 yıllık toplam 3 gruba ayrılmış, her bir grup için hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım oranlarına bakılmıştır. Buna göre 1985-1994 yılları arasında 10 yıllık hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım oranları sırasıyla %22,5 ve %34,9 iken, 1995-2004 yılları arasında bu oranlar sırasıyla %30,8 ve %53,1'e, 2005-2014 yılları arasında ise sırasıyla %67,7 ve %85,1'e yükselmiştir. Bu yükseliş, total rezeksiyon ve RT oranlarının giderek artmasına bağlanmıştır. Böylece tedavide postoperatif adjuvan RT'nin gerekliliği pekiştirilmiştir (80).

Sasaki ve ark. 123 hastaya ait 130 vakadan (129 ependimom, 1 ependimoblastom) oluşan bir seride morfolojik, moleküler ve immünohistokimyasal özelliklere bakmışlar, sağkalım ile ilişkilerini araştırmışlardır. Vakalar seçilirken, ependimom tanısı almış olgular, farklı merkezlerdeki patologlar tarafından yeniden değerlendirilmiş, SP yerleşimli tümörler için %100, PF tümörleri için %93 tanı uyumluluğu sağlanabilmişken, bu oran ST tümörler için %77'lere kadar düşmüştür. Tümörler; histolojik özellikleri, moleküler grupları ve anatomik yerleşim yerlerine göre 13 SP-EPN, 1 SP-MPE, 45 PF-EPN-A, 15 PF-EPN-B, 19 ST-EPN-RELA, 1 ST-EPN-YAP1 olarak sınıflandırılmıştır. SE tanısı alan vaka yoktur. 45 PF-EPN-A vakasının 38'i (%84) histolojik derece III iken, 15 PF-EPN-B vakasının 12'si (%80) derece II'dir. Tüm ST-EPN-RELA vakaları ise derece III'tür. 29 ST yerleşimli ependimom vakasının 19'u (%66) histolojik özelliklerine ve moleküler analiz sonuçlarına göre ST-EPN-RELA tanısı

almış olup 1 vaka ST-EPN-YAP1 olarak tanımlanmış, 9 vakada ise ne RELA füzyonu ne de YAP1 füzyonu saptanmıştır. Bu 9 vakanın 4'ü KE ya da AE özelliğindedir, kalan 5'i ependimal farklılaşma gösteren astrositik hücre, tanisitik hücre, vakuollü hücre ya da mikrokistik alanlar içeren tümörlerdir. 19 ST-EPN-RELA vakası içinden 14'ü berrak hücreli morfolojide olup eşlik eden dallanan kapiller damar ağı dikkati çekmiştir. Tamamı histolojik derece III tümörden oluşan bu grupta median yaş 13 (1-63 yaş aralığı) olarak hesaplanmış, erişkin populasyon oranı ise %44 olarak bulunmuştur. Anatomik yerleşim yerlerine göre 9'u frontal, 4'ü paryetal, 3'ü oksipital ve 2'si temporal bölgededir. Tüm ST-EPN-RELA vakaları L1CAM ile diffüz, orta yoğunlukta/kuvvetli, membranöz pozitiflik göstermiştir. RELA negatif ependimomlarda, SP yerleşimli ependimomlarda ve PF yerleşimli ependimomlarda L1CAM ile anlamlı bir boyanma gözlenmemiştir. NF-κB antikoruna ise vakaların 12'sinde (5 RELA füzyon pozitif, 7 RELA füzyon negatif) çalışılabilmiş, ST-EPN-RELA vakalarının tamamında pozitif nükleer boyanma saptanmıştır. Ancak RELA negatif ependimomlarda fokal alanlarda (>%10), PF yerleşimli AE vakalarında ise tümör hücrelerinin %50'sinde bu antikorla pozitif boyanma izlenmiştir. Sonuç olarak ST-EPN-RELA grubu için L1CAM %100 duyarlılık (19/19), %95 özgüllük (39/41) gösterirken, NF-κB/p65 de %100 duyarlı (5/5) ancak çok daha az özgül (%28,5, 2/7) bulunmuştur. Böylece her 2 antikorun da ST-EPN-RELA vakalarında kullanılabileceği, ancak L1CAM'ın NF-κB/p65'e oranla çok daha özgül olduğu anlaşılmıştır. L1CAM ekspresyonu ST-EPN-RELA dışında, GBM, AA, gliomatozis serebri olgularında görülebilirken, NF-κB/p65 de yine GBM'lerde, AA'larda ve gliomlarda pozitif saptanabilmektedir. Bu nedenle tek başına immünohistokimya ile ST-EPN-RELA tanısı koymak mümkün gözükmemektedir. PF-EPN grubu vakalarda, LAMA2 ve NELL2 immün belirteçler sırasıyla PF-EPN-A ve PF-EPN-B için önerilmektedir. Ancak Sasaki ve ark.'ın çalışmasında bununla ilgili anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Buna alternatif olarak, daha önceki çalışmalarda PF-EPN-B grubu için %100 özgül olarak saptanmış H3K27me3 antikoruna önerilmiştir. PF yerleşimli, histolojik derece III AE olgularında hastalısız ve genel sağkalım oranları, derece II'lere göre çok daha düşük bulunmuştur. PF-EPN-A grubunun derece II olan tümörlerinde bile, PF-EPN-B derece III tümörlere göre anlamlı olarak çok daha agresif gidiş gözlemlenmiştir. Derece III PF-EPN-A olgularında yaşam süresi, derece III ST-EPN-RELA grubuna göre anlamlı olarak daha kısa bulunmuştur. Sonuç olarak, PF-EPN-A grubu (özellikle de derece III olanlar) prognostik açıdan en kötü grup olarak tespit edilmiştir (14).

Yukarıda özetlenen tüm bu çalışmaları irdeleyen Delgado-Lopez ve ark.'ın (81) 2019'daki yayınında öncelikle, ependimomların nadir görülen tümörler olmalarından dolayı tek

bir merkeze ait az sayıda vakadan oluşan çalışmalardansa birçok merkezden vaka toplanarak yapılacak geniş serilerden oluşan çalışmaların çok daha verimli olacağına altı çizilmiştir. Daha önce bu alanda yapılmış çalışmaları ve DSÖ'nün son sınıflamasını baz alarak yayınladıkları makalede özellikle yeni sınıflamaya uygun tedavi yöntemleri ve sağkalım oranlarından bahsetmişlerdir. Histolojik derecelendirmenin, sanılanın aksine prognozu etkilemediği, geniş cerrahi rezeksiyonun hem çocuklar hem erişkinler için en önemli prognostik faktör olduğu, yaş ve tümör yerleşim yerinin de prognozu etkilediği vurgulanmıştır. 9 moleküler alt grup içinde ST-EPN-RELA ve PF-EPN-A, çok daha kötü prognozlu olmaları, rekürrens olasılıklarının daha yüksek olması ve hastalısız ve genel sağkalım yüzdelerinin daha düşük olması sebebiyle diğer alt gruplardan ayrılmaktadırlar. Bu nedenle, özellikle bu 2 alt grup için ek tedavi modalitelerine ihtiyaç doğmuştur. Tedavi yöntemleri moleküler alt gruplara göre yeniden düzenlenip standardize edilmekle birlikte, çocuklar ve erişkinler arasında bazı gruplar için nüanslar bulunmaktadır. Adjuvan RT, DSÖ derece III AE'ler ve inkomplet rezeksiyon yapılmış derece II KE'ler için önerilmektedir. Her bir moleküler alt grup için tedavi seçenekleri ve genel sağkalım oranlarına bakılacak olursa; SP, PF ve ST yerleşimli SE'ler için 5 yıllık ve 10 yıllık genel sağkalım oranları %100 olup SP-SE ve PF-SE için total cerrahi rezeksiyon yeterliyken, ST-SE için BOS yayılımı saptanan olgulara, rezeksiyona ek olarak RT verilmektedir. SP-MPE'ler için de 5 yıllık genel sağkalım oranı %100 olup çocuk hastalarda bu grup, biraz daha kötü gidişli olabilmektedir. Bu grup için de mümkünse total rezeksiyon yapılmalı, rekürrens durumlarında ek olarak RT verilmelidir. Çocuklarda ise bu grup için RT'den kaçınılmalıdır. SP-EPN grubu için hastalısız sağkalım oranı %50-80, genel sağkalım oranı %100 olup total rezeksiyon yapılabildiği takdirde RT'ye gerek duyulmadan kür sağlanmış olacaktır. SP yerleşimli bu 3 grubun da prognozu iyidir. PF-EPN-B grubu ise ara dereceli prognoz göstermekte olup 5 ve 10 yıllık genel sağkalım oranları sırasıyla %100 ve %56'dır. Yine bu grup için uygulanabildiği takdirde geniş total rezeksiyon yeterliyken, subtotal rezeksiyon yapılabildiği durumlarda tedaviye RT eklenmelidir. PF-EPN-A olgularında ise prognoz kötüdür; 5 ve 10 yıllık sağkalım oranları sırasıyla %68 ve %56'dır. Bu gruba, cerrahiye ek olarak 12 ay üstü hastalar için mutlaka RT verilmelidir. Mümkünse KT de eklenebilir. ST-EPN-YAP1 grubu iyi prognozludur, 5 yıllık sağkalım oranı %100'dür. Total cerrahi rezeksiyon tedavi için yeterli bulunmakta, inkomplet rezeksiyon durumlarında RT de eklenmektedir. ST-EPN-RELA kötü prognozlu olan diğer alt gruptur. 5 yıllık ve 10 yıllık genel sağkalım oranları sırayla %75 ve %49 bulunmuştur. Bu hastalara da PF-EPN-A grubundaki gibi, cerrahiye ek olarak RT verilmeli, mümkünse KT de eklenmelidir. Spesifik moleküler varyantlar radyolojik görüntüleme yöntemleriyle ayırt edilemeseler de, PF-EPN-A grubunun PF-EPN-B'lere göre

daha lateral yerleşim göstermesi, ST yerleşimli ependimomların da intraventriküler yerleşimden ziyade daha çok intraparankimal lokalizasyon (%83) göstermeleri bu açıdan ipucu niteliğinde olabilir. Çocuklar için, DSÖ derece III vakalarda ve subtotal rezekte edilen derece II ependimomlarda, 12 aydan büyük olanlarına RT verilmesi konusunda görüş birliği sağlanmıştır. Ancak ST-EPN-YAP1 ve PF-EPN-B gibi orta-iyi gidişli gruplar için düşük rekürrens olasılığı göstermelerinden dolayı RT verilmeyebilir. ST-EPN-RELA ve PF-EPN-A gibi kötü prognoz gösteren gruplarda KT, tedavi seçeneği olarak protokole eklenebilse de, bunun ne kadar faydalı olduğu tartışmalıdır (81). Sartor ve ark., 1 yaşın altındaki çocukları RT'nin toksisitesinden korumak amacıyla, yüksek riskli hastalarda RT öncesinde veya rekürrens durumlarında, ikinci cerrahi rezeksiyon öncesinde KT verilebileceğini savunmuşlardır (82). Erişkinlerde ise intrakraniyal yerleşimli derece I veya II ependimomlarda geniş total rezeksiyon yapılabildiği takdirde gözlem ya da RT tercih edilebilir. Ancak derece III AE'lerde, total rezeksiyon yapılsa dahi RT mutlaka uygulanmalıdır (81). Rekürrens durumunda öncelikle cerrahi tercih edilmeli, cerrahi yapılamadığı ya da RT verilemediği takdirde bir seçenek olarak KT düşünülmelidir. Bir kural olarak PF-EPN-A olguları için 12 aydan büyük tüm hasta grubuna total cerrahi rezeksiyon yapılabildiğinde bile sonrasında RT verilmelidir. Günümüzde hedefe yönelik tedavi amacıyla ST-EPN-RELA (NF-κB yolak inhibitörleri), ST-EPN-YAP1 (YAP1 inhibitörleri) ve PF-EPN-A (DNA sitozin-fosfat-guanin metilasyon inhibitörleri) grupları için çeşitli ajanlarla çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir (81).

Almeida Magalhaes ve ark.'ın Haziran 2019'da yayınlanan çalışmasına göre ST-EPN-RELA vakalarında NOTCH1, JAG1, JAG2, HES4 gibi Notch sinyallerinin ekspresyonunun artmış olduğu saptanmıştır. Bunun da VEGFA ve L1CAM gibi kanser kök hücre belirteçlerinin ekspresyonunu tetiklediği gösterilmiştir. Notch inhibitörleriyle yapılan in vitro tedavi yöntemleriyle de bu belirteçlerin ekspresyonlarının inhibe olduğu görülmüştür. Bu yolağın, hücre çoğalması ve sağkalım üzerine etkisi olmadığı düşünülse de kanser kök hücre belirteçleri üzerine olan baskılayıcı etkisi nedeniyle tedavi açısından olumlu etkileri olabileceği düşünülmektedir. Ancak bunun için in vivo çalışmaların yapılması gerekmektedir (83).

Matsumoto ve ark. 2019'da kortikal ependimomlar üzerine bir çalışma yapmışlardır. Buna göre 1980 ve 2018 yılları arasında kortikal yerleşimli, ependimom tanısı almış 8 vakayı incelemişler, farklı merkezlerde tanı almış ve yayınlanmış 84 kortikal ependimom vakası ve ST ependimom vakaları ile bunları demografik, klinik, moleküler açıdan karşılaştırmışlar ve sağkalım oranlarını kıyaslamışlardır. 7'si derece III, 1'i derece II olan bu 8 ST kortikal

ependimom vakasının 6'sına total, 2'sine totale yakın rezeksiyon uygulanmış; 3 yaşın üstündeki derece III vakalara postoperatif RT verilmiştir. Bu 8 vakanın 4'ü frontal, 4'ü parietal lob yerleşimlidir. 5 vakada PCR ve Sanger sekanslama teknikleriyle C11orf95-RELA füzyonuna bakılmış ve tümünde bu füzyon saptanmıştır. 8 vakanın 6'sı L1CAM eksprese ederken, 2 vakada ekspresyon saptanmamıştır. Takipler sırasında 8 vakanın 4'ünde rekürrens gelişmiş ancak ölen hasta olmamıştır. Diğer 84 kortikal ependimom vakası ile 5 yıllık progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım oranları karşılaştırılmış, anlamlı bir fark bulunmamıştır. ST ependimomlarla kıyaslandığında ise bu oranlar arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Buna göre kortikal ependimomlarda rekürrens ve mortalite oranları sırasıyla %30 ve %9,5 iken, ST ependimomlarda bu oranlar sırasıyla %53 ve %22'lere kadar yükselmektedir. Buradan anlaşılmıştır ki, bu çalışmadaki kortikal ependimomların çoğunda, kötü prognoz göstergesi olan C11orf95-RELA füzyonu saptanmış olsa bile, ST ependimomlardan çok daha iyi klinik gidiş göstermişlerdir (17). Sonucun bu şekilde olmasında, kortikal ependimomların iyi sınırlı olmaları, çoğuna total rezeksiyon uygulanmış ve postoperatif RT verilmiş olması, vaka sayısının azlığı gibi nedenlerin etkili olup olmadığı da tartışılabilir.

Pagès ve ark.'ın 2019'da yayımlanan, 1993-2014 yılları arasında ependimom tanısı almış, ST yerleşimli 40 vakalık çalışmada, DNA metilasyon profilleri incelenmiş, FISH ile RELA ve YAP1 füzyonu bakılmış, immünohistokimyasal p65-RelA antikoru çalışılmış ve vakalar alt gruplara ayrılmış; sağkalım oranları kıyaslanmıştır. Vakaların tümüne maksimum güvenli cerrahi rezeksiyon yapılmış, 3 yaşın üzerindeki vakalara RT, 3 yaşın altındakilere ya da tümörün tamamının cerrahi olarak çıkarılamadığı vakalara ise adjuvan KT verilmiştir. Histolojik olarak DSÖ derece I tümörler çalışmaya dahil edilmemiştir. DNA metilasyon profillerine göre 6 vaka, ependimom dışı tanı almış, geri kalan 34 ST ependimom vakasının 22'si (%71) RELA füzyon pozitifliği, 2'si (%6) YAP1 füzyon pozitifliği göstermiştir. 6 vakada (%18) ne RELA ne de YAP1 füzyonu saptanmıştır. Kalan 4 vaka (%12) ise ependimal + subependimal mikst tümör özelliğindedir. FISH ile RELA pozitifliği ile immünohistokimyasal p65-RelA pozitifliği arasındaki uyum %100 olarak bulunmuştur. İmmünohistokimya ile DNA metilasyon profili ve FISH ile DNA metilasyon profili arasındaki uyumlar da yüksek hesaplanmış olup sırasıyla %96,4 ve %95,2'dir. Vakalara immünohistokimyasal olarak YAP1 antikoru da uygulanmış ancak hem RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarda hem de YAP1 füzyon pozitif vakalarda ekspresyon saptanmıştır. Bu nedenle, bu 2 grubu ayırt etmede başarısız olmuştur. RELA füzyon pozitif, YAP1 füzyon pozitif, RELA ya da YAP1 füzyon negatif ve ependimal/subependimal mikst tümör olmak üzere 4 alt grup için hastaliksız sağkalım

oranlarında anlamlı farklılık saptanmış ancak genel sağkalımda anlamlı bir fark görülmemiştir. YAP1 füzyon pozitif ve ependimal/subependimal mikst tümör alt grupları çok iyi prognoz göstermişlerdir. RELA füzyon pozitif alt grup ile RELA ve YAP1 füzyon negatifliği gösteren vakalar arasında ne hastaliksız sağkalım ne de genel sağkalım açısından anlamlı bir fark görülmüştür. Sonuç olarak, immünohistokimyasal p65-RelA antikoru ve break-apart probu kullanarak FISH ile RELA füzyonu bakılmasının, RELA füzyon pozitif ependimom grubu vakalarının tanısını koymak için çok değerli olduğu kanısına varılmıştır (18).

Neumann ve ark.'ın Ekim 2019'da yayınlanan, 12 tanisitik, 14 berrak hücreli ve 19 papiller ependimom vakasından oluşan çalışmada, genetik ve moleküler değişikliklerin, morfolojik varyantlara özgü olup olmadığına bakılmıştır. Moleküler çalışmaların yapılamadığı merkezlerde, morfolojiden yaklaşım yapılabilmesi olasılığını desteklemeyi amaçlayan bu çalışmada berrak hücre morfolojisi gösteren ve ST yerleşimli olan 6 vakanın tümünde RELA füzyon pozitifliği saptanmıştır. RELA füzyon pozitifliği gösterip berrak hücre morfolojisini yansıtmayan 65 ST ependimomla karşılaştırıldıklarında ise DNA metilasyon profilleri ya da klinik parametreleri arasında farklılık bulunmamıştır. Papiller morfolojideki ependimomları da psödopapiller, trabeküler ve gerçek papiller olmak üzere 3 gruba ayırmışlar, gerçek papiller ependimom alt grubundaki 5 vakayı, PF-EPN-B olarak gruplamışlardır. Bu 5 vakayı, PF-EPN-B grubunda olup papiller morfoloji sergilemeyen 15 ependimom vakası ile karşılaştırmışlar; kromozom 11 kazanımının papiller morfolojide olmayan PF-EPN-B grubunda sıklıkla görülürken, papiller PF-EPN-B grubundaki vakaların hiçbirinde görülmediğini saptamışlardır. 12 tanisitik ependimomun ise 7'si, 9 moleküler alt grup çatısı altında sınıflanabilmiştir. Bu 7 vakanın 3'ü SP-MPE, 2'si SP-EPN, 1'i PF-EPN-A, 1'i PF-EPN-B olarak gruplandırılmıştır. Sonuç olarak; berrak hücreli morfoloji, ST-EPN-RELA alt grubu ile, gerçek papiller büyüme paterni de PF-EPN-B alt grubu ile ilişkilendirilmiştir (84).

2.4. EPENDİMOMLARIN ALT TIPLERİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ

2.4.1. SUBEPENDİMOM

SE'ler DSÖ son sınıflamasına göre histolojik olarak derece I tümörlerdir. Yavaş ve egzofitik büyürler. Çoğunlukla insidental olarak saptanırlar (25,85).

Genelde asemptomatik olduklarından dolayı görülme sıklığını belirlemek zor olsa da, yapılan iki çalışma sonucu ependimal tümörlerin yaklaşık %8'ini oluşturdukları saptanmış;

yine bu iki çalışmadan birinde tüm SSST'nin yaklaşık %0,51'ini oluşturdukları gösterilmiştir (86,87). Sıklıkla orta ve ileri yaş grubunda görülmektedir. Kadın/erkek oranı 2,3/1'dir (88,89).

En sık yerleşim yeri 4. ventrikül olup bunu lateral ventriküller izler (1). 3. ventrikül ve septum pellucidum'da çok daha az sıklıkta görülmekle birlikte, intraparankimal yerleşimli nadir vaka da tanımlanmıştır (90). Spinal kordda, servikal, servikotorasik intramedüller ve nadiren de ekstramedüller SE tanısı almış vakalar mevcuttur (89,91).

Klinik olarak ventriküler obstrüksiyon ve buna bağlı kafa içi basınç artışı yapabilirler. SP tümörler ise duyuşsal ya da motor hasarla kendilerini belli ederler. Çoğunlukla iyi sınırlı, lokalize nodüler kitle olarak görürlür. Makroskopik olarak, genellikle boyutu 1-2 cm'yi aşmayan, ventriküler lümene doğru uzanan nodüllerdir.

Özellikle lateral ventriküllerden kaynaklanan kitlelerin mikroskopik görüntüsü; zeminde glial hücre komponenti içeren yoğun fibriler matriks ve çok sayıda küçük kistin eşlik ettiği küçük, uniform çekirdekli hücrelerden oluşan yığınlar şeklindedir. Tümör hücreleri, subependimal gliadakilere benzeyen, birbiriyle eş boyutta hücrelerdir. Solid tümörlerde pleomorfizm görülebilir. Bazı SE'lerde nadiren de olsa düşük mitotik aktivite izlenebilir. Kalsifikasyon ve hemoraji eşlik edebilir. Tümöral hücreler genellikle damarların etrafında yoğunlaşarak psödorozet oluşturabilir. Vakaların bir kısmında KE veya daha nadiren tanisitik endimom komponenti saptanabilir (90). Bu tip kombine tümörler, mikst endimom-subependimom olarak adlandırılıp, endimom komponentine göre derecelendirilirler (89).

İmmünohistokimyasal olarak GFAP ekspresyonu, vakadan vakaya değişen oranda olsa da çoğunlukla pozitifdir. Ancak SE'lerde EMA ile immünpozitiflik, KE'lerin aksine nadir görülen bir durumdur. Potansiyel terapötik ajanlar için yapılan bir çalışmada, SE'lerde TOP2B, MDM2, nükleolin, HIF1-alfa ve fosforillenmiş STAT3 ile sıklıkla ekspresyon saptanmıştır (92).

SE'lerin prognozu iyi olup geniş total rezeksiyon sonrası rekürrens henüz tanımlanmamıştır (93). 4. ventrikülden kaynaklanan tümörlerin tamamı cerrahi olarak çıkarılmadığında bile rezidü tümör dokusunun büyüyerek semptomatik hale gelmesi ancak uzun bir zaman sonrasında mümkün olduğundan, bu tip olgular da iyi prognoz göstermektedir. Nadir olarak saptanabilen düşük mitotik indeks ve pleomorfizm, klinik açıdan anlamlı bulunmamıştır (89,94). Ancak Koutourousiou ve ark.'ın çalışmasında, 2 vakada rekürrens oranları ile proliferasyon indeksi arasında bir ilişki olduğu görülmüştür (95).

2.4.2. MİKSOPAPİLLER EPENDİMOM

MPE'ler yavaş büyüyen bir varyant olup daha çok genç erişkinlerde görülürler. DSÖ sınıflamasına göre derece I tümörlerdir. Ancak, çocuklarda daha agresif biyolojik davranış sergileyip inkomplet rezeksiyondan sonra kötü klinik gidiş gösterirler (1).

Tüm ependimomların %9-13'ünü oluştururlar (88,89). Yaş aralığı 6 ile 82 arasında olup median yaş 36'dır. Filum terminale yerleşimli 320 ependimom vakasını baz alan bir çalışmada, vakaların %83'ü MPE tanısı almış, kadın erkek oranı 2,2/1 olarak hesaplanmıştır (96). Şu ana kadar tanı alan en genç hasta 3 haftalık bir infanttır (97).

Tipik olarak konus medullaris, kauda equina ve filum terminalede yerleşim gösterebilir de servikotorasik spinal kord, 4. ventrikül, lateral ventrikül ve beyin parankim lokalizasyonu nadir vakalar bildirilmiştir (98,99).

Makroskopik olarak lobule konturlu, gri ya da taba renkli, yumuşak kıvamlı ve sıklıkla enkapsüle tümörlerdir. Jelatinöz değişiklikler, kistik oluşum ve hemoraji eşlik edebilir. Mikroskopik olarak, hyalinize fibrovasküler kor etrafında ışınal dizilim gösteren kübik ya da uzamış tümör hücrelerinin oluşturduğu papiller formasyonlar şeklinde görülür. Tümör hücreleri ve vasküler yapılar arasında Alsiyan mavisi pozitif mukoid materyal birikimi dikkati çeker. Mitotik aktivite ve Ki67 proliferasyon indeksi düşüktür.

İmmünohistokimyasal olarak difüz GFAP pozitifliği; kordoma, metastatik karsinom, mikroid kondrosarkom, paragangliom ve schwannomdan ayırmakta yardımcıdır. S100 ve vimentin ile immünpozitiflik tipiktir. CD99 ve NCAM1 pozitifliği de sıktır. Pansitokeratin pozitifliği de karakteristik olmakla beraber keratin alt tipleri ile pozitiflik pek beklenen bir durum değildir.

Prognozu çok iyidir; ancak cerrahi olarak tümörün tamamının çıkarılmadığı durumlarda rekürrens hızlı gelişir. Total ya da parsiyel rezeksiyon sonrasında 5 yıllık sağkalım oranı %98,4'tür (100). Bazı çalışmalar, çocuklarda tümörün tamamının cerrahi olarak çıkarıldığı durumlarda bile klinik gidişin erişkinlere oranla daha kötü olduğunu göstermiştir (101). Adjuvan RT almayan genç hastalarda da rekürrens daha sık görüldüğü gösterilmiştir (102,103). Bu nedenle geniş total rezeksiyonun klinik gidişte önemli rolü olup adjuvan RT de progresyonsuz sağkalımı arttırmaktadır (104,105). Rekürrens olasılığını gösteren en önemli

belirteç yaş olarak gözüke de EGFR ekspresyonunun da rekürrens açısından potansiyel bir biyobelirteç olduğu tartışılmaktadır (106).

2.4.3. KLASİK EPENDİMOM

KE'ler genelde intrakranyal yerleşim gösterirler. SP kanalda da rastlamak mümkün olsa da burada MPE'ler çok daha sıktır. Hem erişkinlerde hem çocuklarda görülebilirler. PF yerleşimli endimomların çoğu çocukluk çağında ortaya çıkar. Klinik gidişi etkileyen en önemli faktör cerrahi rezeksiyonun genişliği, adjuvan RT verilmesi ve moleküler alt gruptur (8,9).

KE'ler histolojik olarak derece II, AE'ler ise derece III tümörlerdir. Histolojik derecelendirmenin biyolojik davranışla veya sağkalımla ilişkisi bulunamamıştır (5-7). Ayrıca endimomlar heterojen tümörler olup histopatolojik derecelendirme için kullanılan kriterler de subjektiftir. Bu nedenle terapötik açıdan histolojik derecelendirme bir kıstas olarak alınmamaktadır. Son dönemde yapılan çalışmalar sonucu saptanan genetik değişikliklerin ve oluşturulan moleküler alt grupların, prognostik ve prediktif faktörler olarak temel alınmaları önerilmektedir (9,63,107).

Tanı alınan yaş ilerledikçe görülme sıklığı da azalmaktadır. Buna göre sıklık 0-14 yaş için %5,6 iken, 15-19 yaş aralığında %4,5, 20-34 yaşları arasında ise %4'tür (108).

Ependimomlar her yaşta ortaya çıkabilen tümörler olmalarına karşın insidans, histolojik varyanta, moleküler alt gruba ve yerleşim yerine bağlı olarak değişmektedir. PF yerleşimli endimomlar daha çok çocukluk çağında (ortalama 6,4 yaş) görülmekteyken, SP yerleşimli endimomlar 30-40 yaş arasında daha sık saptanmaktadır. ST endimomlar ise hem erişkinlerde hem çocuklarda ortaya çıkabilmektedir. Erkek/kadın oranı 1,77/1 olsa da bu oran, farklı anatomik yerleşim yerlerine ve moleküler alt gruplara bağlı olarak değişebilmektedir.

Ependimomlar ventriküler sistemde, SP kanalda, serebral hemisferde saptanabilir veya SSS dışı yerleşim gösterebilirler. Yaklaşık %60'ı PF, %30'u ST ve %10'u SP lokalizasyonludur. Erişkinlerde SP ve infratentoryal endimomlar hemen hemen eş sıklıktayken, çocuklarda infratentoryal endimomlar, SP yerleşimlilere oranla çok daha fazladır (109). 3 yaşın altındaki çocuklarda endimomların %80'i PF yerleşimlidir. PF yerleşimli endimomlar 4. ventrikülde ve bazen de serebellopontin açıda; ST yerleşimli endimomlar ise lateral ventrikülde, 3. ventrikülde ya da ventrikül ile herhangi bir bağlantı

göstermeksizin serebral hemisferde görülebilirler. SP kanal için; servikal veya servikotorasik yerleşim daha çok KE'ler için tipikken, MPE'ler tam tersine çoğunlukla konus medullaris ve kauda equina tutulumu gösterirler. SSS dışında, over, broad ligaman, pelvik ve abdominal kavite, mediasten ve akciğer yerleşimli nadir vaka bildirilmiştir (110,111).

Yerleşim bölgesine göre klinik semptomlar değişkenlik göstermektedir. PF ependimomları hidrosefali ve kafa içi basınç artışına bağlı olarak baş ağrısı, bulantı, kusma ve baş dönmesi gibi semptomlarla ortaya çıkabilirler. Beyin sapı veya serebellumun tutulduğu durumlarda ataksi, görsel bozukluk, parezi veya kranyal sinir hasarı gibi semptomlar görülebilir. ST ependimomlar fokal nörolojik hasar, epilepsi ya da kafa içi basınç artışı semptomlarına neden olabilirler. Daha küçük bebeklerde kafanın büyümesi sonucunda kranyal sütürlerde ayrılma görülebilir. SP ependimomlarsa sırt ağrısı, fokal motor veya duysal hasar ya da pareziye yol açabilirler.

Hem beyin sapı yerleşimini, ventriküler obstrüksiyonu ya da hidrosefaliyi saptamak açısından hem de komşu beyin parankimi-tümör ilişkisini ya da serebrospinal sıvıya yayılımı göstermek için MR çok yardımcıdır. ST tümörlerde kistik komponent eşlik edebilir. Tümör içi hemoraji ya da kalsifikasyon görülebilir; ancak komşu beyin parankimine derin yayılım ya da ödem nadiren görülür.

Ependimomlar genelde makroskopik olarak iyi sınırlıdır. Kesit yüzü taba renkli, yumuşak/süngerimsi kıvamlıdır. Mikroskopik olarak, değişken yoğunlukta yuvarlak/oval çekirdekli, tanecikli kromatinli, monomorfik hücrelerden oluşmaktadır. En tipik özelliği, damarların etrafında ışınal dizilim gösteren tümör hücrelerinin oluşturduğu psödorozet yapıları veya daha az sıklıkla saptanabilen santral bir lümenin etrafına dizilmiş tümör hücrelerinden oluşan gerçek rozet yapılarıdır. ST ependimomlarda, mitoz artışı olmaksızın görülen nükleositolazmik oranın nükleus lehine büyümesi ve buna eşlik eden fokal berrak hücreli değişiklik ve ince, dallanan kapiller damar ağı dikkati çekebilmektedir. PF ependimomlarında da hücresellik ve mitoz artışı gösteren nodüller görülebilmektedir. Miksoid değişiklik, intratümöral hemoraji, distrofik kalsifikasyon ve nadiren metaplastik kemik ya da kıkırdak yapımına rastlanabilmektedir. Özellikle PF ve SP tümörlerde belirgin hyalinizasyon eşlik edebilmektedir. Hem KE'ler hem de AE'ler herhangi bir klinikopatolojik anlamı olmayan 3 farklı fenotip gösterebilirler. Bunlar; papiller ependimom, berrak hücreli ependimom ve tanisitik ependimomdur. Lipomatöz metaplazi, pleomorfik dev hücreler, vakuollü hücreli

değişiklik, melanotik farklılaşma, taşlı yüzük hücreli değişiklik ve nöropil benzeri adacıklar içeren ender vakalar da tanımlanmıştır.

İmmünohistokimyasal olarak GFAP ile psödorozet yapıları pozitiflik gösterirken, gerçek rozet yapıları veya papiller oluşumlarda değişken oranda pozitiflik görülmektedir. EMA ile endimial rozetlerin lüminal yüzeylerinde veya perinükleer noktasal ya da sitoplazmik halkasal pozitiflik saptanmaktadır. Ependimomlar tipik olarak S100 ve vimentin ekspresyon ederler; ancak OLİG2 ekspresyonu diğer gliomlara kıyasla daha zayıftır (112). Fokal sitokeratin pozitifliği veya nadiren nöronal belirteçlerle pozitiflik görülebilmektedir. L1CAM ekspresyonu C11orf95 yeniden düzenlenmesi gösteren ST ependimomlarda belirgindir.

Ependimomlarda kromozom 1q, 5, 7, 9, 11, 18 ve 20 kazanımı ve 1p, 3, 6q, 6, 9p, 13q, 17 ve 22 kaybı sık görülen sitogenetik değişikliklerdendir (62,113). ST ependimomlar daha çok kromozom 9 kaybı gösterirler (63,114–116). Ayrıca özellikle ST ependimomlarda homozigot CDKN2A delesyonu gösterilmiştir (61,117,118). Kromozom 1q kazanımının PF ependimomlarında kötü klinik gidişi işaret eden prognostik bir belirteç olduğu yapılan çalışmalar sonucunda belirtilmiştir (62,63,119–121). Monozomi 22 ve 22q delesyon veya translokasyonu özellikle SP ependimomlarda saptanmış ve nörofibromatozis tip 2 ile ilişkili bulunmuştur (122).

Çocukluk çağı ependimomlarının erişkinlere oranla daha kötü gittiği saptanmış, bunun nedeni de çocuklarda ağırlıklı olarak PF yerleşimli ependimomlar görülürken erişkinlerde bu oranın SP ependimomlar lehine olması şeklinde açıklanmıştır. Yine cerrahi rezeksiyonun genişliğinin de klinik gidiş ve sağkalımı kuvvetli oranda etkilediği belirtilmiştir. Tümör yerleşim yeri, önemli bir prognostik belirteç olup ST ependimomlar, PF ependimomlarına göre daha iyi sağkalım oranlarına sahipken, SP ependimomlar, intrakranyal ependimomlara oranla çok daha iyi klinik gidiş sergilemektedirler (64). Glial tümörlerde anaplastik değişikliğe işaret eden durumlardan sadece mitotik indeks ve benzeri proliferasyon belirteçleri ile az diferansiye tümör hücrelerinden oluşan odaklar sağkalımla ilişkili bulunmuştur ve bunlar da çalışmaların tümünü kapsayıcı nitelikte değildir (8,87,123–125). Histolojik derecelendirme kriterleri değişken olduğundan, klinisyenler terapi için histolojik dereceyi baz almayı tercih etmemektedirler.

2.4.3.1. PAPILLER EPENDİMOM

Nadir görülen bir varyanttır. Parmak benzeri çıkıntılar ve bunun yüzeyine düzenli bir şekilde dizilmiş GFAP ekspresyonu gösteren tek sıralı kübik tümör hücrelerinden oluşurlar. Koroid pleksus papillomunda ve metastatik karsinomda ise yüzey daha girintili-çıkıntılı, kabara çivisine benzer görünümde olup GFAP negatiftir. Koroid pleksus papillomunda görülenin aksine papiller endimomlarda bazal membran yoktur; psödorozet yapılarındakine benzer şekilde vasküler yapılara doğru fibriler yapıların uzanımı seçilir.

2.4.3.2. BERRAK HÜCRELİ EPENDİMOM

Daha çok genç hastalarda ve ST tümörlerde görülür. Nadiren PF ve SP yerleşimli endimomlarda da rastlanabilir. OD'lerin fenotipik özelliklerine benzer şekilde, sitoplazma berraklaşmasına bağlı olarak perinükler halo izlenir. Ayırıcı tanısına OD, santral nörositom, berrak hücreli böbrek hücreli karsinom ve hemanjioblastom girer. Ependimal ve perivasküler rozetlerin varlığı, GFAP ve EMA ile immünopozitiflik ve ultrastrüktürel çalışmalar ayırıcı tanıda yardımcıdır. Yapılan çalışmalar sonucunda bazı veriler bu varyantın diğerlerine göre daha agresif gidişli olduğunu göstermektedir (126).

2.4.3.3. TANİSİTİK EPENDİMOM

En sık görüldüğü yer SP kanaldır. Uzamış hücrelerin oluşturduğu düzensiz fasiküller şeklinde görülür. Fasiküllerin genişliği ve hücreliliği değişkendir. Fasikülleri oluşturan tümöral hücreler iğsi çekirdeğe sahip, uzamış görünümde hücrelerdir. Diğer endimomlarda olduğu gibi kromatin tanecikli olup tuz-biber görünümündedir. Anaplastik özellikler çok nadirdir. Ependimal rozet yapısı içermezler, perivasküler rozet yapıları ise nadiren seçilebilir. Hem yapısal hem de hücresel özelliklerinden dolayı astrositomlarla ve özellikle pilositik astrositomlarla karışabilirler. Ancak ultrastrüktürel yapıları ependimal karakterdedir.

2.4.4. RELA FÜZYON POZİTİF EPENDİMOM

Çocukluk çağı ST endimomlarının yaklaşık %70'inde, erişkinlerde de daha az oranda RELA füzyonu saptanmıştır (9,13). SP ve PF endimomları bu füzyon genini barındırmamaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda DSÖ histolojik derece II ve III tümörlerde bu değişiklik gösterilmiş, histolojik derece I tümörlerde RELA füzyon pozitifliği gösteren vaka bildirilmemiştir.

Bu gruba ait spesifik bir morfoloji belirtilmemişse de, füzyon pozitifliği gösteren vakalarda berrak hücreli değişiklik ve eşlik eden dallanan kapillerlerden oluşan vasküler patern dikkati çekmiştir. Tanisitik ependimom gibi az görülen varyantlar RELA füzyon pozitifliği gösterme eğiliminde değildirler.

İmmünohistokimyasal olarak diğer ependimomlarda olduğu gibi GFAP ve EMA ekspresyonu mevcuttur. L1CAM pozitifliği, ST ependimomlarda RELA füzyon pozitifliğini destekleyen bir bulgudur (13). Ancak diğer beyin tümörlerinde de eksprese edilebildiği için tek başına L1CAM pozitifliği, RELA füzyon pozitif ependimom diyebilmek için yeterli değildir.

C11orf95-RELA füzyonu, ependimomlarda en sık saptanan yapısal değişikliktir (9,13,15). Kromotripsis sonucunda onkojenik gen ürünleri oluşur (127). RELA füzyon pozitif ependimomlar NF-kappaB yolak aktivasyonu gösterir; p65 transkripsiyon faktörü de bu yolakta anahtar efektör rolünü üstlenir. Kromotripsise bağlı olarak nadiren C11orf95 veya RELA, diğer başka genlerle füzyona girebilir (13).

C11orf95-RELA füzyon gen varlığı çeşitli yöntemlerle gösterilebilir. En kolay yol, formolle tespit edilmiş, parafin bloklara gömülmüş dokulardan alınan kesitlerde, break-apart probu aracılığıyla, FISH yöntemiyle göstermektir. Kromotripsise bağlı oluşan yeniden düzenlenme, RELA'yı temsil eden bölgede, iki farklı renkten oluşan sinyalin birbirinden ayrılması şeklinde gözlenir (13).

Yapılan çalışmalar, ST-EPN-RELA grubunun diğer ST ependimom moleküler grupları içinde en kötü gidişli grup olduğunu göstermektedir (9,10,68–70,81).

2.4.5. ANAPLASTİK EPENDİMOM

AE tanısı, klasik ependimal bir tümörde artmış hücresellik ve mitotik indeks, yaygın MVP ve nekroz görüldüğünde verilebilir. Çoğunlukla iyi sınırlı kitleler olsalar da, KE'de olduğu gibi, AE'ler de nadiren komşu beyin parankimini invaze edebilir. Genelde intrakraniyal yerleşimli olup nadiren SP kanalda ortaya çıkabilirler. Hem erişkinlerde hem çocuklarda saptanabilirler; PF anaplastik ependimomlarının çoğu çocukluk çağı tümörleridir. Berrak hücreli, papiller ya da tanisitik morfoloji, klasik ependimomlarda olduğu gibi AE'lerde de görülebilir. Cerrahi rezeksiyon genişliği ve moleküler alt gruba bağlı olarak klinik gidiş değişkenlik gösterir (8,9).

Histolojik olarak derece III tümörlerdir. Şu ana kadar yayınlanan serilerde derece II endimomların derece III endimomlara oranları 17/1 ile 1/7 arasında değişmektedir. Saptanan oranların bu derecede farklılık göstermesi, endimomların heterojen olmalarıyla ve derecelendirme kriterlerinin subjektif olmasıyla ilişkilendirilmiştir (6,125,128). Spesifik genetik değişikliklerin ve moleküler grupların prognostik ve prediktif değer taşıdığına kanıtlanmasıyla, ileride histolojik derecelendirmenin kullanımından vazgeçileceği öngörülmektedir.

Mikroskopik olarak nükleositoplazmik oran, nükleus lehinedir. Bazen hüresellik, embriyonel tümörlerle karışabilecek oranda artmış olabilir. Tüm AE'lerde mitotik aktivite artmıştır. Özellikle PF endimomlarında artmış mitotik indeks, kötü klinik gidişle ilişkilendirilmiştir. MVP ve palizadlanan nekroz da sıklıkla artmış mitotik aktiviteye eşlik eder. Bu özellikler, KE'lerde de, hüreselliğin düşük, mitotik indeksin az olması kaydı ile fokal olarak izlenebilir. Psödorozet varlığı karakteristik olsa da, bazı az diferansiye ST-AE'lerde saptanması zor olabilir.

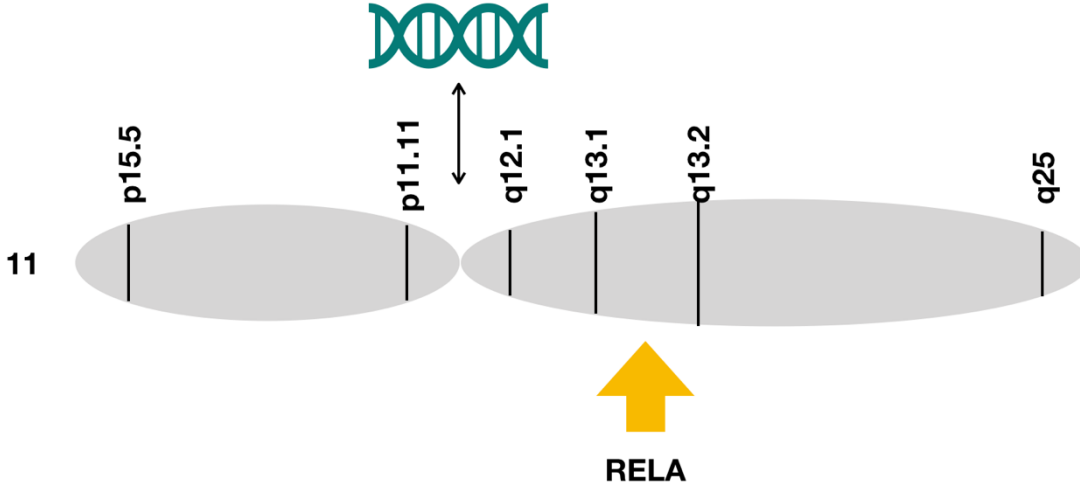
İmmünofenotipik olarak KE'lerle aynı özellikleri barındırmaktadır. Farklı olarak Ki67 proliferatif indeksi daha yüksektir.

2.5. RELA FÜZYONU

P65 ya da NFKB3 olarak da bilinen 'V-rel avian retiküloendotelyozis viral onkogen homolog A' yani RELA, kromozom 11q13.1'de lokalize olup 1473 nükleotid uzunluğuna sahip ve 4 izoformu olan bir proteindir. Edinsel bağışıklıkta rolü olduğu bilinmektedir.

'RELA füzyon pozitif endimom' DSÖ 2016 sınıflamasında kesin antite olarak yer aldı. Bu tümörler, aktive B hücrelerindeki nükleer faktör kappa hafif zincir (NF-κB) sinyalizasyonunu artıran ana etken olan RELA ile henüz işlevi bilinmeyen C11orf95 geni arasındaki füzyon ile karakterizedir. NF-κB yolağı, hücre çoğalması ve apoptozu kontrol eden bir sinyal yolağı olup VEGF ve reseptörlerini upregüle ederek tümörün vaskülarizasyonunun artmasını ve böylece tümör progresyonunu indükler (65). RELA füzyonu ile bu yolağın aktive olması, bu grup tümörlerdeki kötü klinik gidişi açıklamaktadır.

NF-κB/RELA aktivasyonunun kanser gelişimi ile ilişkili olduğu ve lenfoma, tiroid kanseri, prostat kanseri gibi birçok farklı tümörün gelişiminde de rol oynadığı gösterilmiştir (129–131).



Şekil 1: 11. Kromozom üzerinde RELA geninin lokalizasyonu

2.6. FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON

FISH, bir genetik inceleme tekniği olarak kromozomun belli bölgelerini işaretlemek amacıyla floresan probların kullanıldığı bir tekniktir. Rutinde, formolde tespit edilmiş, parafine gömülmüş örneklerden çalışılmaktadır. Ancak taze doku ya da frozen materyallerinden alınmış imprint lamalar da havada kurutulduktan sonra ya da Corney çözeltisinde tespit edildikten sonra FISH için kullanılabilir. Tıpkı akım sitometri tekniğinde olduğu gibi, taze dokudan hücre süspansiyonu elde edilerek de çalışılabilir veya ince iğne aspirasyon biyopsi materyallerine ait yayma preparatlar da kullanılabilir.

Metafaz ya da interfaz evresindeki hücreler, uygun problarla işaretlenerek değerlendirilir. Probların ışınması floresan mikroskopunda incelenir. Yüksek özgünlüğe sahip FISH probları kromozom üzerinde sentromerlere (sentromer sayım probu [centromere enumeration probe – CEP]), kromozomun bütününe ya da ilgilenilen gen bölgesine (lokusa özgü belirteç [locus specific identifier – LSI]) bağlanabilecek şekilde üretilebilir. Elde edilen ışınmanın yeri ve sinyal sayısı ile translokasyon, amplifikasyon, delesyon durumları gözlemlenebilir. FISH tekniğinin öne çıkan avantajı morfolojik değerlendirmeye de izin veriyor oluşudur. Karşıt boya olarak kullanılan DAPI (4'-6-diamidino-2-fenilindol) görüntüsü, incelenen materyalin morfolojik özelliklerinin seçilebilmesine olanak tanır. İncelenecek hücrelerde deterjan etkili Tween 20 ve NP-40 gibi solüsyonlar ve proteinaz K gibi proteazlar ile permeabilite sağlanır. DNA denatürasyonu için formamid ya da benzeri solüsyonlar kullanılır. Sonrasında uygulanan prob, DNA'da hedef bölgeye bağlanır. Çift iplikli ise, probun da denatürasyonu gereklidir. Prob uygulandıktan sonra yüksek sıcaklık ile hem DNA'daki

hedef bölgenin, hem de probun birlikte denatürasyonu sağlanır ve hibridizasyon olur. Problar kendilerine has belirlenen dalga boylarında ışımaya yaparlar ve bu ışımaya uygun filtreler altında değerlendirilir (132).

Değerlendirilecek hücre sayısı, vakaya göre değişmektedir. Sadece tümör dokusundan oluşan örneklerde, 40 hücre yeterli olabilirken (Örn: meme karsinomunda HER2 amplifikasyonu bakılması), zeminde benign hücrelerin baskın olduğu, az sayıda tümör hücresi içeren örneklerde (Örn: kemik iliği biyopsisinde rezidü ya da nüks lösemi araştırılması) en az 500 hücrenin değerlendirilmesi gerekmektedir (132).

C11orf95-RELA füzyonunu değerlendirmek için RELA genini işaretleyen break-apart probu kullanılmaktadır. Normal bir hücrede, korunmuş RELA genini, her iki probun üst üste binmesinden dolayı açığa çıkan 2 adet sarı renk ya da bitişik turuncu-yeşil olarak görürüz. Füzyon pozitif vakalarda ise, normal kromozomu temsil eden 1 adet sarı renk ile birlikte, hedef geni içeren kromozomda, yeşil ve turuncu sinyalleri birbirinden ayrılmış olarak görürüz (1,132). Aslında break-apart probu, bize tam olarak füzyonu göstermez; hedef gendeki kırılmayı gösterir (132). Kromotripsis sonucu, nadiren de olsa, C11orf95 veya RELA, başka genlerle füzyon yapabilir (13).

2.7. İMMÜNOHİSTOKİMYA YÖNTEMİ

İmmünohistokimya yönteminin prensibi, antijen-antikor bağlanmasına dayanır. Pozitif şarjlı lamlara alınmış kesitlerde, dokuyu oluşturan hücrelerdeki antijenler veya proteinler, lam üzerine damlatılmış antikorlara bağlanarak saptanabilir duruma gelirler. Diagnostik, prognostik ve prediktif değeri olabilir.

Özellikle son dönemde moleküler ve genetik incelemelerin tümörün biyolojik davranışında ve dolayısıyla uygulanacak tedavi yönteminde belirleyici rol oynaması ile birlikte, çeşitli moleküler yöntemler kullanılarak bakılabilecek parametrelerin, daha pratik ve ucuz bir yöntem olması açısından immünohistokimyasal karşılıkları bulunmaya çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen istatistiksel oranlara göre de tanısal yaklaşım algoritmaları güncellenmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. OLGULARIN SEÇİMİ, VERİ TOPLANMASI VE ÇALIŞMANIN DİZAYNI

Çalışmada 2011 - 2019 yılları arasında İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda tanı almış ST ve PF yerleşimli derece I SE, derece II KE ve III AE olmak üzere 39 vaka incelenmiştir. Olguların yaş, cinsiyet, tümör yerleşim yeri ve bölgesi (ST, PF), morfolojisi, histolojik derecesi, hücreliliği, pleomorfizmi, mitoz sayısı, MVP veya nekroz (iskemik/palizadlanan) içerip içermediği, immünohistokimyasal bulguları (GFAP, EMA vb.) gibi bilgilere bölümümüzün kayıt sisteminden ulaşılmıştır.

Bölümümüzde 2011 - 2019 yılları arasında tanı almış toplam 116 ependimom vakası bulunmaktadır. Bunların 35'i (%30) ST, 22'si (%19) PF, 58'i (%50) SP, 1'i (% 0,8) inguinal lenf düğümü yerleşimlidir. Çalışmaya ST ve PF yerleşimli olmak üzere intrakranyal yerleşimli vakalar dahil edilmiş, SP veya diğer yerleşim yeri gösteren ependimomlar çalışma dışı bırakılmıştır. ST yerleşimli 35 rezeksiyon materyalinin 7'sinin, PF yerleşimli 22 rezeksiyon materyalinin ise 5'inin parafin bloklarına ulaşılamamıştır. Kalan 28 ST rezeksiyon materyali içinde 2 olguya ait 2'şer nüks materyali bulunmaktaydı. 17 PF yerleşimli rezeksiyon materyali içinde 2 olguya ait 1'er nüks materyali bulunmaktaydı. Nükslere ait rezeksiyon materyalleri de çalışmaya dahil edildi. Böylece çalışmaya 24 adet ST, 15 adet PF yerleşimli olmak üzere toplam 39 vaka alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilmiş ST yerleşimli 24 ependimomun 4'ü (%17) derece I SE, 6'sı (%25) derece II KE, 14'ü (%58) derece III AE'dir. PF yerleşimli 15 ependimomun 1'i (%7) derece I SE, 9'u (%60) derece II KE ve 5'i (%33) derece III AE'dir (Grafik 1 ve 2). Vakaların derecelendirilmesi DSÖ 2016 SSST sınıflamasında önerildiği gibi histomorfolojik kriterlere göre yapılmıştır.

Seçilen olguların parafine gömülü dokularından elde edilmiş olan H&E boyalı lamalar ve olgulara önceden rutin uygulanmış olan tüm immünohistokimya lamaları (GFAP, EMA, IDH1, p53, Ki-67 vb.) arşivden çıkarıldı ve yeniden incelendi.

Belirlenen parafin bloklardan FISH yöntemi için 4µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu preparatlar 56°C etüvde bir gece bekletilerek kurutuldu ve kesitlerin lama yapışması sağlandı.

L1CAM immünohistokimyasal incelemesi için de yine seçilmiş parafin bloklardan elde edilen 2-3µm kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Ayrıca 2019 yılına ait rastgele seçilmiş 1 AA, 1 OD ve 1 GBM vakasına da immünohistokimyasal olarak L1CAM uygulandı.

3.2. FISH UYGULAMASI VE ANALİZİ (RELA)

Çalışmamızda ticari proplar (Cytotest Inc., USA) kullanılarak RELA füzyonu değerlendirilmiştir. Her vakanın seçilmiş parafin bloğundan 4µm kalınlığında kesitler alındı. Lamlar, parafinin yumuşaması için 1 gece boyunca 56°C etüvde bekletildi.

Deparafinizasyon adımları:

- 3 ayrı ksilen şalesinde 10'ar dakika, ardından 2 ayrı %99'luk alkol şalesinde 5'er dakika, deparafinizasyon ön yıkama solüsyonunda 80°C'de 30 dakika bekletildi. Bu işlem esnasında Coplin şale kullanıldı. Deparafinizasyon ön yıkama solüsyonu toz halinde paketlenmiş olup, ilk kullanımda 240 ml distile suda çözülüp, sonraki kullanımlar için oda ısısında saklandı.

Hibridizasyon öncesi adımlar:

- Distile suda 10-15 sn çalkalandı.
- Önceden hazırlanmış ve 37°C'de beklemekte olan 15 cc distile su, 150µl 1M HCl'ye, 150µl distile su ile sulandırılan 'enzim reaktifi' eklendi (SigmaLife Science, USA). Enzim reaktifi toz halinde paketlenmiş olup, kullanımın hemen öncesinde hazırlanır. Lamlar bu solüsyonda 30 dakika bekletildi.
- Distile suda 10-15 sn çalkalandı.
- 2 kez 2XSSC'de 4 dakika bekletildi.
- Sırasıyla %70, %85, %99'luk alkolde 3 dakika bekletildi.
- Kesitler havada kurutuldu.

Hibridizasyon işlemi:

- Proplar çıkarılıp kısa süreli vortekslenip santrifüjlendikten sonra kuruyan lamların üzerine hedef bölgeye uygulanıp lamel kapatıldı.

- Plastik çimento (Fixogum®, Almanya) uygulandı.
- Lamlar denatürasyon ve hibridizasyon işleminin gerçekleştirileceği cihaza (Hybridizer, Dako) konuldu.
- Hybridizer'da 73°C'de 5 dakika, 37 °C'de 16 saat işlem geçirdi.

Hibridizasyon sonrası:

- 73°C'de ve oda ısısında 2 şalede 50 ml 2XSSC/%0,3NP40 hazırlandı.
- Plastik çimento nazikçe ayrıldı.
- Lamel elle ayrıldı. Elle ayrılmakta güçlük yaşananlar oda ısısındaki 2XSSC/%0,3NP40'ta bekletildi.
- Lamlar, 73°C'deki 2XSSC/%0,3NP40'ta bir şalede 1-3 sn çalkalanarak 2 dakika tutuldu.
- Oda ısısındaki 2XSSC/%0,3NP40'ta çalkalandı.
- Açıkta ve karanlıkta kurutuldu.
- DAPI II 5-10µl uygulandı.
- Değerlendirme öncesi 15-20 dakika (-)20°C'de bekletildi.

FISH uygulaması yapılan lamlar, bilgisayar bağlantılı floresan mikroskopunda (Olympus BX61; Olympus Optical, Japonya) değerlendirilmiştir. Bilgisayar ortamında görüntüleme dijital kamera (XLMM, Dage-MTI, IN, ABD) ve uyumlu yazılım (Duet®, Bioview Ltd., İsrail) kullanılmıştır.

FISH tekniğinde RELA break-apart, kromozom 11q13.1 bölgesi için ayrı ayrı çift renkli prob içeren (yeşil ve turuncu) yaklaşımla çalışıldı (Cytotest Inc., USA). Hedef problemlerin 11q13.1 bölgesinde 3' ucu hibridize olurken turuncu renkli sinyal, 5' ucu hibridize olurken de yeşil renkli sinyal elde edildi. Prob uygulanmış normal (negatif) hücrelerde iki füzyon sarı (turuncu+yeşil) sinyal izlendi. Break-apart durumunda ise bir füzyon sarı, birbirinden ayrı halde de bir yeşil, bir turuncu sinyal gözlemlendi. Shaoyan ve ark., 2019'da yayınlanan çalışmalarında, RELA füzyon pozitif ependimom vakalarında, FISH ile break-apart değerlendirmesini birbiri üzerine binmeyen, ayrı ayrı seçilebilen 50 hücre üzerinden yapmışlar ve hücrelerin en az

%15’inde break-apart saptandığında vakayı pozitif olarak değerlendirmişlerdir (133). Pagès ve ark.’ın 2019’da yayınlanan çalışmasında ise, 100 seçilebilir tümör hücresi değerlendirilmiş, sayılan hücrelerin en az %20’sinde break-apart sinyali saptandığında vakayı pozitif kabul etmişlerdir (18). Biz de çalışmamızda değerlendirilebilir 100 tümör hücresi seçip sınır değeri %15 kabul ettik. Break-apart diyebilmek için, turuncu ve yeşil sinyallerin arasında, bir sinyalin 2 katı büyüklüğünde mesafe olması gereklidir. Bizim pozitif vakalarımızın hemen hepsinde, bu uzaklığın karşılandığı break-apart görünümünün yanı sıra, yakın break-apart olarak nitelendirebileceğimiz, yeşil ve turuncu sinyallerin birbirinden ayrı durduğu, yani füzyon halinde olmadığı, ancak aralarındaki uzaklığın, bir sinyalin 2 katından daha az olduğu yakın break-apart paternine de rastlanmıştır.

3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYA UYGULAMALARI

İmmünohistokimya boyamaları otomatik boyama makinesinde yapılmıştır (BenchMark XT IHK/ISH Boyama Modülü, Ventana Medical Systems Inc., Medical Systems, Tucson, AZ, ABD). Parafin bloklardan pozitif şarjlı lamlara 2-3 mikron kalınlığındaki kesitler alınarak 1 gece 40°C’de bekletildi. Boyama sistemi ile uyumlu solüsyonlardan geçirilerek deparafinizasyon, sonrasında da azalan derişimde alkol solüsyonlarından ve distile sudan geçirilerek yeniden hidrasyon sağlandı. Antijeniteyi geri getirme amaçlı 10 mmol/L’lik tamponlu sitrat çözeltisinde 30 dakika boyunca 36°C’de bekletildi. Kesitlere ticari olarak elde edilen L1CAM (CD171) antikorunu (monoklonal, UJ127.11, Invitrogen); 1/100 oranında dilüsyon ve 1 saat 28 dakika inkübasyon süresi ile uygulandı. Sonrasında zayıf (%0,1) hematoksilin ile karşıt boyama yapıldı ve yıkama yapıldı.

İmmünohistokimyasal L1CAM değerlendirmesinde difüz ve kuvvetli sitoplazmik ve membranöz boyanmanın izlendiği vakalar pozitif, izlenmediği vakalar negatif kabul edilmiştir. Kontrol dokusu olarak, antikorun kullanım kılavuzunda önerildiği gibi, normal böbrek parankimine ait doku örneği kullanılmıştır.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ

Çalışmamızda, verilerin istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) programının 21.0 versiyonu kullanıldı. İncelenen genetik değişiklik (RELA) ile immünohistokimyasal L1CAM ekspresyon sonuçlarının, tanının, histolojik derecenin, morfolojinin (berrak hücreli), yaşın, cinsiyetin istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterip göstermediğini değerlendirmek için, p değeri 0,05’ten küçük durumlar

anlamli kabul edilmek üzere; Pearson'ın ki-kare testi ve Fisher'in kesin ki-kare testi kullanılmıştır. İki grup arası karşılaştırmalarda, nonparametrik verilerde Mann Whitney U ve ki kare testi kullanıldı. İki den fazla gruplar arası karşılaştırmalarda, non parametrik verilerde Kruskal-Wallis testi kullanıldı.

Tanı, derece, morfolojik varyant (berrak, papiller), yaş, cinsiyet, tümörün yerleşim gösterdiği bölge (ST -PF) değişkenleri arasında; tanımlayıcı istatistiklerinde sürekli değişkenler için ortalama değer, ortanca, minimum ve maksimum değerler; kesikli değişkenler için ise sayı ve yüzde değerleri hesaplandı.

Sinyal alınabilen vakalar arasında, FISH altın standart kabul edilerek, immünohistokimyanın duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri hesaplandı.

Sağkalım analizleri için Kaplan-Meier sağkalım analizi, gruplar arası sağkalım eğrilerini karşılaştırmak için Log rank analizi (Mantel Cox) kullanılmıştır. Sağkalım analizleri; tümör yerleşim bölgesi (ST + PF), histopatolojik tanı, histolojik derece, entegre tanı, yaş ve cinsiyete göre yapılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirilerek $p < 0,05$ istatistiksel anlamlılık olarak tanımlandı.



4. BULGULAR

4.1. VAKALARIN KLİNİK VE HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Bölümümüzde Ocak 2011 - Haziran 2019 tarihleri arasında tanı almış, ST ve PF yerleşimli 39 ependimom vakası çalışmaya dahil edilmiştir. Vakalar bölümümüzün kayıt sisteminden taranırken, ependimomlara ek olarak, Ocak 2011 - Aralık 2017 tarihleri arasındaki PA, PMA, PXA, SEGA, DA/AA, OA (2016 DSÖ yayınlanmadan önce), OD/AOD, GBM ve DOHG (2016 DSÖ yayınlandıktan sonra) tanısı almış vaka sayısı da dökülmüş olup sayılar aşağıdaki tablodadır (Tablo 6).

Tablo 6: 2011 - 2017 yılları arasında tanı almış glial tümörlerin sayısı ve ependimomların oranı

YILLAR/ TANILAR	PA+ PMA	PXA +SEGA	DA+ AA	OA	OD+ AOD	GBM	DOHG	EPN (ST/PF/SP)	TOPLA M	EPENDİM OM/TOPL AM
2011	9 (9+0)	5 (2+3)	7 (7+0)	8	17 (12+5)	42	-	13 (2+3+8)	101	13/101 (%13)
2012	5 (5+0)	1 (1+0)	22 (9+13)	24	17 (13+4)	67	-	12 (1+3+8)	148	12/148 (%8)
2013	14 (13+1)	3 (2+1)	20 (9+11)	19	15 (10+5)	38	-	11 (5+2+4)	120	11/120 (%9)
2014	14 (14+0)	2 (1+1)	18 (5+13)	43	12 (9+3)	36	-	11 (5+1+5)	136	11/136 (%8)
2015	11 (11+0)	3 (3+0)	24 (12+12)	1	27 (15+12)	40	-	8 (4+1+3)	114	8/114 (%7)
2016	7 (7+0)	1 (1+0)	28 (13+15)	2	39 (26+13)	67	-	29 (9+4+16)	173	29/173 (%17)
2017	10 (9+1)	3 (3+0)	27 (19+8)	-	35 (25+10)	65	1	24 (5+7+12)	165	24/165 (%15)
GENEL TOPLAM	70 (68+2)	18 (13+5)	146 (74+72)	97	162 (110+52)	355	1	108 (31+21+56)	957	108/957 (%11)

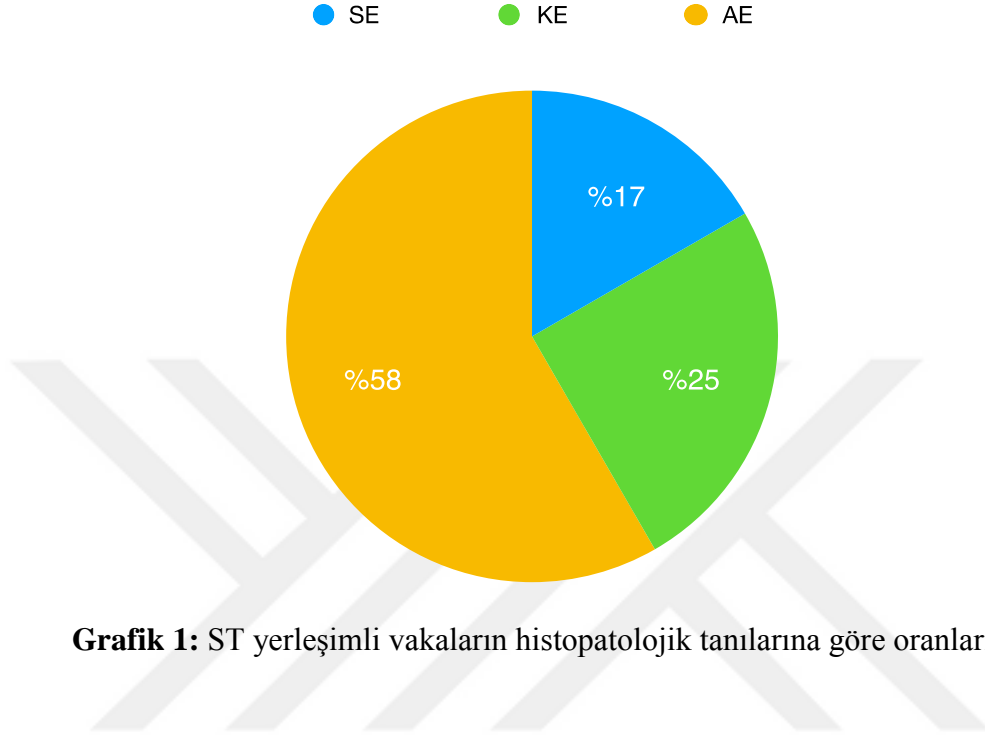
DSÖ 2016'ya göre glial tümörler SSST'lerin en sık görülen tümör grubu olup ependimomlar, tüm SSST'lerin yaklaşık %6,8'ini oluşturmaktadır (1). Bölümümüzde 2011 - 2017 arasında tanı almış glial tümörler içinde ependimomların görülme sıklığı %11'dir. Çalışmamızdaki olguların, klinik, histomorfolojik ve moleküler özellikleri tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 7: Olguların klinik, histomorfolojik ve moleküler özellikleri

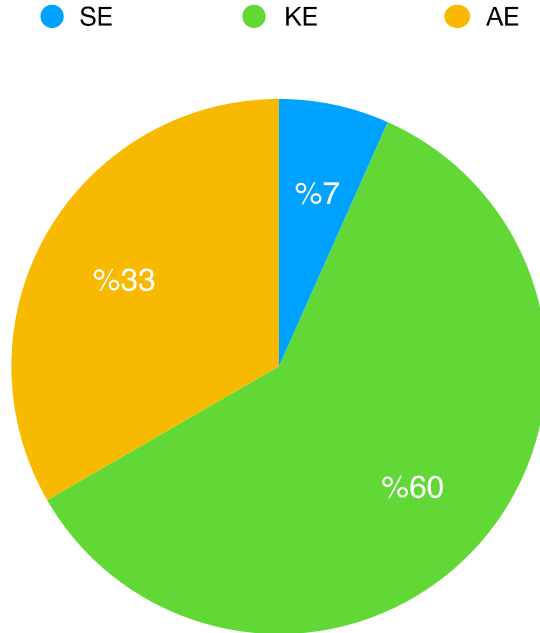
Vaka No	Yaş	Cinsiyet	Tanı	Derece	Yer	Bölge	Morfoloji	Yaşıyor Mu?	Tedavi	RELA	L1CAM
1	3	K	AE	3	LV	ST	B	P	KT+RT	N	N
2	7	E	AE	3	PO	ST	B	P	KT+RT	P	P
3	13	E	AE	3	LV	ST	B	N	RT	N	N
4	1	K	AE	3	Pa	ST	PA	B	B	N	N
5	46	K	SE	1	O	ST	SE	P	N	N	N
6	41	K	SE	1	LV	ST	SE	p	N	N	N
7	17	K	KE	2	LV	ST	BE	P	KT+RT	SY	N
8a	11	E	AE	3	LV	ST	B	P	KT+RT	SY	P
8b	13	E	AE	3	LV	ST	BE	P	KT+RT	N	N
8c	13	E	AE	3	KK-S	ST	BE	P	KT+RT	P	P
9	19	E	KE	2	F	ST	PA	P	RT	SY	P
10	64	E	KE	2	LV	ST	B	N	KT+RT	SY	N
11	21	K	AE	3	LV	ST	B	B	B	N	N
12	29	E	KE	2	LV	ST	B	B	B	SY	N
13	47	K	SE	1	LV	ST	SE	P	N	N	N
14	34	K	KE	2	F	ST	BE	P	N	SY	N
15	29	K	KE	2	3V	ST	BE	N	KT+RT	N	N
16a	34	E	AE	3	Pa	ST	BE	N	RT	P	P
16b	35	E	AE	3	FT	ST	BE	N	RT	P	P
16c	36	E	AE	3	F	ST	BE	N	RT	P	P
17	8	K	AE	3	FP	ST	B	P	KT+RT	SY	N
18	13	K	AE	3	LV	ST	B	B	B	N	N
19	7	E	AE	3	İK	ST	BE	N	KT+RT	P	P
20	57	E	AE	3	F	ST	BE	P	N	P	P
21	8	E	AE	3	F	ST	BE	P	KT+RT	P	P
22	57	E	SE	1	LV	ST	SE	B	B	N	N
23	1	K	AE	3	TP	ST	BE	N	KT+RT	P	P
24	1	E	AE	3	O	ST	BE	P	KT+RT	SY	P
25a	28	K	SE	1	BS	PF	SE	P	RT	N	N
25b	28	K	SE	1	4V	PF	SE	P	RT	N	N
26	28	E	KE	2	4V	PF	B	B	B	SY	N
27	54	E	KE	2	Bu	PF	B	B	B	N	N
28	8	E	AE	3	4V	PF	B	P	KT+RT	N	N
29	33	E	KE	2	BS	PF	B	P	RT	N	N
30	39	K	KE	2	4V	PF	B	P	RT	N	N
31a	3	K	SE+KE	2	4V	PF	SE+KE	N	KT+RT	SY	N
31b	8	K	AE	3	PF	PF	B	N	KT+RT	N	N
32	3	K	AE	3	S	PF	B	P	RT	SY	N
33	13	K	AE	3	BS+4V	PF	BE	B	B	SY	N
34	22	K	KE	2	MO	PF	BE	P	RT	N	N
35	57	E	KE	2	4V	PF	B	P	N	N	N
36	31	E	AE	3	4V	PF	BE	P	KT+RT	SY	N
37	27	K	KE	2	4V	PF	B	P	N	SY	N
38	49	E	KE	2	4V	PF	B	B	B	SY	N
39	2	E	KE	2	PF	PF	BE	N	KT+RT	N	N

AE: Anaplastik ependimom, KE: Klasik ependimom, SE: Subependimom, LV: Lateral ventrikül, PO: Paryetooksipital, Pa: Paryetal, O: Oksipital, F: Frontal, 3V: 3. ventrikül, KK-S: Korpus kallozum-splenium, FP: Frontoparyetal, İK: İntrakranial, FT: Frontotemporal, TP: Temporoparyetal, 4V: 4. ventrikül, Bu: Bulbus, BS: Beyin sapı, S: Serebellum, MO: Medulla oblongata, ST: Supratentoryal, PF: Posterior fossa, B: Bilinmiyor/Belirtilmemiş, PA: Papiller, BE: Berrak, N: Negatif, P: Pozitif, SY: Sinyal yok, KT: Kemoterapi, RT: Radyoterapi (8, 16, 25 ve 31 numaralı vakalar, nükleleri ile beraber tabloya eklenmiştir)

Değerlendirilen 39 olgudan 24'ü (%61,5) ST, 15'i (%38,5) PF yerleşimlidir. ST yerleşimli 24 vakanın 4'ü (%17) SE, 6'sı (%25) KE ve 14'ü (%58) AE tanılıdır (Grafik 1). PF yerleşimli 15 vakanın 1'i (%7) SE, 9'u (%60) KE ve 5'i (%33) AE tanılıdır (Grafik 2).



Grafik 1: ST yerleşimli vakaların histopatolojik tanılarına göre oranları



Grafik 2: PF yerleşimli vakaların histopatolojik tanılarına göre oranları

ST yerleşimli 2 vaka 2'şer kez nüks etmiştir. Her 2 vaka da derece III AE tanılı olup berrak hücre morfolojisindedir. Vakalardan ilki, 2013 yılında tanı almış olup ilk nüksünü 2016 başında, 2. nüksünü ise 2016 sonunda yapmıştır (vaka no 8a, 8b ve 8c). Nüksle giden 2. vaka da ilk tanısını 2013'te almış, sırasıyla 2014 ve 2015'te nüks etmiştir (vaka no 16a, 16b ve 16c). İlk vaka sağ lateral ventrikülde prezente olup, ilk nüksünü sol lateral ventrikülde, 2. nüksünü ise korpus kallozum-spleniumda yapmıştır. 2. vaka parietal lob yerleşimli (tarafı bilinmiyor) olup, ilk nüksü sağ frontotemporal bölgede, 2.'si ise sağ frontal lobdadır. Bunun dışında ST yerleşimli vakalardan 4'ünde daha nüks mevcuttur; ancak nükslerine ait operasyon materyalleri bölümümüz dışında bir merkezde değerlendirilmiştir. Sonuçta, ST yerleşimli 24 olgunun 6'sı (%25) nüks ile seyretmiş olup bunların 5'i (%83) derece III AE, 1'i (%17) derece II KE'dir.

PF yerleşimli 2 vaka 1'er kez nüks etmiştir. İlk vaka 2012'de tanı alan, 4. ventrikül yerleşimli, derece II mikst SE + KE vakası olup nüksünü 2016'da, PF'de (tam lokalizasyon bilinmiyor) derece III AE olarak yapmıştır (vaka no 31a ve 31b). 2. vaka 2016'da tanı almış, beyin sapı yerleşimli, derece I SE vakası olup nüksünü 2017'de 4. ventrikülde derece I SE olarak yapmıştır (vaka no 25a ve 25b). Bunlar dışındaki 4 vakanın daha dış merkezde tanı almış nüksleri mevcuttur. Böylece, PF yerleşimli 15 olgunun 6'sı (%40) nüks ile seyretmiş olup, bunların 3'ü (%50) derece III AE, 2'si (%33) derece II KE, 1'i (%17) derece I SE vakasıdır.

Nüks tanıları bölümümüzde verilen vakaların hem ilk tanı aldıkları rezeksiyon materyalleri hem de nüks materyalleri çalışmaya dahil edilmiştir. Buradaki amaç; bunların ilk tanılarıyla nüksleri arasındaki anatomik yerleşim yerini, histomorfolojik özelliklerini, immünohistokimyasal ve moleküler özelliklerini karşılaştırmaktır.

Hastaların tanı aldıkları yaşların ortalama ve ortanca değerleri hesaplanırken nüks vakaların sadece ilk tanı aldıkları yaşları dahil edilmiştir. Bunun sonucunda ST yerleşimli 24 vakada hastaların tanı aldığı yaşlar 1 ile 64 arasında olup ortalama değer 23,7, ortanca değer ise 18'dir. PF yerleşimli 15 vakada ise yaşlar 2 ile 57 arasında olup ortalama değer 26,5, ortanca değer ise 28'dir. Her iki grup birlikte incelendiğinde yaş aralığı 1 ile 64 arasında olup ortalama değer 24,7, ortanca değer ise 22'dir (Tablo 8).

Çalışmamızdaki 39 vakanın 20'si (%51) erkek, 19'u (%49) kadındır. Kadınların tanı aldıkları yaş aralığı 1-47 olup ortalama değer 20,8, ortanca değer 21'dir. Erkeklerde ise yaş aralığı 1-64 olup ortalama değer 28,5, ortanca değer 28,5'tir. ST yerleşimli 24 vakanın 12'si (%50) kadın, 12'si (%50) erkektir. Kadınların tanı aldıkları yaş aralığı 1-47 olup ortalama değer 21,8, ortanca değer 19'dur. Erkeklerde ise yaş aralığı 1-64 olup ortalama değer 25,6, ortanca değer 16'dır. PF yerleşimli 15 vakanın 7'si (%47) kadın, 8'i (%53) erkektir. Kadınların tanı

aldıkları yaş aralığı 3-39 olup ortalama değer 19,3, ortanca değer 22'dir. Erkeklerde ise yaş aralığı 2-57 olup ortalama değer 32,8, ortanca değer ise 32'dir (Tablo 8).

Tablo 8: Tanı gruplarına göre, cinsiyete göre ve toplamda yaş dağılımı

YERLEŞİM YERİ	CİNSİYET	VAKA SAYISI	EN AZ	EN FAZLA	ORTALAMA YAŞ	ORTANCA YAŞ
SUPRATENTORYAL	TOPLAM (K+E)	24	1	64	23,7	18
SUPRATENTORYAL	KADIN	12	1	47	21,8	19
SUPRATENTORYAL	ERKEK	12	1	64	25,6	16
POSTERİOR FOSSA	TOPLAM (K+E)	15	2	57	26,5	28
POSTERİOR FOSSA	KADIN	7	3	39	19,3	22
POSTERİOR FOSSA	ERKEK	8	2	57	32,8	32
TOPLAM (ST+PF)	TOPLAM (K+E)	39	1	64	24,7	22
TOPLAM (ST+PF)	KADIN	19	1	47	20,8	21
TOPLAM (ST+PF)	ERKEK	20	1	64	28,5	28,5

ST yerleşimli 24 vakanın 11'i (%46) sol taraf, 5'i (%21) sağ taraf, 1'i (%4) bilateral yerleşimli olup 7'sinde (%29) taraf bilgisi verilmemiştir. Yine bu 24 vakanın 11'i (%46) lateral ventrikül, 4'ü frontal (%17), 2'si (%8) paryetal, 2'si (%8) oksipital, 1'i (%4,2) paryetooksipital, 1'i (%4,2) temporoparyetal, 1'i (%4,2) frontoparyetal, 1'i (%4,2) 3. ventrikül, 1'i (%4,2) intrakranyal (tam bölgesi belirtilmemiş) yerleşimlidir. PF yerleşimli 15 vakanın 8'i (%53,3) 4. ventrikül, 2'si (%13,3) beyin sapı, 1'i (%6,67) PF (tam bölge belirtilmemiş), 1'i (%6,67) beyin sapı + 4. ventrikül, 1'i (%6,67) bulbus, 1'i (%6,67) medulla oblongata, 1'i (%6,67) serebellum yerleşimlidir.

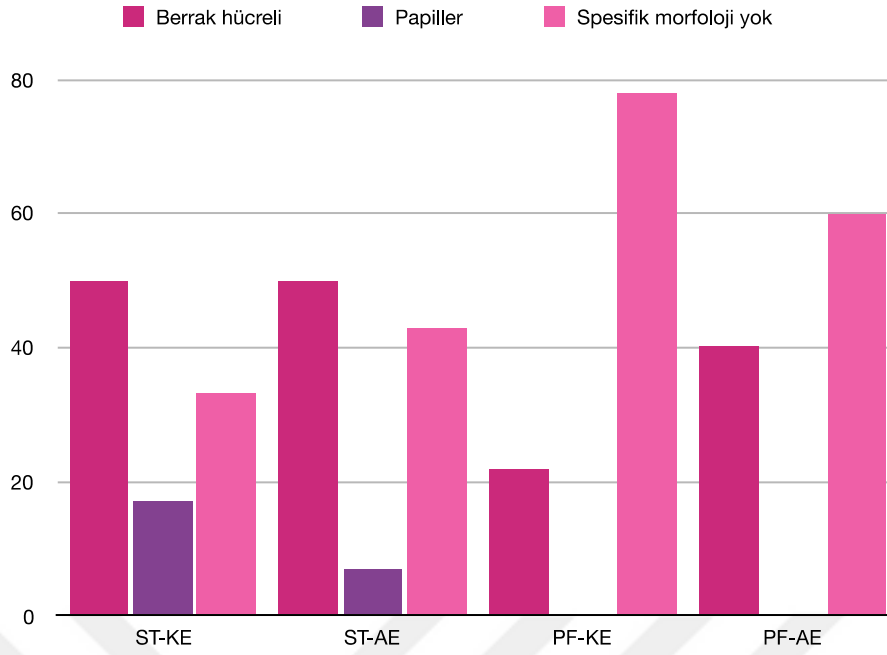
ST yerleşimli tümörü olan 24 hastadan 19'unun 1 yıllık, 11'inin 5 yıllık takip ve tedavi bilgilerine ulaşarak sağkalımları değerlendirilebilmiştir. Buna göre; 19 hastanın 13'ü (%68) hayatta olup halen düzenli takip edilmektedir. Kalan 6 hastanın 2'si (%33) tanı aldıktan sonra ilk 1 yıl içinde, 4'ü (%67) ilk 5 yıl içinde eks olmuştur.

PF yerleşimli 15 hastadan 11'inin 1 yıllık, 6'sının 5 yıllık takip ve tedavi bilgilerine ulaşılarak sağkalımları değerlendirilebilmiştir. Buna göre; 11 hastanın 9'u (%82) hayatta olup 1'i hariç diğer 8'i halen düzenli takip edilmektedir. Kalan 2 hastanın 1'i (%50) tanı aldıktan sonra ilk 1 yıl içinde, diğeri (%50) tanı aldıktan sonra 5 yıl içinde eks olmuştur.

42. VAKALARIN HİSTOMORFOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

ST yerleşimli 24 vakanın 10'u (%42) berrak hücre morfolojisi göstermektedir. Bunların 7'si (%70) derece III AE, 3'ü (%30) derece II KE'dir. 2 vaka (%8) ise papiller varyant endimom olup bunların 1'i (%50) derece II KE, 1'i (%50) derece III AE'dir. ST yerleşimli 14 adet derece III AE'nin 7'si (%50) berrak hücreli varyant olup, 1'i (%7) papiller varyanttır. Kalan 6 (%43) derece III AE vakası belirgin bir morfolojik varyant sergilememektedir. ST yerleşimli 6 adet derece II KE vakasının 3'ü (%50) berrak hücreli, 1'i (%17) papiller varyanttır. Kalan 2 (%33) derece II KE vakası belirgin bir morfolojik varyant sergilememektedir (Grafik 3).

PF yerleşimli 15 vakanın 4'ü (%27) berrak hücre morfolojisi göstermektedir. Bunların 2'si (%50) derece II KE, diğeri 2'si (%50) derece III AE tanılıdır. Bu bölgedeki olgularımız içerisinde papiller morfolojiye sahip tümöre rastlanmamıştır. PF yerleşimli 5 adet derece III AE vakasının 2'si (%40) berrak hücreli varyant olup, kalan 3 (%60) derece III AE vakası belirgin bir morfolojik varyant sergilememektedir. PF yerleşimli 9 adet derece II KE vakasının 2'si (%22) berrak hücreli varyant olup, kalan 7 (%78) derece II KE vakası belirgin bir morfolojik varyant sergilememektedir. Olgularımız içinde (ST + PF) tanisitik morfolojiye sahip vaka yoktur (Grafik 3).

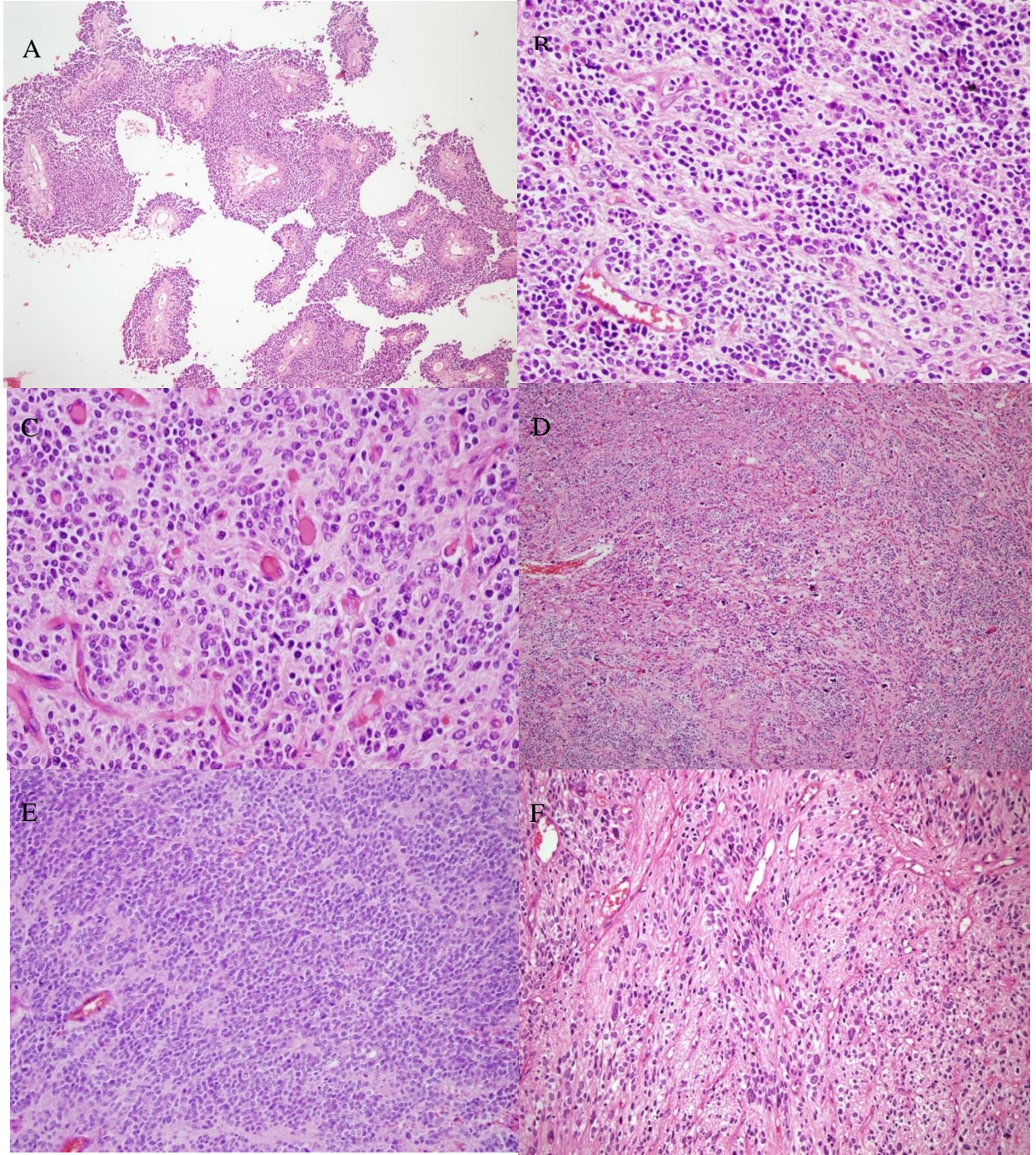


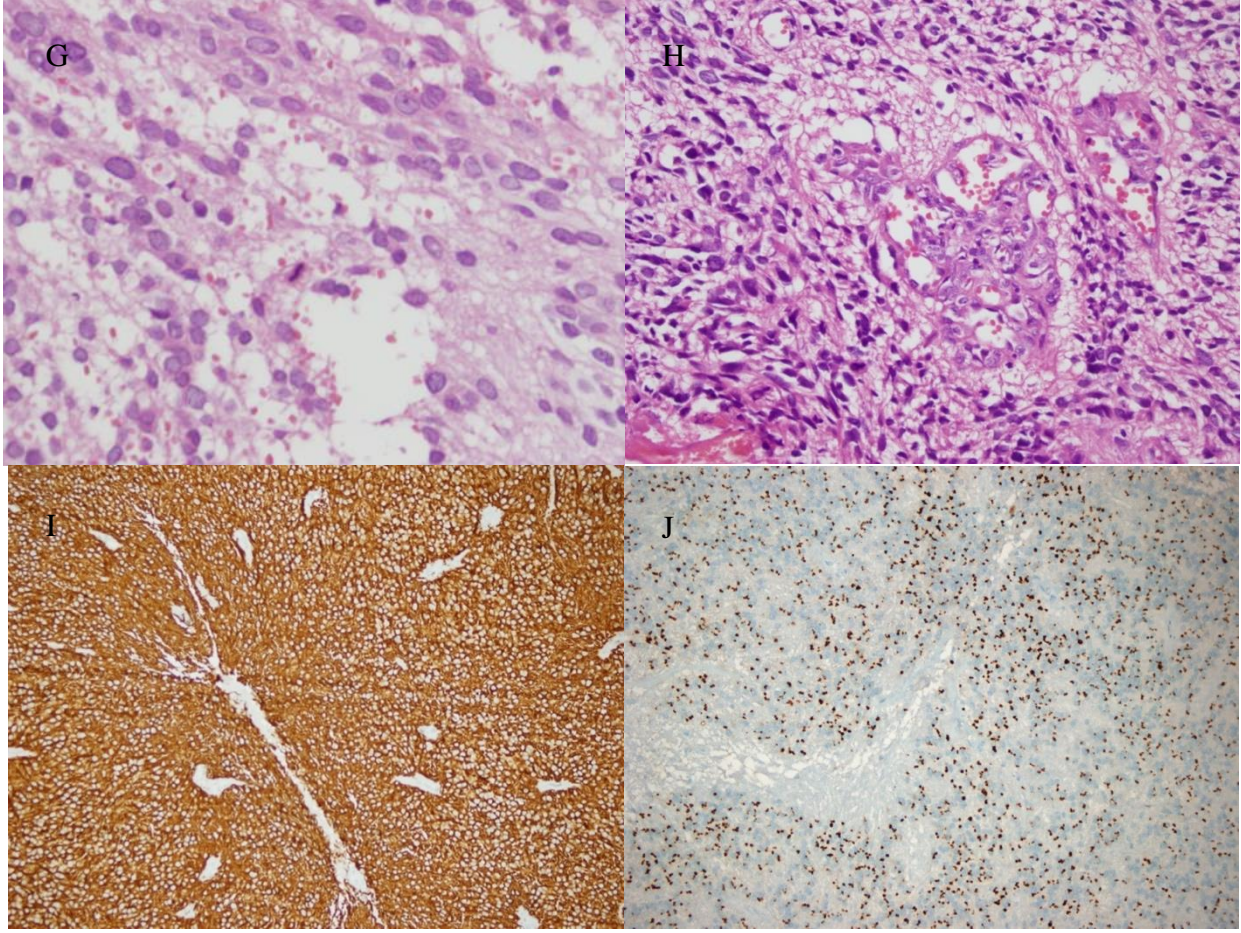
Grafik 3: ST ve PF yerleşimli KE ve AE vakalarında morfolojik varyantların görülme yüzdeleri

ST yerleşimli 14 AE vakasının 13'ünde (%93) MVP, tamamında (%100) nekroz saptanmıştır. Mitoz sayıları ise 2 ile 50/10 BBA arasında değişmekte olup, ortalama değer 13/10 BBA bulunmuştur. PF yerleşimli 5 AE vakasının 4'ünde (%80) MVP, tamamında (%100) nekroz saptanmıştır. Mitoz sayıları ise 3-10/10 BBA arasında değişmekte olup ortalama 6/10 BBA mitoz görülmektedir.

ST yerleşimli 24 vakanın 22'sine immünohistokimyasal olarak GFAP çalışılmış ve tüm vakalarda (%100) pozitif boyanma elde edilmiştir. Yine ST yerleşimli tüm vakalara çalışılan immünohistokimyasal EMA antikoru ile 20 vakada (%83) pozitif boyanma saptanmıştır. Negatif olan 4 vakanın 3'ü (%75) SE vakası, 1'i (%25) AE vakasıdır. AE tanısı almış olan vakanın GFAP immünopozitifliği de derecenin daha yüksek görüldüğü alanlarda kaybolmaktadır. Buna göre ST-SE tanılı 4 vakanın 3'ü (%75) EMA negatif, 1'i (%25) EMA pozitifdir. ST-KE tanılı 6 vakanın tümünde (%100) EMA pozitif, ST-AE tanılı 14 vakanın 13'ünde (%93) EMA pozitif, 1'inde (%7) EMA negatiftir. PF yerleşimli 15 vakanın 14'üne GFAP uygulanmış ve tüm vakalarda (%100) pozitif boyanma saptanmıştır. Bu 15 vakanın tümüne EMA çalışılmış, 14'ünde (%93) pozitiflik saptanmıştır. Negatif olan vaka derece I SE vakasıdır. PF yerleşimli diğer derece II KE ve derece III AE vakalarının tümünde (%100) immünohistokimyasal olarak EMA ile pozitiflik saptanmıştır.

Vakaların morfolojik ve immünohistokimyasal özelliklerine ait fotoğraflar, resim 1’de verilmiştir.





Resim 1: Vakalardan bazılarının morfolojik ve immünohistokimyasal özellikleri

A-Vaka no 9: Papiller varyant, H&E x100, **B-**Vaka no 23: Berrak hücreli, H&E x400, **C-**Vaka no 16a: İnce dallanan vasküler yapılar, H&E x400, **D-**Vaka no 23: Distrofik kalsifikasyon, H&E x100, **E-**Vaka no 16c: Hücresellik artışı, H&E x200, **F-**Vaka no 8c: Pleomorfizm, H&E x200, **G-**Vaka no 8c: Ortada mitotik figür, H&E x200, **H-**Vaka no 8a: MVP, H&E x400, **I-**Vaka no 1: GFAP ile immünpozitiflik, x200, **J-**Vaka no 1: Paranükleer noktasal EMA immünpozitifliği, x200

4.3. FISH SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ, KLİNİK PARAMETRELER VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL L1CAM İLE KARŞILAŞTIRILMASI

ST yerleşimli 4 adet derece I SE vakası hem FISH ile hem de immünohistokimyasal olarak L1CAM ile negatiftir. Sadece vakalardan 1'inde yaklaşık %18 oranında yakın break-apart paterni izlenmiştir; ancak eşlik eden gerçek break-apart saptanmaması ve immünohistokimyasal L1CAM antikörünün da negatif olması sonucunda bu bulgu, anlamlı olarak değerlendirilmemiştir.

PF yerleşimli 15 vakanın 6'sında sinyal elde edilememiştir. Sinyal elde edilememiş vakaların 1'i 2011, 2'si 2012, 1'i 2014, 1'i 2015 ve 1'i 2017 yılına aittir. Arşivde uzun süre beklemiş parafin bloklarda sinyal elde etme şansının düşük olduğu bilinmektedir. Özellikle daha yakın tarihte tanı almış olgular için, sinyal elde edilememesinin nedenlerinden biri de, dokuların formol tespitinin optimal olarak sağlanamamış olmasıdır. Kalan 9 vakanın hiçbirinde FISH ile break-apart görülmemiştir; RELA füzyonu saptanmamıştır (Resim 5). Yine vakaların hiçbirinde immünohistokimyasal olarak L1CAM ile ekspresyon görülmemiştir.

ST yerleşimli 20 adet derece II KE + derece III AE vakasının 8'inde yine aynı nedenlerden dolayı sinyal elde edilememiştir. Bu 8 vakanın 3'ünde L1CAM ile immünopozitiflik izlenmesi nedeniyle FISH çalışması tekrarlanmıştır; tekrar edilen 3 vakanın sadece 1'inde sinyal elde edilmiş ve yeterli oranda break-apart izlenmiştir (vaka no 2; RELA füzyon pozitif). Böylece, toplamda sinyal elde edilebilen 13 vaka mevcuttur; bunların da 7'sinde (%54) FISH ile eşik değerin üzerinde break-apart paterni izlenmiştir (Resim 2 ve 3). Bu 7 vakanın 3'ünde gerçek break-apart paterni %15'in altında kalmaktaydı; ancak yakın break-apart paterni eklendiği zaman oran %15'i aşmaktaydı. Bu vakalar immünohistokimyasal olarak L1CAM ile yaygın ve kuvvetli pozitiflik gösterdiklerinden RELA füzyon pozitif olarak kabul edildi (Resim 4).

RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarımızın tamamı (%100) ST yerleşimlidir. Bunların 2'si (%28,5) frontal, 1'i (%14,3) paryetooksipital, 1'i (%14,3) korpus kallozum-splenium, 1'i (%14,3) intrakranyal (tam bölge belirtilmemiş), 1'i (%14,3) paryetal, 1'i (%14,3) temporoparyetal bölge kaynaklıdır.

RELA füzyon pozitif vakaların yaş ortalaması alınırken nüks vakalar, sadece bir kez, tanı aldıkları yaşları ile hesaba eklenmiştir. Buna göre yaş aralığı 1 ile 57 arasında değişmekte olup ortanca değer 8, ortalama değer 17,9 olarak hesaplanmıştır. 7 olgudan 5'i (%71) 18 yaşın

altında, 2'si (%29) 18 yaşın üstündedir. RELA füzyon pozitifliği ile yaş grupları (18 yaş altı ve 18 yaş üstü olmak üzere) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p= 1$)

RELA füzyon pozitifliği gösteren 7 olgunun 6'sı (%86) erkek, 1'i (%14) kadındır. RELA sonuçları ile erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak pozitif yönde, anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p= 0,015$).

Füzyon pozitifliği saptanan 7 vakanın tamamı (%100) derece III AE vakasıdır. RELA füzyon pozitifliği göstermeyen derece III AE vaka sayısı 5 iken, 2 adet derece III AE vakasında sinyal elde edilememiştir. RELA füzyon pozitifliği ile histolojik derece arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p= 0,462$). 6 ST yerleşimli derece II KE vakamızın sadece 1'inde sinyal elde edilebilmiş olup, füzyon pozitifliği izlenmemiştir.

RELA füzyon pozitif 7 vakanın sadece birinde spesifik morfolojik varyant izlenmemiş olup diğer 6'sı (%86) berrak hücreli varyanttır. RELA füzyon pozitif olgular ile morfoloji (berrak hücreli) arasında pozitif yönde, anlamlı bir korelasyon saptanmıştır ($p= 0,029$).

RELA füzyon pozitifliği izlenen 7 olgunun 4'ü hayattadır; kalan 3 vakanın 1'i ilk 1 yıl içinde, diğer 2'si ilk 5 yıl içinde eks olmuştur. 7 olgunun 1 yıllık sağkalım bilgisine, 5 olgunun da 5 yıllık sağkalım bilgisine ulaşılabilmiştir. Buna göre 1 yıllık sağkalım %86, 5 yıllık sağkalım %50 olarak hesaplanmıştır. RELA füzyonu negatif olan ST-EPN grubuna ait 6 hasta bulunmaktadır; ancak sadece 3'ünün takip bilgilerine ulaşılabilmiştir. Bu 3 hastadan 1'i yaşamaktadır; ancak sadece 1 yıllık takip bilgisi mevcuttur. Kalan 2 hastadan biri 1,5 ay, diğeri ise 1,5 yıl içinde kaybedilmiştir (1 yıllık sağkalım %67). RELA füzyon pozitifliği veya negatifliği gösteren olgularla sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (log rank= 3,295, $p= 0,069$).

FISH ile break-apart paterninin izlendiği tüm pozitif olgularda immünohistokimyasal olarak yaygın, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz L1CAM ekspresyonu izlenmiştir (%100). FISH sonucu negatif olan vakalarda L1CAM ekspresyonu da negatiftir. Bunun dışında, L1CAM ile pozitiflik izlenen 2 vakada FISH ile sinyal elde edilememiştir. Bu vakalardan biri ST yerleşimli, papiller varyant derece II KE, diğeri ST yerleşimli, berrak hücreli varyant derece III AE tanılıdır. Buna göre L1CAM için duyarlılık %100, özgülük %100, pozitif prediktif değer %100 ve negatif prediktif değer %100 olarak hesaplanmıştır. FISH sonuçları ile L1CAM sonuçları arasında istatistiksel olarak pozitif yönde güçlü, anlamlı bir korelasyon saptanmıştır ($p= 0,001$).

Tüm bulgular tablo 9'da özetlenmiştir.

Tablo 9: RELA füzyon pozitif vakaların klinik özellikleri ve immünohistokimyasal L1CAM sonuçları

RELA POZİTİF VAKA NO	YAŞ	CİNSİYET	BÖLGE	LOB	TANI	DERECE	MORFOLOJİ	L1CAM	HAYATTA MI?
2	7	E	ST	PO	AE	3	B	P	P
8c	11	E	ST	KK-S	AE	3	BE	P	P
16a, b,c	34	E	ST	Pa	AE	3	BE	P	N
19	7	E	ST	İK	AE	3	BE	P	N
20	57	E	ST	F	AE	3	BE	P	P
21	8	E	ST	F	AE	3	BE	P	P
23	1	K	ST	TP	AE	3	BE	P	N

E: Erkek, K: Kadın, ST: Supratentoryal, PO: Paryetookspital, KK-S: Korpus kallozum-splenium, Pa: Paryetal, İK: İntrakranyal, F: Frontal, TP: Temporoparyetal, AE: Anaplastik ependimom, B: Bilinmiyor/Belirtilmemiş, BE: Berrak hücreli, P: Pozitif, N: Negatif

RELA füzyon pozitif 7 olgunun 5'i (%71,4) adjuvan tedavi olarak KT + RT, 1'i (%14,3) yalnız RT almış, 1'i (%14,3) adjuvan tedavi almamıştır. KT + RT alan 5 hastanın 3'ü (%60) sağ ve düzenli takiptedir; diğer 2'si (%40) sırasıyla ilk 1 yıl içinde ve ilk 5 yıl içinde eks olmuştur. Yalnız RT alan hasta, tanı aldıktan 4 yıl sonra eks olmuştur. Adjuvan tedavi almayan hasta yaşamakta ve takiplerine düzenli devam edilmektedir.

Bulgulara ek olarak; ST yerleşimli 24 vakanın 3'ünde FISH ile gen kopya sayı artışı izlenmiştir. Bu 3 vakanın 2'si FISH ile RELA füzyonu negatif, immünohistokimyasal olarak da L1CAM negatif derece III AE vakasıdır (Resim 6). Diğer vaka ise berrak hücre morfolojisi gösteren, RELA füzyon pozitif, L1CAM pozitif, derece III AE'dir. PF yerleşimli 4 vakada da yine FISH ile gen kopya sayı artışı izlenmiştir. Bu 4 vaka da derece II KE vakası idi.

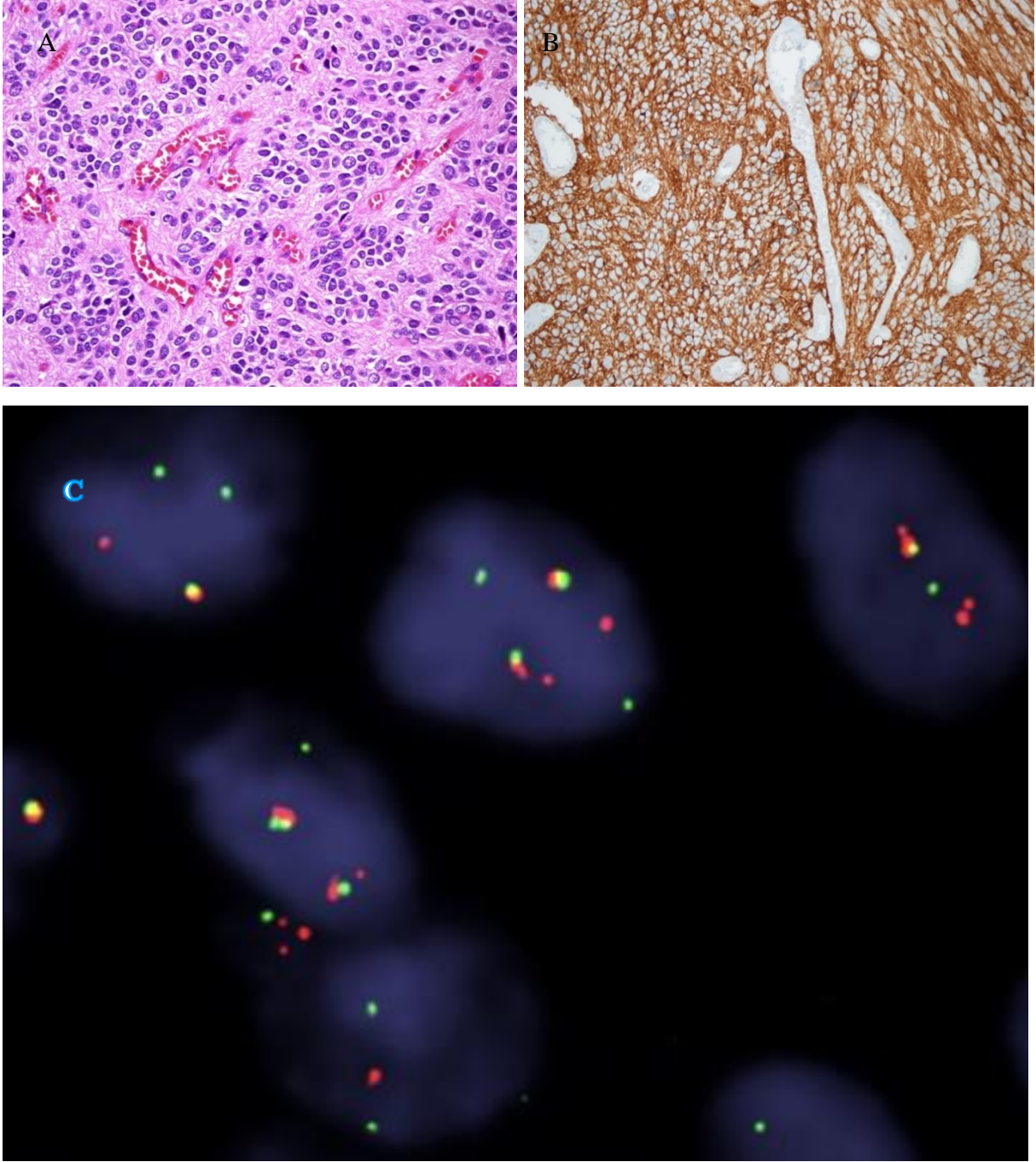
Nüks vakaların durumu aşağıda sırayla özetlenmiştir:

Vaka no 16 (16a, b, c): İlk tanı 2013'te verilmiş olup vaka, sırasıyla 2014 ve 2015'te nüks etmiştir. Her 3 rezeksiyon materyalinde de hem FISH ile hem de L1CAM ile pozitiflik saptanmıştır. Morfoloji 3 rezeksiyon materyalinde de aynıdır; berrak hücreli varyant derece III AE. İlk tanı alınan yaş 34'tür; pozitif vakaların yaş ortalaması, ortanca değer ve yaş aralığı verilirken, tanının verildiği yaş dikkate alınmıştır. Hasta, tanı aldıktan sonraki ilk 5 yıl içinde kaybedilmiştir.

Vaka no 8 (8a, b, c): İlk tanı 2013'te olup sırasıyla 2016 başında ve sonunda nüks görülmüştür. İlk tanının verildiği rezeksiyonda FISH ile sinyal elde edilememiştir; ancak L1CAM ile immünpozitiflik izlenmiştir. İlk nüks rezeksiyonda FISH ile sinyal elde edilmiştir; az sayıda (<% 15) yakın break-apart paterni izlenmiş, gerçek break-apart paterni görülmemiştir; bu nedenle vaka füzyon negatif kabul edilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak L1CAM ile fokal, zayıf membranöz pozitiflik seçilmiş; sonuç negatif kabul edilmiştir. Son nüks materyalinde FISH ile sinyal elde edilebilmiş olup sonuç pozitifdir (vaka no 8c); yine bu materyalde immünohistokimyasal olarak difüz, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz L1CAM pozitifliği izlenmiştir. Tanının verildiği vakada spesifik bir morfoloji seçilmemişken nükslerde berrak hücre değişikliği izlenmiştir. Her 3 rezeksiyon materyalinde de tanı derece III AE'dir. İlk tanı alınan yaş 11'dir; RELA füzyon pozitif vakalarının yaş ortalaması, ortanca değer ve yaş aralığı verilirken, tanının verildiği yaş dikkate alınmıştır. Hasta halen hayattadır; takipleri devam etmektedir.

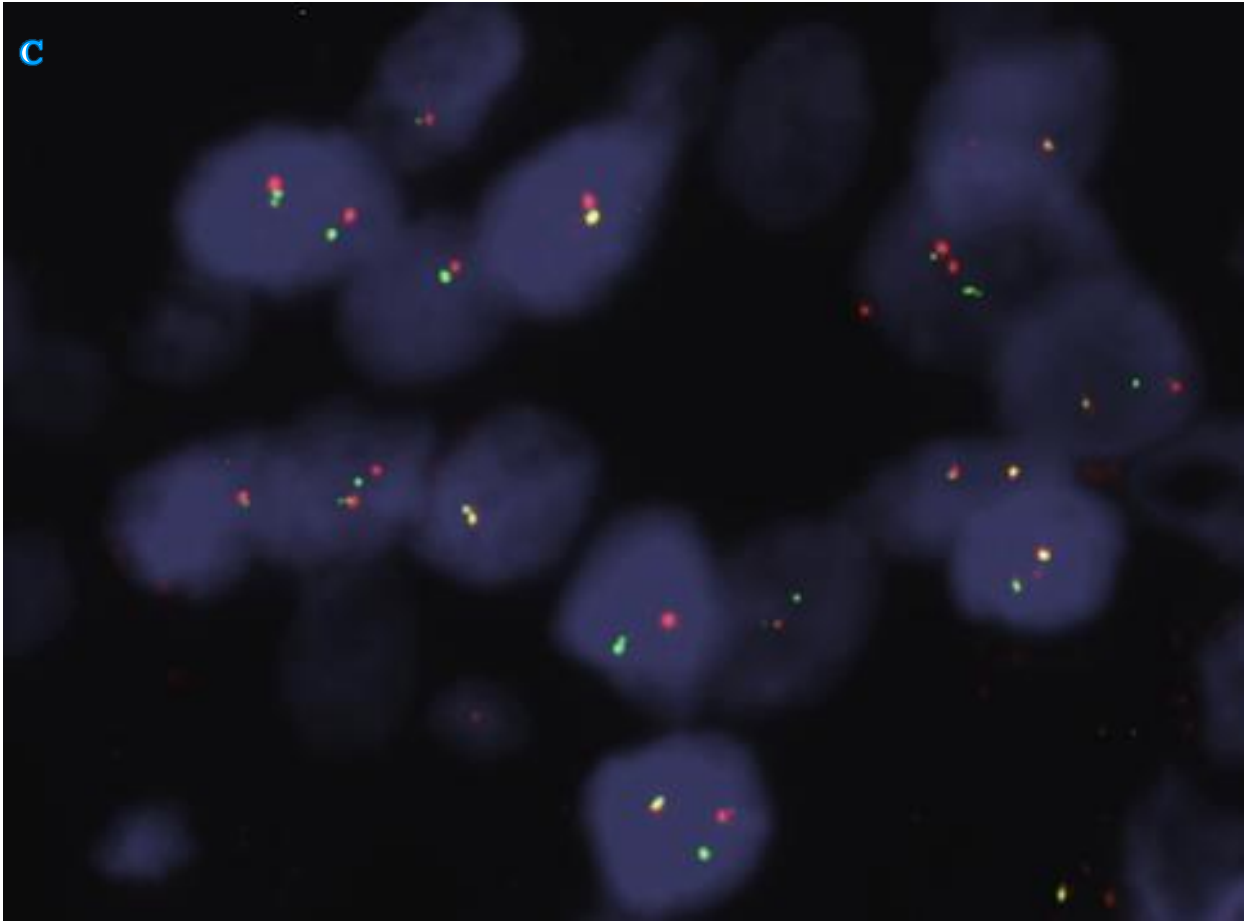
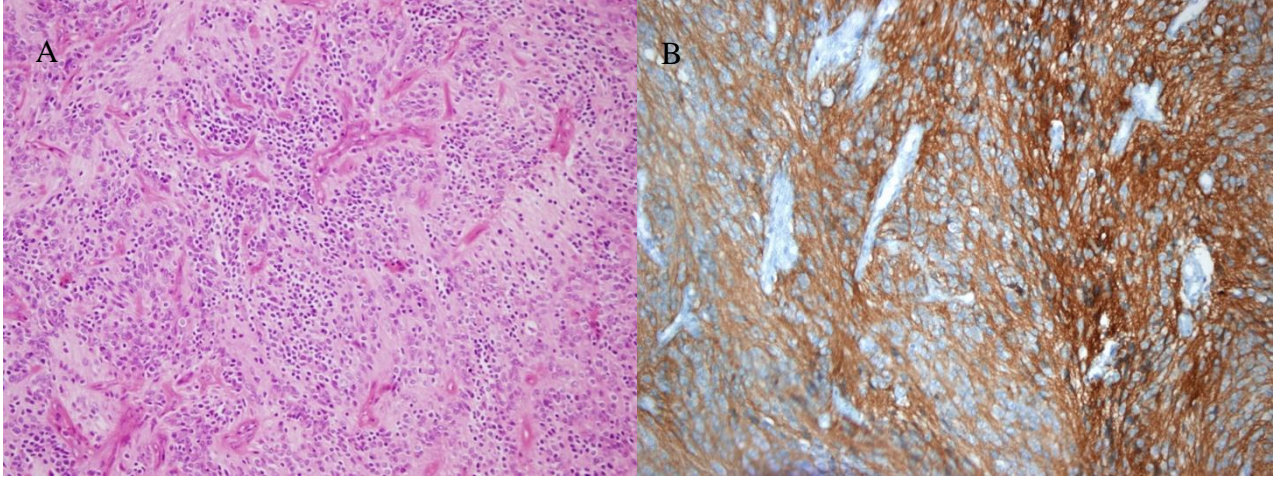
Rastgele seçilmiş 1 AA, 1 OD ve 1 GBM vakasına immünohistokimyasal olarak L1CAM antikoru uygulanmıştır. GBM vakasında immünreaksiyon izlenmezken, AA ve OD vakalarında yer yer kuvvetli, yer yer zayıf sitoplazmik ve membranöz immünpozitiflik dikkati çekmiştir.

Vakalara ait FISH ve immünohistokimya sonuç örnekleri resim 2, 3, 4, 5 ve 6'da verilmiştir.



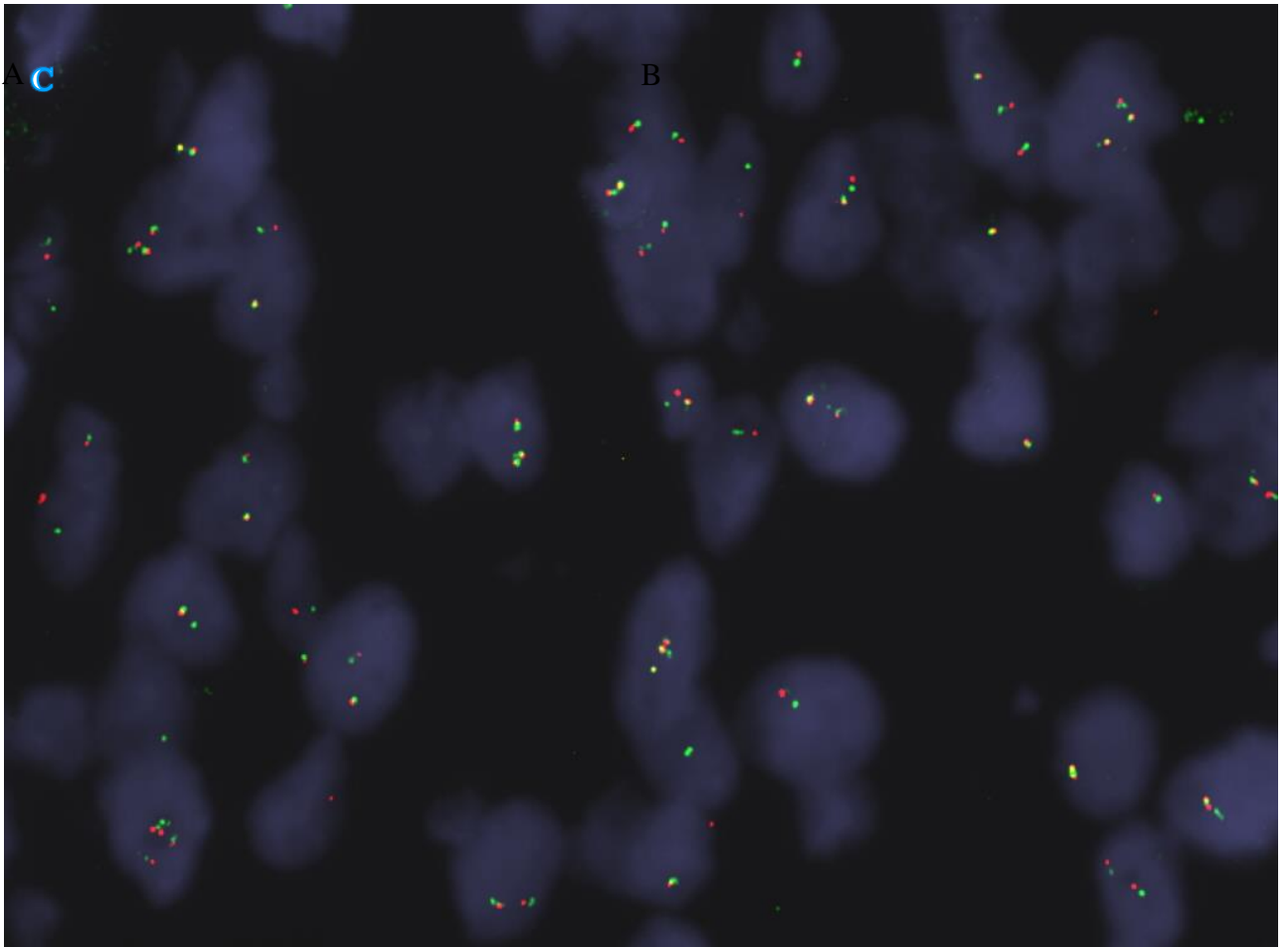
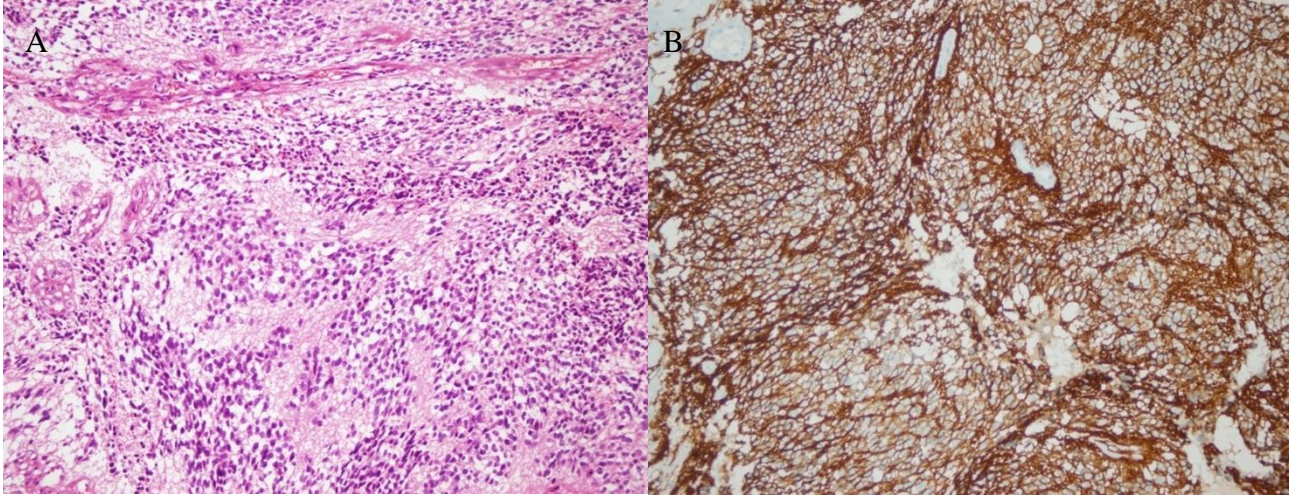
Resim 2: ST-EPN-RELA örneği

Vaka no 2: Derece III AE **A**-H&E x200, **B**-L1CAM ile yaygın, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz pozitiflik, x200, **C**-RELA probu ile FISH çalışma sonucunda izlenen break-apart paterni



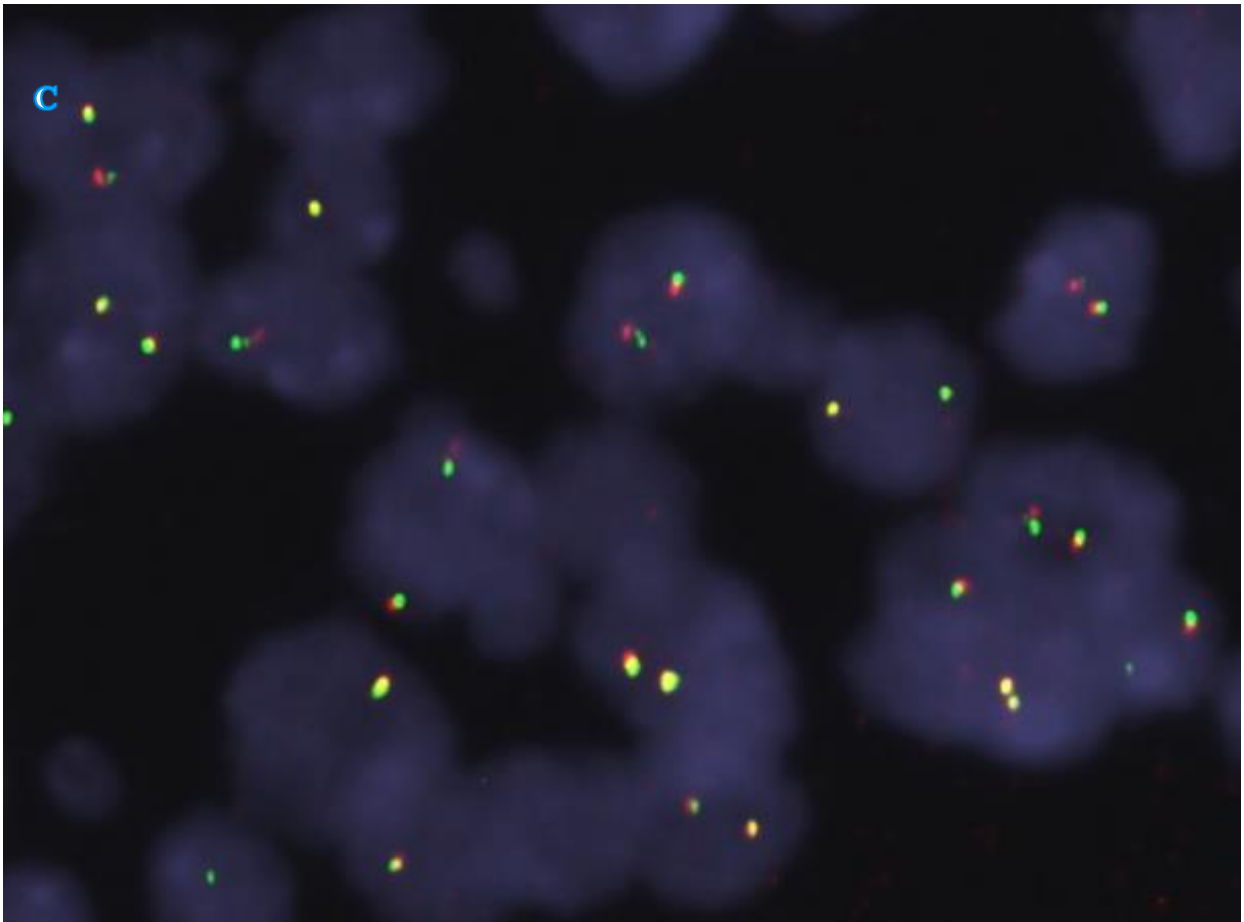
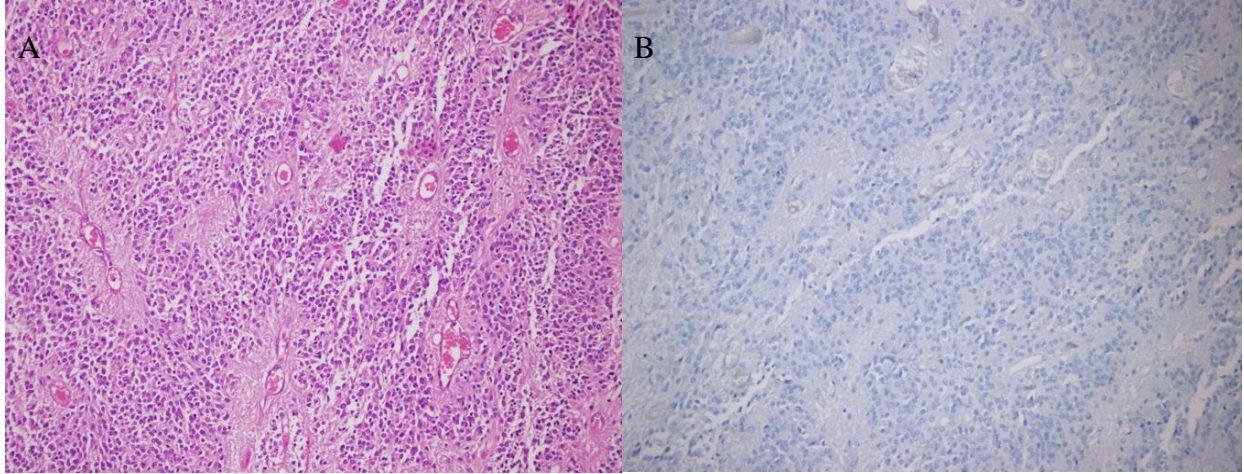
Resim 3: ST-EPN-RELA örneği

Vaka no 21: Berrak hücreli derece III AE **A**-H&E x200, **B**-L1CAM ile yaygın, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz pozitiflik, x200, **C**-RELA probu ile FISH çalışma sonucunda izlenen break-apart paterni



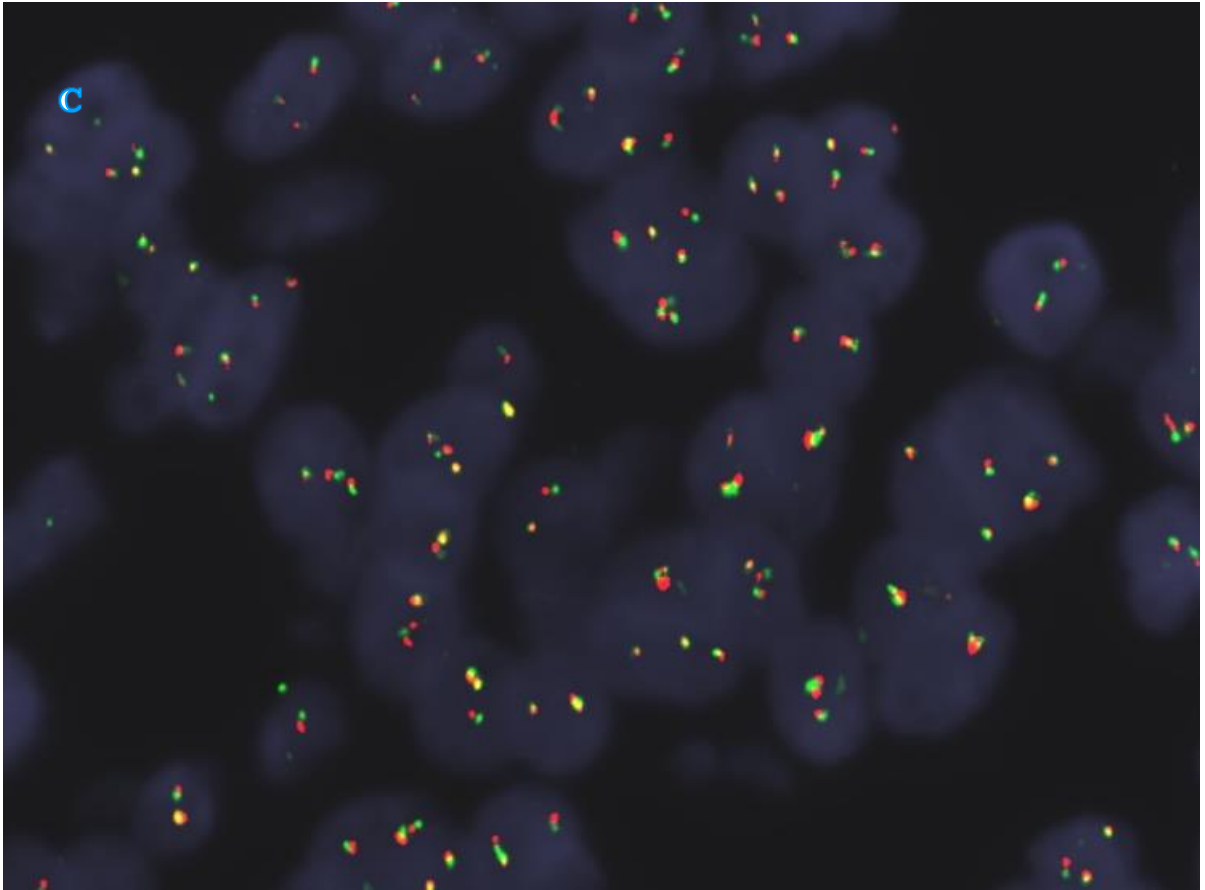
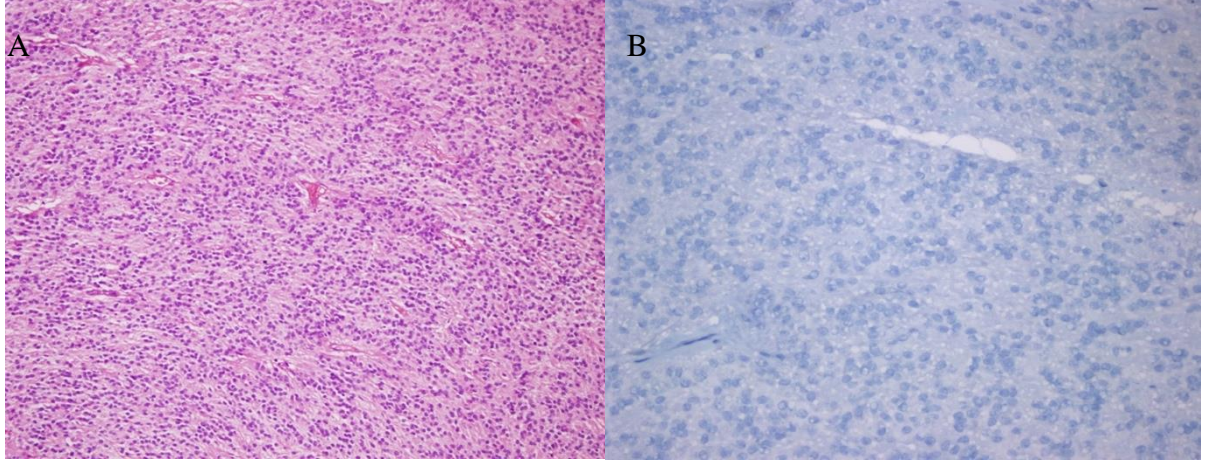
Resim 4: RELA füzyon pozitif vaka örneği; yakın break-apart paterni

Vaka no 16b: Berrak hücreli derece III AE **A**-H&E x200, **B**-L1CAM ile yaygın, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz pozitiflik, x200, **C**-FISH ile yakın break-apart paterninin ağırlıklı olarak izlendiği, daha az oranda gerçek break-apart içeren patern



Resim 5: RELA füzyon negatif vaka örneği

Vaka no 28: Derece III AE **A**-H&E x200, **B**-L1CAM ile negatif boyanma, x200, **C**-FISH ile negatiflik; break-apart izlenmedi, sarı renkli iki füzyon sinyali izlendi (normal patern)

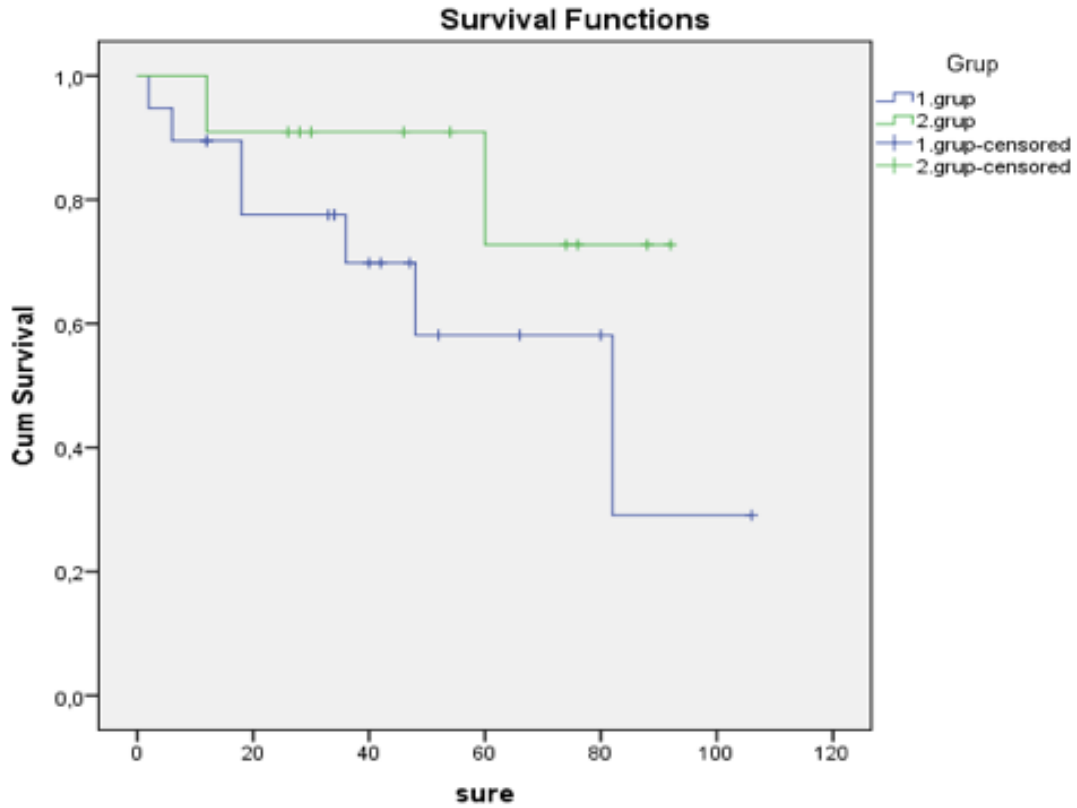


Resim 6: RELA füzyon negatif vakada gen kopya sayı artışı

Vaka no 1: Derece III AE **A**-H&E x200, **B**-L1CAM ile negatif boyanma, x400, **C**-FISH ile negatiflik; break-apart izlenmedi, %85 oranında gen kopya sayı artışı izlendi

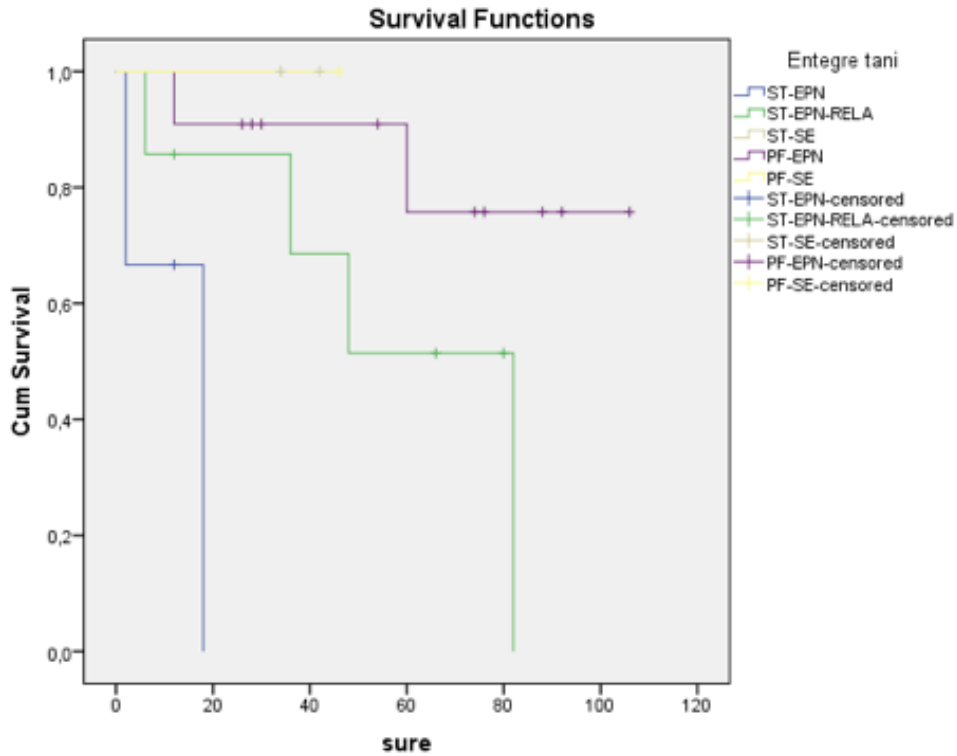
4.4. KLİNİK ÖZELLİKLERE VE FISH SONUÇLARINA GÖRE PROGNOZ VE SAĞKALIM

Hastaların ulaşılabilen takip süreleri 2 ile 106 ay arasında değişmekte olup ortalama değer 45,1 ay, ortanca değer 41 aydır. 1 yıllık sağkalım bilgisine ulaşılan 30 vaka (%76,9) içerisinde 22 vaka yaşamaktadır (%73). Kalan 8 hastanın 3'ü (%37,5) ilk 1 yıl içinde, 5'i (%62,5) ilk 5 yıl içinde eks olmuştur (1 yıllık sağkalım %90, 5 yıllık sağkalım %64). Olguları ST (Grup 1) ve PF (Grup 2) yerleşimli vakalar şeklinde gruplandırdığımızda ise ST yerleşimliler için 1 yıllık sağkalım %90, 5 yıllık sağkalım %57 olarak hesaplanmıştır. PF yerleşimli vakalar için 1 yıllık sağkalım %91, 5 yıllık sağkalım %75'tir (Grafik 4). ST yerleşimli olguların sağkalımı, PF yerleşimlilere göre daha düşük bulunmuştur. Ancak, ST yerleşimli olgularla PF yerleşimli olguların 1 yıllık ve 5 yıllık sağkalımları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (log rank= 1,686, p= 0,194).



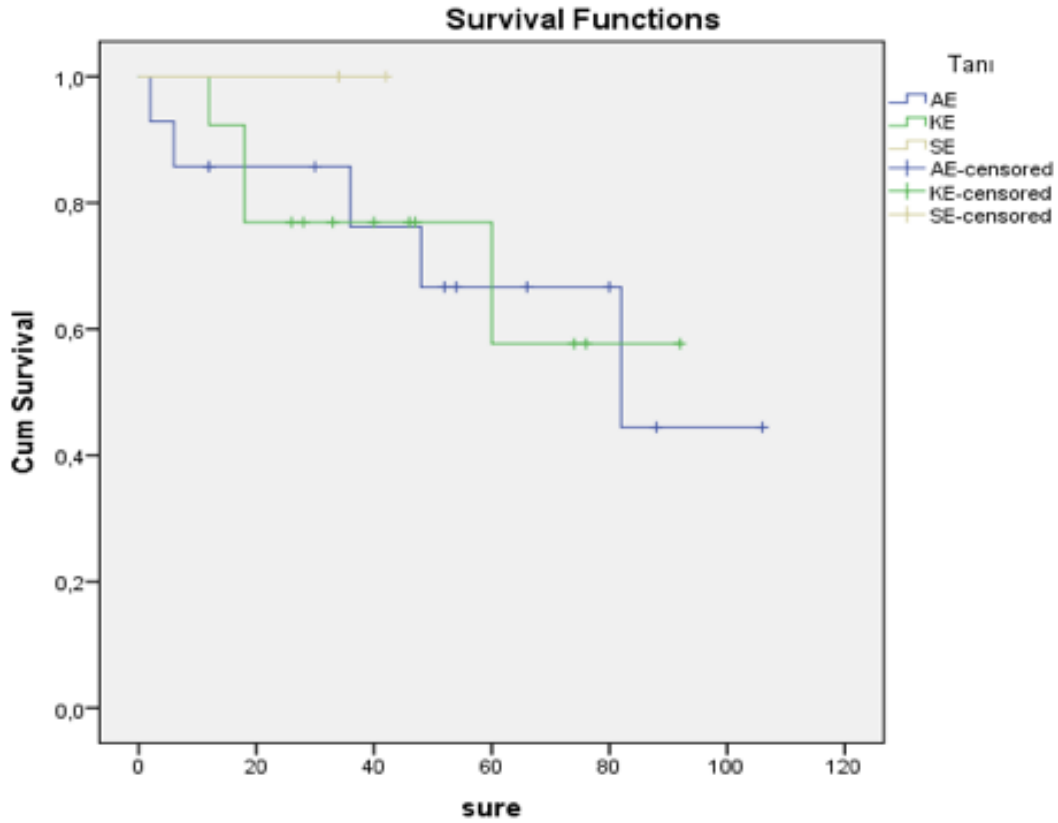
Grafik 4: ST (Grup 1) ve PF (Grup 2) yerleşimli endimomların sağkalım grafiği

ST yerleşimli SE vakaları ST-SE, RELA füzyonu saptanan derece III AE vakaları (derece II KE vakaları içinde RELA füzyon pozitifliği gösteren vakaya rastlanmamıştı) ST-EPN-RELA ve kalan RELA füzyon negatif ST derece II KE ve III AE vakaları ST-EPN olarak gruplanmıştır. ST-SE vakalarının en fazla 36 aylık sağkalım bilgilerine ulaşılabilmektedir; bu grup için 1 yıllık sağkalım %100'dür. ST-EPN-RELA grubu için 1 yıllık sağkalım %86, 5 yıllık sağkalım %50'dir. ST-EPN grubuna ait 6 hasta bulunmaktadır; ancak sadece 3'ünün takip bilgilerine ulaşılabilmektedir. Bu 3 hastadan 1'i yaşamaktadır; fakat sadece 1 yıllık takip bilgisi mevcuttur. Kalan 2 hastadan biri 1,5 ay, diğeri ise 1,5 yıl içinde kaybedilmiştir (1 yıllık sağkalım %67). PF yerleşimli SE vakası PF-SE, diğer vakalar PF-EPN olarak gruplanmıştır. PF-SE vakası yaşamaktadır ve 46 aydır takiplerine düzenli gitmektedir (1 yıllık sağkalım %100). PF-EPN vakaları için 1 yıllık sağkalım %90, 5 yıllık sağkalım ise %71 olarak hesaplanmıştır (Grafik 5). Tek başına ST-EPN ve ST-EPN-RELA grubu alınarak sağkalım oranları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (log rank= 3,295, p= 0,069). Ancak tüm entegre tanıları dahil edildiğinde, sağkalımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (log rank= 11,717, p=0,02). Buna göre, sağkalımı en yüksek grup ST-SE ve PF-SE iken, en düşük grup RELA füzyon negatif ST-EPN'dir.



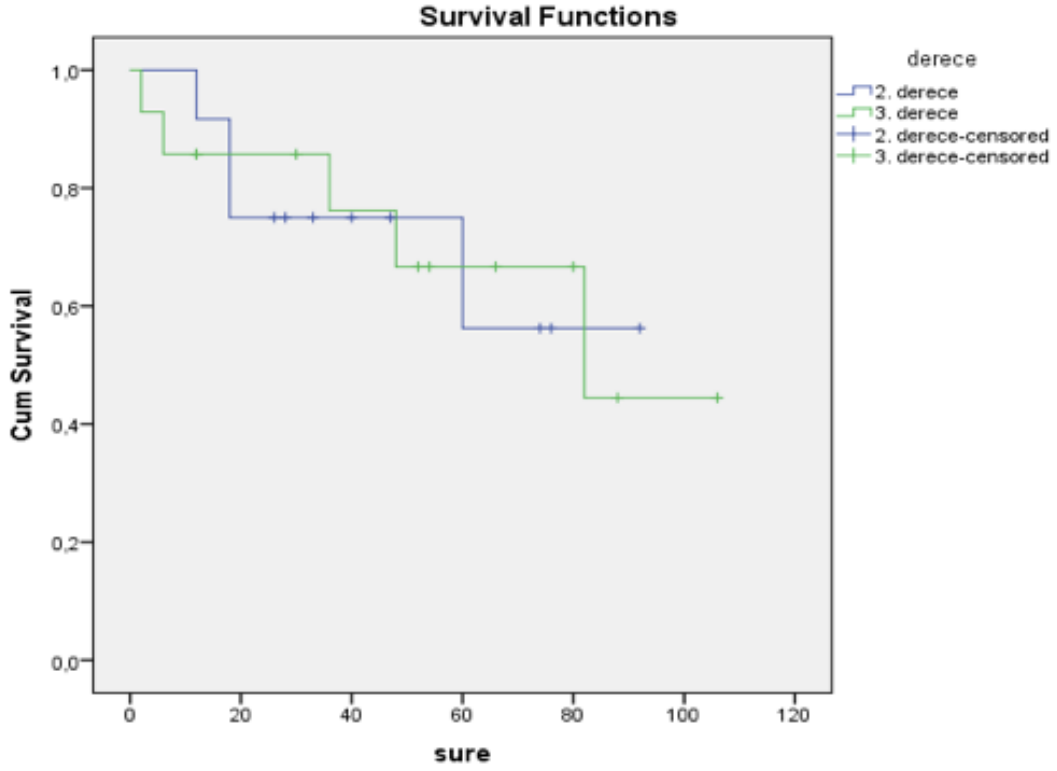
Grafik 5: Entegre tanı grupları ile sağkalım arasındaki ilişki

ST + PF yerleşimli histolojik derece I SE'lerde 1 yıllık sağkalım %100'dür. SE olgularında, ulaşılabilen hastalar içinde en uzun takip süresi 46 ay olmuştur. Bu nedenle 5 yıllık sağkalım oranı bu grup için verilememiştir. Derece II KE'lerde 1 yıllık sağkalım %92, 5 yıllık sağkalım %56'dır. Derece III AE'lerde 1 yıllık sağkalım %86, 5 yıllık sağkalım %64'tür (Grafik 6). Görünüşte derece I SE vakalarının sağkalımı, derece II KE ve derece III AE vakalarına göre daha iyidir. Ancak derece II KE ve derece III AE vakaları birbiri ile karşılaştırıldığında sağkalım oranları arasında anlamlı fark görülmemiştir (Grafik 7). Histopatolojik tanı/derece ile yaşam verileri birlikte incelendiğinde farklı derecedeki vakalar ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (log rank= 0,694, p= 0,707)



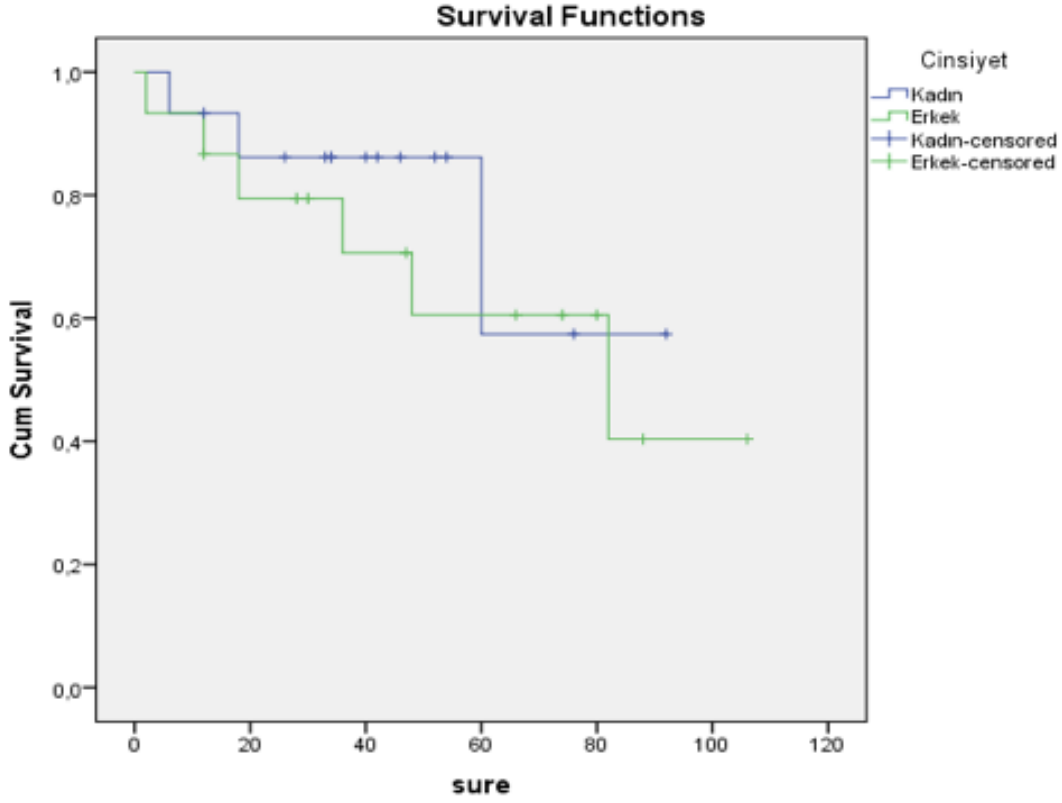
Grafik 6: Vakaların histopatolojik tanı/derecesi ile sağkalım ilişkisi

Histolojik derece II ve derece III vakaların sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (log rank= 0,003, p= 0,954).



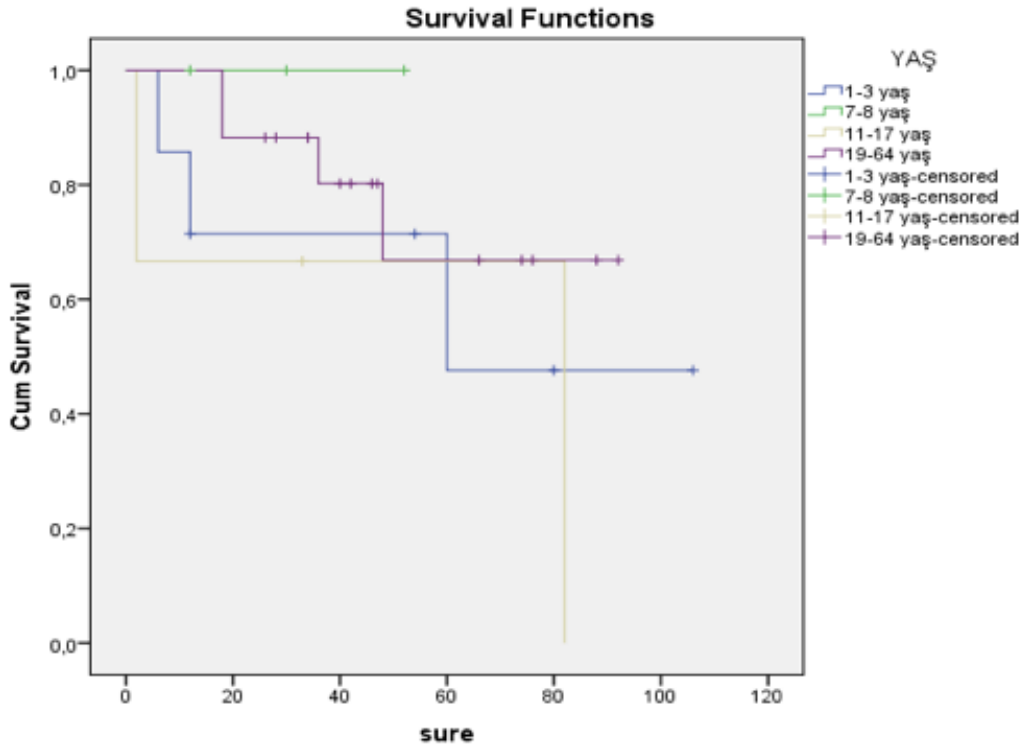
Grafik 7: Histolojik derece II ve III vakalar ile sağkalım ilişkisi

ST + PF yerleşimli ependimomlar için kadınlarda 1 yıllık sağkalım oranı %93, 5 yıllık sağkalım oranı %57'dir. Erkeklerde 1 yıllık sağkalım oranı %86, 5 yıllık sağkalım oranı %59'dur (Grafik 8). Cinsiyet ile 1 yıllık ve 5 yıllık sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (log rank= 0,496, p= 0,481).

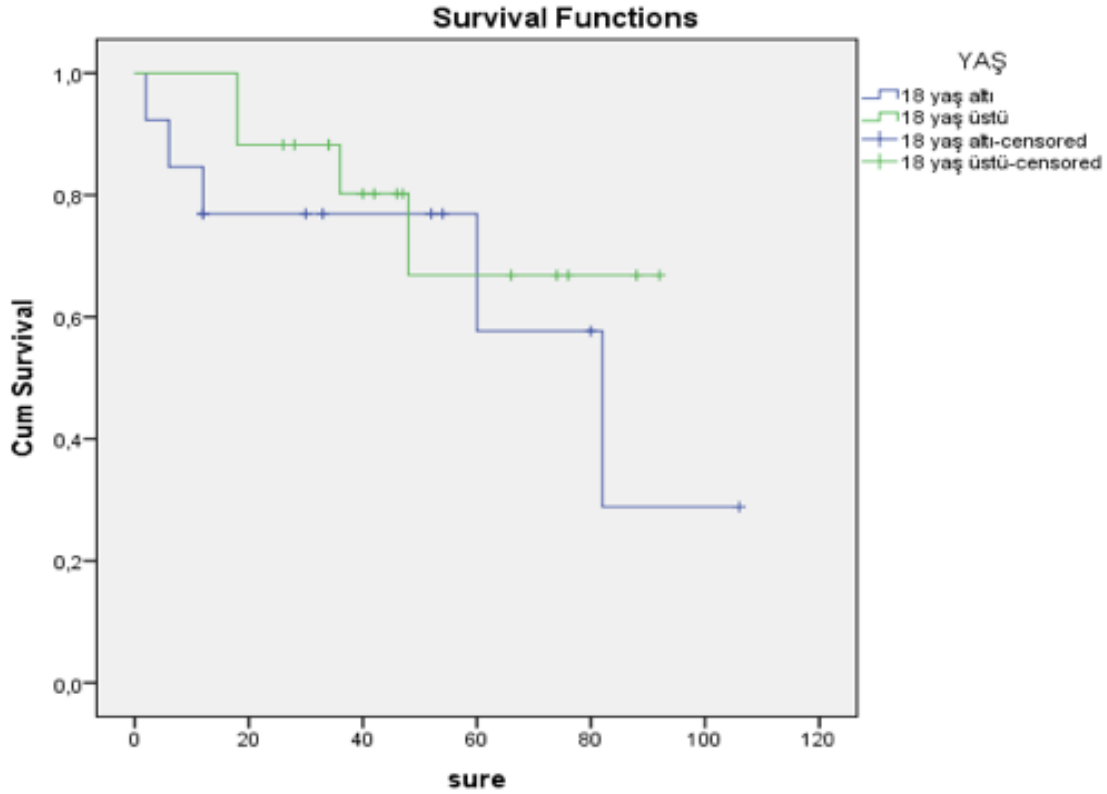


Grafik 8: Vakalarda cinsiyet ile sağkalım ilişkisi

ST + PF yerleşimli ependimom vakalarında 1-3 yaş için 1 yıllık sağkalım oranı %83, 5 yıllık sağkalım oranı %45'tir. 7-8 yaş aralığındaki vaka grubu için takip bilgilerine ulaşılan hastalar içinde en uzun takip süresi 30 aydır (1 yıllık sağkalım oranı %100). 11-17 yaş grubu için 1 yıllık ve 5 yıllık sağkalım oranı %67'dir. 19-64 yaş aralığındaki vaka grubu için ise 1 yıllık sağkalım oranı %100, 5 yıllık sağkalım oranı %67'dir (Grafik 9). Yaş grupları arasında klinik açıdan en kötü gidiş gösteren grubun 1-3 yaş grubu olduğu izlenmiştir; ancak bu yaş grupları ile sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (log rank= 2,753, p= 0,431). Yaş gruplarını 1-18 yaş ve 19-64 yaş olarak ikiye ayırdığımızda ise yaş grupları için sırasıyla 1 yıllık sağkalım oranları %79 ve %100, 5 yıllık sağkalım oranları ise %50 ve %75 olarak hesaplanmıştır (Grafik 10). 18 yaş altı grupta 1 yıllık ve 5 yıllık sağkalım oranları, 18 yaş üstü gruba oranla daha düşüktür. Ancak yaş grupları ile sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (log rank= 0,826, p= 0,364).



Grafik 9: Vakalarda yaş grupları ile sağkalım ilişkisi



Grafik 10: 18 yaş altı ve 18 yaş üstü gruplarda yaş ile sağkalım ilişkisi

ST yerleşimli ependimom olgularından takip ve tedavi bilgilerine ulaşılabilen 19 hastanın 3'ü adjuvan tedavi olarak sadece RT, 11'i KT + RT almıştır. Cerrahiden sonra ek tedavi almayan 5 hastanın 3'ü derece I SE, 1'i derece II KE, 1'i derece III AE tanılı olup 5'i de düzenli olarak takip edilmektedir. Adjuvan tedavi olarak sadece RT alan 3 hastanın 2'si (%67) eks olmuştur; 1'i (%33) 3 yıldır düzenli takip edilmektedir. Eks olan hastaların ikisi de derece III AE vakası olup biri ilk 1 yıl içinde, diğeri ilk 5 yıl içinde kaybedilmiştir. Hayatta olup düzenli takip edilen hasta papiller varyant derece II KE tanılıdır. KT + RT alan 11 hastanın 4'ü (%36) eks olmuş; 7'si (%64) düzenli takip edilmektedir. Eks olan hastaların ikisi berrak hücreli varyant derece III AE tanılı, diğeri ikisi derece II KE tanılı olup biri ilk 1 yıl içinde, diğeri üçü ilk 5 yıl içinde kaybedilmiştir. Hayatta olup düzenli takip edilen 7 vakanın 6'sı derece III AE, 1'i derece II KE'dir.

PF yerleşimli ependimom olgularından takip ve tedavi bilgilerine ulaşılabilen 11 hastanın 5'i adjuvan tedavi olarak sadece RT, 4'ü KT + RT almıştır. Cerrahiden sonra ek tedavi almayan 2 hasta da düzenli olarak takiplerine devam eden, nüksüz, derece II KE tanılıdır. Adjuvan tedavi olarak sadece RT alan 5 hastanın 1'i derece I SE, 1'i derece III AE, 3'ü derece II KE tanılı olup hepsi hayattadır; takiplerine devam edilmektedir. KT + RT alan 4 hastanın 2'si

(%50) eks olmuştur. Eks olan vakalar derece II KE vakaları olup biri ilk 1 yıl içinde, diğeri ilk 5 yıl içinde kaybedilmiştir. Hayatta olan diğeri 2 vaka ise derece III AE tanılıdır; biri düzenli takiplerine devam etmektedir, diğeri ise takip dışıdır.



5. TARTIŞMA

Ependimomların SSST içindeki görülme sıklığı %6,8'dir. 3 yaşın altındaki çocuklar için bu oran %30'a çıkmaktadır (1). Bölümümüzün kayıt sisteminden 2011 - 2017 yılları arasında tanı almış difüz astrositik ve oligodendrogliyal tümörler (DA/AA, OD/AOD, GBM, DOHG, OA), diğer astrositik tümörler (PA, PMA, SEGA, PXA) ve ependimal tümörler taranmış ve tüm SSST'nin tanılarını kapsamasına bile kabaca bir oran verilmek istenmiştir. Bu yıllar için bölümümüzdeki ependimomların bu tümörlere oranı %7-17 arasında değişmekte olup ortalama %11'dir. Bulduğumuz oran, literatürde verileden yüksektir. Çünkü oran verirken, bölümümüzde tanı alan glial dışı SSST dahil edilmemiştir. Bu tümörlerin de dahil edildiği takdirde oranların, literatürdeki oranlarla benzer çıkacağı düşünülmüştür.

20. yüzyılın başlarında ilk kez Bailey ve Cushing tarafından oluşturulan SSST'nin histopatolojik sınıflaması 21. yüzyılın başına kadar geçerli olduysa da, 21. yüzyılın başından itibaren genetik ve moleküler çalışmaların ivme kazanması ile bu sınıflamanın yetersiz kaldığı ve güncellenmesi gerektiği anlaşılmıştır. Moleküler ve genetik çalışma sonuçlarının SSST sınıflamasına kazandırılarak entegre bir tanının verilmesi hem patologlar arası tanı uyumsuzluğunu azaltacak, hem de bunlara uygun tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ön ayak olacaktır. Ayrıca, bazı genetik ve moleküler değişikliklerin prognostik değeri olduğu da gösterilmiştir. 2016'da yayınlanan DSÖ'nün son sınıflamasında başta difüz glial tümörler olmak üzere birçok tümör grubunda tanıyla ilgili revizyonlara gidilmiştir (1,2).

Ependimomlar için 2000'li yılların başından itibaren birçok genetik ve moleküler çalışma yapılmıştır. 2006'da Mendrzyk ve ark. intrakranyal ependimomlarda 1q kazanımı ile rekürrens arasındaki ilişkiden bahsetmişler, EGFR ekspresyon artışını da kötü prognostik belirteç olarak değerlendirmişlerdir (61). 2010'da Korshunov ve ark. da 1q kazanımına ek olarak CDKN2A'nın homozigot delesyonunun kötü prognostik belirteç olduğundan bahsetmişler, kromozom 9, 18, 15q kazanımı ve 6 kaybının iyi prognoz göstergesi olduğuna değinmişlerdir (62). Witt ve ark. 2011'de PF yerleşimli ependimomları incelemişler, PF-EPN-A'nın 1q kazanımı gösterdiğini ve daha dengeli genomik yapıya sahip olduğunu, ancak klinik açıdan çok daha kötü gittiğini, PF-EPN-B'nin ise çok fazla sayıda sitogenetik anomali içeren daha heterojen bir grubu temsil ettiğini göstermişlerdir (63).

Yao ve ark.'ın 2011'de yayınlanan makalesinde, o güne kadar yayınlanan, ependimomların yapısını çözmeye yönelik çalışmalar özetlenmiş ve bu tümörlerin heterojenliği anlaşılmağa başlanmıştır (134). Bu makalede ependimomların Li-Fraumeni sendromu ya da

Turcot sendromu gibi ailesel sendromlarla ilişkili olabileceği, SP endimomların ise 22q delesyonuna eşlik eden Nörofibromatozis tip 2 ile birlikte görülebileceği belirtilmiştir. Ependimomlarda görülen sitogenetik değişikliklere de değinilmiş; özellikle çocukluk çağı tümörlerinde sıklıkla 1p, 2, 3, 6/6q, 9p, 13q, 17 ve 22 kaybı ile 1q, 5, 7, 8, 9, 11, 18 ve 20 kazanımı saptandığı açıklanmıştır (113,134). Moleküler ve genetik değişiklikler alt başlığında, Mendrzyk ve ark.'ın (61) yayınında söz edilen 1q kazanımı ve EGFR ekspresyon artışına değinilmiş, Korshunov ve ark.'ın altını çizdiği CDKN2A'nın delesyonunun prognoza etkilerinden bahsedilmiştir (134). Ayrıca, 2018'de Almeida Magalhaes ve ark.'ın (83) da üzerinde durduğu NOTCH1, NOTCH4 ve JAG1 gibi Notch sinyal yolağındaki reseptör ve ligandlarının özellikle ST yerleşimli endimom tümörgenezindeki rolüne dikkat çekilmiştir (134). 2019'da Gessi ve ark.'ın (79) çalışmasında da yer alan hTERT ekspresyonunun endimomlarda tümör progresyonu ve rekürrensini olumsuz yönde etkilediği görüşü desteklenmiştir (134). Tesadüfen saptanan SV40 virüsü ile endimom ilişkisi irdelenmiş ve bu virüsün, NOTCH1 ekspresyon artışını tetikleyerek onkogenik transformasyonu indüklediği vurgulanmıştır (134,135).

2005'te Taylor ve ark. endimom tümör grubunun kaynaklandığını düşündükleri radial glial hücrelerin özelliklerini araştırırken, ST, PF ve SP endimomların birbirlerinden farklı genetik özellikler taşıdığını göstermişlerdir (118). Johnson ve ark. da 2010'da yayınladıkları, 204 tümör örneğinde kopya sayı değişikliklerini belirledikleri yayınlarında endimomların ST, PF ve SP olmak üzere farklı özellikler taşıyan 3 grup olduğu bilgisine katkıda bulunmuşlardır (115). Yao ve ark. da bu 2 çalışmadan bahsetmiş ve intrakranyal endimomların daha çok çocukluk çağında görüldüğünü, 1q kazanımı, 6q kaybı, CDKN2A delesyonu, NOTCH ve EPHB-EPHRIN sinyal yolak aktivasyonunun eşlik ettiğini ve kötü prognoz gösterdiklerini; SP endimomların ise erişkinlerde görüldüğünü, bunlara kromozom 7 kazanımı, 22/22q kaybı, NF2 mutasyonu ve HOX ailesi transkripsiyon faktörlerinin eşlik ettiğini ve bu grubun iyi prognoz gösterdiğini eklemişlerdir (134).

Bu tarihten itibaren endimomlarla ilgili yapılan çalışmalarda tümörler yerleşim yerlerine göre ST, PF ve SP olmak üzere 3 gruba ayrılarak incelenmişlerdir. 2013'te Raghunathan ve ark. her bir grup için, sağkalıma etki ettiği düşünülen mitoz artışı, MVP, nekroz gibi histomorfolojik faktörleri araştırmışlar, her 3 grup için tek ortak etkeni MVP olarak tanımlamışlardır (64). 2014 yılında Pietsch ve ark. (15) ile Parker ve ark. (13) az sayıdaki ST yerleşimli endimom vaka serilerinde 11. kromozom üzerinde yer alan C11orf95-RELA füzyonunu tanımlamışlardır. 2015 yılında Pajtler ve ark. ST, PF ve SP yerleşimli 500

ependimomdan oluşan geniş vaka serisinde yaptıkları genetik ve moleküler incelemeler sonucunda, her bir lokalizasyon için 3'er alt grup oluşturmuşlardır (9). Bunlar, her 3 grup için sırasıyla; ST-SE, ST-EPN-RELA, ST-EPN-YAP1, PF-SE, PF-EPN-A, PF-EPN-B, SP-SE, SP-MPE ve SP-EPN'dir (9). Pajtler ayrıca her alt grup için yaş ve cinsiyet dağılımı, histomorfoloji ve sağkalım gibi özelliklere de değinmiş; en kötü prognoza sahip 2 grubun PF-EPN-A ve ST-EPN-RELA olduğunu belirtmiştir (9). Bu tarihten itibaren Malgulwar ve ark. (69), Fukuoka ve ark. (78), Gessi ve ark. (79), Lillard ve ark. (16), Sasaki ve ark. (14), Matsumoto ve ark. (17), Pagès ve ark. (18) da ST yerleşimli endimomlarda C11orf95-RELA füzyon varlığını araştırmış, pozitif vakaların klinik, demografik, histomorfolojik özellikleri üzerinde durmuşlar ve sağkalım analizi yapmışlardır. Daha önceki çalışmaların aksine, Lillard ve ark. pediatrik endimomları kapsayan çalışmalarında, ST-EPN-RELA grubu hastaların sağkalımlarını diğer ST yerleşimli endimomlardan daha yüksek bulmuşlardır (16). Matsumoto ve ark. ise kortikal yerleşimli endimomların, RELA füzyon pozitifliği gösterse bile, ST yerleşimli endimomlara göre daha iyi klinik gidiş gösterdiğini ifade etmişlerdir (17). Yapılan tüm bu araştırmalar sonucunda ortaya çıkmış 9 anatomik, moleküler ve genetik alt gruptan sadece biri 2016 DSÖ SSST sınıflamasında ayrı bir varyant olarak yer almıştır: RELA füzyon pozitif endimom.

2016 DSÖ SSST sınıflamasına göz attığımızda difüz glial tümörler grubuna, moleküler ve genetik değişikliklerin adapte edilebildiğini görmekteyiz. Ancak, 2000'li yılların başından itibaren yapılan, yukarıda sıraladığımız birçok çalışmaya rağmen endimal tümörler için diagnostik, prognostik ve prediktif açılardan tatmin edici bir sınıflama henüz kabul görmemiştir. Bunun nedenlerinden biri, endimal tümör insidansının, difüz glial tümörlere oranla çok daha az olmasından dolayı, yapılan çalışmaların kısıtlı sayıda vaka grubu içermesidir. Bir diğer neden de, endimomların heterojenliği ve bünyesinde barındırdığı çok çeşitli genetik ve moleküler değişiklik olabilir. Bu genetik ve moleküler çeşitlilikten hangilerinin diagnostik, prognostik ve prediktif açıdan anlamlı olduğunu saptayabilmek zor ve zahmetlidir. Bu sınıflamaya dahil edilen RELA füzyon pozitif endimom grubunun da prognostik açıdan sınıflamaya katkısı tartışmalıdır.

Çalışmamızda, 2011 - 2019 yılları arasında, İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı'nda tanı almış, ST ve PF yerleşimli derece I, II ve III endimomlarda FISH ile RELA füzyon pozitifliği araştırılmıştır. Yine bu vakalara immünohistokimyasal olarak L1CAM çalışılmış ve RELA füzyon pozitifliği ile uyumuna bakılmıştır. Yaş, cinsiyet, morfoloji, histolojik derece, tanı ile RELA füzyon pozitifliği arasında

korelasyon olup olmadığı istatistiksel olarak hesaplanmıştır. RELA füzyon pozitifliği, yaş, cinsiyet, tümörün yerleştiği bölge (ST, PF), histolojik derece ve bölgelere göre verilen entegre tanılarının sağkalım oranları gözden geçirilmiştir.

Delgado-López ve ark. ependimomların diğer glial tümörlere kıyasla daha nadir görülmesi nedeniyle, çalışmaların tek bir merkeze ait vakalar ile yapılmasından ziyade birkaç merkezden vaka toplanarak yapılmasının daha anlamlı olacağını savunmuşlardır (81). Bizim çalışmamız 2011 - 2019 yılları arasındaki geniş bir dönemi kapsamakta olsa dahi, 24 ST ve 15 PF olmak üzere 39 vaka serisinden oluşmaktaydı. Örnek literatürlerdeki ST yerleşimli vaka sayılarına baktığımızda da görüyoruz ki; Pietsch ve ark. (15) 19 vaka, Parker ve ark. (13) 21 vaka, Malgulwar ve ark. (69) 47 vaka, Fukuoka ve ark. (78) 38 vaka, Gessi ve ark. (79) 42 vaka, Sasaki ve ark. (14) 29 vaka, Pagès ve ark. (18) 34 vaka, Matsumoto ve ark. (17) 8 kortikal vaka üzerinden çalışmalarını sonuçlandırmış ve yayınlamışlardır. Bu çalışmalarda da görüldüğü üzere, ST yerleşimli vaka sayıları 8 ile 47 arasında (ortalama: 30 vaka) değişmektedir. Çalışmamızdaki ST yerleşimli vaka sayısı bu aralıktadır. Bu nedenle çalışmamızın sonuçlarının değerlendirilebilir olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamıza 2011 öncesi vakaları dahil etmedik. Arşivde bekleme süresi 10 yılı aşan vakalarda FISH çalışmasının başarısız olacağını öngördük. Tekrarlanan FISH çalışmalarına rağmen, 24 ST ependimom vakasının 7'sinde (%29), 15 PF yerleşimli ependimom vakasının 6'sında (%40) sinyal elde edemedik. Sinyal elde edilemeyen toplam 13 vakadan 2'si 2011, 2'si 2012, 1'i 2014, 2'si 2015, 4'ü 2016 ve 2'si 2017 yılında tanı almıştır. Daha yakın tarihte tanı almış olgular için, sinyal elde edilememesinin nedeninin, dokunun kendisine ait tespit sorunu olduğunu düşündük.

DSÖ 2016 SSST sınıflamasına göre RELA füzyon pozitifliği, özellikle pediatrik çağda, ST yerleşimli derece II ve III ependimomların %70'inde görülmektedir (1). Parker ve ark. 21 ST ependimom vakasında RELA füzyon pozitiflik oranını %67 bulmuşlardır (13). Malgulwar ve ark. (69) 47 ST ependimom vakası ile yaptıkları çalışmada bu oranı %57,1, Pietsch ve ark. (15) 19 ST ependimom vakasında %74, Fukuoka ve ark. (78) 29 ST ependimom vakasında %69, Gessi ve ark. (79) 42 ST ependimom vakasında %40, Sasaki ve ark. (14) 29 ST ependimom vakasında %66, Pagès ve ark. (18) 34 ST ependimom vakasında %71 olarak saptamışlardır. Benzer çalışmalarda görüldüğü üzere ST ependimom vakaları içinde RELA füzyon pozitiflik oranı değişkenlik (%40-%74) göstermektedir. Biz de çalışmamızda, sinyal elde edebildiğimiz 13 vaka için bu oranı %54 olarak bulduk. Bulduğumuz oran, literatürde benzer sayıda oranlar içeren vakalar ile paralellik göstermekteydi.

Lillard ve ark. ise pediatrik çağda tanı almış 73 ST yerleşimli endimom vakasının 51'inde FISH ile RELA füzyonu araştırıp, 34'ünde RELA füzyonu, 8'inde C11orf95 yeniden düzenlenmesi saptamışlar, pediatrik çağ için RELA füzyon pozitiflik oranını %67 olarak belirlemişlerdir (16). Bizim çalışmamızda, pediatrik çağdaki ST yerleşimli olgularda ise RELA füzyon pozitiflik oranı %42 idi.

Çalışmamızda PF yerleşimli, sinyal elde edilebilen 10 olgunun hiçbirinde RELA füzyon pozitifliği görülmemiştir. Literatürde de benzer şekilde Parker ve ark. (13) 64 PF yerleşimli endimom vakalarının hiçbirinde, Malgulwar ve ark. (69) 23 PF yerleşimli endimom vakalarının hiçbirinde RELA füzyon pozitifliği saptamamışlardır.

4 adet ST yerleşimli derece I SE vakamızın hiçbirinde RELA füzyon pozitifliğine rastlamadık. DSÖ 2016 sınıflamasına göre RELA füzyon pozitifliği, ST yerleşimli derece II ve III endimomlarda bildirilmiştir; derece I vakalarda füzyon pozitifliği bildirilmemiştir (1). Benzer şekilde Malgulwar ve ark. 6 SE ve 4 MPE'den oluşan 10 adet derece I endimomda RELA füzyon pozitifliği saptamamışlardır (69). PF yerleşimli endimom vakalarımızda ve ST yerleşimli derece I SE vakalarımızda RELA füzyon pozitifliği bulunmaması, literatür bilgileriyle uyumludur.

7 adet ST-EPN-RELA vakamızın tamamı derece III AE tanılıdır. Geriye kalan 7 adet ST yerleşimli, derece III AE tanılı vakamızın 5'i RELA füzyonu göstermezken, 2'sinde sinyal elde edilememiştir. 6 adet ST yerleşimli, derece II KE vakasının sadece 1'inde sinyal elde edilebilmiş ve füzyon pozitifliği izlenmemiştir. Bu nedenle, histolojik derece/tanı ile RELA füzyon pozitifliği arasındaki ilişki, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak, bizim çalışmamıza paralel olarak Sasaki ve ark. 29 ST yerleşimli endimom vakası ile yaptıkları çalışmada saptadıkları 19 RELA füzyon pozitif vakanın tamamının derece III AE vakası olduğunu bildirmiştir (14). Fukuoka ve ark.'ın 29 ST yerleşimli endimom içinde füzyon pozitifliği saptadığı 20 vakanın da tamamı derece III AE'dir (78). Gessi ve ark.'ın çalışmasında 17 ST-EPN-RELA vakasının 16'sı (%94) derece III AE, 1'i (%6) derece II KE'dir (79). Malgulwar ve ark.'ın çalışmasında ST-EPN-RELA vakalarının %81,5'i derece III AE tanılıdır (69). Dolayısıyla, çalışmamızla birlikte literatürdeki örneklerle baktığımızda, ST-EPN-RELA grubu vakalarında derece III AE tanılı olguların baskınlığı dikkati çekmekte, derece II KE vakalarında RELA füzyon pozitifliği daha az görülmektedir.

Parker ve ark.'ın (13) 2014'teki yayınından itibaren günümüze kadar, ST yerleşimli endimom vakalarında, RELA genini içeren 8 farklı füzyon tipi (tip 1 - tip 7 ve varyant tip) tanımlanmıştır. C11orf95 ile RELA genlerine ait farklı ekzon bölgelerinin füzyonlarıyla

karakterize olan bu tiplerden ilk 7'si Parker ve ark. tarafından tanımlanmış olup sırasıyla şu şekildedir: C11orf95 ekzon 2 ile RELA ekzon 2'nin füzyonundan oluşan tip 1, C11orf95 ekzon 3 ile RELA ekzon 2'nin füzyonundan oluşan tip 2, C11orf95 ekzon 3 ile RELA ekzon 3'ün füzyonundan oluşan tip 3, C11orf95 ekzon 2 ile RELA ekzon 3'ün füzyonundan oluşan tip 4, C11orf95 ekzon 4 ile RELA ekzon 1'in füzyonundan oluşan tip 5, C11orf95 ekzon 4 ile RELA ekzon intron 1-2'nin füzyonundan oluşan tip 6 ve RELA ekzon 1 ile RELA ekzon 3'ün füzyonundan oluşan tip 7 (13). Gessi ve ark. tip 1 ve tip 7 özelliğindeki olgulara katkıda bulunmuş, C11orf95 ekzon 4 ile RELA intron 3 arasındaki füzyonun görüldüğü vakalarıyla da 8. tip olan 'varyant tip'i tanımlamışlardır (79). De Sousa ve ark. RELA füzyon pozitifliği gösteren derece II KE olgusunda 9. bir varyant tanımlamış ve daha önce tanımlanmış diğer füzyon tiplerinden bahsettikleri bir literatür derlemesi yayınlamışlardır (136). Bu yayınlarında bahsettikleri yeni varyantta, C11orf95 ile RELA geni arasında LOC105369347 kodlu ek bir bölge saptanmış, füzyon tipine C11orf95-LOC-RELA adı verilmiştir (136). RELA füzyon tiplerini saptayabilmek için RT-PCR tekniğinin kullanılması gerekmektedir. Break-apart dizaynındaki FISH problemleri ile bu tipleri saptamak mümkün olmadığından, RELA füzyon pozitif vaka grubumuzu oluşturan tipleri saptayamadık. Füzyon dizaynındaki problemler ile bu tipler saptanmaya çalışıldığı takdirde, her bir tip için farklı prob geliştirilmesi gerekecektir. Ancak break-apart dizaynındaki FISH problemleri, tüm bu füzyon tiplerini kapsadığı için uygulanması hem daha ekonomik, hem de daha kolaydır.

KE ve AE'lerin, 3 farklı histopatolojik varyantı mevcuttur: papiller endimom, berrak hücreli endimom ve tanisitik endimom (1). Berrak hücreli endimomların daha çok ST bölge endimomlarında görüldüğü ve olumsuz prognostik değer taşıdığı bildirilmektedir (1). Bizim çalışmamızda, ST + PF yerleşimli 39 vaka içinde 14 vakada (%36) berrak hücre morfolojisi saptanmıştır. Bunların 10'u (%71) ST bölgede, 4'ü (%29) PF bölgesinde yerleşim göstermektedir. ST yerleşimli 10 berrak hücre morfolojisi gösteren vakanın 7'si (%70) derece III AE, 3'ü (%30) derece II KE tanıydı. PF yerleşimli 4 berrak hücre morfolojisi gösteren vakanın 2'si (%50) derece III AE, 2'si (%50) derece II KE tanıydı. Literatürle uyumlu olarak berrak hücreli varyant endimomlarımızın çoğunluğu ST yerleşimliydi.

7 ST-EPN-RELA vaka grubumuzun 1'i spesifik morfoloji sergilemezken, diğer 6'sı (%86) berrak hücreliydi. Berrak hücre morfolojisi ile RELA füzyon pozitifliği arasında istatistiksel olarak pozitif yönde bir korelasyon mevcuttu ($p=0,029$). Parker ve ark. da benzer şekilde C11orf95-RELA translokasyonlu tüm vakalarında berrak hücre morfolojisini gözlemlemişlerdir (13). Pietsch ve ark. (15) RELA füzyon pozitif vakalarının bazılarında,

Sasaki ve ark. (14) 19 RELA füzyon pozitif vakanın 14'ünde (%74), Malgulwar ve ark. (69) %70,3'ünde berrak hücre morfolojisini saptamışlardır. Gessi ve ark. özellikle pediatrik grupta berrak hücreli değişiklik gösteren vakalarda RELA füzyon pozitifliğine dikkat çekmişlerdir (79). Neumann ve ark., ST yerleşimli 6 adet berrak hücreli ependimom vakalarının tamamının RELA füzyon pozitifliği ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (84). RELA füzyon pozitifliği gösteren olgularımızın büyük çoğunluğunun berrak hücreli morfolojiye sahip olması hem istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,029$), hem de literatür bilgileriyle uyumludur.

RELA füzyon pozitif vakalarımızın yaş aralığı 1 ile 57 arasında değişmekte olup ortalama değer 8, ortalama değer 17,9 olarak hesaplanmıştır. Olgularımızın %71'i pediatrik ve adolesan çağda olup, %29'u erişkindir. Literatürde, bulgularımıza uygun şekilde RELA füzyon pozitifliğinin çoğunlukla infantlarda ve çocuklarda olmak üzere, erişkinlerde de görülebildiği bildirilmiştir (77). Benzer çalışmalara göz attığımızda; Malgulwar ve ark.'ın vakalarının yaş ortalaması 9 olup hastaların %81,4'ü pediatrik çağda, %18,5'i erişkindir (69). Sasaki ve ark.'ın çalışmasında yaş aralığı 1 ile 64 arasında olup, erişkin popülasyon oranı %44, ortalama yaş ise 13'tür (14). Vakalarımız için yaş grupları (18'den küçük ve 18'den büyük olmak üzere) ile RELA füzyon pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu bulgu literatürdeki, RELA füzyon pozitifliğinin hem çocukluk çağında hem de erişkin dönemde görülebilmesi bilgisiyle uyumludur.

Çalışmamızda RELA füzyon pozitif olguların %86'sı erkek, %14'ü kadındır. RELA füzyon pozitifliği ile erkek cinsiyet arasında istatistiksel olarak pozitif yönde, güçlü bir ilişki saptanmıştır ($p=0,015$). Pajtler ve ark.'ın yaptığı 500 vakalık çalışmada da, bizim bulgularımıza paralel olarak, 88 ST-EPN-RELA vakasının çoğunu erkek hastalar oluşturmaktaydı (137). Gerstner ve ark.'ın yayınladığı makalede de ST-EPN-RELA vakalarında erkek cinsiyet baskınlığından söz edilmiştir (77). Çalışmamızdaki ST-EPN-RELA vaka grubundaki erkek cinsiyet baskınlığı, literatür bilgileriyle uyumludur. Ancak benzer çalışmalardan birinde farklı bir bulgu mevcuttur; Pietsch ve ark. literatürdekinin ve bizim bulgularımızın aksine, RELA füzyon pozitif 14 adet olgunun tamamının kadın olduğunu belirtmişlerdir (15).

RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarımızın 2'si frontal lobda, diğerleri ST bölgede farklı lokalizasyonlarda yerleşim göstermektedir. Nükslerle giden ve tüm nüks materyallerinde RELA füzyon pozitifliği saptanan vakamızda (vaka no 16) da son nüks materyali frontal lob lokalizasyonludur. Benzer şekilde Sasaki ve ark. füzyon pozitif olgularının çoğunun frontal lob yerleşimli olduğunu belirtmişlerdir (14). Matsumoto ve ark. 8 kortikal ependimom vakalarının

4'ünün frontal lob yerleşimli olduğunu, frontal lob yerleşimli vakaların 1'inde RELA füzyon pozitifliği saptadıklarını belirtmişler, farklı merkezlerde tanı almış 84 kortikal ependimom için de en sık lokalizasyonun frontal lob olduğunu eklemiştir (17).

RELA füzyon pozitifliğini saptamanın en kolay ve kesin yolu, break-apart probu ile FISH çalışmasıdır (1). Çalışmamızda FISH pozitif vakaların tamamında L1CAM immüpozitifliği saptanmış, FISH negatif vakaların tamamında da L1CAM, negatif olarak izlenmiştir. Bunun dışında, L1CAM ile immüpozitiflik gösteren 2 vakanın FISH çalışması sonucunda sinyal elde edilememiştir. Böylece, FISH ve immünohistokimya sonuçları arasında, istatistiksel olarak pozitif yönde, çok güçlü bir korelasyon saptanmış ($p= 0,001$); immünohistokimyasal olarak L1CAM'ın hem duyarlılığı hem de özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Sasaki ve ark.'ın RELA füzyon pozitif vakalarının tümü L1CAM ile pozitiflik göstermiş ve dolayısıyla L1CAM için duyarlılığı %100 bulmuşlar, ancak özgüllüğü %95 hesaplamışlardır (14). Malgulwar ve ark. füzyon pozitif vakalarının %79'unda, L1CAM pozitifliği gözlemlemişlerdir (69). Gessi ve ark. ise L1CAM için duyarlılığı %94, özgüllüğü %76 olarak açıklamışlardır (79). Matsumoto ve ark.'ın 5 RELA füzyon pozitif kortikal ependimom vakalarının 4'ünde L1CAM ekspresyonu saptanmıştır (17). Bu nedenle, FISH çalışması olmaksızın, sadece immünohistokimyasal L1CAM pozitifliği ile RELA füzyon pozitif ependimom tanısı vermek riskli olabilir. Ancak, FISH çalışma olanağı olmayan merkezler için immünohistokimya ile yaklaşım yapılabilir; L1CAM ile pozitiflik saptanan ST ependimomlar için RELA füzyon pozitifliği açısından FISH ile tanıyı doğrulayabilecek bir merkeze yönlendirilebilir.

Çalışmamızda; FISH sonuçları ile immünohistokimyasal L1CAM arasındaki korelasyon literatür bilgileriyle örtüşmektedir. Hatta, L1CAM için belirttiğimiz duyarlılık ve özgüllük oranları, literatürdeki birçok çalışmaya göre çok daha yüksektir. Yukarıda bahsettiğimiz 4 çalışmada RELA füzyon pozitifliğine, break-apart probu kullanarak FISH tekniğiyle bakan tek çalışma Sasaki ve ark.'ın (14) çalışmasıdır ve kullandıkları L1CAM antikoru, bizim çalışmamızdakiyle aynı klonu sahiptir. Çalışmamızda, L1CAM için belirlediğimiz duyarlılık ve özgüllüğe en yakın oranların bu çalışmaya ait olmasında bu durumun payı olabileceğini düşündük. Diğer 3 çalışmada RELA füzyon pozitifliğini belirlemek için PCR tekniği kullanılmıştır (17,69,79). Gessi ve ark. (79) bizim çalışmamızdakiyle aynı klonu sahip L1CAM antikoru kullanmışlar, Matsumoto ve ark. (17) ise farklı bir klonu tercih etmişlerdir. Sonuçlarımız arasındaki farklılıklarda, RELA füzyon genine bakılan tekniğin ve L1CAM antikorusunun klonunun değişmesinin etkisi olabileceğini düşündük.

RELA füzyon pozitifliği; 11. kromozomda, aynı gen loküsünde (11q13.1) bulunan, NF-κB yolağının aktivasyonundan sorumlu RELA geni ile işlevi bilinmeyen C11orf95 geninin translokasyonu ile karakterizedir. FISH ile füzyon pozitifliği değerlendirilirken, kromozomlardan birinde normal patern (sarı renk, break-apart yok) izlenirken, diğerinde RELA genini temsil eden yeşil ve turuncu sinyaller birbirinden ayrılmıştır (break-apart mevcut). Break-apart paterni değerlendirilirken, birbirinden ayrı duran yeşil ve turuncu sinyaller arasındaki uzaklığın, bir sinyalin en az 2 katı büyüklüğünde olması beklenmektedir. Çalışmamızda, break-apart paterninin izlendiği pozitif vakalarda bu uzaklık karşılanmışken, ek olarak her iki sinyalin birbirinden ayrı durduğu, ancak uzaklığın 2 sinyal büyüklüğünden daha az ölçüldüğü durumlar dikkati çekmiştir (yakın break-apart). Değerlendirme yapılırken, yakın break-apart paternleri de sayıma dahil edilmelidir. Çünkü hem C11orf95, hem de RELA geni, aynı kromozom üzerinde bulunmaktadır. Bu nedenle, bu bölgede kırılma meydana geldiği takdirde, FISH değerlendirmesinde bazı kesitlerde birbirinden ayrı haldeki yeşil ve turuncu sinyallerin daha yakın görülmesi muhtemeldir. Benzer çalışmalarda, farklı ticari problemler kullanılmışsa da, hepsi break-apart dizaynındaki problemlerdir (13,14,18,78,133). Literatürde, FISH değerlendirmesi için, yeşil ve turuncu sinyallerin birbirinden ayrı durmasının pozitiflik anlamına geldiği ifade edildiyse de belirli bir uzaklık tariflenmemiştir (1,13,14,18,78,133). Bizim çalışmamızdakine benzer bir paternden bahseden bir çalışmaya da literatürlerde rastlanmamıştır.

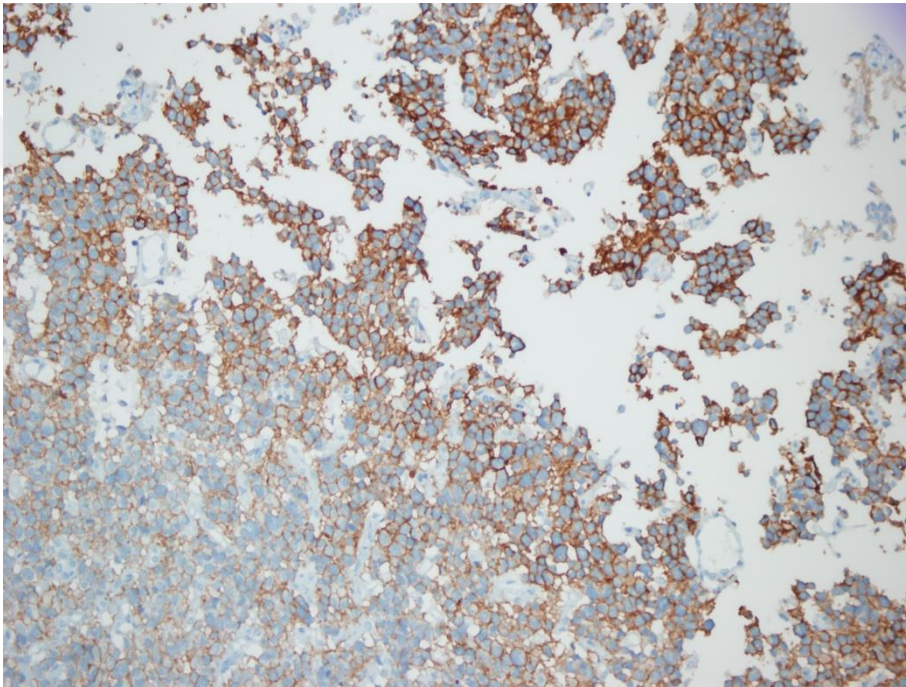
RELA füzyon pozitif 7 vakamızın 3'ünde, sadece gerçek break-apart paterniyle yapılan değerlendirmede oran, eşik değer olarak belirlenen %15'in altında kalmaktaydı; buna eklenen yakın break-apart ile birlikte oran %15'i aşmaktaydı. Her 3 vaka da L1CAM ile yaygın ve kuvvetli pozitiflik göstermekteydi. Bu nedenle vakalar RELA füzyon pozitif olarak kabul edildi. L1CAM ile FISH sonuçlarımız arasındaki güçlü korelasyonun buna bağlı olabileceği düşünüldü.

Parker ve ark. ST-EPN-RELA grubunda, 11. kromozomda, C11orf95-RELA translokasyonu dışında, kromotripsise bağlı olarak birçok farklı genetik değişikliğin de açığa çıktığını göstermişlerdir. Özellikle de ST-EPN-RELA grubu vakalarının %43'ünde dramatik şekilde gen kopya sayısı değişikliği gözlemlediklerini; ancak diğer 8 moleküler alt grupta bu değişikliklere rastlamadıklarını ifade etmişlerdir (13). Bizim çalışmamızda, FISH tekniği ile sinyal alınabilen 26 vakanın 7'sinde gen kopya sayısı artışı izlenmiştir. Ancak Parker ve ark.'ın bulduklarının aksine bu 7 vakadan sadece 1'i (%14) ST-EPN-RELA vakasıydı; 2'si (%29) RELA füzyon negatif ST-EPN, 4'ü (%57) PF yerleşimli derece II KE tanımlı vakalardı.

Çalışmamızda, RELA füzyon pozitif vakalar içinde gen kopya sayısı artışı görülme oranı %14 olarak hesaplandı. Witt ve ark. PF-EPN-B grubunda, PF-EPN-A grubuna oranla çok daha fazla gen kopya sayı değişikliği, kromozom kazanımı ya da kaybı görüldüğünü bildirmiştir. Ayrıca PF-EPN-B grubu hastaların daha çok ergenlik çağında ve erişkin yaştaki hastalar olduğunu, PF-EPN-A grubunu ise infantların ve küçük çocukların oluşturduğunu belirtmişlerdir. Ek olarak PF-EPN-A grubunun PF-EPN-B'ye oranla çok daha kötü klinik gidiş gösterdiğinden bahsetmişlerdir (63). Bizim PF yerleşimli gen kopya sayı artışı saptadığımız 4 adet derece II KE vakasının yaşları sırasıyla 54, 33, 22 ve 57'dir. Bu 4 hasta da hayattadır ve düzenli olarak takiplerine gitmektedir. PF yerleşimli ependimom vakalarımızı genetik özelliklerine göre gruplayabilecek düzeyde bir çalışma yapmamış olsak da bu 4 vakanın PF-EPN-B grubuna ait olabileceği yaklaşımını yapabiliriz. Literatürde bahsedilen kromozom kazanımı ya da kaybını, çalışmamızda kullandığımız prob dizaynı ile tam olarak saptamak mümkün değildir. Ancak, FISH çalışmamızda rastladığımız gen kopya sayı artışı, literatürü tam karşılama da, bunun küçük bir yansıması olabilir. C11orf95-RELA translokasyonuna eşlik eden veya etmeyen, 11. kromozomda açığa çıkan diğer farklı genetik değişiklikleri görmek ve tümör yerleşim bölgeleri/moleküler alt grupları ile oranlarını kıyaslayabilmek için, geniş vaka serilerinde genomik hibridizasyon ve PCR çalışması yapılması gerekmektedir.

ST yerleşimli, nükslerle giden 2 olgunun 1'inde, ilk tanı verilen biyopsiye ait parafin bloktan çalışılan FISH sonucunda sinyal elde edilememiştir. Ancak bu vakada difüz, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz L1CAM immünpozitifliği izlenmiştir. Bu vakanın nüksünde FISH ile sinyal elde edilmiş, sadece yakın break-apart izlenmiş ve oran, %15'in altında kalmıştır. İmmünohistokimyasal olarak L1CAM ile fokal alanlarda zayıf, sitoplazmik pozitiflik gözlemleniyse de, FISH sonucu negatif olduğu için bu materyal, negatif olarak değerlendirilmiştir. Vakanın 2. nüksüne ait parafin bloktan çalışılan FISH sonucunda sinyal elde edilmiş ve yeterli oranda break-apart saptanmış, vaka pozitif kabul edilmiştir. Paralel olarak L1CAM ile yaygın, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz pozitiflik göstermiştir. Tüm bu sonuçları kıyasladığımızda, rezeksiyonu oluşturan tümöral hücre popülasyonunun heterojen klonaliteye sahip olduğu görüşü akla gelmektedir. Literatürde buna benzer bir örneğe rastlanmamıştır. Ayrıca, FISH sonuçlarını sağlıklı değerlendirebilmek için dokunun uygun ve yeterli tespit ve takibinin ne kadar önemli olduğu anlaşılmaktadır. Diğer ST yerleşimli nükslerle giden vakamızın tüm biyopsilerinde FISH ile pozitiflik, L1CAM ile de yaygın ve kuvvetli pozitiflik izlenmiştir.

L1CAM ile immünpozitifliğin izlendiği vakalarda, tümör hücrelerinin neredeyse tamamında yaygın ve kuvvetli pozitiflik izlenmekteyken, bu vakaların 3'ünde, dokunun perifer kısmına ait, daha iyi fikse olmuş tümör hücrelerinden oluşan alanlarda göreceli olarak daha koyu boyanma dikkati çekmiştir (Resim 7). Buradan anlaşılmaktadır ki, immünohistokimyası değerlendirebilmek için de dokunun fiksasyonu ve takibinin düzgün bir şekilde yapılması önem kazanmaktadır. Ters durumlarda yanlış pozitiflik veya yanlış negatiflik görülme riski vardır. FISH çalışması için, alan işaretlemeyden önce, L1CAM antikoru ile daha kuvvetli boyanmış, daha iyi fikse olmuş alanlar seçilerek daha temiz bir FISH çalışması elde edilebilir ve böylece FISH çalışmasını tekrar etmeye gerek duyulmayabilir.



Resim 7: L1CAM x200, dokunun periferindeki (sağ üst köşe) daha iyi fikse olmuş alanda izlenen daha kuvvetli immünpozitiflik

Rastgele seçilen 1 AA, 1 OD ve 1 GBM vakasına çalışılan L1CAM antikoru ile GBM vakasında pozitiflik izlenmezken, AA ve OD vakalarında yer yer kuvvetli, yer yer zayıf sitoplazmik ve membranöz immünpozitiflik görülmüştür. Literatürde, immünohistokimyasal L1CAM pozitifliğinin ependimom dışında, AA, GBM, gliomatozis serebri gibi SSST'de de görülebileceğinden bahsedilmiştir (14). Bu nedenle L1CAM immünreaksiyonu ependimomlara özgü değildir. Histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak ependimom tanısı kesinleşmemiş bir olguda L1CAM antikoru, ependimom tanısını kesinleştirmek için kullanılamaz.

Pajtler ve ark.'ın tanımladığı 9 moleküler alt grup içinde ST-EPN-YAP-1 de yer almaktaydı (9). 2017 yılında Chiang ve Ellison RELA füzyon negatif endimomlarda MAMLD1-YAP1 füzyonu veya daha nadiren FAM118B-YAP1 füzyonu görülebileceğinden söz etmişlerdir (68). Malgulwar ve ark. 47 ST yerleşimli endimom vakalarının sadece 1'inde YAP1 füzyonu saptamışlardır (69). Bunu takip eden çalışmalarda, Fukuoka ve ark. (78) 29 ST endimom vakalarının 1'inde, Gessi ve ark. (79) 42 ST endimom vakalarının 1'inde, Sasaki ve ark. (14) da 43 ST endimom vakalarının 1'inde YAP1 füzyonu gözlemlemişlerdir. Görüldüğü üzere ST-EPN-YAP1 grubu, ST yerleşimli endimomlar içinde çok küçük bir dilimi temsil etmektedir. Pagès ve ark. da 34 ST yerleşimli endimom vakalarının 2'sinde YAP1 füzyonuna rastlamışlar ve immünohistokimyasal olarak uyguladıkları YAP1 antikoru ile hem RELA füzyon pozitif vakalarda, hem de YAP1 füzyon pozitif vakalarda ekspresyon görmüşlerdir (18). Vakalarımızı, YAP1 açısından sorgulama imkanımız olmadı.

ST-EPN-RELA olarak grupladığımız ve takip bilgilerine ulaşabildiğimiz 7 vaka için 1 yıllık sağkalım oranı %86, 5 yıllık sağkalım oranı %50'dir. RELA füzyon negatif olgularımızdan yalnızca 3'ünün takip bilgilerine ulaşılabilmiş, bunlardan 1'i 1 yıl önce tanı almış ve yaşamakta olan, diğer 2'si ise sırasıyla 1,5 ay ve 1,5 yıl içinde kaybedilen hastalardır (1 yıllık sağkalım %67). Literatürde ST yerleşimli derece II ve III endimomlar içinde RELA füzyon pozitifliği gösterenlerin daha agresif gittiği ve sağkalımlarının daha düşük olduğu (5 yıllık sağkalım %75, 10 yıllık sağkalım %49) belirtilmektedir (1,9,68–70,81). Ancak Lillard ve ark. 73 ST endimom vakası ile yaptıkları çalışmada, RELA füzyon pozitif vakalarının sağkalım oranlarını daha yüksek bulmuşlar; bunun vakalara uygulanan geniş (total/totale yakın) cerrahi rezeksiyona bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir (16). Yine Matsumoto ve ark. 5'i RELA füzyon pozitif olan 8 kortikal yerleşimli endimom vakasının sağkalım oranlarını ST yerleşimli diğer endimom vakalarına göre çok daha yüksek bulmuşlar; bunu vakalara uygulanan geniş cerrahi rezeksiyona ve adjuvan RT verilmesine bağlamışlardır (17). Ayrıca, kortikal endimomların ventriküle açılarak ekilme metastazı yapma riskinin düşük olmasının da nedenlerden biri olabileceğini düşünmekteyiz. Pagès ve ark. 34 ST endimom vakası ile yaptıkları çalışmada vakaları, RELA füzyon pozitif, YAP1 füzyon pozitif, RELA ve YAP1 füzyon negatif ve endimal/subendimal mikst tümör şeklinde gruplamışlar; 4 grup arasında genel sağkalım açısından anlamlı fark saptamamışlardır (18). Bizim çalışmamızda da ST-EPN-RELA vakaları, füzyon negatif ST-EPN'lere göre çok daha iyi gidiş göstermiştir. Ancak istatistiksel olarak RELA füzyon pozitifliği ve negatifliği gösteren olguların 1 yıllık ve 5 yıllık sağkalım oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Vakalarımızda cerrahi

rezeksiyonun total/subtotal olmasıyla ilgili elimizdeki veri eksiktir. Bu nedenle sağlıklı yorum yapılamamıştır. RELA füzyon pozitif ve negatif vakalar arasındaki 1 yıllık ve 5 yıllık sağkalım oranlarını karşılaştırabilmek için, diğer prognostik faktörlerin (yaş, cerrahi rezeksiyon genişliği, tümör yerleşim yeri, histopatoloji vb.) yeterli olarak kaydedildiği geniş vaka serisinde analiz yapmak daha sağlıklı olacaktır.

Literatürde RELA füzyon pozitif vakaların sağkalımlarının RELA füzyon negatif vakalara göre daha kötü olduğu bildirilse de, bizim çalışma sonuçlarımızda olduğu gibi, bunun aksini gösteren, yukarıda tartıştığımız benzer çalışmalar da mevcuttur (16–18). Tüm bu durumlar, ependimomlar için prognostik faktörlerin sorgulanmasına neden olmuştur. Genetik ve moleküler değişikliklerin prognoza etkisi gösterilmişse de, tüm bu bulgularla birlikte, tümörün geniş ve total cerrahi rezeksiyonla çıkarılmış olmasının, hala prognoza etki eden en önemli faktör olduğu yorumunu yapabiliriz.

Vakalarımızı ST-SE, ST-EPN-RELA, ST-EPN (RELA füzyon negatif olan, ST yerleşimli derece II ve III ependimomlar), PF-SE ve PF-EPN olarak gruplayıp, bu entegre tanılarla sağkalım ilişkisine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmuştur (log rank= 11,717, p= 0,02). PF-SE ve ST-SE sağkalım oranı en yüksek (%100) gruptur. Bunu, PF-EPN grubu izlemektedir (1 yıllık sağkalım %90, 5 yıllık sağkalım ise %71 olarak hesaplanmıştır). ST-EPN-RELA grubu, PF-EPN'den daha düşük sağkalım oranlarına sahipken, sağkalımı en düşük grup ST-EPN bulunmuştur. Literatürde PF-EPN-A grubu ile ST-EPN-RELA grubunun en kötü gidişli 2 grup olduğu bildirilmiştir (9,68). Sasaki ve ark. PF-EPN-A grubunun en kötü prognoza sahip grup olduğunu ve ST-EPN-RELA'ya göre yaşam süresinin daha kısa olduğunu belirtmişlerdir (14). Bizim çalışmamız, PF yerleşimli derece II ve III ependimom olgularını, grup A ve B olarak ayırabilecek moleküler yöntemleri içermediğinden, bu iki grubu PF-EPN adıyla tek çatı altında topladık. Sağkalımın en kötü olduğu grubu, literatürdekinin aksine RELA füzyon negatif ST-EPN olarak bulsak da, verilen entegre tanılarla sağkalım oranlarıyla arasında anlamlı bir korelasyon bulunmaktadır. Tüm bu bulguların sonucunda diyebiliriz ki, RELA füzyon pozitifliği tek başına prognostik faktör olarak anlamlı değildir; fakat tümörün bulunduğu lokalizasyon, histolojik derece ve entegre tanılarla bir arada değerlendirildiğinde anlam kazanmaktadır.

Raghunathan ve ark.'ın çalışmasında, ST yerleşimli ependimomların PF yerleşimli olanlara göre daha sık rekürrens gösterdiği ve mortalite oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür (64). Çalışmamızda ST ve PF yerleşimli tümörler için sırasıyla 1 yıllık sağkalım %90 ve %91, 5 yıllık sağkalım %57 ve %75 olarak hesaplanmıştır. Bu bulgulara göre, literatüre

paralel olarak, ST yerleşimli ependimom vaka grubumuzun sağkalım oranları, PF yerleşimlilere oranla daha düşüktür. Ancak istatistiksel olarak ST ve PF yerleşimli ependimomların sağkalımları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Derece I SE, derece II KE ve derece III AE vakalarının 1 yıllık sağkalımları sırasıyla %100, %92 ve %86'dır. Derece arttıkça 1 yıllık sağkalım oranında düşüş görülse de, bunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Derece II ve derece III vakaların 5 yıllık sağkalım oranları sırasıyla %56 ve %64 bulunmuş; beklenenin aksine derece II vakaların 5 yıllık sağkalımının derece III vakalara oranla daha düşük olduğu dikkati çekmiştir. Ancak derece II ve III vakaların sağkalımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. DSÖ 2016 sınıflamasında ependimomların prognostik ve prediktif faktörleri olarak yaş, cerrahi rezeksiyon genişliği, tümör yerleşim bölgesi (ST, PF, SP), histopatoloji ve moleküler grup verilmiştir (1). Ancak histopatoloji ile ilgili olarak; farklı görüşlerin bulunduğu bildirilmiştir. Vakanın histolojik derecesinin belirlenmesi, örnekleme sayısından, tanı koyan patoloğa kadar birçok öğeye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Ayrıca, derece III AE tanısı için artmış mitotik indeksten bahsedilse de, kesin bir sayı verilmemiş olması da subjektifliğe neden olmaktadır (1,18). Bu nedenle histopatolojik tanı ve derecenin sağkalıma etkisi tartışmalıdır. Son yıllarda yayınlanan literatürlerde ise histolojik derecenin sağkalıma etkisi olmadığı bildirilmiştir (6,7). Günümüzde klinisyenler de derece II/III ependimomlar için tedavinin belirlenmesinde histolojik dereceyi temel almaktan vazgeçmişlerdir (6). Çalışmamızda da histolojik derece ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış olması, son yıllardaki literatürlerde bahsedilen görüşlere paraleldir.

Çalışmamızda cinsiyet ile sağkalım ilişkisine bakıldığında; kadınlarda 1 yıllık sağkalım oranı %93, 5 yıllık sağkalım oranı %57'dir. Erkekler için ise bu oranlar sırasıyla %86 ve %59'dur. Görünüşte ve istatistiksel olarak cinsiyet ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda yaş grupları ile sağkalım oranları incelendiğinde; 18 yaş altı grup için 1 ve 5 yıllık sağkalım oranları sırasıyla %79 ve %57 iken, 18 yaş üstü grup için sırasıyla %100 ve %75'tir. 18 yaş altı pediatrik grubun sağkalım oranlarının, 18 yaş üstü erişkin gruba göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ancak bu iki grubun sağkalım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde de, sonuçlarımıza paralel olarak çocukluk çağı ependimomlarının erişkinlere oranla daha kötü klinik gidiş gösterdikleri bildirilmektedir (1,68). Ancak Lillard ve ark. çalışmalarında yaşın hastalısız sağkalım ve genel sağkalıma etkisi olmadığını belirtmişlerdir (16).

Yaş gruplarını, DSÖ 2016 sınıflamasını baz alarak, 1-3, 7-8, 11-17 ve 19-64 olarak 4'e ayırdığımızda ise, 1 yıllık sağkalım oranları sırasıyla %83, %100, %67 ve %100'dür. 5 yıllık sağkalım oranı 7-8 yaş için verilemezken, diğer yaş grupları için sırasıyla %45, %67 ve %67 olarak bulunmuştur. Tüm bunların sonucunda, sağkalımın en düşük olduğu grubun 1-3 yaş gurubu olduğu gözlemlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak yaş grupları ile sağkalım oranları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. DSÖ 2016 sınıflamasında ependimomların prognostik faktörleri içinde yaş da gösterilmiş, 5 yıllık sağkalım oranları, <1 yaş grubu hastalar için %42,4, 1-4 yaş grubu için %55,3, 5-9 yaş grubu için %74,7 ve 10-14 yaş grubu için %76,2 olarak verilmiştir (1,138). 1 yaşın altında vakamız bulunmadığından, en düşük sağkalım oranı 1-3 yaş grubu vakalarımızda izlenmiştir; ancak sonuçlarımız istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır.

Çocukluk çağındaki ependimomların ST bölgeye kıyasla daha çok PF'de yerleşme eğilimi olduğu belirtilmektedir (1). Bu nedenle, PF yerleşimli pediatrik ependimom olgularının, ST yerleşimlilere göre daha kötü prognoz gösterdiği ve genel olarak çocukluk çağı ependimomlarının erişkinlere göre daha kötü gittiği düşünülmektedir (1). Çalışmamızda ise, beklenenin aksine ST yerleşimli 24 olgunun 12'sini (%50); PF yerleşimli 15 olgunun ise 5'ini (%33) çocuk hastalar oluşturmaktadır. ST ependimomlu pediatrik hastalardan 10'unun takip bilgilerine ulaşılabildiği görülmüştür. Bunların 7'si (%70) hayatta olup, kalan 3'ünden 2'si (%67) ilk 1 yıl içinde, 1'i (%33) ilk 5 yıl içinde eks olmuştur (1 yıllık sağkalım %80, 5 yıllık sağkalım %57). PF yerleşimli ependimom tanılı pediatrik hastalardan 4'ünün takip bilgilerine ulaşılabildiği görülmüştür. Bunların 2'si (%50) hayatta olup, kalanların 1'i (%50) ilk 1 yıl içinde, 1'i (%50) ilk 5 yıl içinde eks olmuştur. PF yerleşimli ependimom tanılı pediatrik vakalarımız içinde hayatta olan 2'sinin en uzun takip süresi 54 aydır. Bu nedenle 1 yıllık sağkalım %75 olarak verilebilmiştir. ST yerleşimli pediatrik ependimom vakalarımızın oranı, PF yerleşimlilere göre daha yüksek olsa da, PF yerleşimli olanların sağkalımının ST yerleşimli olanlara göre daha düşük saptanmış olması, literatür bilgileriyle uyumludur.

9 ependimom alt grubu içinde en kötü gidişli olduğu bildirilen PF-EPN-A ve ST-EPN-RELA grupları için cerrahiden sonra RT verilmekte, KT de eklenmesi önerilmektedir; herhangi bir anatomik yerleşim yerine ait SE vakalarında ise total cerrahi rezeksiyon yeterli olmaktadır (81). Vakalarımız içindeki PF-EPN grubunu, grup A ve B şeklinde sınıflayamamış olsak da, takip ve tedavi bilgilerine ulaşılabilen 11 hastanın 4'ü cerrahi sonrası RT + KT, 5'i RT almıştır. Adjuvan tedavi almayan 2 hasta derece II KE vakası olup, bunlarda nüks izlenmemiştir ve düzenli olarak takiplerine devam edilmektedir. ST-SE grubu vakalarımız adjuvan tedavi

almamıştır; nüksüz bir şekilde takiplerine devam edilmektedir. ST-EPN-RELA grubu 7 vakamızın 5'i cerrahi sonrası RT + KT, 1'i RT almış, 1'i adjuvan tedavi almamıştır. Adjuvan tedavi almayan hasta şu an 6. yılında nüksüz takip edilmektedir. RELA füzyon negatif ST-EPN grubu vakalarının sadece 3'ünün takip ve tedavi bilgilerine ulaşılabilmektedir. Bunların 2'si cerrahi sonrası RT + KT, 1'i RT almıştır.

Hem erişkinler, hem de 1 yaşın üzerindeki çocuklar için, intrakranyal yerleşimli derece I veya II ependimomlarda geniş total rezeksiyonun yeterli olabileceği ya da RT eklenebileceği belirtilmiştir. Ancak derece III AE'lerde, total rezeksiyon yapılsa dahi RT'nin mutlaka uygulanması gerektiği vurgulanmaktadır (81,82). Çalışmamızda; ST yerleşimli derece III AE vakalarından takip ve tedavi bilgilerine ulaşılabildiğimiz 9 hastanın 6'sı cerrahi sonrası RT + KT, 2'si RT almıştır. PF yerleşimli derece III AE vakalarından takip ve tedavi bilgilerine ulaşılabildiğimiz 4 hastanın 3'ü cerrahi sonrası RT + KT, 1'i RT almıştır.

6. SONUÇLAR

RELA füzyon pozitifliğinin ST yerleşimli derece II ve III ependimomlarda görüldüğü bildirilmektedir. Diagnostik ve prognostik önemi olan bu antitenin, ileride prediktif değerinin de ortaya çıkacağı düşünülmektedir. RELA füzyon pozitifliğini saptamanın en basit ve güvenilir yolu RELA break-apart probu ile FISH çalışmasıdır. İmmünohistokimyasal L1CAM pozitifliği de FISH pozitifliği ile koreledir, ancak spesifik değildir. Çalışmamıza ST ve PF yerleşimli derece I, II ve III ependimom vakaları dahil edilip FISH ile RELA füzyonu araştırıldı; immünohistokimyasal L1CAM antikoru uygulandı. Sonuçlar, klinik veriler ve histopatolojik özelliklerle karşılaştırıldı. Elde edilen verilerden öne çıkanlar aşağıdaki gibidir:

RELA füzyon pozitifliğinin PF yerleşimli ependimomlarda ve ST yerleşimli derece I ependimomlarda saptanmaması literatür bilgileri ile örtüşmektedir.

ST yerleşimli derece II ve III ependimom vakalarımızın %54'ünde RELA füzyon pozitifliği saptanmıştır.

RELA füzyon pozitifliği gösteren vakaların özellikleri aşağıdaki gibidir:

- RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarımızın tamamı ST yerleşimli derece III AE vakasıdır.
- RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarımızın sadece birinde belirgin bir morfoloji seçilmemiş, geri kalan vakaların tamamında berrak hücreli değişiklik gözlenmiştir.
- RELA füzyon pozitifliği gösteren vakaların çoğu (%86) erkektir.
- RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarımız içinde en sık yerleşim frontal lobdadır.
- RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarımızın tamamı immünohistokimyasal olarak L1CAM antikoru ile yaygın, kuvvetli, sitoplazmik ve membranöz pozitiflik gösterdi. RELA füzyon negatif vakalarımız içinde L1CAM pozitif vaka bulunmamaktaydı.

Histopatolojik tanı, histolojik derece, tümörün yerleşim yeri, morfolojisi ve immünohistokimyasal L1CAM pozitifliği bir araya geldiğinde, RELA füzyon pozitifliği açısından bize ipucu verebilir. Ancak kesin tanı için FISH gereklidir.

FISH ile RELA füzyon pozitifliği değerlendirilirken, gerçek break-apart paternine eşlik eden yakın break-apart paterni de hesaba katılmalıdır. Aksi takdirde pozitif vakalar atlanabilir.

Rastgele seçilen 1 AA, 1 OD ve 1 GBM vakasına uygulanan L1CAM sonucunda GBM vakasında boyanma görülmemiş, AA ve OD vakalarında yer yer zayıf, yer yer kuvvetli boyanma izlenmiştir. Bu nedenle, immünohistokimyasal L1CAM pozitifliği, ependimom tanısını kesinleştirmek için kullanılacak bir parametre değildir.

RELA füzyon pozitifliği gösteren vakalarımızın yaş aralığı 1 ile 57 arasında olup ortalama değer 8, ortalama değer 17,9'dur. Olgularımızın %71'i pediatrik veya adolesan çağdayken, %29'u erişkindi. RELA füzyon pozitifliğinin hem çocukluk çağında hem de erişkin dönemde saptanması literatür bilgileriyle uyumludur.

Yerleşim bölgesine (ST, PF) ve moleküler özelliklerine (RELA füzyonu) göre vakalar şu şekilde yeniden gruplandırılmıştır: ST-SE, ST-EPN-RELA, ST-EPN, PF-SE, PF-EPN. Bu gruplar ile sağkalımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Klinik açıdan en iyi gidişli grup ST-SE ve PF-SE iken, en kötü sağkalıma sahip grup RELA füzyon negatif ST-EPN olarak bulunmuştur.

ST yerleşimli ependimomlarla PF yerleşimli ependimom vakalarımız arasında sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Histolojik derecenin, cinsiyetin ve yaşın, vakaların sağkalımına etkisi saptanmamıştır.

7. CONCLUSION

RELA fusion positivity is reported to occur in ST grade II and III ependymomas. It is thought that this entity which has diagnostic, and prognostic importance, will have a predictive value in the future. The simplest and the most reliable way to detect RELA fusion positivity is the FISH study with the RELA break-apart probe. Immunohistochemical L1CAM positivity is also correlated with FISH positivity but not specific. Cases of grade I, II and III ependymoma located in the ST and PF were included to our study, and RELA fusion was investigated with FISH; immunohistochemical L1CAM antibody was applied. The results were compared with clinical data and histopathological features. The highlights of the obtained data are as follows:

The absence of RELA fusion positivity in PF-localized ependymomas and ST-localized grade I ependymomas matches with the literature.

RELA fusion positivity was found in 54% of ST-localized grade II and III ependymoma cases.

The characteristics of the cases showing RELA fusion positivity are as follows:

- All cases showing RELA fusion positivity are ST-localized grade III AE cases.
- In only one of our RELA fusion positive cases, no significant morphology was selected, and clear cell changes were observed in all of the remaining cases.
- Most cases (86%) with RELA fusion positivity were male.
- In our cases with RELA fusion positivity; the most common location is the frontal lobe.
- All of our cases showing RELA fusion positivity had immunohistochemically diffuse, strong, cytoplasmic and membranous positivity with L1CAM antibody. There were not any L1CAM positive cases in our RELA fusion negative cases.

When histopathologic diagnosis, histologic grade, tumor location, morphology and immunohistochemical L1CAM positivity are combined, it seems to be possible to have a clue in terms of RELA fusion positivity. However, FISH is required for definitive diagnosis.

When evaluating the RELA fusion positivity with FISH, the close break-apart pattern accompanying the actual break-apart pattern should also be taken into account. Otherwise, positive cases may be missed.

L1CAM was applied to randomly selected 1 AA, 1 OD and 1 GBM cases. While no staining was observed in GBM cases; weak and strong staining was observed in AA and OD

cases. Therefore, immunohistochemical L1CAM positivity is not a parameter to be used for confirming the diagnosis of ependymoma.

The age range of our cases showing RELA fusion positivity was between 1 and 57 and the median value was 8 and the mean value was 17.9. While 71% of our cases were at pediatric or adolescent age, 29% of them were adults. The detection of RELA fusion positivity in both childhood and adulthood is consistent with the literature.

The cases were regrouped according to the site (ST, PF) and molecular properties (RELA fusion) as follows: ST-SE, ST-EPN-RELA, ST-EPN, PF-SE, PF-EPN. A statistically significant relationship was found between these groups and their survival. ST-SE and PF-SE were found to be the best clinically favorable group; while the group with the worst survival was found to be RELA fusion negative ST-EPN.

Statistically, no significant difference was found in survival between ST-localized ependymomas and PF-localized ependymomas.

There was no effect of histological grade, sex, and age on survival.

8. KAYNAKLAR

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, editors. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2016.
2. 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 Neuropathol.* 2016;131(6):803–20.
3. Kimura T, Budka H, Soler-Federspiel S. An immunocytochemical comparison of the glia-associated proteins glial fibrillary acidic protein (GFAP) and S-100 protein (S100P) in human brain tumors. *Clin Neuropathol.* 1986;33-40.
4. Kawano N, Yasui Y, Utsuki S, Oka H, Fuji K, Yamashina S. Light microscopic demonstration of the microlumen of ependymoma: A study of the usefulness of antigen retrieval for epithelial membrane antigen (EMA) immunostaining. *Brain Tumor Pathol.* 2004;17-21.
5. Bouffet E, Perilongo G, Canete A, Massimino M, Bailey CC, Packer R, et al. Intracranial ependymomas in children: A critical review of prognostic factors and a plea for cooperation. *Medical and Pediatric Oncology.* 1998.
6. Ellison DW, Kocak M, Figarella-Branger D, Felice G, Catherine G, Pietsch T, et al. Histopathological grading of pediatric ependymoma: Reproducibility and clinical relevance in European trial cohorts. *J Negat Results Biomed.* 2011;10(1).
7. Figarella-Branger D, Civatte M, Bouvier-Labit C, Gouvernet J, Gambarelli D, Gentet JC, et al. Prognostic factors in intracranial ependymomas in children. *J Neurosurg.* 2000;93(4):605-13.
8. Godfraind C, Kaczmarek JM, Kocak M, Dalton J, Wright KD, Sanford RA, et al. Distinct disease-risk groups in pediatric supratentorial and posterior fossa ependymomas. *Acta Neuropathol.* 2012;124(2):247-57.
9. Pajtler KW, Witt H, Sill M, Jones DTW, Hovestadt V, Kratochwil F, et al. Molecular Classification of Ependymal Tumors across All CNS Compartments, Histopathological Grades, and Age Groups. *Cancer Cell.* 2015;27(5):728-43.
10. Chavali P, Rao S, Palavalasa S, Bevinahalli N, Muthane YTC, Sadashiva N, et al. L1CAM Immunopositivity in Anaplastic Supratentorial Ependymomas: Correlation With Clinical and Histological Parameters. *Int J Surg Pathol.* 2019;27(3):251–8.
11. Ernestus RI, Schröder R, Stützer H, Klug N. Prognostic relevance of localization and grading in intracranial ependymomas of childhood. *Child's Nerv Syst.* 1996;12(9):522-6.
12. Raghunathan A, Wani K, Armstrong TS, Vera-Bolanos E, Fouladi M, Gilbertson R, et al. Histological predictors of outcome in ependymoma are dependent on anatomic site within the central nervous system. *Brain Pathol.* 2013;23(5):584–94.

13. Parker M, Mohankumar KM, Punchihewa C, Weinlich R, Dalton JD, Li Y, et al. C11orf95-RELA fusions drive oncogenic NF- κ B signalling in ependymoma. *Nature*. 2014;506(7489):451-5.
14. Sasaki A, Hirato J, Hirose T, Fukuoka K, Kanemura Y, Hashimoto N, et al. Review of ependymomas: assessment of consensus in pathological diagnosis and correlations with genetic profiles and outcome. *Brain Tumor Pathol* [Internet]. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10014-019-00338-x>
15. Pietsch T, Wohlers I, Goschzik T, Dreschmann V, Denkhaus D, Dörner E, et al. Supratentorial ependymomas of childhood carry C11orf95-RELA fusions leading to pathological activation of the NF- κ B signaling pathway. *Acta Neuropathologica*. 2014.
16. Lillard JC, Venable GT, Khan NR, Tatevossian RG, Dalton J, Vaughn BN, et al. Pediatric Supratentorial Ependymoma: Surgical, Clinical, and Molecular Analysis. *Neurosurgery*. 2019;85(1):41–9.
17. Matsumoto Y, Ichikawa T, Kurozumi K, Otani Y, Date I. Clinicopathological and Genetic Features of Supratentorial Cortical Ependymomas. *World Neurosurg*. 2019;129:417-28.
18. Pagès M, Pajtler KW, Puget S, Castel D, Boddaert N, Tauziède-Espariat A, et al. Diagnostics of pediatric supratentorial RELA ependymomas: integration of information from histopathology, genetics, DNA methylation and imaging. *Brain Pathol*. 2019;29(3):325-35.
19. Virchow R, Chance F, Goodsir J, Osborn S. Cellular pathology as based upon physiological and pathological histology; twenty lectures delivered in the Pathological Institute of Berlin during the months of February, March, and April, 1858 /. Cellular pathology as based upon physiological and pathological histology; twenty lectures delivered in the Pathological Institute of Berlin during the months of February, March, and April, 1858 /. 2016.
20. Eastman FC. A Classification of the Tumors of the Glioma Group on a Histogenetic Basis With a Correlated Study of Prognosis. *Ann Surg*. 1926;84(1):143-4.
21. KERNOHAN JW, MABON RF. A simplified classification of the gliomas. *Proc Staff Meet Mayo Clin*. 1949;24(3):71-5.
22. N R. Grading of gliomas. *APMIS*. 1950;27:51–64.
23. Daumas-Duport C, Scheithauer B, O’Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas: A simple and reproducible method. *Cancer*. 1988;62(10):2152-65.
24. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumours. *Brain Pathol*. 1993;3:255–68.
25. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathologica*. 2007.

26. Komori T. The 2016 WHO classification of tumours of the central nervous system: The major points of revision. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2017;57(7):301–11.
27. Aldape K, Simmons ML, Davis RL, Miike R, Wiencke J, Barger G, et al. Discrepancies in diagnoses of neuroepithelial neoplasms: The San Francisco Bay Area Adult Glioma Study. *Cancer*. 2000;88(10):2342-9.
28. Coons SW, Johnson PC, Scheithauer BW, Yates AJ, Pearl DK. Improving diagnostic accuracy and interobserver concordance in the classification and grading of primary gliomas. *Cancer*. 1997;79(7):1381-93.
29. Ida CM, Rodriguez FJ, Burger PC, Caron AA, Jenkins SM, Spears GM, et al. Pleomorphic xanthoastrocytoma: Natural history and long-term follow-up. *Brain Pathology*. 2015.
30. Brat DJ, Verhaak RGW, Aldape KD, Yung WKA, Salama SR, Cooper LAD, et al. Comprehensive, integrative genomic analysis of diffuse lower-grade gliomas. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2481-98.
31. Reuss DE, Kratz A, Sahm F, Capper D, Schrimpf D, Koelsche C, et al. Adult IDH wild type astrocytomas biologically and clinically resolve into other tumor entities. *Acta Neuropathol*. 2015;130(3):407-17.
32. Broniscer A, Chamdine O, Hwang S, Lin T, Pounds S, Onar-Thomas A, et al. Gliomatosis cerebri in children shares molecular characteristics with other pediatric gliomas. *Acta Neuropathol*. 2016;131(2):299-307.
33. Herrlinger U, Jones DTW, Glas M, Hattingen E, Gramatzki D, Stuplich M, et al. Gliomatosis cerebri: no evidence for a separate brain tumor entity. *Acta Neuropathol*. 2016;131(2):309-19.
34. Sahm F, Reuss D, Koelsche C, Capper D, Schittenhelm J, Heim S, et al. Farewell to oligoastrocytoma: in situ molecular genetics favor classification as either oligodendroglioma or astrocytoma. *Acta Neuropathol*. 2014;128(4):551-9.
35. Wiestler B, Capper D, Sill M, Jones DTW, Hovestadt V, Sturm D, et al. Integrated DNA methylation and copy-number profiling identify three clinically and biologically relevant groups of anaplastic glioma. *Acta Neuropathol*. 2014;128(4):561-71.
36. Huse JT, Diamond EL, Wang L, Rosenblum MK. Mixed glioma with molecular features of composite oligodendroglioma and astrocytoma: A true “Oligoastrocytoma”? *Acta Neuropathologica*. 2015.
37. P W, Li CC, M L. Oligoastrocytomas: throwing the baby out with the bathwater? *Acta Neuropathol*. 2015;129:147–9.
38. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clinical Cancer Research*. 2013.
39. Broniscer A, Tatevossian RG, Sabin ND, Klimo J, Dalton J, Lee R, et al. Clinical, radiological, histological and molecular characteristics of paediatric epithelioid glioblastoma. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2014;40(3):327-36.

40. Kleinschmidt-Demasters BK, Aisner DL, Birks DK, Foreman NK. Epithelioid GBMs show a high percentage of BRAF V600E mutation. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(5):685-98.
41. Kleinschmidt-DeMasters BK, Aisner DL, Foreman NK. BRAF VE1 immunoreactivity patterns in epithelioid glioblastomas positive for BRAF V600E mutation. In: *American Journal of Surgical Pathology.* 2015;39(4):528-40.
42. Perry A, Miller CR, Gujrati M, Scheithauer BW, Zambrano SC, Jost SC, et al. Malignant gliomas with primitive neuroectodermal tumor-like components: A clinicopathologic and genetic study of 53 cases. *Brain Pathol.* 2009;19(1):81-90.
43. Khuong-Quang DA, Buczkowicz P, Rakopoulos P, Liu XY, Fontebasso AM, Bouffet E, et al. K27M mutation in histone H3.3 defines clinically and biologically distinct subgroups of pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas. *Acta Neuropathol.* 2012;124(3):439-47.
44. Castel D, Grill J, Debily MA. Histone H3 genotyping refines clinico-radiological diagnostic and prognostic criteria in DIPG. *Acta Neuropathologica.* 2016.
45. Louis DN, Wesseling P, Paulus W, Giannini C, Batchelor TT, Cairncross JG, et al. cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). *Acta Neuropathologica.* 2018.
46. Louis DN, Giannini C, Capper D, Paulus W, Figarella-Branger D, Lopes MB, et al. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathologica.* 2018.
47. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Holland EC, Louis DN, Jenkins RB, et al. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for “Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV.” *Acta Neuropathologica.* 2018.
48. Ellison DW, Hawkins C, Jones DTW, Onar-Thomas A, Pfister SM, Reifenberger G, et al. cIMPACT-NOW update 4: diffuse gliomas characterized by MYB, MYBL1, or FGFR1 alterations or BRAF V600E mutation. *Acta Neuropathologica.* 2019.
49. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, Remke M, Cho YJ, Clifford SC, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: The current consensus. *Acta Neuropathol.* 2012;123(4):465-72.
50. Korshunov A, Ryzhova M, Hovestadt V, Bender S, Sturm D, Capper D, et al. Integrated analysis of pediatric glioblastoma reveals a subset of biologically favorable tumors with associated molecular prognostic markers. *Acta Neuropathol.* 2015;129(5):669-78.
51. Hasselblatt M, S G, F O, S R. Nonsense mutation and inactivation of SMARCA4 (BRG1) in an atypical teratoid/rhabdoid tumor showing retained SMARCB1 (INI1) expression. *Am J Surg Pathol.* 2011;35:933–5.
52. Judkins AR. Immunohistochemistry of INI1 expression: A new tool for old challenges in CNS and soft tissue pathology. *Advances in Anatomic Pathology.* 2007.

53. McGuire CS, Sainani KL, Fisher PG. Incidence patterns for ependymoma: A Surveillance, Epidemiology, and End Results study - Clinical article. *J Neurosurg.* 2009;110(4):725-9.
54. Amirian ES, Armstrong TS, Gilbert MR, Scheurer ME. Predictors of survival among older adults with ependymoma. *J Neurooncol.* 2012;107(1):183-9.
55. Guyotat J, Metellus P, Giorgi R, Barrie M, Jouvét A, Fevre-Montange M, et al. Infratentorial ependymomas: Prognostic factors and outcome analysis in a multi-center retrospective series of 106 adult patients. *Acta Neurochir (Wien).* 2009;151(8):947-60.
56. Kawabata Y, Takahashi JA, Arakawa Y, Hashimoto N. Long-term outcome in patients harboring intracranial ependymoma. *J Neurosurg.* 2005;103(1):31-7.
57. Metellus P, Figarella-Branger D, Guyotat J, Barrie M, Giorgi R, Jouvét A, et al. Supratentorial ependymomas: Prognostic factors and outcome analysis in a retrospective series of 46 adult patients. *Cancer.* 2008;113(1):175-85.
58. Metellus P, Guyotat J, Chinot O, Durand A, Barrie M, Giorgi R, et al. Adult intracranial WHO grade II ependymomas: Long-term outcome and prognostic factor analysis in a series of 114 patients. *Neuro Oncol.* 2010;12(9):976-84.
59. Oya N, Shibamoto Y, Nagata Y, Negoro Y, Hiraoka M. Postoperative radiotherapy for intracranial ependymoma: Analysis of prognostic factors and patterns of failure. *J Neurooncol.* 2002;56(1):87-94.
60. Paulino AC, Wen BC. The significance of radiotherapy treatment duration in intracranial ependymoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;47(3):585-9.
61. Mendrzyk F, Korshunov A, Benner A, Toedt G, Pfister S, Radlwimmer B, et al. Identification of gains on 1q and epidermal growth factor receptor overexpression as independent prognostic markers in intracranial ependymoma. *Clin Cancer Res.* 2006;12(71):2070-9.
62. Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Benner A, Remke M, Ryzhova M, et al. Molecular staging of intracranial ependymoma in children and adults. *J Clin Oncol.* 2010;28(19):3182-90.
63. Witt H, Mack SC, Ryzhova M, Bender S, Sill M, Isserlin R, et al. Delineation of Two Clinically and Molecularly Distinct Subgroups of Posterior Fossa Ependymoma. *Cancer Cell.* 2011;20(2):143-57.
64. Raghunathan A, Wani K, Armstrong TS, Vera-Bolanos E, Fouladi M, Gilbertson R, et al. Histological predictors of outcome in ependymoma are dependent on anatomic site within the central nervous system. *Brain Pathol.* 2013;23(5):584-94.
65. Xie TX, Xia Z, Zhang N, Gong W, Huang S. Constitutive NF- κ B activity regulates the expression of VEGF and IL-8 and tumor angiogenesis of human glioblastoma. *Oncol Rep.* 2010;23(3):725-32.
66. Gessi M, Capper D, Sahm F, Huang K, von Deimling A, Tippelt S, et al. Evidence of H3 K27M mutations in posterior fossa ependymomas. *Acta Neuropathologica.* 2016.

67. Pajtler KW, Mack SC, Ramaswamy V, Smith CA, Witt H, Smith A, et al. The current consensus on the clinical management of intracranial ependymoma and its distinct molecular variants. *Acta Neuropathol.* 2017;133(1):5–12.
68. Chiang JCH, Ellison DW. Molecular pathology of paediatric central nervous system tumours. *Journal of Pathology.* 2017.
69. Malgulwar PB, Nambirajan A, Pathak P, Faruq M, Rajeshwari M, Singh M, et al. C11orf95-RELA fusions and upregulated NF-KB signalling characterise a subset of aggressive supratentorial ependymomas that express L1CAM and nestin. *J Neurooncol* [Internet]. 2018;138(1):29–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11060-018-2767-y>
70. Stucklin ASG, Ramaswamy V, Daniels C, Taylor MD. Review of molecular classification and treatment implications of pediatric brain tumors. *Current Opinion in Pediatrics.* 2018.
71. Jung TY, Jung S, Kook H, Baek HJ. Treatment decisions of world health organization grade ii and iii ependymomas in molecular era. *J Korean Neurosurg Soc.* 2018;61(3):312–8.
72. Merchant TE, Li C, Xiong X, Kun LE, Boop FA, Sanford RA. Conformal radiotherapy after surgery for paediatric ependymoma: a prospective study. *Lancet Oncol.* 2009;10(3):258-66.
73. Venkatramani R, Dhall G, Patel M, Grimm J, Hawkins C, McComb G, et al. Supratentorial ependymoma in children: To observe or to treat following gross total resection? *Pediatr Blood Cancer.* 2012;58(3):380-3.
74. Aizer AA, Ancukiewicz M, Nguyen PL, MacDonald SM, Yock TI, Tarbell NJ, et al. Natural history and role of radiation in patients with supratentorial and infratentorial WHO grade II ependymomas: Results from a population-based study. *J Neurooncol.* 2013;115(3):411-9.
75. Chai Y-H, Jung S, Lee J-K, Kim I-Y, Jang W-Y, Moon K-S, et al. Ependymomas: Prognostic Factors and Outcome Analysis in a Retrospective Series of 33 Patients. *Brain Tumor Res Treat.* 2017;5(2):70.
76. Mansur DB, Perry A, Rajaram V, Michalski JM, Park TS, Leonard JR, et al. Postoperative radiation therapy for grade II and III intracranial ependymoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;61(2):387-91.
77. Gerstner ER, Pajtler KW. Ependymoma. *Semin Neurol.* 2018;38(1):104-11.
78. Fukuoka K, Kanemura Y, Shofuda T, Fukushima S, Yamashita S, Narushima D, et al. Significance of molecular classification of ependymomas: C11orf95-RELA fusion-negative supratentorial ependymomas are a heterogeneous group of tumors. *Acta Neuropathol Commun.* 2018;6(1):134.
79. Gessi M, Giagnacovo M, Modena P, Elefante G, Gianni F, Buttarelli FR, et al. Role of immunohistochemistry in the identification of supratentorial C11ORF95-RELA fused ependymoma in routine neuropathology. *Am J Surg Pathol.* 2019;43(1):56–63.

80. Zapotocky M, Beera K, Adamski J, Laperriere N, Guger S, Janzen L, et al. Survival and functional outcomes of molecularly defined childhood posterior fossa ependymoma: Cure at a cost. *Cancer*. 2019;125(11):1867–76.
81. Delgado-López PD, Corrales-García EM, Alonso-García E, García-Leal R, González-Rodrigálvarez R, Araus-Galdós E, et al. Central nervous system ependymoma: clinical implications of the new molecular classification, treatment guidelines and controversial issues. *Clin Transl Oncol* [Internet]. 2019;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s12094-019-02082-2>
82. Sartor EA, Wen PY. Adjuvant treatments for ependymomas. *Journal of Neurosurgical Sciences*. 2018.
83. de Almeida Magalhães T, Cruzeiro GAV, de Sousa GR, da Silva KR, Lira RCP, Scrideli CA, et al. Notch pathway in ependymoma RELA-fused subgroup: upregulation and association with cancer stem cells markers expression. *Cancer Gene Ther*. 2019;
84. Neumann JE, Spohn M, Obrecht D, Mynarek M, Thomas C, Hasselblatt M, et al. Molecular characterization of histopathological ependymoma variants. *Acta Neuropathol*. 2019;
85. Jain A, Amin AG, Jain P, Burger P, Jallo GI, Lim M, et al. Subependymoma: Clinical features and surgical outcomes. *Neurol Res*. 2012;34(7):677-84.
86. Schiffer D, Chiò A, Giordana MT, Migheli A, Palma L, Pollo B, et al. Histologic prognostic factors in ependymoma. *Child's Nerv Syst*. 1991;7(4):177-82.
87. Kurt E, Zheng PP, Hop WCJ, Van Der Weiden M, Bol M, Van Den Bent MJ, et al. Identification of relevant prognostic histopathologic features in 69 intracranial ependymomas, excluding myxopapillary ependymomas and subependymomas. *Cancer*. 2006;106(2):388-95.
88. Ragel BT, Osborn AG, Whang K, Townsend JJ, Jensen RL, Couldwell WT. Subependymomas: An analysis of clinical and imaging features. *Neurosurgery*. 2006.
89. Rushing EJ, Cooper PB, Quezado M, Begnami M, Crespo A, Smirniotopoulos JG, et al. Subependymoma revisited: Clinicopathological evaluation of 83 cases. *J Neurooncol*. 2007;85(3):297-305.
90. Y. K, S.Y. L, K.S. Y, S.H. C, M.H. G, B.S. C, et al. Infratentorial and intraparenchymal subependymoma in the cerebellum: Case Report. *Korean J Radiol*. 2014;15(1):151-5.
91. Jallo GI, Zagzag D, Epstein F. Intramedullary subependymoma of the spinal cord. *Neurosurgery*. 1996;251–7.
92. Kong LY, Wei J, Haider AS, Liebelt BD, Ling X, Conrad CA, et al. Therapeutic targets in subependymoma. *J Neuroimmunol*. 2014;277(1-2):168-75.
93. Scheithauer BW. Symptomatic subependymoma. Report of 21 cases with review of the literature. *J Neurosurg*. 1978;49(5):689-96.

94. Prayson RA. Clinicopathologic study of 61 patients with ependymoma including MIB-1 immunohistochemistry. *Ann Diagn Pathol.* 1999;3(1):11-8.
95. Koutourousiou M, Georgakoulias N, Kontogeorgos G, Seretis A. Subependymomas of the lateral ventricle: Tumor recurrence correlated with increased Ki-67 labeling index. *Neurol India.* 2009;57(2):191-3.
96. Cervoni L, Celli P, Caruso R, Gagliardi FM, Cantore GP. Neurinomas and ependymomas of the cauda equina. Review of the clinical characteristics | Neurinomi ed ependimomi della cauda equina. *Revisione delle caratteristiche cliniche. Minerva Chir.* 1997;
97. Cimino PJ, Agarwal A, Dehner LP. Myxopapillary ependymoma in children: A study of 11 cases and a comparison with the adult experience. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61(11):1969-71.
98. Lim SC, Jang SJ. Myxopapillary ependymoma of the fourth ventricle. *Clin Neurol Neurosurg.* 2006;37(2):211-31.
99. Warnick RE, Raisanen J, Adornato BT, Prados MD, Davis RL, Larson DA, et al. Intracranial myxopapillary ependymoma: Case report. *J Neurooncol.* 1993;15(3):251-6.
100. Woehrer A, Hackl M, Waldhör T, Weis S, Pichler J, Olschowski A, et al. Relative survival of patients with non-malignant central nervous system tumours: A descriptive study by the Austrian Brain Tumour Registry. *Br J Cancer.* 2014;110(2):286-96.
101. Safaee M, Oh MC, Mummaneni P V., Weinstein PR, Ames CP, Chou D, et al. Surgical outcomes in spinal cord ependymomas and the importance of extent of resection in children and young adults: Clinical article. *J Neurosurg Pediatr.* 2014;13(4):393-9.
102. Kukreja S, Ambekar S, Sharma M, Sin AH, Nanda A. Outcome predictors in the management of spinal myxopapillary ependymoma: An integrative survival analysis. *World Neurosurgery.* 2015.
103. Weber DC, Wang Y, Miller R, Villà S, Zaucha R, Pica A, et al. Long-term outcome of patients with spinal myxopapillary ependymoma: Treatment results from the MD Anderson Cancer Center and institutions from the Rare Cancer Network. *Neuro Oncol.* 2014;17(4):588-95.
104. Kukreja S, Ambekar S, Sin AH, Nanda A. Cumulative survival analysis of patients with spinal myxopapillary ependymomas in the first 2 decades of life: A systematic review. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics.* 2014.
105. Tsai CJ, Wang Y, Allen PK, Mahajan A, Mccutcheon IE, Rao G, et al. Outcomes after surgery and radiotherapy for spinal myxopapillary ependymoma: Update of the MD anderson cancer center experience. *Neurosurgery.* 2014.
106. Verma A, Zhou H, Chin S, Bruggers C, Kestle J, Khatua S. EGFR as a predictor of relapse in myxopapillary ependymoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;59(4):746-8.
107. MacK SC, Witt H, Piro RM, Gu L, Zuyderduyn S, Stütz AM, et al. Epigenomic alterations define lethal CIMP-positive ependymomas of infancy. *Nature.* 2014;506(7489):445-50.

108. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Rouse C, Chen Y, Dowling J, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007–2011. *Neuro Oncol.* 2014;16:1-63.
109. Kudo H, Oi S, Tamaki N, Nishida Y, Matsumoto S. Ependymoma diagnosed in the first year of life in Japan in collaboration with the International Society for Pediatric Neurosurgery. *Child's Nerv Syst.* 1990;6(7):375-8.
110. Komuro Y, Mikami M, Sakaiya N, Kurahashi T, Komiyama S, Tei C, et al. Tumor imprint cytology of ovarian ependymoma: A case report. *Cancer.* 2001;92(12):3165-9.
111. Bell DA, Woodruff JM, Scully RE. Ependymoma of the broad ligament. A report of two cases. *Am J Surg Pathol.* 1984;8(3):203-9.
112. Preusser M, Budka H, Rössler K, Hainfellner JA. OLIG2 is a useful immunohistochemical marker in differential diagnosis of clear cell primary CNS neoplasms. *Histopathology.* 2007;50(3):365-70.
113. Kilday JP, Rahman R, S D, L R. Pediatric ependymoma: biological perspectives. *Mol Cancer Res.* 2009;7:765–86.
114. Jeuken JWM, Sprenger SHE, Gilhuis J, Teepen HLJM, Grotenhuis AJ, Wesseling P. Correlation between localization, age, and chromosomal imbalances in ependymal tumours as detected by CGH. *J Pathol.* 2002;197(2):238-44.
115. Johnson RA, Wright KD, Poppleton H, Mohankumar KM, Finkelstein D, Pounds SB, et al. Cross-species genomics matches driver mutations and cell compartments to model ependymoma. *Nature.* 2010;466(7306):632-6.
116. Zheng P pin, Pang JC sean, Hui AB yu, Ng H keung. Comparative genomic hybridization detects losses of chromosomes 22 and 16 as the most common recurrent genetic alterations in primary ependymomas. *Cancer Genet Cytogenet.* 2000;122(1):18-25.
117. Poppleton H, Gilbertson RJ. Stem cells of ependymoma. *British Journal of Cancer.* 2007.
118. Taylor MD, Poppleton H, Fuller C, Su X, Liu Y, Jensen P, et al. Radial glia cells are candidate stem cells of ependymoma. *Cancer Cell.* 2005;8(4):323-35.
119. Kilday JP, Mitra B, Domerg C, Ward J, Andreiuolo F, Osteso-Ibanez T, et al. Copy number gain of 1q25 predicts poor progression-free survival for pediatric intracranial ependymomas and enables patient risk stratification: A prospective european clinical trial cohort analysis on behalf of the Children's Cancer Leukaemia Group (CCLG). *Clin Cancer Res.* 2012;18(7):2001-11.
120. Hoffman LM, Donson AM, Nakachi I, Griesinger AM, Birks DK, Amani V, et al. Molecular sub-group-specific immunophenotypic changes are associated with outcome in recurrent posterior fossa ependymoma. *Acta Neuropathol.* 2014;127(5):731-45.
121. Wani K, Armstrong TS, Vera-Bolanos E, Raghunathan A, Ellison D, Gilbertson R, et al. A prognostic gene expression signature in infratentorial ependymoma. *Acta Neuropathol.* 2012;123(5):727-38.

122. Hamilton RL, Pollack IF. The molecular biology of ependymomas. In: *Brain Pathology*. 1997;7(2):807-22.
123. Korshunov A, Golanov A, Sycheva R, Timirgaz V. The Histologic Grade Is a Main Prognostic Factor for Patients with Intracranial Ependymomas Treated in the Microneurosurgical Era: An Analysis of 258 Patients. *Cancer*. 2004;100(6):1230-7.
124. Schiffer D, Giordana MT. Prognosis of ependymoma. *Child's Nerv Syst*. 1998;14(8):357-61.
125. Tihan T, Zhou T, Holmes E, Burger PC, Ozuysal S, Rushing EJ. The prognostic value of histological grading of posterior fossa ependymomas in children: A Children's Oncology Group study and a review of prognostic factors. *Mod Pathol*. 2008;21(2):165-77.
126. Fouladi M, Helton K, Dalton J, Gilger E, Gajjar A, Merchant T, et al. Clear Cell Ependymoma: A Clinicopathologic and Radiographic Analysis of 10 Patients. *Cancer*. 2003.
127. Zhang CZ, Leibowitz ML, Pellman D. Chromothripsis and beyond: Rapid genome evolution from complex chromosomal rearrangements. *Genes and Development*. 2013.
128. Godfraind C. Classification and controversies in pathology of ependymomas. *Child's Nervous System*. 2009.
129. Ahmed M, Lorence E, Wang J, Jung D, Zhang L, Nomie K, et al. Interrogating B cell signaling pathways: A quest for novel therapies for mantle cell lymphoma. *Science Signaling*. 2019.
130. Gannon PO, Lessard L, Stevens LM, Forest V, Bégin LR, Minner S, et al. Large-scale independent validation of the nuclear factor-kappa B p65 prognostic biomarker in prostate cancer. *Eur J Cancer*. 2013;49(10):2441-8.
131. Pyo JS, Kang G, Kim DH, Chae SW, Park C, Kim K, et al. Activation of nuclear factor- κ B contributes to growth and aggressiveness of papillary thyroid carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2013;209(4):228-32.
132. Tubbs RR. *Cell and Tissue Based Molecular Pathology*. Cell and Tissue Based Molecular Pathology. 2009.
133. Xi S, Sai K, Hu W, Wang F, Chen Y, Wang J, et al. Clinical significance of the histological and molecular characteristics of ependymal tumors: A single institution case series from China. *BMC Cancer*. 2019;19(1).
134. Yao Y, Mack SC, Taylor MD. Molecular genetics of ependymoma. *Chinese Journal of Cancer*. 2011.
135. Bocchetta M, Miele L, Pass HI, Carbone M. Notch-1 induction, a novel activity of SV40 required for growth of SV40-transformed human mesothelial cells. *Oncogene*. 2003;22(1):81-9.

136. de Sousa GR, Marie SKN, Oba-Shinjo SM, Ramalho LNZ, Tone LG, Valera ET. A novel type of C11orf95-LOC-RELA fusion in a grade II supratentorial ependymoma: report of a case with literature review. *Child's Nerv Syst.* 2019;35(4):689-94.
137. Pajtler KW, Pfister SM, Kool M. Molecular dissection of ependymomas. *Oncoscience.* 2015.
138. Gatta G, Botta L, Rossi S, Aareleid T, Bielska-Lasota M, Clavel J, et al. Childhood cancer survival in Europe 1999-2007: Results of EURO CARE-5-a population-based study. *Lancet Oncol.* 2014;15(1):35-47.

