

**T.C  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Ependimomlarda FISH Yöntemi ile RELA Gen Füzyon  
Varlığının ve İmmünohistokimyasal Olarak P53  
Boyanmasının Değerlendirilmesi**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. SELMA PAMUKÇUOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. AYLAR POYRAZ**

**ANKARA  
OCAK 2018**

**T.C  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Ependimomlarda FISH Yöntemi ile RELA Gen Füzyon  
Varlığının ve İmmünohistokimyasal Olarak P53  
Boyanmasının Değerlendirilmesi**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. SELMA PAMUKÇUOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. AYLAR POYRAZ**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2017-  
19 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA  
OCAK 2018**

## TEŞEKKÜR

İhtisasım boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan başta tez hocam Prof. Dr. Aylar Poyraz olmak üzere değerli hocalarım, Prof. Dr. Ömer Uluoğlu, Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr. Ayşe Dursun, Prof. Dr. Gülen Akyol, Prof. Dr. Nalan Akyürek, Prof. Dr. Özlem Erdem, Doç. Dr. İpek Işık Gönül, Doç. Dr. Güldal Esendağlı, Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün ve Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinci'ye sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Daima birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve dayanışma içinde çalıştığım çok sevgili araştırma görevlisi arkadaşlarıma, bana her konuda yardımcı olan tüm laboratuvar personeli, arşiv görevlisi ve sekreter arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Son olarak hayatı benim için hep kolaylaştırmaya çalışan sevgili eşim Melih Pamukçuoğlu'na, küçük kalbiyle sabretmeyi öğrenen, neşe kaynağım oğlum Salih Pamukçuoğlu'na ve desteklerini hep yanımda hissettiğim aileme ve eşimin ailesine en içten sevgilerimi ve saygılarımı sunarım.

**Dr. Selma Pamukçuoğlu**

**Ankara, 2018**

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER.....	V
RESİMLER.....	VI
TABLolar.....	VII
GRAFİKLER.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Santral Sinir Sistemi Anatomisi.....	3
2.2 Ependimal Hücre ve Ependimal Tümörlerde Hücresel Orijin .....	4
2.3 EPENDİMAL TÜMÖRLER .....	6
2.3.1 Tanım ve Sınıflama .....	6
2.3.2 Epidemiyoloji .....	7
2.3.3 Lokalizasyon .....	8
2.3.4 Klinik Özellikler.....	9
2.3.5 Radyolojik Özellikler .....	9
2.3.6 Derecelendirme .....	10
2.3.7 Genetik Özellikler .....	12

2.3.8 Moleküler Sınıflama .....	12
2.3.9 Prognoz ve Tedavi .....	18
2.4 Histopatolojik Tipler.....	20
2.4.1 Subependimom.....	20
2.4.2 Miksopapiller Ependimom .....	21
2.4.3 Ependimom .....	22
2.4.4 Anaplastik Ependimom .....	24
2.4.5 Ependimom, RELA Füzyon Pozitif .....	24
2.5 RELA .....	25
2.6 p53 .....	28
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>
3.1 Olguların Seçilmesi, Verilerin Toplanması ve İncelenen Parametreler .	31
3.2 Olguların Hazırlanması.....	31
3.3 İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi .....	32
3.4 İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Değerlendirilmesi.....	33
3.5 Floresan İn Situ Hibridizasyon Boyama Yöntemi .....	34
3.6 Floresan İn Situ Hibridizasyon Boyamanın Değerlendirilmesi.....	36
3.7 İstatistiksel Analiz .....	36
3.8 Etik Kurul Onayı.....	37
<b>4 BULGULAR .....</b>	<b>38</b>

4.1	Hastaların Demografik, Klinik Özellikleri ve Tümör Karakteristikleri .	38
4.1.1	Olgularda tümör lokalizasyonu, histolojik tümör tipi ve derecesi ..	39
4.1.2	Olgularda tümörün total/subtotal rezeksiyon durumu.....	46
4.1.3	Olgularda nüks ve metastaz durumu .....	48
4.1.4	Olgularda postoperatif ek tedavi durumu .....	51
4.2	İmmünohistokimyasal Bulgular.....	54
4.3	Klinikopatolojik Özellikler, Ki-67, p53 Boyanmasının Genel Sağ Kalım ile İlişkisi .....	61
4.4	Floresan İn Situ Hibridizasyon Bulguları.....	66
<b>5</b>	<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>70</b>
<b>6</b>	<b>SONUÇLAR.....</b>	<b>85</b>
<b>7</b>	<b>ÖZET .....</b>	<b>90</b>
<b>8</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>92</b>
<b>9</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>94</b>

## ŞEKİLLER

Şekil 1: Santral sinir sisteminin anatomik bölümleri.....	4
Şekil 2: Ependimomlarda DNA metilasyon profillerine göre tanımlanan 9 farklı moleküler subgrup.....	16
Şekil 3: Ependimomlardaki moleküler subgrupların anahtar genetik ve epigenetik bulgularının şeması.....	17
Şekil 4: NF-kB sinyal yolağının şematik görünümü .....	27
Şekil 5: RELA gen füzyonu şeması.....	27
Şekil 6: p53, NF-Kb, MDM2, p14/ARF ve CDKN2A arasındaki ilişkinin şematik görünümü.....	30

## RESİMLER

Resim 1: Ependimom .....	41
Resim 2: Tanisitik Ependimom .....	41
Resim 3: Şeffaf Hücreli Ependimom ..	42
Resim 4: Papiller Ependimom .....	42
Resim 5: Anaplastik Ependimom .....	43
Resim 6: Miksopapiller Ependimom .....	44
Resim 7: Subependimom .....	44
Resim 8: Grade 3 anaplastik ependimomda EMA boyanması.....	59
Resim 9: Grade 3 anaplastik ependimomda yüksek ki-67 proliferasyon indeksi .	59
Resim 10: Ependimomlarda p53 boyanma şiddetleri .....	60
Resim 11: RELA füzyon pozitif ependimom .....	69

## TABLULAR

Tablo 1: Ependimomların derecelendirmesi.....	10
Tablo 2: Posterior fossa grub A ve grup B ependimomlar arasındaki farklar.....	15
Tablo 3: Olguların demografik ve klinik özellikleri. ....	39
Tablo 4: Olguların histolojik tip ve grade göre dağılımı.....	40
Tablo 5: Tümör lokalizasyonu ve yaş arasındaki ilişki.....	46
Tablo 6: Tümör derecesi ve yaş arasındaki ilişki.....	46
Tablo 7: Tümör lokalizasyonu ve total/subtotal rezeksiyon arasındaki ilişki.....	47
Tablo 8: Histolojik tümör tipi ve total/subtotal rezeksiyon arasındaki ilişki. ....	47
Tablo 9: Yaşa ve total/subtotal rezeksiyon arasındaki ilişki. ....	48
Tablo 10: Total/subtotal rezeksiyon ve nüks gelişimi arasındaki ilişki. ....	48
Tablo 11: Tümör lokalizasyonu ve nüks gelişimi arasındaki ilişki.....	49
Tablo 12: Histolojik tümör tipi ve nüks gelişimi arasındaki ilişki.....	49
Tablo 13: Grade 2 ependimomlarda lokalizasyon ile nüks arasındaki ilişki.....	49
Tablo 14: Grade 3 ependimomlarda lokalizasyon ile nüks arasındaki ilişki.....	50
Tablo 15: Yaşa göre tümörde nüks gelişimi.....	50
Tablo 16: Histolojik tümör tiplerine göre uygulanan ek tedavilerin dağılımı.....	52
Tablo 17: Postoperatif ek tedavi ile yaş grupları arasındaki ilişki. ....	52
Tablo 18: Ameliyat tipi ve postoperatif uygulanan tedaviler arasındaki ilişki .....	53
Tablo 19: Tümörün lokalizasyonuna göre postoperatif tedavilerin dağılımı. ....	53
Tablo 20: Nüks ile postoperatif tedavi arasındaki ilişki.....	54
Tablo 21: Histolojik tümör tiplerinde immünohistokimyasal EMA ekspresyonu. .	54
Tablo 22: Yaş ile genel sağ kalım arasındaki ilişki.....	62

Tablo 23: Histolojik tümör tiplerine göre genel sağ kalımın dağılımı.....	62
Tablo 24: Genel sağ kalım ile tümörün lokalizasyonu arasındaki ilişki. ....	63
Tablo 25: Uygulanan ek tedavi ile genel sağ kalım arasındaki ilişki.....	64
Tablo 26: Grade 2 endimomlarda lokalizasyona göre genel sağ kalım.....	65
Tablo 27: Grade 3 anaplastik endimomlarda lokalizasyona göre sağ kalım ....	65
Tablo 28: RELA FISH boyaması yapılan tümör dokularının lokalizasyon dağılımı .....	66
Tablo 29: RELA füzyon geni pozitif endimom olguları.....	68

## GRAFİKLER

Grafik 1: Ependimal Tümör Olgularının Lokalizasyona Göre Dağılımı .....	40
Grafik 2: Histolojik Tümör Tiplerinin Lokalizasyonlara Göre Dağılımı .....	45
Grafik 3: Genel sağ kalım eğrisi.....	61
Grafik 4: Histolojik tümör tiplerine göre genel sağ kalım eğrisi .....	63
Grafik 5: Tümörün lokalizasyonuna göre genel sağ kalım eğrisi .....	64

## **KISALTMALAR**

SSS: Santral Sinir Sistemi

BOS: Beyin omurilik sıvısı

ST: Supratentoryum

PF: Posterior fossa

SP: Spinal

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

HOX: Homeobox

SE: Subependimom

EPN: Ependimom

ST-SE: Supratentoriyal subependimom

PF-SE: Posterior fossa subependimom

SP-SE: Spinal subependimom

ST-EPN-RELA: RELA füzyon pozitif supratentoriyal ependimom

ST-EPN-YAP1: YAP1 füzyon pozitif supratentoriyal ependimom

PF-EPN-A: Posterior fossa ependimom grup A

PF-EPN-B: Posterior fossa ependimom grup B

SP-MPE: Spinal mikropapiller ependimom

SP-EPN: Spinal ependimom

RELA: v-relavian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A

NF-Kb: Nükleer faktör- kB

RT-PCR: Polymerase chain reaction with reverse transcription

SPSS: Statistical Package for Social Sciences



## 1 GİRİŞ

Ependimomlar, santral sinir sisteminin nöroepitelyal malign tümörleridir. (9). Santral sinir sisteminde; supratentoryal beyin, posterior fossa ve spinal kordu içeren üç majör anatomik kompartmandan gelişirler. Tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte çocuklarda daha sık görülür ve büyük kısmı posterior fossa yerleşimlidir. Prognozu çocuklarda erişkinlere göre daha kötüdür. Özellikle infantlarda 5 yıllık sağ kalım % 42-55 arasındadır (64).

Ependimomlar, radial glial hücreden köken almaktadır ve çok sayıda genetik ve epigenetik değişiklik sonucu meydana gelmektedir (3). Histopatolojik olarak tanımlanan tipleri mevcuttur. Ancak grade 2 ependimom ve grade 3 anaplastik ependimom arasındaki tanı kriterleri net olmadığından bu iki tanıda gözlemciler arası belirgin farklılıklar izlenmektedir. Ayrıca histolojik derecelendirmenin biyolojik davranış ve sağ kalım ile ilişkisi kesin olarak saptanamamıştır. Bunun yanı sıra tedavi seçenekleri olan cerrahi, radyoterapi ve kemoterapinin yararları, prognoz ve sağ kalıma etkisi, histolojik derece aynı olsa bile, lokalizasyona göre farklılık göstermektedir. Bu nedenle histopatolojik derecelendirmenin prognoz ve tedavi stratifikasyonundaki yeri sınırlıdır (16-18).

Farklı anatomik lokalizasyolardaki ependimom varyantlarının histopatolojik benzerliklerine karşın, moleküler biyolojileri heterojendir. Genetik ve epigenetik değişikliklerin yanı sıra transkripsiyonel programları birbirinden farklıdır. Bu moleküler değişiklikler demografik ve klinik özellikler ile ilişkilidir. Son zamanlarda yapılan DNA metilasyon profili çalışmalarında ependimomlarda

toplam dokuz farklı moleküler alt grup tanımlanmıştır. Bu gruplardan biri olan “RELA füzyon pozitif ependimom” yalnızca supratentoryal bölgede izlemekte olup C11orf95-RELA gen füzyonu mevcuttur (22). 2016 yılında yayınlanan DSÖ SSS sınıflamasında yer alan tek moleküler gruptur (7). Genellikle çocuklarda görülmektedir ve kötü prognoz ile ilişkilidir.

RELA, inflamasyon, immün cevap ve hücre ölümü gibi fizyolojik durumlarda düzenleyici rol oynayan NF-kB sinyal yolağında bir transkripsiyon faktörüdür. P53 tümör süpresör geni üzerine, MDM2 aktivasyonu yaparak inhibitör etkiye sahiptir. RELA gen füzyon varlığı FISH yöntemi ve ‘break apart’ probu ile gösterilebilmektedir (5). Bu moleküler grupta ayrıca homozigot CDKN2A delesyonu da sıklıkla mevcuttur. CDKN2A delesyonu p53 tümör süpresör geni üzerinde, p14/ARF’nin MDM2 üzerindeki inhibitör etkisini inhibe ederek düzenleyici etkiye sahiptir. Her iki durumda da sağlam olan TP53 geninin üzerindeki inhibitör etki kaldırılarak tümörde tedavi sağlanmasına yönelik çalışmalar mevcuttur (42).

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji Bölümü’nde 2006-2017 yılları arasında tanı almış ependimom vakalarında FISH yöntemi ile RELA füzyon gen varlığı ve immühistokimyasal olarak p53 boyanması değerlendirilmiş, bunların klinikopatolojik özelliklerle ve hastalık prognozu ile ilişkisi araştırılmıştır.

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 Santral Sinir Sistemi Anatomisi

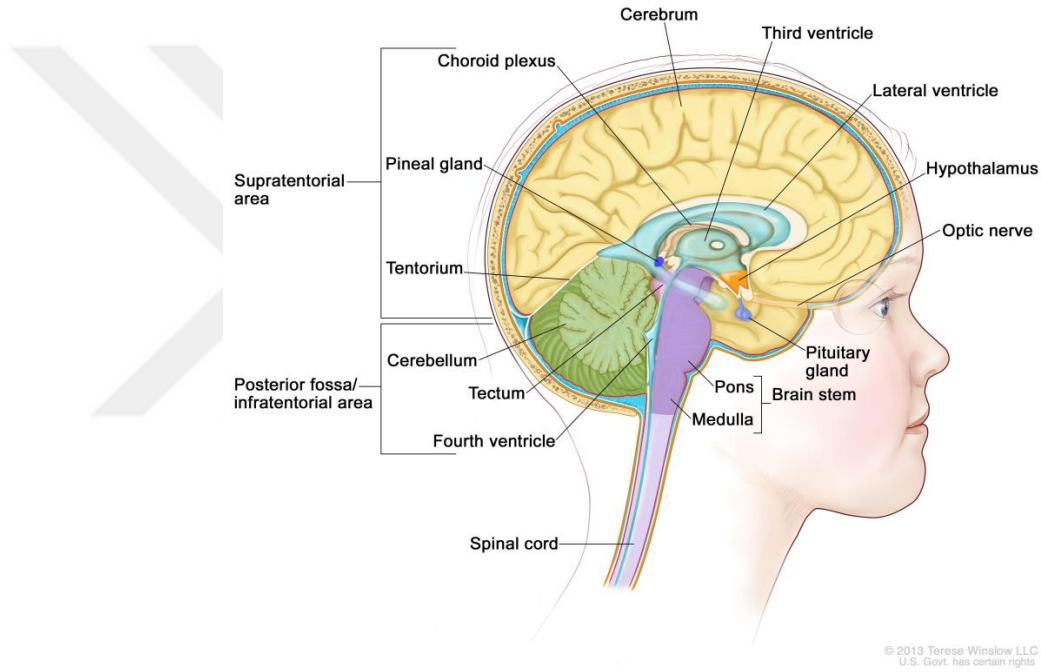
Santral sinir sistemi (SSS); beyin, beyin sapı, serebellum ve omurilikten meydana gelir. Beyin sapını oluşturan yapılar ise; medulla oblongata, pons ve mezensefalondur.

SSS dıştan içe doğru sırasıyla; dura mater, araknoid mater ve pia mater olarak adlandırılan 3 adet konnektif doku membranı ile örtülüdür. Dura mater, kranium seviyesinde kafatası iç yüzeyine sıkıca yapışırken spinal seviyelerde sadece anteriorda vertebra gövdesine tutunur ve böylece lateral ve posteriorda epidural boşluk oluşur.

Falks serebri olarak bilinen sagittal dural kıvrım, serebral hemisferler arasında uzanır. Dura materin ikinci kıvrımı olan tentoryum serebelli ise serebellumun süperior yüzü ile serebral temporal lobları birbirinden ayırır. Tentoryum serebellinin üzerinde kalan alan supratentoryum (ST), altında kalan alan infratentoryum yada posterior fossa (PF) olarak adlandırılır. ST'da; frontal, parietal, oksipital ve temporal loblar, lateral ventrikül ve üçüncü ventrikül yer alırken, PF'da; serebellum, medulla oblongata, pons, mezensefalon ve dördüncü ventrikül bulunur (Şekil 1).

SSS'inde ventriküler sistem 4 boşluktan meydana gelir. Lateral ventrikül, birinci ve ikinci ventrikülden oluşur ve herbiri monro deliği ile üçüncü ventriküle açılır. Üçüncü ventrikül akuaduktus silvius ile dördüncü ventriküle bağlanır.

Beyin omurilik sıvısı (BOS) lateral ventrikül duvarında bulunan koroid pleksus tarafından üretilir. Kranium içinde subaraknoid alanda yer alan BOS, dördüncü ventrikülde bulunan deliklerden epidural alana geçer ve spinal seviyelerde epidural boşlukta yer alır (15).



**Şekil 1:** Santral sinir sisteminin anatomik bölümleri (59)

## 2.2 Ependimal Hücre ve Ependimal Tümörlerde Hücresel Orijin

Ependimal hücre, santral sinir sisteminde ventrikül duvarlarını döşeyen, genellikle kuboidal, yuvarlak elonge nükleuslu ve kaba kromatinli hücrelerdir. Çocuklarda daha çok kolumnar ve silialı görünümündedir. Ultrasitruktürel incelemede mikrovillus, silia ve hücreler arası kompleks bağlantılar görülür (1).

Beyin omurilik sıvısının transportunda ve beyin hemostazının sağlanmasında görev alır (2).

Ependimal hücreler, subependimal nest olarak ifade edilen subventriküler kümeler şeklinde dizilim gösterebilir. Bunlar sıklıkla lateral ventrikülün ön boynuzlarının inferiorunda görülür. Erişkin dönemde kanalis sentralisin kollebe olmasıyla birlikte bu alanda da aynı kümelenmeler izlenebilir (1).

Ependimal hücreler epitelyal görünümüne karşın glial orjinli hücrelerdir (1). Yapılan bir çalışmada; ependimal hücrelerin embriyogenez sırasında 14-16. günler arasında oluştuğu, hücreler formasyon ve silia oluşumu gibi matürasyon özelliklerini ise postnatal ilk haftada kazandıkları gösterilmiştir. Aynı çalışmada, ependimal hücrelerin embriyogenez sırasında “radial glial hücre” den kaynaklandıkları ve mitoz sonrası oluşan hücreler olduklarından iddia edildiği gibi kök hücre özelliği taşımadıkları söylenmektedir (2). Başka bir çalışmada ise; ependimomlarda, radial glial hücre fenotipinde kök hücre izole edilmiş ve radial glial hücrenin bu tümörlerde histogenetik kaynak olabileceği düşünülmüştür (3).

Radial glial hücre, embriyoda nöral kök hücre fonksiyonu göstermekte olup erişkin nöral kök hücrenin oluşumuna sebep olmaktadır. Gelişim boyunca SSS'nin farklı bölgelerinde yerleşim gösteren radial glial hücre, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarını içeren intrinsik biyolojik farklılıklar göstermektedir (60). Bu sebeple Johnson ve arkadaşları ependimal tümörlerde, farklı bölgelerden ve gelişimsel olarak farklı genetik mutasyonla transformasyona duyarlı farklı nöral kök hücrelerden kaynaklanan subgrupların olabileceğini

düşünerek yaptıkları çalışmada; ependimomlarda anatomik bölgelere spesifik farklı kök hücre gruplarını tesbit etmişlerdir. Serebral ependimomlarda serebral nöral kök hücrenin, spinal ependimomlarda adult spinal nöral kök hücrenin potansiyel hücre orijini olabileceği kanısına varmışlardır. Bu bilgiler ışığında Pajtler ve arkadaşları yakın zamanda, ependimal tümörlerde metilasyon profili çalışmaları yaparak anatomik bölgelere spesifik ve sık görülen gen mutasyonuna özgün, ependimal tümör subgruplarını tanımladılar. (4,5,22). Tanımlanan moleküler grupların bölgesel değişiklik gösteren hücre orijininden kaynaklandığı düşünülmektedir (22)

## **2.3 EPENDİMAL TÜMÖRLER**

### **2.3.1 Tanım ve Sınıflama**

Ependimal tümörler, serebral ventriküler sistemi döşeyen ependimal hücrelere morfolojik, immünofenotipik ve ultrastrüktürel benzerlikler gösteren glial tümörlerdir (6). Ependimal tümörlerin 2016 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yapılan son sınıflaması aşağıdaki gibidir (7).

#### Ependimal tümörler:

1. Subependimom
2. Miksopapiller ependimom
3. Ependimom

- Papiller ependimom

- Clear cell ependimom

- Tanisitik ependimom

4. Ependimom, RELA füzyon pozitif

5. Anaplastik ependimom

DSÖ sınıflamasında halen başka başlıklar altında yer alan, bazı morfolojik ve immünofenotipik özellikleri ependimomlarla benzerlik gösteren bazı glial tümörler olup (astroblastom gibi) bunlarında gelecekte ependimomlar arasına dahil edilebileceği belirtilmektedir (8).

### **2.3.2 Epidemiyoloji**

Ependimomlar, ABD’de tüm nöroepitelyal tümörlerin % 6,8’ini, spinal kord ve meninks tümörlerinin % 21’ini oluşturmaktadır. Tüm yaş gruplarında görülebilir. Tanı yaşı arttıkça tümörün görülme insidansı azalmaktadır. Çocuklarda daha sık görülür ve 3 yaş altındaki SSS tümörlerinin % 30’unu oluşturur (9).

Ancak; histolojik varyant, moleküler grup ve anatomik bölgeye göre insidans, büyük değişkenlik gösterir. Örneğin posterior fossa ependimomları çocuklarda daha sık görülür ve ortalama yaş 6,4’dür (11). Spinal ependimomlar 30-40 yaşlarında pik yapar ve çocuklarda nadir olarak görülürler.

Erkeklerde kadınlara göre daha sık olup (E/K: 1.77/1 ) bu oran farklı anatomik bölgelere ve moleküler gruplara göre değişkenlik gösterir (7).

### 2.3.3 Lokalizasyon

Ependimomlar, santral sinir sisteminde 3 major anatomik komponentte izlenir (7).

- Supratentorial beyin ( %30 )

- Posterior fossa ( %60 )

- Spinal kord ( %10 )

İnfratentorial ependimomlar çocuklarda sık görülür ve 3 yaş altında %80 oranında posterior fossada yerleşim gösterirler (10). Erişkinlerde ise sıklıkla spinal ve infratentorial ependimomlar sık görülür ve görülme oranları yaklaşık olarak birbirine eşittir (14).

Supratentorial ependimomlar % 60 oranında lateral ventrikül ve 3. ventrikülden, % 40 oranında ise ventrikül ile bağlantısı olmayan serebral hemisferlerden kaynaklanır. Posterior fossa ependimomları ise çoğunlukla 4. ventrikülde yerleşim gösterirken bazen serebellopontin köşede de izlenebilir. Spinal kordda klasik ependimom için en sık görülme yeri servikal ve servikotorasik bölgedir. Buna karşın miksopapiller ependimom daha çok conus medullaris ve cauda equinada yerleşim gösterir.

Nadiren SSS dışında ependimom bildirilmiş olup, bunlar overler, broad ligament, pelvis, abdominal kavite, mediasten ve akciğerde tanımlanmıştır (7).

#### **2.3.4 Klinik Özellikler**

Ependimomlarda klinik bulgular tümörün lokalizasyonuna göre değişir. Posterior fossa yerleşimli tümörlerde, intrakraniyal basınç artışı ve hidrosefaliye bağlı baş ağrısı, bulantı, kusma ve baş dönmesi görülebilir. Serebellar ve beyin sapı yerleşimli tümörlerde, ataksi, görme bozukluğu, parezi ve kraniyal sinir defisitleri gelişebilir. Supratentoriyal ependimomlarda, fokal nörolojik defisit, epilepsi ya da intrakraniyal basınç artışına bağlı bulgular ve küçük bebeklerde süturlarda ayrışmaya bağlı baş çevresinde artış meydana gelebilir. Spinal ependimomlarda sırt ağrısı, etkilenen seviyeye göre fokal motor ve duyu defisiti ya da paraparezi görülebilir (7).

#### **2.3.5 Radyolojik Özellikler**

MRI da genellikle kendini sınırlayan iyi sınırlı kitle şeklinde görülür ve kontrast madde tutma eğilimi gösterir. Supratentoriyal yerleşimli olanlarda tümörün ventriküler sistemle iletişimi vardır ya da ventrikül çevresinde yerleşim gösterir. Bu tümörlerde kistik değişiklik, intratümöral hemoraji ve kalsifikasyon görülebilir. Bu özellik 4. ventrikül tabanında yerleşmiş posterior fossa ependimomlarında da sık rastlanan bir bulgudur (7).

İntramedüller yerleşimli tümörlerde tutuluma uğrayan segmentlerde fuziform genişleme görülür ve bu sıklıkla sirinks oluşumuna neden olur (15).

Ependimomlar, 4. ventrikülün yaptığı kısıtlamadan BOS'nın çıkış deliğini kullanarak kurtulabilir ve bu şekilde medulla spinalisi ve servikal spinal kordu

çember gibi kuşatabilir. MRI BOS yayılımını göstermede başarılı olup bu yayılım evreleme, prognoz ve tedavide anahtar rol oynar (7).

### 2.3.6 Derecelendirme

Ependimomlar; DSÖ tarafından günümüzde halen geçerli olarak kullanılan, tümörün histolojisini esas alarak oluşturulmuş, hastalığın gidişini ve sonucunu ön gören toplam 3 grade şeklinde derecelendirilmiştir. (Tablo 1) (7).

**Tablo 1:** Ependimomların derecelendirmesi

Grade I	Grade II	Grade III
Subependimom	Klasik ependimom	Anaplastik ependimom
Miksopapiller ependimom	Papiller ependimom	Ependimom, RELA füzyon pozitif
	Clear cell ependimom	
	Tanisitik ependimom	
	Ependimom, RELA füzyon pozitif	

DSÖ'ne göre grade I tümörler, sıklıkla spinal bölgede yerleşim gösteren miksopapiller ependimom ile kraniyal bölgede yerleşim gösteren subependimom'dur. Grade I ependimomların göreceli olarak ayırt edilmesi ve tanınması kolaydır. Genellikle erişkinlerde görülür ve klinik gidişleri iyidir (12).

Klasik ependimomlar, grade II ve grade III (anaplastik) tümörler olarak iki dereceye ayrılmıştır. Literatürde ependimom serilerinde grade II/III oranı 17:1'den 1:7 ye kadar değişkenlik göstermektedir ve bu tutarsız veriler multifaktöriyel sebeplerle açıklanmaktadır (17,19,20).

DSÖ anaplastik ependimomun histolojik özelliklerini; artmış selülerite, belirgin mitoz, palizadlanan nekroz ve mikrovasküler proliferasyon olarak tanımlamakta olup belirgin mitoz ifadesinde net sayı belirtilmemiştir. Ayrıca selülerite artışı, mikrovasküler proliferasyon ve palizadlanan nekroz grade II tümörlerde de fokal olarak izlenebilmektedir. Tümörün derecelendirilmesinde kullanılan histopatolojik tanı kriterlerinin sınırlarının net olmaması ve tümör içinde izlenen heterojenite gibi nedenler subjektif değerlendirmeye yol açmakta ve gözlemciler arası uyumu azaltmaktadır (7). Histolojik özellikler ile prognoz ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, anaplastik ependimom tanısı için hiperselülerite, vasküler proliferasyon, >4 mitoz/10 büyük büyütme alanı ve nekroz kriterlerinden en az ikisinin varlığı şeklinde tanımlanarak yapılan değerlendirmenin yaşam süreleri ile anlamlı korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (43).

Bunun yanı sıra grade II ve grade III tümörlerde, tümör derecesi ile hastalığın gidişi ve sağ kalım arasındaki ilişki bir çok çalışmada tutarlı olmayıp histolojik dercelendirmenin risk stratifikasyonunda kullanılmasını tartışmalı kılmaktadır (16-18). Tümörün lokalizasyonu, hastanın yaşı ve rezeksiyon derecesi gradelemeden bağımsız olarak tedavinin planlamasında rol oynamaktadır.

Bu gibi sınırlayıcı faktörler nedeniyle gradelemenin, özellikle grade II-III tümörlerde, ependimomda teröpatik stratifikasyonda literatürde kullanılmadığı belirtilmektedir. Ependimal tümörlerin biyolojik karakterlerini ortaya koyan son gelişmelerle, her bir anatomik lokalizasyonda üç olmak üzere klinik, demografik ve moleküler dokuz farklı antite tanımlanmıştır. Tüm bu gelişmeler

ependimomlarda kullanılan histolojik gradelemenin ileride tümü ile bırakılabileceğini göstermektedir (7). Bunun yerine tümörlerde saptanan spesifik genetik değişikliklerin ve moleküler grupların terapötik risk stratifikasyonunda, prognostik ve prediktif faktör olarak kullanılması önerilmektedir (12,21-23).

### **2.3.7 Genetik Özellikler**

Ependimomlar, büyük kısmı kromozom kazanımı şeklinde olan çok geniş spektrumda sitogenetik aberrasyonlar gösterirler. Sıklıkla kromozom 1q, 5, 7, 9, 11, 18 ve 20 de kazanım, kromozom 1p, 3, 6q, 6, 9p, 13q, 17 ve 22 de kayıplar bildirilmiştir (24,25).

Spinal ependimomlarda uzun süredir bilinen genetik aberrasyon, nörofibromatozis tip 2 genindeki herediter germline ve sporadik mutasyonlardır (26,39). Ayrıca homeobox (HOX) ailesi transkripsiyon faktörlerindeki up regülasyon da bu bölgedeki tümörler için karakteristiktir (31).

Supratentorial ependimomlarda genellikle kromozom 9 da kayıp olup (27), özellikle tekrarlayan CDKN2A homozigot delesyonu gösterilmiştir (28). Aynı zamanda Notch and EphB-Ephrin sinyalinde up regülasyon izlenir (31).

1q kazanımı; daha çok posterior fossa ependimomlarında izlenmekte olup, bir çok çalışmada kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (29).

### **2.3.8 Moleküler Sınıflama**

Ependimal tümörler, farklı anatomik lokalizasyonlarda histolojik açıdan benzer görünüme sahip olmalarına rağmen, gösterdikleri genetik ve epigenetik değişiklikler ve transkripsiyon programlarındaki farklılıklar nedeni ile heterojen

moleküler biyolojiye sahiptirler (5,23,25,27,32-35). Bu moleküler değişiklerin, farklı çapraz türler arasında yapılan çalışmalarda, bölgesel değişiklik gösteren hücre orijinlerinin bir yansıması olduğu dşnlmektedir (3,4,5).

Son zamanlarda DNA metilasyon profilleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, ependimomlarda belli anatomik bölgeler ile güçlü bağlantılar gösteren birbirinden farklı moleküler gruplar saptanmıştır (5,23,36,38). Pajtler ve arkadaşları; tüm yaş gruplarını ve anatomik bölgeleri içeren 500'den fazla ependimal tümörde yaptıkları DNA metilasyon profili çalışmalarında toplam dokuz farklı moleküler alt grup tanımlamışlardır. Gruplar  anatomik bölgenin (supratentoryum, posterior fossa ve spinal bölge) herbirinde üçer ayrı moleküler grup şeklinindedir. Bu guruplar genetik, epigenetik, transkripsiyonel, demografik ve klinik olarak birbirinden farklılık göstermektedir. Primer ve nüks tümörlerin DNA metilasyon profilleri birbiriyle örtüşmektedir (22).

Subependimom (SE) morfolojisine sahip olan tümörler; supratentoriyal subependimom (ST-SE), posterior fossa subependimomu (PF-SE) ve spinal subependimom (SP-SE) olarak sınıflandırılmıştır.

RELA ya da YAP1 füzyon geni içeren ST gruplar; RELA füzyon pozitif supratentoriyal ependimom (ST-EPN-RELA), YAP1 füzyon pozitif supratentoriyal ependimom (ST-EPN-YAP1) olarak sınıflandırılmıştır.

Saptanan diğer iki PF grubu; posterior fossa ependimom grup A (PF-EPN-A) ve posterior fossa ependimom grup B (PF-EPN-B), gösterdikleri klinik

farlılıklar nedeni ile daha önce tanımlanmış olan PF-A ve PF-B grubu tümörler ile örtüşmektedir (23,33,38).

SP gruptaki diğer iki alt grup spinal miksopapiller ependimom (SP-MPE) ve spinal ependimom (SP-EPN) olarak tanımlanmıştır (22) (Şekil 2 ve 3).

SP-EPN'lardaki uzun süredir bilinen NF2 genindeki herediter germline ve sporadik mutasyonlara ek olarak; son zamanlarda, ST-EPN'ların %70'den fazlasında, "v-relavian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (RELA)" ile, özellikleri iyi tanımlanamamış "C11orf95" geninin füzyonu ile oluşan "C11orf95-RELA" füzyon geni saptanmıştır. RELA füzyonu göstermeyen ST-EPN'larda YAP1 füzyonu gösterilmiştir. Bu füzyon YAP1 ile daha çok MAMLD1 ve daha az oranda FAM118B arasında oluşmaktadır. Supratentoriyal bölgede izlenen RELA ve YAP1 füzyon genleri diğer anatomik bölgelerde saptanmamıştır (5,22) .

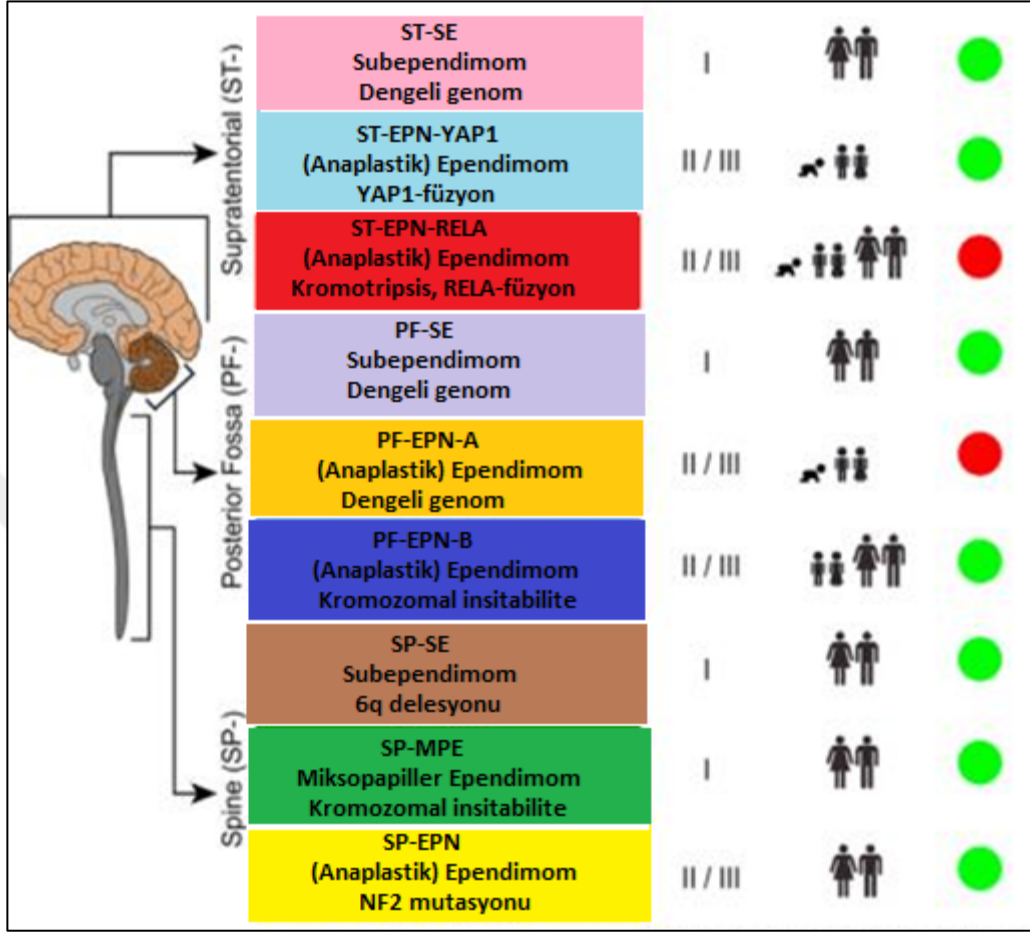
PF'da tanımlanan PF-EPN-A grubu daha çok genç yaşta ve erkeklerde görülmekte olup genellikle serebellumun laterale uzanım göstermektedir. Bu grup tümörler çoğunlukta DSÖ grade III tümörlerdir ve prognozları kötüdür. Bu grupta daha çok dengeli kromozom profili gözlenirken, PF-EPN-B grubunda çok sayıda kromozom aberrasyonu içeren genomik instabilite saptanmıştır. PF ependimomlarında geniş kapsamlı genomik ve epigenomik çalışmada herhangi bir tekrarlayan somatik mutasyon gösterilmemiştir (23). Posterior fossa tümörlerinde bu guruplandırma DSÖ derecelendirme sistemine göre hasta ve hastalık hakkında daha çok bilgi vericidir (41) (Tablo 2).

**Tablo 2:** PF grup A ve grup B epidemiyolojileri arasındaki farklar (23)

<b>Grup A</b>	<b>Grup B</b>
Çocuk	Erişkin
Genellikle erkek	Her iki cinsiyette eşit
Grade III	Grade II
İnvaziv	Nadiren invaziv
Rekküren	Nadiren rekküren
Metastatik	Nadiren metastatik
Sağ kalım kötü	Sağ kalım iyi

Moleküler subgruplar spesifik yaş grupları ile ilişkilidir. Tüm üç SE benzeri grup erişkinlerde görülmektedir. İki SP grup (SP-MPE ve SP-EPN) çoğunlukla erişkinlerde nadiren çocuklarda, PF-EPN-B adolesan ve genç erişkinlerde, PF-EPN-A küçük çocuklarda görülmektedir. ST-EPN-YAP1 ve ST-EPN-RELA büyük oranda çocuklarda görülmekle birlikte ST-EPN-RELA önemli oranda (% 23) erişkinlerde görülür (22).

Moleküler gruplar arasında genel sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalım belirgin değişkenlik göstermektedir. PF-EPN-A ve ST-EPN-RELA kötü prognozludur. 10 yıllık genel sağ kalım oranı % 50, progresyonsuz sağ kalım oranı % 20'dir. Diğer gruplarda durum daha iyi olup 5 yıllık genel sağ kalım oranı % 100, 10 yıllık sağ kalım oranı % 88-100 arasındadır (22).



**Şekil 2:** Ependimomlarda DNA metilasyon profillerine göre tanımlanan 9 farklı moleküler subgrup görülmektedir. RELA ve YAP1 füzyonu ile karakterize 2 ayrı ST- EPN grubu mevcuttur. ST-EPN-RELA ile PF-EPN-A grubu kötü prognoz göstermektedir (22).

Anatomik komponent	SPİNAL (SP-)			Posterior fossa (PF-)			Supratentoriyal (ST-)		
Moleküler Subgrup	SE	MPE	EPN	SE	EPN-A	EPN-B	SE	EPN-YAP1	EPN-RELA
Histopatoloji	sub-ependymoma (WHO I)	myxopapillary ependymoma (WHO I)	(anaplastic) ependymoma (WHO II/III)	sub-ependymoma (WHO I)	(anaplastic) ependymoma (WHO II/III)	(anaplastic) ependymoma (WHO II/III)	sub-ependymoma (WHO I)	(anaplastic) ependymoma (WHO II/III)	(anaplastic) ependymoma (WHO II/III)
Genetik	6q del.	CIN	CIN	dengeli	dengeli	CIN	dengeli	aberr. 11q	aberr. 11q
Onkojenik driver	?	?	NF2	?	?	?	?	YAP1-fusion	Chromothripsis RELA-fusion
Tümör lokalizasyonu									
Yaş dağılımı (yıl)									
Cinsiyet dağılımı									
Hasta sağkalımı (ay)									

**Şekil 3:** Ependimomlarda tanımlanan moleküler guruplardaki anahtar genetik, epigenetik bulgular ve klinik özellikleri şematik olarak görülmektedir. CIN, Kromozomal insitabilite (22)

### 2.3.9 Prognoz ve Tedavi

Ependimomlarda klinikopatolojik prognostik değişkenleri saptamak önemli fakat zordur (13). Başlıca prognostik faktörler; hasta yaşı, rezeksiyon derecesi, tümörün yerleşim yeri, histolojik tipi, derecesi ve moleküler alt gruplardır (7). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada moleküler alt grupların, rezeksiyon derecesinin ve 1q kazanımının ependimal tümörlerde bağımsız prognostik parametre olduğu gösterilmiştir (22).

*Yaş;* çocuklarda erişkinlere göre prognoz daha kötüdür. Bu çocuklarda PF ependimomlarının daha sık görülmesine karşı erişkinlerde SP ependimomların sık görülmesinin klinik bir yansıması olabilir. Çocuklarda yaş arttıkça genel sağ kalım oranı artmaktadır (7).

*Rezeksiyon derecesi;* uzun zamandır bilinen tutarlı tek klinik prognostik göstergedir (40). Total rezeksiyon artmış sağ kalım ile ilişkilidir (20,48,49).

*Tümörün yerleşim yeri;* önemli bir prognostik faktördür. ST ependimomlar özellikle çocuklarda PF ependimomlarına göre daha iyi prognoz göstermektedir (47). SP ependimomlar intrakranial ependimomlara göre daha iyi prognoza sahiptir. Ancak geç rekküresler görülebilmektedir. Örneğin, mikropapiller ependimomlar genellikle iyi prognoza sahip olmalarına karşın, tümüyle çıkarılmaları güç olduğundan nüksedebilirler. Özellikle çocuklarda daha agresif klinik seyir görülebilir (45).

*Tümörün histolojisi ve derecesi;* anaplazinin net tanımlanamaması ile ilgili kaygılar tam çözülememiş major bir sorundur. Birçok dekattır yapılan

çalışmalarda patolojik değişkenler ve hastalığın sonucu arasındaki ilişki tutarsızdır (7). Bununla birlikte anaplastik ependimomların daha kötü prognozla ilişki olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (20,43). Sonuç olarak grade II ve grade III tümörler arasındaki ayırım güvenilmez olduğundan çok az klinik derecelendirmeyi tedavi stratifikasyonunda kullanmaktadır (17).

Ependimom varyantları içinde şeffaf hücreli tümörlerin daha agresif klinik seyirli olduğu düşünölmektedir (44). Subependimomlar iyi prognoza sahip tümörler olup, total rezeksiyonun mümkün olamadığı durumlarda dahi nüks genellikle beklenmez (46).

*Moleküler sınıflama;* ST-EPN-RELA ve PF-EPN-A grupları kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (22).

Tedavi; yaygın standart uygulama maksimum güvenli total rezeksiyon ve bunu takip eden fokal radyoterapidir (40). Ayrıca radikal rezeke edilmiş ST tümörlerde adjuvan tedavi verilmeden nüksün olmadığı grubun varlığını gösteren yayınlar mevcuttur (61). Bu durum daha iyi hasta stratifikasyonuna ihtiyacın olduğunu gösteren bir örnektir. Özellikle küçük çocuklarda radyoterapinin yan etkisinden kaçınmak ya da radyoterapiyi ertelemek için birçok klinik protokolde halen adjuvan kemoterapi yer almaktadır. Ancak çok sayıda klinik çalışmada kemoterapinin tanı anında ya da rekkürenste sağ kalıma yararı olmadığı gösterilmiştir (62,63).

Ependimom tedavisindeki güncel tedavi seçenekleri içinde efektif bir yöntemin olmaması nedeni ile prognostik göstergelerin ve adjuvan kemoterapi

ihtiyacı olan grupların belirlenebilmesi ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilebilmesi için tümördeki genetik mekanizmalar ve moleküler yollar önem kazanmıştır (30).

## **2.4 Histopatolojik Tipler**

### **2.4.1 Subependimom**

Subependimomlar; genellikle nöroradyolojik olarak ya da otopsilerde insidental olarak saptanan (50), yavaş ve ekzofitik büyüme gösteren, iyi sınırlı ve prognozları oldukça iyi DSÖ grade I tümörlerdir (7). Orta yaş ve ileri yaşta daha sık görülmekle birlikte tüm yaş gruplarında görülebilir (51).

Genellikle intraventriküler yerleşim gösterirler. %50-60 oranında 4. ventrikülde izlenmekte olup bunu sırasıyla lateral ventrikül ve 3. ventrikül takip eder. Spinal kordda intramedüller olarak izlenir (7).

Histolojik olarak yoğun fibriler matriks içinde, monoton, yuvarlak ya da oval nüklüslü neoplastik hücrelerin oluşturduğu kümelenmeler şeklinde görülür. Fokal hücre kümeleri arasında hücre içermeyen fibriler alanlar karakteristik bir bulgudur. Mikrokistler sıktır, kalsifikasyon ve hemoraji alanları içerebilir. Seyrek olarak mitoz ve mikrovasküler proliferasyon görülebilmekle birlikte, nekroz genellikle bulunmaz (7,52). Bazen hücresel uzantılar damarlar etrafında toplanıp ependimal psödorozet şeklini alabilir. Bazı ependimom olgularının yüzeysel kısmında subependimom alanları bulunabilir. Bu tip olguların “mikst ependimom-subependimom” olarak sınıflandırılarak, ependimom komponentine göre grade verilmesi önerilmektedir (50).

İmmünohistokimyasal olarak GFAP ve S-100 pozitifler. Nöral belirteçlerden NCAM ve NSE ile düşük spesifitede boyanma izlenebilir. Ependimomların tersine EMA ekspresyonu subependimomlarda nadirdir. Ki-67 proliferasyon indeksi % 1'in altındadır (7).

#### **2.4.2 Miksopapiller Ependimom**

Miksopapiller ependimomlar, tipik olarak cauda equina, konus medülleris ve filum terminalde yerleşim gösteren yavaş büyüyen, iyi sınırlı, daha çok genç erişkinlerde görülen DSÖ grade I tümörlerdir (7). Daha nadir olarak spinal kordun diğer seviyelerinde, intrakraniyal ve sakrokoksigeal bölgede subkutan dokuda görülebilirler (52).

Histolojik olarak değişen oranda papiller yapılanma izlenir. Papiller yapılar, santralinde çevresinde miksoid stroma içeren damar yapısı ve etrafında küboidal ya da içsileşme gösteren tümör hücrelerinin dizelenmesi ile oluşur. Damar çevresi ile tümör hücreleri arasında AB-PAS ile boyanan miksoid materyal görülmesi tipik bulgusudur. Bazen papiller yapı izlenmez, tümörde poligonal hücre tabakaları ya da fasiküller oluşturan içsi hücreler arasında müsin gölcükleri ile karakterize mikrokistik görünüm izlenir. Perivasküler hyalinizasyon çok belirgin olabilir. Mitoz çok nadir olup, nekroz ve mikrovasküler proliferasyon genellikle saptanmaz (7,52).

İmmünohistokimyasal olarak GFAP, S-100, vimentin ve CD99 pozitifdir. Pansitokeratin sıklıkla pozitif olarak izlenirken keratin 7, keratin 20, keratin 5/6

ve CAM5,2 negatiftir. Klasik ependimomların aksine EMA ekspresyonu genellikle görülmez, ki-67 proliferasyon indeksi düşüktür (53-54).

### **2.4.3 Ependimom**

Genellikle ventriküler sistem ve spinal kanal boyunca bulunan, iyi sınırlı, DSÖ grade II tümörlerdir.

Histolojik olarak perivasküler psödorozetler ve gerçek ependimal rozetlerle karakterlidir. Psödorozet yapısında, neoplastik hücreler damarlar çevresinde ışınal dizilim gösterir ve hücrelerin fibriler uzantıları damarlar çevresinde nükleussuz fibriler bir alan oluşturur. Gerçek ependimal rozetlerde ise neoplastik hücreler spinal kordun santral kanalına benzeyen yuvarlak lümen etrafında dizilim gösterirler. Tümörde nadiren tübüler yapı şeklinde ependimal kanallar görülebilir. Psödorozet yapısı gerçek ependimal rozetlere göre daha sık izlenir.

Tümör fibriler matris içinde değişen yoğunlukta dağılmış yuvarlak ya da oval nükleuslu küçük hücrelerden oluşur. Çevre beyin parankimine infiltrasyon göstermez, net bir sınır ile ayrılabilir. Damar duvarlarında hyalinizasyon, miksoid dejenerasyon, distrofik kalsifikasyon ve tümör içi kanama alanları görülebilir. Mitoz nadirdir. Geografik nekroz alanları görülebilir. Ancak palizadlanan nekroz ve mikrovasküler proliferasyon fokal alanlarda sınırlıdır ve beraberinde hafif sitolojik atipi ve düşük mitoz sayısı görülebilir (7).

İmmünohistokimyasal olarak GFAP ekspresyonu özellikle psödorozet alanlarındaki ince sitoplazmik uzantılarda saptanır (54). EMA ependimomların

büyük kısmında ependimal rozetlerin lümen yüzeyinde ya da ependimal hücrelerin sitoplazmalarında perinükleer noktasal veya halka şeklinde eksprese olur. S-100 ve vimentin pozitifdir (56). Olig2 ekspresyonu seyrekdir (57). Fokal sitokeratin pozitifliği bildirilen vakalar mevcuttur (54). Nadiren ependimomlar nöronal antijenleri eksprese edebilirler (58).

Üç adet histolojik alt tipi mevcuttur. Bu tipler klasik ependimom ve anaplastik ependimomun baskın paterni olarak görülebilirler.

### ***Papiller Ependimom***

Nadir görülen bir histolojik varyant olup iyi gelişmiş papiller yapılar ile karakterizedir. Mikroskopik olarak papiller yapıların yanı sıra, tek tabakalı küboidal tümör hücreleri ile döşeli düz yüzeyle ve birbiri ile temas halinde parmaklı projeksiyonlar görülür. Bu hücreler immünohistokimyasal olarak GFAP pozitifdir. Ayırıcı tanıda koroid pleksus papillomları, papiller meningiomlar ve metastatik tümörler yer alır.

### ***Şeffaf Hücreli Ependimom***

Tümör hücreleri şeffaf sitoplazmalıdır. Oluşan perinükleer halo görünümü nedeni ile oligodendrositlere benzerler. Genellikle supratentorial yerleşimlidir ve genç hastalarda görülür. Diğer varyantlara göre daha agresiftir (55). Ayırıcı tanıda oligodendrogliom, santral nörositom, hemangioblastom ve renal hücreli karsinom yer alır. İmmünohistokimyasal olarak GFAP ve EMA pozitifliği tanıya yardımcıdır.

### ***Tanisitik Ependimom***

İsmi, kaynaklandığı hücre olduğu düşünülen paraventriküler yerleşimli tanisitlerden alır. Genellikle spinal kordda yerleşim gösterir ve genç yaşta görülür. Histolojik olarak fibriler stroma içinde, iğsi nükleusları olan elonge hücrelerin oluşturduğu düzensiz fasiküler yapılar gözlenir. Arada belli belirsiz psödorozet oluşumu mevcuttur. Gerçek rozet oluşturmazlar. Anaplastik özellik genellikle görülmez. Ayırıcı tanıda pilositik astrositom ve schwannom düşünülmelidir.

### **2.4.4 Anaplastik Ependimom**

Anaplastik ependimomlar klasik ependimomlar gibi iyi sınırlıdırlar, ancak nadiren çevre beyin dokusu içine invazyon gösterebilirler. Histolojik olarak klasik ependimomlara benzer bulgular gösterse de, selülerite ve nükeus sitoplazma oranı artmıştır. Genellikle psödorozet içerirler, buna karşın gerçek rozetler görülmez. Mitoz sıktır, mikrovasküler proliferasyon ve palizadlanan nekroz genellikle bulunur.

### **2.4.5 Ependimom, RELA Füzyon Pozitif**

Ependimal tümörlerde yeni yapılan moleküler sınıflamada ilk kez tanımlanmış olup (22), 2016 yılında yayınlanan DSÖ SSS tümörleri sınıflamasında yerini almıştır (7). C11orf95-RELA füzyon gen pozitif ST yerleşimli ependimomlardır. Histopatolojik özelliklerine göre DSÖ grade II/III olarak sınıflandırılır. RELA füzyon gen pozitifliği gösteren ependimomlar, tüm çocukluk çağı ST tümörlerinin üçte ikisinden fazlasını oluştururken, PF ya da SP ependimomlarda bu füzyon geni görülmemektedir. Bu grupta yer alan

ependimomların, üç ST moleküler ependimom grubu (ST-SE, ST-EPN-YAP1 ve ST-EPN-RELA) içinde en kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir (5,22).

Bu gruptaki ependimomlar spesifik morfolojik özellik göstermezler. Diğer supratentorial ependimomlarda görülen mikroskopik özellikleri sergilemekle birlikte, dallanma gösteren damarsal patern ve şeffaf hücre değişikliği bu tipte sık görülür. İmmünohistokimyasal olarak diğer ependimomlar gibi EMA ve GFAP ekspresyonu gösterirler. L1CAM ekspresyonunun RELA füzyonu ile korelasyonu bildirilmiştir ancak başka glial tümörlerde de görülmekte olup spesifik değildir (7).

## **2.5 RELA**

Nükleer faktör- kB (NF-kB), transkripsiyon regülatör ailesinin bir üyesidir. Hücrel inflamatuvar cevaptaki ana mediatördür. İnflamasyon, immün cevap ve hücre ölümü gibi fizyolojik durumlarda düzenleyici rol oynar. Bir çok tümörün oluşumunda NF-kB sinyalizasyonu temel yolak olmasına rağmen bu yolağı oluşturan birimlerde mutasyon nadirdir.

RELA, NF-kB sinyal yolağında başlıca transkripsiyon faktörüdür ve RELA tarafından kodlanan p65 proteini, bu yoldaki anahtar efektördür. Dışardan gelen stimulus (TNF gibi) RELA içeren heterodimer oluşumuna sebep olarak NF-kB yolağını aktive eder. Oluşan heterodimer nükleusa gider ve gen transkripsiyonunu gerçekleştirir (Şekil 4).

ST ependimomların %70'inde RELA ile C11orf95, tam anlaşılammış gen, arasında onkogenik füzyon mevcuttur. C11orf95-RELA füzyonu kromozom

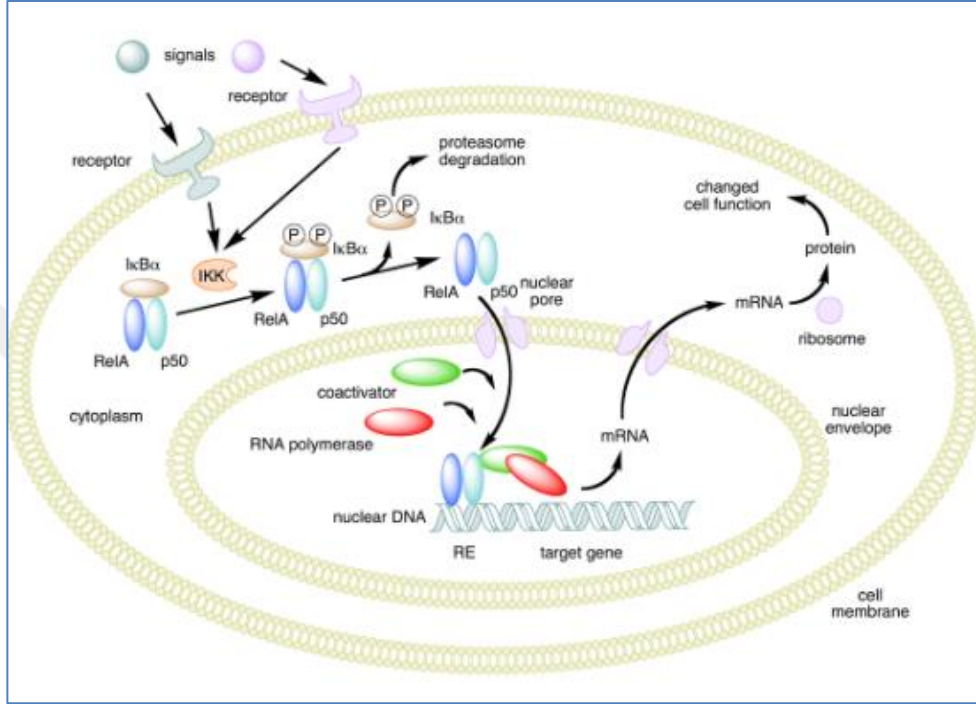
11q13.1 üzerinde kromotripsis sonucu oluşmaktadır. Kromotripsis, bir kromozomun (bazen iki) bir sebepten patlama ile sayısız küçük parçalara ayrılması ve daha sonra bazı parçaların kaybolup diğerlerinde yanlış sırayla biraraya gelmesi şeklindedir. Nadiren, C11orf95 ya da RELA, başka genler ile kromotripsis sonucu meydana gelen füzyon oluşturabilir.

RELA füzyon pozitif ependimomlarda tümörögenезisin yürümesi için nöronal kök hücrelerde yalnızca C11orf95-RELA füzyonun aberan ekspresyonunun varlığı yeterlidir. Parker ve arkadaşlarının farelerde yaptıkları çalışmada, C11orf95-RELA füzyon proteinleri önce sitoplazmada birikmiş, sonra nükleusa spontan geçiş göstermiş ve NF- kB hedef genlerini aktive etmiştir. Sonuç olarak nöronal kök hücreleri hızlıca ependimom hücrelerine dönüşmüştür (5).

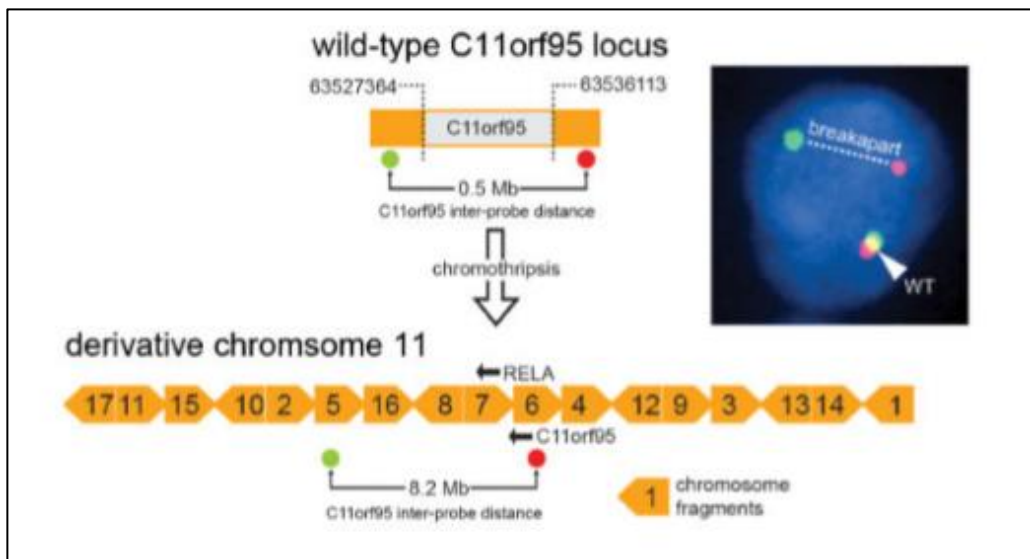
Aynı çalışmada C11orf95-RELA füzyon pozitif ST ependimomlarda geniş bir subgrubun (7 tip) olabileceğinden bahsedilmiştir ve en sık görülenleri RELA füzyon tip1 ve tip2 olarak belirtilmiştir (5). Pajtler ve arkadaşlarının bu iki tipe yönelik yaptıkları RNA sekanslama ve hedef analiz çalışmalarında, ST-EPN-RELA tümörlerin 22/25 (%88)'inin RELA füzyon tip 1ve tip 2 olduğu gösterilmiştir. RELA füzyon tip1 ve tip 2 negatif olan diğer vakaların RELA füzyon tip 3-7 sub grubundan olabileceği belirtilmektedir (22).

Homozigot CDKN2A delesyonu, sıklıkla ST-EPN-RELA tümörlerde görülmüş olup ST-EPN-YAP1 tümörlerde bulunmamıştır ve yapılan çalışmalarda kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. (23,25). ST-EPN-RELA tümörlerde

izlenen kromotripsisin CDKN2A ile ilişkili olabileceği (TP53 yolunu etkileyerek) düşünülmüş ancak direkt korelasyon bulunamamıştır (22).



Şekil 4: NF-κB sinyal yolağının şematik görünümü



Şekil 5: RELA gen füzyonu şeması (5)

Parker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada C11orf95-RELA translokasyonu, hem RT-PCR (Polymerase chain reaction with reverse transcription) hemde FISH yöntemi kullanılarak ST-EPN'ların %67'sinde gösterilmiştir. RT-PCR ve FISH sonuçları birbiri ile örtüşmekte olup translokasyon her iki yöntem ile de PF-EPN'larda mevcut değildir (5).

C11orf95-RELA gen füzyon varlığı çeşitli yöntemler ile gösterilebilir ancak en kolay yol formalin fikse parafin bloktaki dokuları kullanarak interfaz FISH yöntemi ve 'break apart' probu ile göstermektir. Kromotripsis şeklindeki rearranjman durumunda probe ile iki renk olarak gösterilen (kırmızı ve yeşil) sinyallerde ayrılma gözlenir (5) (Şekil 5).

İmmünohistokimyasal olarak NF-kB sinyal yolunda yer alan CCN1 ve L1CAM protein ekspresyonunun C11orf95-RELA translokasyonu ile güçlü bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir (5). Fakat L1CAM diğer beyin tümörlerinde de ekspresyona olabilmektedir (7).

RELA, ST ependimomlarda yüksek rekürrens gösteren genetik alterasyondur ve C11orf95-RELA füzyon proteini potansiyel terapötik hedefdir (5).

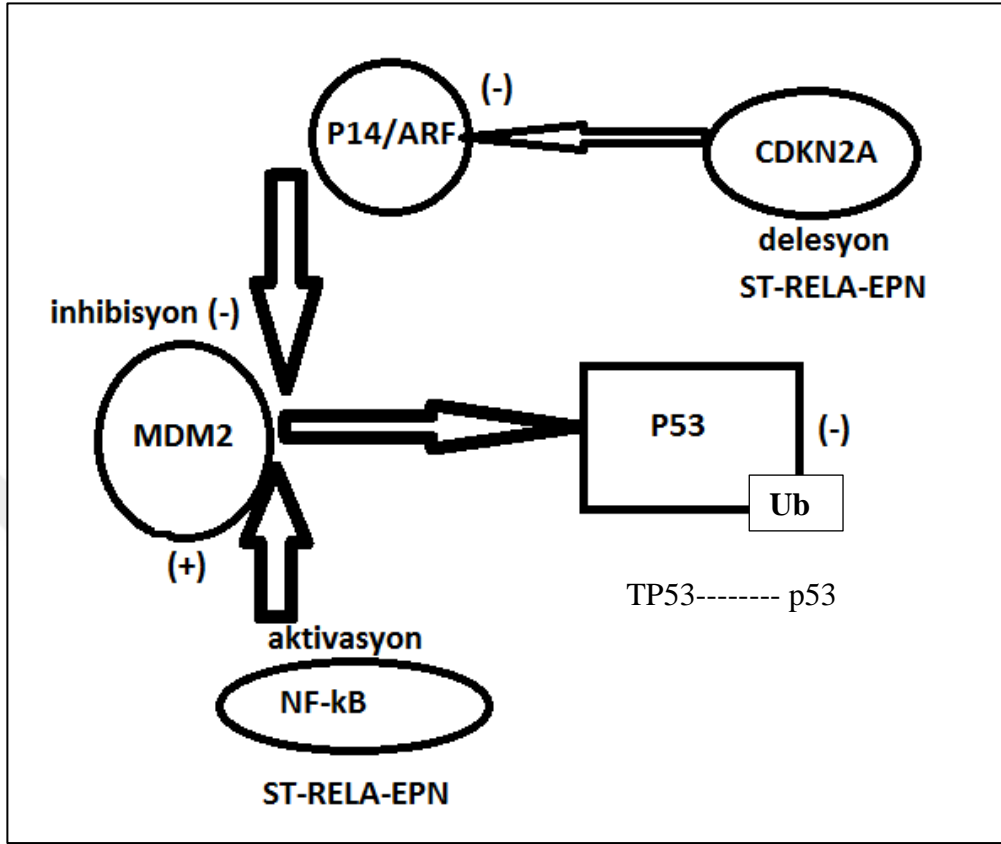
## **2.6 p53**

P53 geni; 17 kromozomun kısa kolunda lokalize bir tümör süpressör genidir. Hücre siklusunun düzenlenmesinde ve apoptoziste görev almakta olup, mutasyonunda veya tam kaybında çeşitli neoplaziler gelişmektedir. Tüm kanserlerin yarısından fazlasında p53 geninde mutasyon gösterilmiştir.

Bu genin ürünü olan p53 proteini nükleer bir proteindir ve yaşam süresi çok kısa (5-20dk) olduğu için standart immünohistokimyasal yöntemler ile saptanamaz. Ancak mutant gen tarafından üretilen p53 proteini nükleusta birikir ve saptanabilir düzeylere ulaşır. Ayrıca p53 geninin tümü ile kaybında da immünohistokimyasal olarak boyanma izlenmez (49).

P53 tümör süpressör geni, MDM2 tarafından inhibe edilmektedir ve P14/ARF proteininde MDM2 üzerinde inhibisyon etkisine sahiptir. ST-RELA ependimomlarda yer alan NF-kB yolu aktivasyonu MDM2 ekspresyonunu arttırmakta olup, nükleusta MDM2'nin p53 ile dimer oluşturup p53 proteinine ubiquitinini bağlanmasını sağlamaktadır. Böylece TP53 geninden genomik stres nedeni ile üretilen p53 proteini nükleusta birikmektedir. Yine ST-RELA ependimomlarda görülen CDKN2A genindeki delesyon p14/ARF üzerinde inhibisyon etkisi oluşturmaktadır. Böylece p14/ARF'nin MDM2 üzerindeki inhibisyon etkisini ortadan kaldırmaktadır ve sonuçta fazla miktarda oluşan p53 proteini nükleusta birikmektedir (Şekil 6).

Ependimomlarda TP53 gen mutasyonu nadirdir ancak yapılan çalışmalarda immünohistokimyasal p53 pozitifliği sık görülmektedir. Bunun nedeninin yukarıda anlatılan etkileşim olduğu düşünülmektedir. Bir çalışma, TP53 geni sağlam olduğu için kullanılacak MDM2 inhibitörü gibi bir ilaçla tümürlü hücrede p53 geninin aktive edilebileceğini desteklemektedir (42).



**Şekil 6:** P53, NF-Kb, MDM2, p14/ARF ve CDKN2A arasındaki ilişkinin şematik görünümü

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1 Olguların Seçilmesi, Verilerin Toplanması ve İncelenen Parametreler**

Çalışmamızda, 2006 ile 2017 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda eksizyon ya da biyopsi materyalinde ependimal tümör (subependimom, miksopapiller ependimom, ependimom ve anaplastik ependimom) tanısı almış olgular değerlendirilmiştir.

Hastalara ait yaş, cinsiyet, başvuru şikayeti, aile öyküsü, tümör yerleşim yeri, tümör çapı, patoloji raporu, DSÖ'ne göre tümör derecesi, ameliyat tipi (total ya da subtotal rezeksiyon), takipte lokal nüks gelişimi, klinik takip süresi (genel sağkalım süresi) ve olguların bu süre sonunda hayatta olup olmadıkları bilgilerine hastane otomasyon sisteminden ulaşılmıştır. Hastaların bölümümüzde mevcut ilk gelen materyalleri esas alınmıştır. Nüks eden olguların mevcut tüm biyopsileri olgu içinde değerlendirilmiştir.

Her bir olgunun H&E boyalı preparatları ve immünohistokimya preparatları iki gözlemci tarafından ışık mikroskopunda (Olympus Bx50), x40, x100, x200 ve x400 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmelemede incelenmiştir.

#### **3.2 Olguların Hazırlanması**

Olgular, tümörün histolojik tipi ve DSÖ'ne göre tümör derecesi açısından yeniden değerlendirilmiştir. Her vaka için; tümör hücrelerinin yoğun olduğu, tesbit artefaktının az olduğu ve nekroz içermeyen bir adet lam seçilmiştir. Bu lamlar üzerinde x40 büyütmede modifiye doku mikrodizini için mikroskobik alan

işaretlenmiştir. Seçilen lamların parafin bloklarından önce p53 immünohistokimyasal çalışması için tam doku kesiti alınmıştır. Takiben FISH yöntemi ile RELA çalışmak üzere işaretli mikroskobik alanlar 4 mm'lik deri punch biyopsi aleti ile bloktan çıkarılmıştır. Çıkarılan dokular için, satır ve sütunlarda hangi olgunun bulunduğunu gösteren haritalar hazırlanarak karışıklık önlenmiştir. Hazırlanan harita eşliğinde dokular, 4 satır ve 3 sütun içerecek şekilde ve bir blokta toplam 12 doku olacak şekilde tekrar bloklanmışlardır.

### **3.3 İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi**

%10'luk formaldehit ile tespit edilen dokulara ait seçilen bloklardan 4 mikrometre kalınlığındaki hazırlanan kesitler, bir lamda iki olgu içerecek şekilde biyopsi numarası belirtilerek pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. P53 (anti-p53 primer antibody, DO-7, fare monoklonal, 1:50 dilüsyon) ekspresyonunu belirlemek için otomatik immünohistokimya boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazında boyama yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak overin seröz karsinomu kullanılmıştır. Uygulanan immünohistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Pozitif şarjlı lamlara 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınmıştır.
2. Lamlar Ventana cihazına yerleştirilmiştir.
3. Antijen retrieval için p53 EDTA buffer (Ph:8.0) içinde 1 saat cihazda bekletilmiştir.
4. Primer antikör inkübasyonu için p53 cihazda 36 dakika bekletilmiştir.

5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal DAB detection kit” kullanılmıştır.
6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlanmıştır.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatılmıştır.

### **3.4 İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Değerlendirilmesi**

*P53*; Tümör hücrelerinde nükleer boyanma pozitif kabul edilmiş olup kesitte en yoğun boyandığı odakta 100 adet hücre içinde pozitif boyanan hücre sayısı belirlenmiştir. Boyanma şiddeti üç kategoride değerlendirilmiştir. Mikroskopta x40 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmede kolaylıkla görülebilen koyu renkte boyanmalar “şiddetli”, x100 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmede görülebilen boyanmalar “orta şiddetli”, x200 (objektif lens x 10x oküler lens) büyütmede görülebilen boyanmalar “zayıf” olarak değerlendirilmiştir. Heterojen boyanmalarda değerlendirilen odaktaki baskın boyanma dikkate alınmıştır.

*Ki-67*; Birçok olgunun arşivde boyalı preparatı mevcut olup eksik vakaların boyanması tamamlanmıştır. Hücrelerde izlenen nükleer boyanmanın en yoğun olduğu odaklar dikkate alınarak sayılan 100 hücrede pozitif boyanan hücre sayısı saptanarak oranlama yapılmıştır.

*EMA*; Tümör hücrelerinde perinükleer noktasal tarzda, sitoplazmik halka şeklinde ve lüminal boyanmalar değerlendirilmiştir. Az sayıda tümör hücresinde bile izlenen boyanmalar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### **3.5 Floresan İn Situ Hibridizasyon Boyama Yöntemi**

FISH yöntemi için; RELA FISH Probu (20 test) ve FFPE FISH PreTreatment Kit 1 kullanılmıştır. Punch biyopsilerin gömülmesi ile hazırlanan tüm parafin bloklara C11orf95-RELA gen füzyonunu belirlemek için aşağıdaki prosedüre göre boyama yapılmıştır.

1. Mikrotom cihazı kullanılarak 4 µm kalınlığında kesitler alınır.
2. Alınan kesitler 50-55 derecedeki arıtılmış su banyosu setinin üzerine koyulur.
3. Kesitler su banyosundan pozitif şarjlı lam üzerine alınır.
4. Lamlar havada kurutulmaya bırakılır.
5. Lamlar 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek deparafinize edilir.
6. Lamlar ksilende 30 dakika bekletilir.
7. Lamlar oda ısısındaki %96 etanol içinde 10 dakika bekletilerek dehidrate edilir.
8. Lamlar 2-5 dakika havada kurumaya bırakılır.
9. Lamlar 96 (± 2) °C'ye ısıtılmış “ FFPE FISH PreTreatment Kit 1” içinde 15 (± 2) dakika bekletilir.
10. Lamlar 3 dakika arıtılmış su içinde bekletilir.

11. Lamlar  $37 (\pm 1) ^\circ\text{C}$ 'ye ısıtılmış proteaz solüsyonu içinde  $20 (\pm 2)$  dakika bekletilir.
12. Lamlar 3 dakika arıtılmış su içinde bekletilir.
13. Lamlar 1 dakika  $2 \times 55^\circ\text{C}$  solüsyonunda bekletilir.
14. Lamlar 1 dakika %70'lik etanol içinde bekletilir.
15. Lamlar 1 dakika %85'lik etanol içinde bekletilir.
16. Lamlar 1 dakika %100'lük etanol içinde bekletilir.
17. Lamlar 2-5 dakika havada kurumaya bırakılır.
18. Lam üzerine 10  $\mu\text{l}$  prob damlatılır ve hemen lamel ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılır.
19. Lamellerin etrafı rubber cement ile çevrelenir.
20. Lamlar Hybrite cihazına yerleştirilip kapağı kapatılır ve önceden programlanan prosedür başlatılır (denatürasyon  $80^\circ\text{C}$ 'de 5 dakika, hibridizasyon  $37^\circ\text{C}$ 'de 20 saat)
21. Bir gece hibridizasyondan sonra lamların üzerindeki rubber cement çıkarılır ve daha önceden oda ısısında hazırlanmış yıkama tamponu-1'in içerisine bırakılır. Burada 2-5 dakika bekleyen lamlar çıkarıldığında kolayca lamellerden ayrılır.
22. Hemen daha önce hazırlanmış  $74 (\pm 1) ^\circ\text{C}$  ısısında yıkama tamponu içerisinde 2 dakika bekletilir.
23. Lamlar oda ısısında 2 dakika havada kurumaya bırakılır.
24. Lam üzerine 10  $\mu\text{l}$  DAPI damlatılarak uygun boyutta lamel ile kapatılır.

25. Lamlar değerlendirme anına kadar karanlık alanda -20°C de buzdolabında bekletilir.

### **3.6 Floresan İn Situ Hibridizasyon Boyamanın Değerlendirilmesi**

Değerlendirme BX51 Olympus floresan mikroskobu ve Leica DM600B floresan mikroskobu ile yapılmıştır. Herbir dokuda tümör hücre nükleusları değerlendirilmiştir. 11. kromozom üzerinde olan ilgili gen lokusu yeşil ve kırmızı renk olarak işaretlenmiştir. İnterfaz nükleusta normal kromozomda, break apart FISH probu ile yeşil ve kırmızı renk yanyana bitişik ya da kesişmiş şekilde saptanmış olup, iki sinyalin kesiştiği alanda sarı renk görülmüştür. Yeşil ve kırmızı sinyalin birbirinden belirgin şekilde ayrılması 'break apart' olarak kabul edilmiştir. Literatürde kullanılan sınır değer bulunmamakla birlikte, bir çalışmada C11orf95-RELA füzyonunun genellikle fokal kayıp şeklinde izlendiği söylenmiştir (5). Biz çalışmamızda rahatlıkla görülebilen ve çok sayıda hücrede break apart tesbit edilen vakaları pozitif olarak değerlendirdik. Teknik nedenle boyamanın suboptimal olduğu vakalarda FISH boyaması tekrarlanmıştır.

### **3.7 İstatistiksel Analiz**

Araştırma verisi SPSS (Statistical Package for Social Sciences ) 15.0 istatistik paket programı aracılığı ile değerlendirilmiştir.

Tanımlayıcı istatistikler sunulurken yaş ve tümör boyutu için ortalama  $\pm$  standart sapma, sınıflandırılabilir değişkenler için vaka sayıları ve yüzdeleri verilmiştir. Çalışmada kullanılan kategorik değişkenler olgu sayıları, frekans

dağılımları (%) biçiminde ifade edilmiş olup istatistiksel değerlendirmede Pearson Ki-Kare, Yates Düzeltmeli Ki-kare, Fisherin Kesin Testi, Kruskal Wallis, Spearman korelasyon testleri kullanılmıştır. Hastaların klinikopatolojik özelliklerinin sağ kalım üzerindeki etkisi için Kaplan-Meier testi kullanılmış ve Long-Rank analizi ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık değeri  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir.

### **3.8 Etik Kurul Onayı**

Bu çalışma için Gazi Üniversitesi Etik Komisyonu'nun 11.04.2017 tarihinde 04 sayılı toplantısında etik kurul onayı alınmıştır.

## 4 BULGULAR

### 4.1 Hastaların Demografik, Klinik Özellikleri ve Tümör Karakteristikleri

Çalışmamızda ependimal tümör tanısı almış 110 olgu değerlendirilmiştir. Hastaların yaş aralığı 0 – 77 olup, ortalama yaş  $35,76 \pm 18,03$ 'dür. 18 yaş ve altı hasta sayısı 20'dir. Hastaların % 57,3'ü erkek ve % 42,7'si kadındır.

Hastaların en sık başvuru şikayeti olarak SP yerleşimli olanlarda bel ağrısı, boyun ağrısı, yürüme güçlüğü ve kollarda güçsüzlük, PF yerleşimli olanlarda ise bulantı, kusma ve denge kaybı ön sırada yer almakla birlikte iki hastada yüz felci tanımlanmıştır. ST yerleşimli tümörlerde baş ağrısı en sık başvuru nedenidir. Bu hastaların yaklaşık yarısında istemsiz kasılmalar ve nöbet izlenmiştir.

Ulaşılan epikrizlerde 3 hastanın ependimom tanısından önce glial tümör tanısı ile izlendiği görülmüştür. Bu tanılar başka merkezlerde olup, bir hastanın grade 1 astrositom tanısı, diğer hastanın astrositom ve oligodendrogliom olarak iki ayrı glial tümör tanısı mevcuttur. Üçüncü hastada ise grade 2 glial tümör ifadesi yer almakta olup, net tiplere ulaşılamamıştır. Bu hastalardan birine ait camlar bölümümüzde değerlendirilmiş ve ependimom dışı glial tümör tanısına varılmıştır. Ayrıca bir hasta nörofibromatozis tanısıyla izlenirken PF yerleşimli grade 2 ependimom saptanmıştır.

Birçok olgunun preoperatif radyolojik görüntülemesi dış merkezde yapıldığı için ya da radyoloji raporunda tümör çapı belirtilmediği için tam veriye

ulaşılamamıştır. Ulaşılabilen olgularda (36/110) en küçük tümör çapı 0,8 cm, en büyük tümör çapı 7,2 cm'dir. Ortalama tümör çapı  $2,82 \pm 1,34$  cm'dir (Tablo 3).

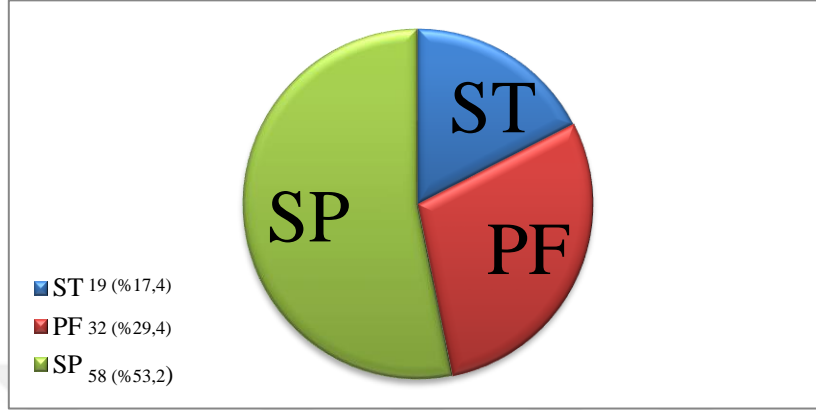
**Tablo 3:** Olguların demografik ve klinik özellikleri

<b><u>Yaş</u></b>	Ortalama yaş: $35,76 \pm 18,03$
<b><u>18 yaş altı hasta sayısı</u></b>	20 (% 18,2)
<b><u>18 yaş üstü hasta sayısı</u></b>	90 (% 81,8)
<b><u>Cinsiyet</u></b>	
Kadın	47 (% 42,7)
Erkek	63 (% 57,3)
<b><u>Tümör çapı</u></b>	Ortalama tümör çapı: $2,82 \pm 1,34$ cm

#### **4.1.1 Olgularda tümör lokalizasyonu, histolojik tümör tipi ve derecesi**

Tümör en sık SP bölgede (% 53,2) yerleşim göstermektedir. PF yerleşimi 2. sıklıkta (% 29,4) ve ST bölge (% 17,4) 3. sıklıkta yer almaktadır (Grafik 1). Bir olgunun lokalizasyon bilgisine ulaşılamamıştır. Tümör ST bölgede en sık lateral ventrikül ve 3. ventrikülde (7/19) lokalizedir. Yanısıra frontal lob (6/19), paryetal lob (4/19), temporal lob (1/19) ve talamik bölgede (1/19) de görülmektedir. PF da en sık 4. ventrikülde (23/32) izlenmekte olup, bunu sırasıyla serebellum (4/32), beyin sapı (4/32) ve pontoserebellar köşe (1/32) takip etmektedir. SP bölgede ise en sık lomber lokalizasyonda (23/58) ve buna yakın oranda servikal ve servikotorasik lokalizasyonda (22/58) görülmektedir. Daha az sıklıkla torakal lokalizasyon (13/58) izlenmiştir.

**Grafik 1:** Ependimal Tümör Olgularının Lokalizasyona Göre Dağılımı

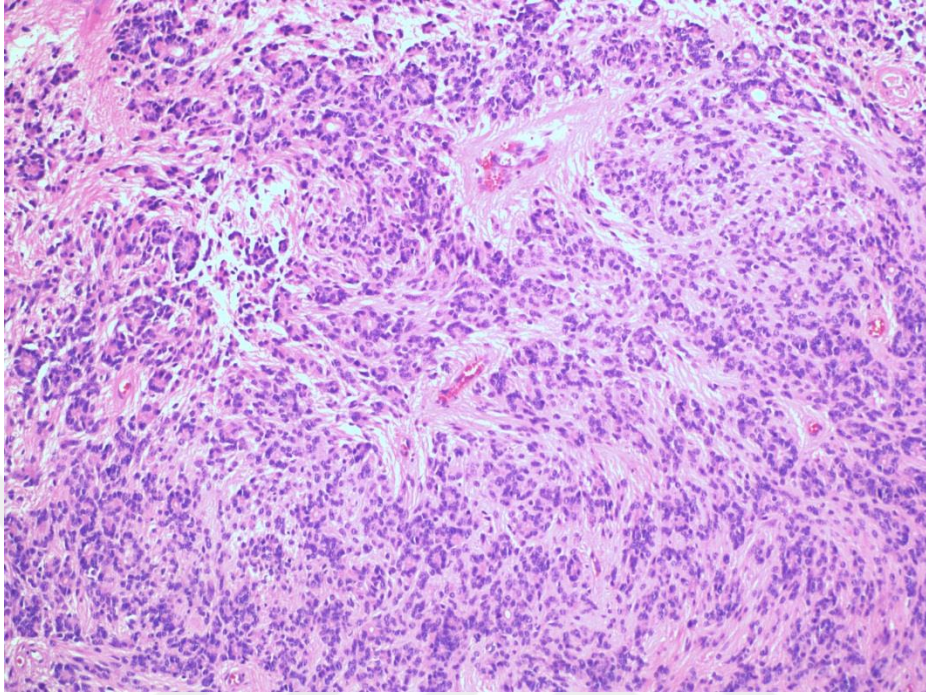


Hastalarda en sık izlenen histolojik tümör tipi grade 2 ependimom (%68,2)'dur. Bunu sırasıyla grade 3 anaplastik ependimom (%13,6), grade 1 mikropapiller ependimom (% 11,8) ve grade 1 subependimom (% 6,4) takip etmektedir. Grade 2 ependimom olgularının, 7'si (% 9,3) tanisitik ependimom, 1'i (% 1,3) şeffaf hücreli ependimom ve 1'i (% 1,3) papiller ependimomdur. 1 olgu (% 6,6) grade 3 şeffaf hücreli anaplastik ependimom şeklinde raporlanmıştır (Tablo 4) (Resim 1-7).

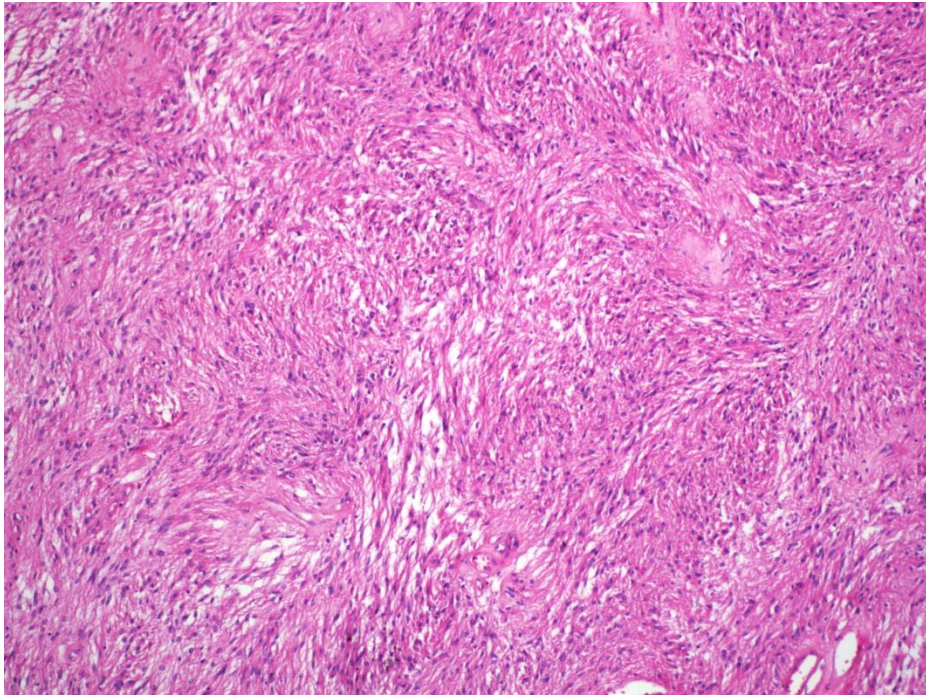
**Tablo 4:** Olguların histolojik tip ve grade göre dağılımı

Histolojik Tip	Grade	Toplam
Ependimom	Grade 2	75 (% 68,2)
Tanisitik	(% 68,2)	(7)
Papiller		(1)
Şeffaf hücreli		(1)
Anaplastik Ependimom	Grade 3	15 (% 13,6)
Şeffaf hücreli	(% 13,6)	(1)
Mikropapiller Ependimom	Grade 1	13 (% 11,8)
Subependimom	(% 18,2)	7 (% 6,4)

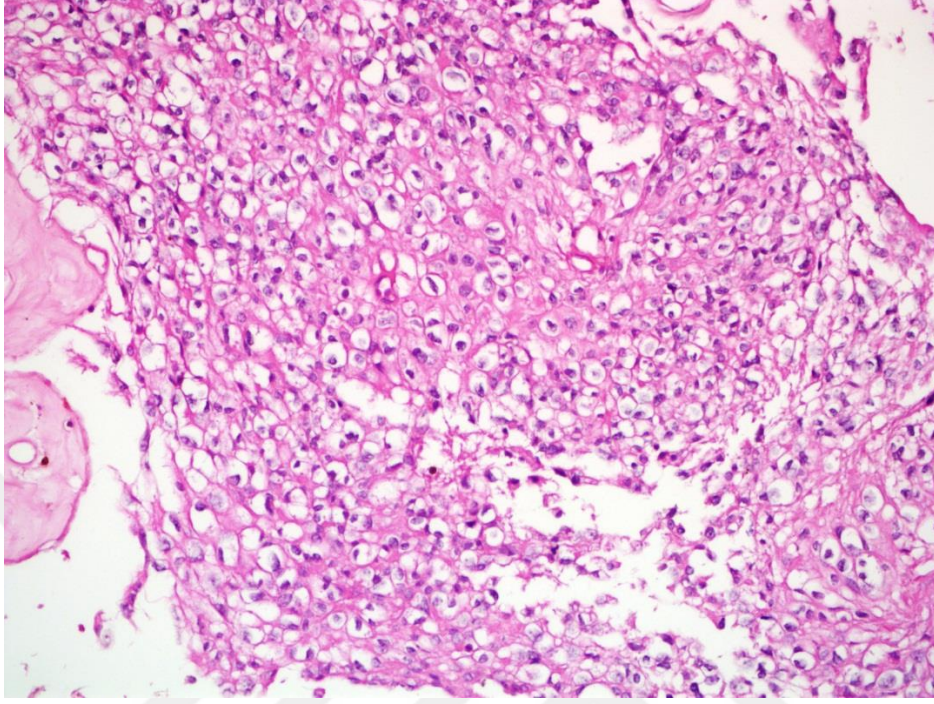
#: Sütun yüzdesi



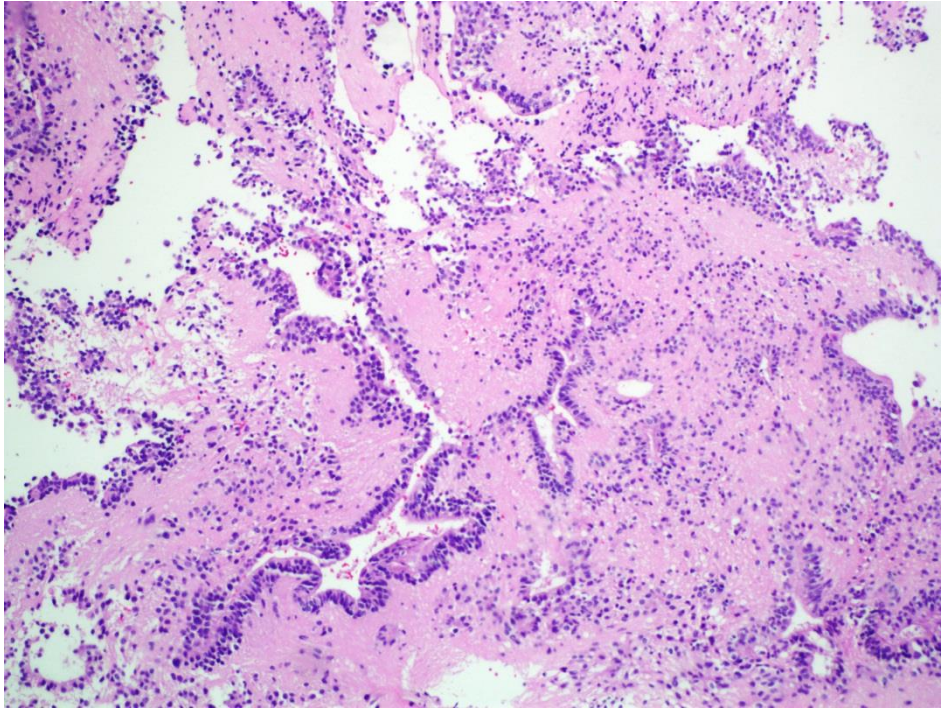
**Resim 1:** Ependimom, DSÖ grade 2 (H&E x100).



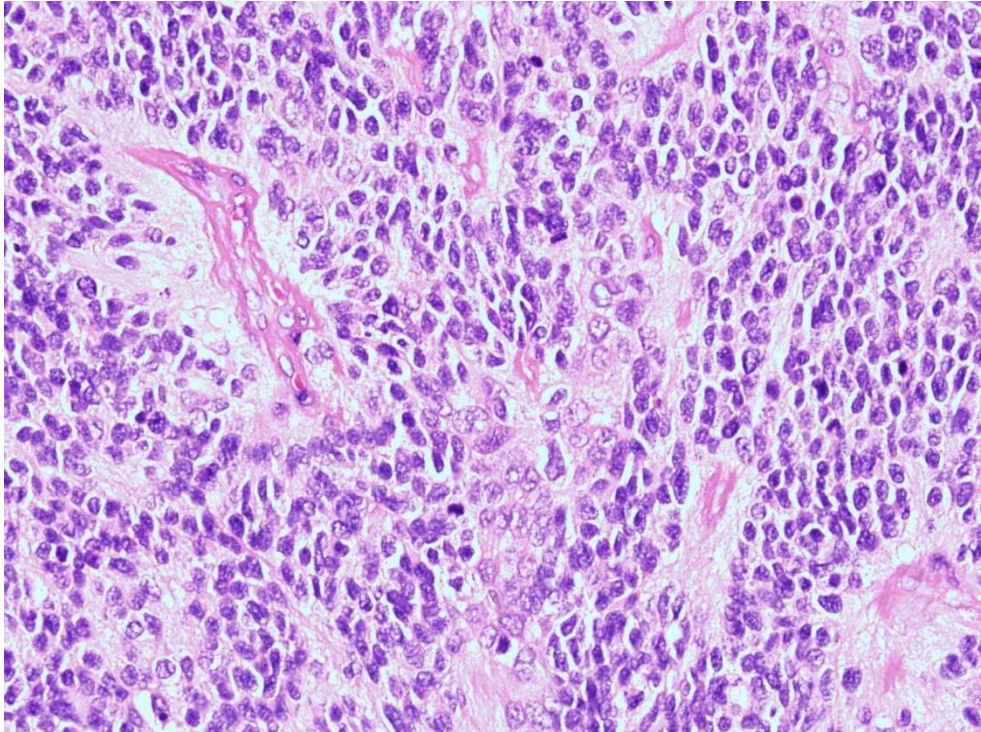
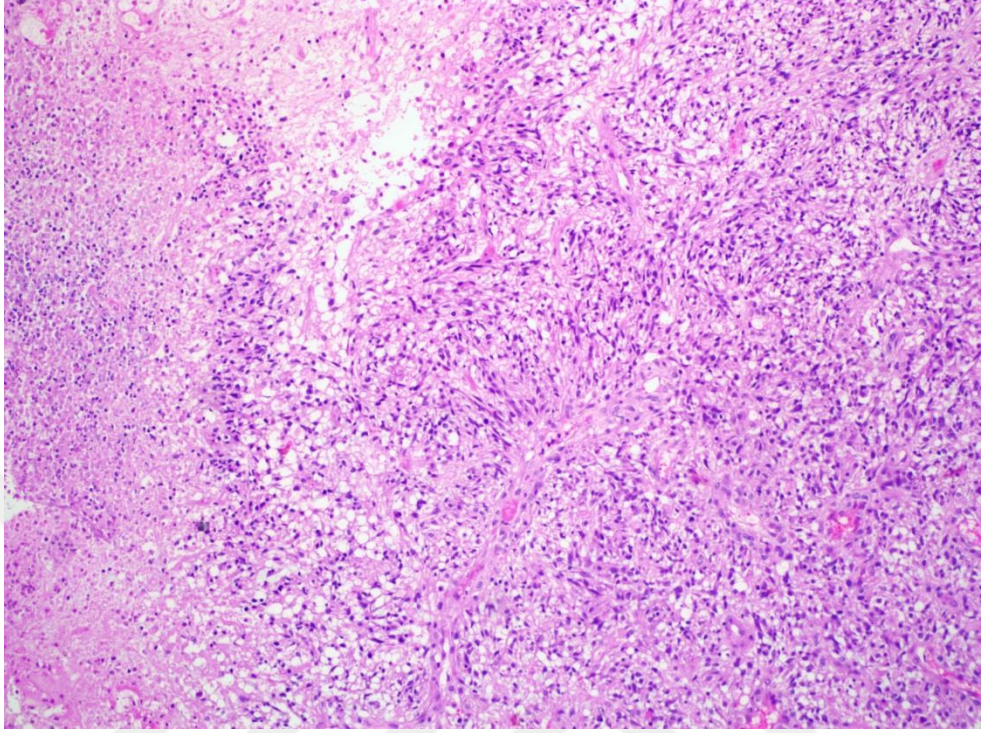
**Resim 2:** Tanisitik Ependimom, DSÖ grade 2 (H&E x100).



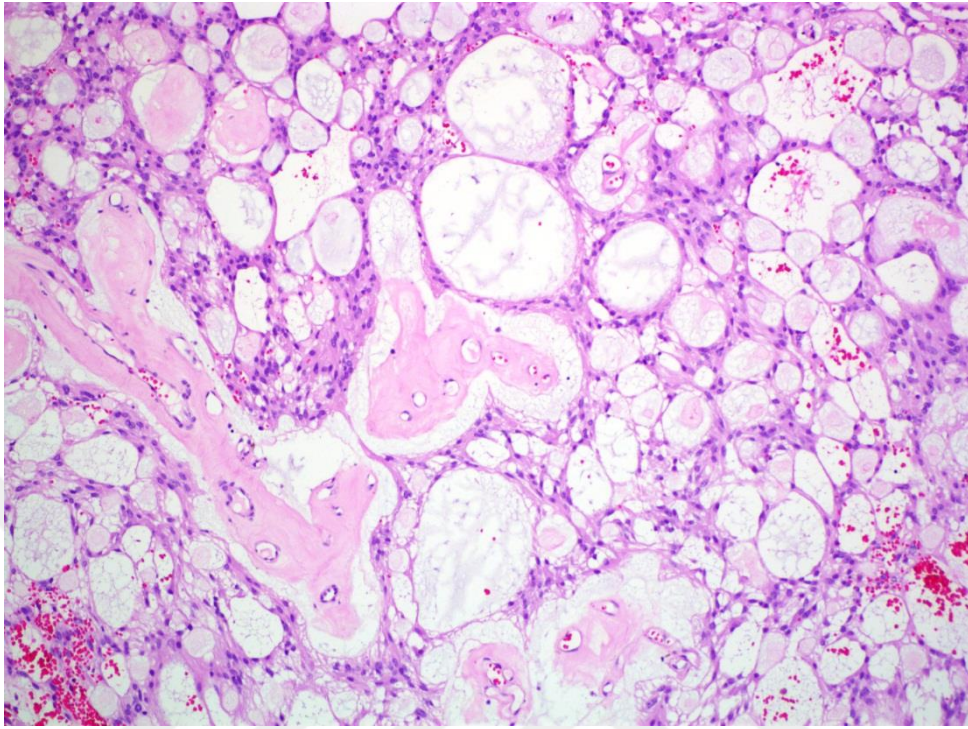
**Resim 3:** Şeffaf Hücreli Ependimom, DSÖ grade 2 (H&E x200).



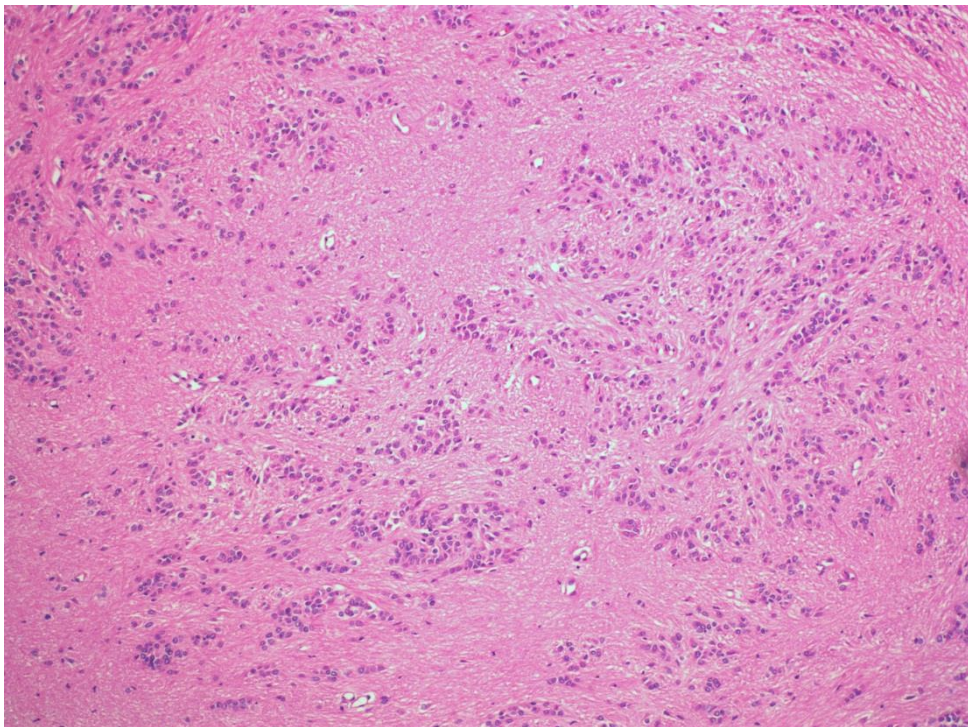
**Resim 4:** Papiller Ependimom, DSÖ grade 2 (H&E x100).



**Resim 5:** Anaplastik Ependimom, DSÖ grade 3. Palizadlanan nekroz (üst resim, (H&E x100)) artmış selülerite, atipi ve mitoz (alt resim (H&E x200)).



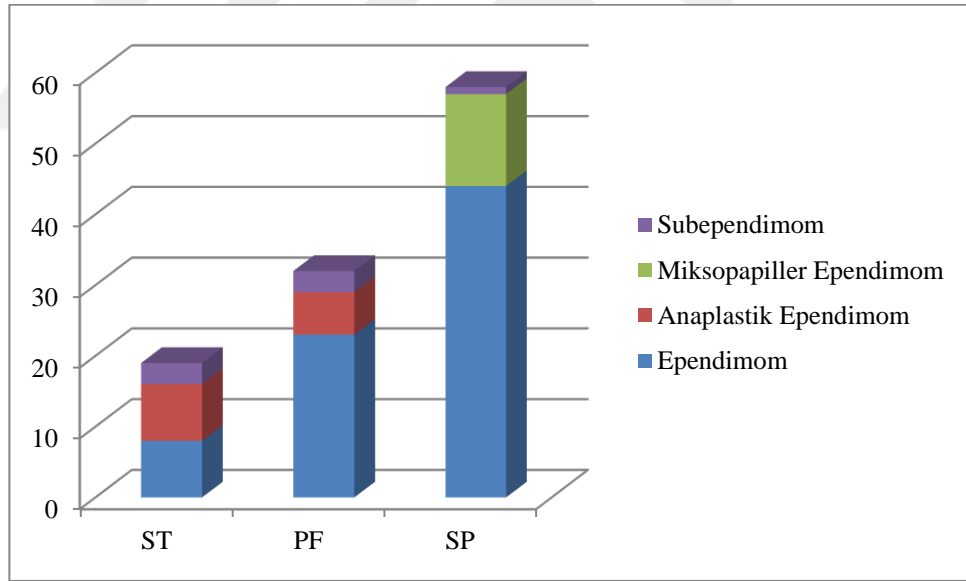
**Resim 6:** Miksopapiller Ependimom, DSÖ grade 1 (H&E x100).



**Resim 7:** Subependimom, DSÖ grade 1 (H&E x100).

Histolojik tümör tiplerinin lokalizasyona göre dağılımına bakıldığında, ST bölgede grade 2 endimom (8/19) ve grade 3 anaplastik endimom (8/19) eşit sayıda izlenmiştir. 3 olgu grade 1 subependimomdur (3/19). PF da ise en sık grade 2 endimom (23/32) izlenmiş olup, grade 3 anaplastik endimom (6/32) daha az sıklıkla görülmüştür. Grade 1 subependimom (3/32) ST bölge ile aynı sayıda izlenmiştir. SP yerleşimli tümörlerin büyük çoğunluğu grade 2 endimom (44/58) olup, grade 1 mikropapiller endimom (13/58) sadece bu bölgede görülmüştür. Grade 1 subependimom da (1/58) tek olgu şeklindedir (Grafik 2).

**Grafik 2:** Histolojik Tümör Tiplerinin Lokalizasyonlara Göre Dağılımı



18 yaş ve altı olguların büyük kısmında (12/20) tümör PF yerleşimlidir. ST yerleşim de sık (6/20) görülmektedir. 18 yaş üstü erişkinlerde ise tümör en sık SP bölgede yerleşim göstermekte olup, PF'da da sıklıkla izlenmektedir. 18 yaş ve altı ile 18 yaş üstü hastalar arasında tümör lokalizasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 5).

**Tablo 5:** Tümör lokalizasyonu ve yaş arasındaki ilişki

	<b>ST</b>	<b>PF</b>	<b>SP</b>	<b>Toplam</b>	<b>p değeri</b>
<b>18 yaş ve altı hastalar</b>	6 (% 0,3)	12 (% 60)	2 (% 10)	20 (% 100)	0,0001
<b>18 yaş üstü hastalar</b>	13 (% 14,6)	20 (% 22,4)	56 (% 63)	89 (% 100)	

?: Satır yüzdesi

Her iki yaş grubunda da en sık grade 2 ependimom görülmüştür. Grade 3 ependimomlar 18 yaş ve altı olgularda daha sık izlenmiş olup, bu grupta oldukça yüksek oranda görülmektedir. Grade 1 ependimomlar ise çoğunlukla erişkinlerde izlenmekle birlikte, 5 yaşında bir hastada PF yerleşimli grade 1 subependimom ve 13 yaşında bir hastada lumbal bölge yerleşimli grade 1 mikropapiller ependimom izlenmiştir. 18 yaş ve altı ile 18 yaş üstü hastalar arasında tümör derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 6).

**Tablo 6:** Tümör derecesi ve yaş arasındaki ilişki

	<b>Grade 1</b>	<b>Grade 2</b>	<b>Grade 3</b>	<b>p değeri</b>
<b>18 yaş ve altı hastalar</b>	2 (% 10)	10 (% 50)	8 (% 40)	0,002
<b>18 yaş üstü hastalar</b>	18 (% 20)	65 (% 72,2)	7 (% 7,8)	

?: Satır yüzdesi

#### **4.1.2 Olgularda tümörün total/subtotal rezeksiyon durumu**

Ependimal tümör tanısı alan tüm hastalara cerrahi tedavi uygulanmış ancak yıllar içinde kullanılan bilgisayar otomasyon sistemindeki değişikliklerden dolayı 93 hastanın net ameliyat notuna ulaşılabilmektedir. Bu hastaların 67'sine (% 72) gross total tümör rezeksiyonu ve 26'sına (% 28) subtotal tümör rezeksiyonu yapılmıştır. Subtotal tümör rezeksiyonu yapılan olguların çoğunu PF yerleşimli

tümörler oluşturmaktadır. ST yerleşimli olgularda da subtotal tümör rezeksiyonu sık görülmektedir. Lokalizasyona göre tümörün total/subtotal rezeksiyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 7).

**Tablo 7:** Tümör lokalizasyonu ve total/subtotal rezeksiyon arasındaki ilişki

	<b>ST</b>	<b>PF</b>	<b>SP</b>	<b>Toplam</b>	<b>p değeri</b>
<b>Total rezeksiyon</b>	9 (% 60)	16 (% 57,1)	42 (% 84)	67 (% 72)	0,021
<b>Subtotal rezeksiyon</b>	6 (% 40)	12 (% 42,9)	8 (% 16)	26 (% 28)	

#: Sütun yüzdesi

Anaplastik ependimomların yaklaşık yarısında subtotal tümör rezeksiyonu izlenmekle birlikte, histolojik tümör tiplerine göre tümörün total/subtotal rezeksiyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 8).

**Tablo 8:** Histolojik tümör tipi ve total/subtotal rezeksiyon arasındaki ilişki

	<b>EPN</b>	<b>Anaplastik EPN</b>	<b>MPE</b>	<b>SE</b>	<b>P değeri</b>
<b>Total rezeksiyon</b>	49 (% 75,4)	6 (% 54,5)	8 (% 72,7)	4 (% 66,7)	0,548
<b>Subtotal rezeksiyon</b>	16 (% 24,6)	5 (% 45,5)	3 (% 27,3)	2 (% 33,3)	

#: Sütun yüzdesi

18 yaş altı hastaların yarısından fazlasında tümör tümü ile çıkarılmamış olup, subtotal rezeksiyon mevcuttur. Erişkin hastalarda ise total rezeksiyon oranı yaklaşık %80'dir. 18 yaş ve altı ile 18 yaş üstü hastalar arasında total/subtotal rezeksiyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 9).

**Tablo 9:** Yaşa ve total/subtotal rezeksiyon arasındaki ilişki

	<b>Subtotal eksizyon</b>	<b>Total eksizyon</b>	<b>p değeri</b>
<b>18 yaş ve altı hastalar</b>	11 (% 57,9)	8 (% 42,1)	0,003
<b>18 yaş üstü hastalar</b>	15 (% 20,3)	59 (% 79,7)	

#: Satır yüzdesi

#### 4.1.3 Olgularda nüks ve metastaz durumu

Olguların 107'sinin nüks ve postoperatif ek tedavi bilgisine ulaşılmıştır. %17,8 (19/107) olguda en az 1 ve en fazla 5 kez olmak üzere tümör nüksü tanımlanmıştır. Daha çok subtotal rezeksiyon yapılan hastalarda nüks izlenmekle birlikte total rezeksiyon yapılan hastaların % 10,4'ünde nüks geliştiği dikkati çekmiştir. Total/subtotal tümör rezeksiyonu ile nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 10).

**Tablo 10:** Total/subtotal rezeksiyon ve nüks gelişimi arasındaki ilişki

	<b>Total rezeksiyon</b>	<b>Subtotal rezeksiyon</b>	<b>p değeri</b>
<b>Nüks var</b>	7 ( % 10,4)	9 (% 36)	0,01
<b>Nüks yok</b>	60 (% 89,6)	16 (% 64)	

#: Sütun yüzdesi

p değeri fisher'in kesin testi ile belirlenmiştir.

Nüks daha çok ST yerleşimli tümörlerde izlenmekte olup, tümör lokalizasyonu ve nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 11).

**Tablo 11:** Tümör lokalizasyonu ve nüks gelişimi arasındaki ilişki

	<b>ST</b>	<b>PF</b>	<b>SP</b>	<b>p değeri</b>
<b>Nüks var</b>	7 (% 36,8)	5 (% 16,1)	7 (% 12,3)	0,051
<b>Nüks yok</b>	12 (% 63,2)	26 (% 83,9)	50 (% 87,7)	

%%: Sütun yüzdesi

Anaplastik endimomların yarısından fazlasında nüks izlenmekte olup en sık nüks bu histolojik grupta görülmektedir. Histolojik tümör tipi ve nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 12). Ayrıca tümör derecesi ile nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,0001, ki-kare testi).

**Tablo 12:** Histolojik tümör tipi ve nüks gelişimi arasındaki ilişki

	<b>EPN</b>	<b>Anaplastik EPN</b>	<b>MPE</b>	<b>SE</b>	<b>P değeri</b>
<b>Nüks var</b>	7 (% 9,5)	8 (% 57,1)	2 (% 16,7)	2 (% 28,6)	0,0001
<b>Nüks yok</b>	67 (% 90,5)	6 (% 42,9)	10 (% 83,3)	5 (% 71,4)	

%%: Sütun yüzdesi

Grade 2 ve grade 3 endimomlarda nüks gelişiminin lokalizasyonlara (ST, PF ve SP) göre dağılımına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 13-14).

**Tablo 13:** Grade 2 endimomlarda lokalizasyon ile nüks arasındaki ilişki

	<b>Nüks var</b>	<b>Nüks yok</b>	<b>P değeri</b>
<b>ST</b>	2 (% 25)	6 (% 75)	0,237
<b>PF</b>	1 (% 4,5)	21 (% 95,5)	
<b>SP</b>	4 (% 9,1)	40 (% 90,9)	

%%: Satır yüzdesi

**Tablo 14:** Grade 3 ependimomlarda lokalizasyon ile nüks arasındaki ilişki

	<b>Nüks var</b>	<b>Nüks yok</b>	<b>P değeri</b>
<b>ST</b>	5 ( % 62,5)	3 ( % 37,5)	1
<b>PF</b>	3 ( % 50)	3 ( % 50)	

#: Sütun yüzdesi

p değeri fisher'in kesin testi ile belirlenmiştir.

SP yerleşimli grade 2 ependimomların 4/40'ında nüks izlenirken grade 1 mikropapiller ependimomların 2/10'unda nüks izlenmiştir. İkisi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,599, p değeri fisher'in kesin testi ile belirlenmiştir).

ST yerleşimli grade 2 ve grade 3 tümörler arasında nüks gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,619, p değeri fisher'in kesin testi ile belirlenmiştir).

PF yerleşimli grade 2 ve grade 3 tümörler arasında nüks gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,622, p değeri fisher'in kesin testi ile belirlenmiştir).

18 yaş ve altı hastalarda tümörde nüks gelişme oranı daha yüksek olup, 18 yaş ve altı ile 18 yaş üstü hastalar arasında nüks yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 15).

**Tablo 15:** Yaşa göre tümörde nüks gelişimi

	<b>Nüks var</b>	<b>Nüks yok</b>	<b>p değeri</b>
<b>18 yaş ve altı hastalar</b>	7 (% 35)	13 (% 65)	0,046
<b>18 yaş üstü hastalar</b>	12 (% 13,8)	75 (% 86,2)	

#: Satır yüzdesi

PF yerleşimli anaplastik ependimomu olan bir hastada spinal bölgeye, ST yerleşimli grade 2 ependimomu olan başka bir hastada beyin sapına metastaz görülmüştür. Metastaz oranı %1,9 olarak bulunmuştur. Ayrıca başka bir hasta ilk SP bölgede (T6-T8) kitle nedeni ile grade 2 ependimom tanısı almış, daha sonra PF'da gelişen kitle nedeniyle iki kere opere edilmiş ve grade 3 anaplastik ependimom tanısı almıştır. Takiben tekrar SP bölgede (C6-C7) kitle gelişmiş ve eksizyon sonucunda grade 2 ependimom tanısı almıştır. Bu hastada tümörlerin metastaz mı yoksa ayrı primerler mi olduğu net olarak değerlendirilememekle birlikte ayrı primerler olarak değerlendirmeye alınmıştır.

#### **4.1.4 Olgularda postoperatif ek tedavi durumu**

Hastaların büyük kısmına (% 67,3) cerrahiye ek herhangi bir tedavi uygulanmazken, bir kısmına cerrahi sonrası radyoterapi (% 17,8) veya kemoterapi (% 3,7) ya da her ikisi birlikte (% 11,2) verilmiştir. Hiçbir hastaya ependimal tümör nedeni ile neoadjuvan tedavi verilmemiştir. Sadece iki hasta daha önceki gliyal tümörlerine yönelik radyoterapi almıştır. Hastaların tedavileri değerlendirildiğinde tedavi rejimlerinin tümörün histolojik tip ve derecesine bağlı olarak değişiklik göstermediği dikkati çekmiştir (Tablo 16).

**Tablo 16:** Histolojik tümör tiplerine göre uygulanan ek tedavilerin dağılımı

	<b>EPN</b>	<b>Anaplastik EPN</b>	<b>MPE</b>	<b>SE</b>	<b>Toplam</b>
<b>Tedavi almayan</b>	53 (% 71,6)	2 (% 14,3)	11 (% 91,7)	6 (% 85,7)	72 (% 67,3)
<b>RT</b>	16 (% 21,6)	2 (% 14,3)	1 (% 8,3)	0 (% 0)	19 (% 17,8)
<b>KT</b>	2 (% 2,7)	1 (% 7,1)	0 (% 0)	1 (% 14,3)	4 (% 3,7)
<b>RT+KT</b>	3 (% 4,1)	9 (% 64,3)	0 (% 0)	0 (% 0)	12 (% 11,2)
<b>Toplam</b>	74 (% 100)	14 (% 100)	12 (% 100)	7 (% 100)	107 (% 100)

#: Sütun yüzdesi

18 yaş ve altı hastaların %85'ine RT, KT ya da RT+KT seçeneklerinden biri uygulanmışken, 18 yaş üstü erişkin hastaların yaklaşık %80'ine ek bir tedavi verilmemiştir. Bu iki yaş grubu arasında uygulanan ek tedavi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 17).

**Tablo 17:** Postoperatif ek tedavi ile yaş grupları arasındaki ilişki

	<b>Tedavi almayan</b>	<b>RT</b>	<b>KT</b>	<b>RT+KT</b>	<b>p değeri</b>
<b>18 yaş ve altı hastalar</b>	3 (% 15)	7 (% 35)	3 (% 15)	7 (% 35)	0,0001
<b>18 yaş üstü hastalar</b>	69 (% 79,3)	12 (% 13,8)	1 (% 1,1)	5 (% 5,7)	

#: Satır yüzdesi

Subtotal tümör rezeksiyonu yapılan hastaların büyük kısmına çoğunlukla RT olmak üzere ek tedavi verilmiştir. Total tümör rezeksiyonu yapılan hastalarında az bir kısmında ek tedavi verildiği dikkati çekmiştir. Tümörün total/subtotal rezeksiyonu ile cerrahi sonrası verilen ek tedavi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 18).

**Tablo 18:** Ameliyat tipi ve postoperatif uygulanan tedaviler arasındaki ilişki

	<b>Total rezeksiyon</b>	<b>Subtotal rezeksiyon</b>	<b>p değeri</b>
<b>Tedavi almayan</b>	55 (% 82)	9 (% 36)	0,0001
<b>RT</b>	7 (% 10,5)	8 (% 32)	
<b>KT</b>	2 (% 3)	2 (% 8)	
<b>RT+KT</b>	3 (% 4,5)	6 (% 24)	

#: Sütun yüzdesi

Tümörün geliştiği lokalizasyona göre tedavi dağılımı incelendiğinde ST ve PF yerleşimli tümörlerin yarısından fazlasının postoperatif ek tedavi aldığı görülmektedir. SP yerleşimli tümörlerin az bir kısmına tedavi vermiş olup, çoğunlukla RT şeklindedir. ST yerleşimli tümörü olan hastalar genellikle RT+KT almıştır. PF’da RT daha çok tercih edilen tedavi olmakla birlikte sadece bu lokalizasyonda KT tek başına uygulanmıştır (Tablo 19).

**Tablo 19:** Tümörün lokalizasyonuna göre postoperatif tedavilerin dağılımı

	<b>ST</b>	<b>PF</b>	<b>SP</b>
<b>Tedavi almayan</b>	8 (% 42,1)	15 (% 48,4)	49 (% 86)
<b>RT</b>	4 (% 21,1)	8 (% 25,8)	7 (% 12,3)
<b>KT</b>	0 (% 0)	4 (% 12,9)	0 (% 0)
<b>RT+KT</b>	7 (% 36,8)	4 (% 12,9)	1 (% 1,8)

#: Sütun yüzdesi

Nüks izlenen hastaların 1/3’ü cerrahi dışında herhangi bir tedavi almamıştır. Cerrahi sonrası ek tedavi alıp nüks izlenen hastaların büyük kısmını RT+KT alanlar oluşturmaktadır. Tümörde nüks ile postoperatif tedavi durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 20).

**Tablo 20:** Nüks ile postoperatif tedavi arasındaki ilişki

	<b>Tedavi almayan</b>	<b>RT</b>	<b>KT</b>	<b>RT+KT</b>	<b>p değeri</b>
<b>Nüks var</b>	6 (% 31,6)	3 (% 15,8)	2 (% 10,5)	8 (% 42,1)	0,0001
<b>Nüks yok</b>	66 (% 75)	16 (% 18,1)	2 (% 2,3)	4 (% 4,6)	

#: Satır yüzdesi

## 4.2 İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal EMA boyanması 84 vakada değerlendirilmiş, % 77,4 olguda ekspresyon izlenmiştir. Boyanmalar vakaların büyük kısmında perinükleer noktasal boyanma şeklindedir (Resim 8). Boyanma görülmeyen % 22,6 olgunun yaklaşık yarısı grade 2 endimomdur. Miksopapiller endimomların da yarısından fazlasında boyanma izlenmemiştir (Tablo 21).

**Tablo 21:** Histolojik tümör tiplerinde immünohistokimyasal EMA ekspresyonu

	<b>EPN</b>	<b>Anaplastik EPN</b>	<b>MPE</b>	<b>SE</b>	<b>Toplam</b>
<b>EMA (+)</b>	47 (% 82,5)	10 (% 90,9)	5 (% 45,5)	3 (% 60)	65 (% 77,4)
<b>EMA (-)</b>	10 (% 17,5)	1 (% 9,1)	6 (% 54,5)	2 (% 40)	19 (% 22,6)

#: Sütun yüzdesi

İmmünohistokimyasal ki-67 proliferasyon indeksi 110 olguda değerlendirilmiş (Resim 9), ki-67 proliferasyon indeksi ve tümörün derecesi arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Grade 3 anaplastik endimomların % 87,5'inde (14/16) % 5 ve üzerinde proliferatif aktivite izlenmiştir. Grade 3 anaplastik endimomlarda ortalama ki-67 proliferasyon indeksi % 26,5 ve ortalama % 25 olarak bulunmuştur. Grade 2 endimomların büyük kısmında % 1

oranında proliferatif aktivite izlenmekte olup, % 5 ve üzerinde proliferatif aktivite içerenlerin (% 16,4, 12/73) çoğunun PF yerleşimli (7/12) olduğu dikkati çekmiştir. Grade 2 ependimomların ki-67 ortancası %1'dir. Grade 1 mikropapiller ependimomların ki-67 proliferasyon indeksi %5'in altında olup, tüm subependimom olgularının ki-67 proliferasyon indeksi %1'dir. Grade 1 ependimal tümörlerde ki-67 ortancası %1'dir. Ki-67 ile grade arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,0001$ , Kruskal Wallis testi). Bu farklılığın tüm gradeler arasındaki (1;2, 1;3 ve 2,3) istatistiksel anlamlı farklılıktan kaynaklandığı gösterilmiştir ( $p=0,049$ ,  $p=0,0001$  ve  $p=0,0001$ , Mann-Whitney U testi).

Tümörün ki-67 proliferasyon indeksi ile lokalizasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,0001$ , Kruskal Wallis testi). Bu farklılık SP yerleşimli tümörlerde izlenen düşük ki-67 oranından kaynaklanmaktadır (PF;SP ve ST;SP  $p=0,004$  ve  $p=0,0001$ , Mann-Whitney U testi).

Grade 2 ependimomlarda ki-67 proliferasyon indeksi açısından lokalizasyonlara göre (ST, PF ve SP) istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut olup, ( $p=0,012$ ), ST ve PF yerleşimli olanlarda ki-67 proliferasyon indeksinin SP yerleşimli olanlardan yüksek olduğu saptanmıştır.

Grade 3 anaplastik ependimomlarda ST ve PF arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,755$ ).

ST yerleşimli grade 2 ependimom ve grade 3 anaplastik ependimom arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark

saptanmış olup ( $p=0,038$ ), grade 3 anaplastik ependimomlarda ki-67 proliferasyon indeksi daha yüksektir.

PF yerleşimli grade 2 ependimom ve grade 3 anaplastik ependimom arasında ki-67 proliferasyon oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup ( $p=0,001$ ), grade 3 anaplastik ependimomlarda ki-67 proliferasyon indeksi daha yüksektir.

SP yerleşimli grade 2 ependimom ve grade 1 miksoepapiller ependimom arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,864$ ).

Ki-67 proliferasyon indeksi ile nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ( $p=0,004$ , Mann-Whitney U testi). Nüks eden vakalarda ki-67 median değeri %3 olarak saptanmıştır.

İmmünohistokimyasal p53 boyanması 107 olguda değerlendirilmiştir (Resim 10). Histolojik tümör tipleri arasında değişen oranlarda boyanma izlenmekle birlikte anaplastik ependimom ve miksoepapiller ependimomda daha fazla oranda boyanma görülmüştür. Histolojik tümör tipleri arasında p53 boyanma oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup, ( $p=0,002$ , Kruskal Wallis testi) Mann-Whitney U testi ile kendi içinde karşılaştırıldığında anaplastik ependimom-ependimom, anaplastik ependimom-subependimom, ependimom-subependimom, ependimom-miksoepapiller ependimom ve miksoepapiller ependimom-subependimom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

( $p < 0,05$ ). Ancak anaplastik ependimom ve miksopapiller ependimom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p = 0,781$ ).

P53 boyanma oranı açısından gradeler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p = 0,05$ ). Sadece grade 3 ile grade 2 tümörler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

p53 boyanma oranı açısından tümör lokalizasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p = 0,007$ , Kruskal Wallis testi). Bu fark ST yerleşimli tümörlerin p53 ile daha fazla oranda boyanmasından kaynaklanmaktadır ( $p < 0,05$ , Mann-Whitney U testi).

Grade 2 ependimomlarda tümör lokalizasyonları arasında p53 boyanma oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildir ( $p = 0,124$ ).

Grade 3 anaplastik ependimomlarda ST ve PF arasında p53 boyanma oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p = 0,02$ ). ST yerleşimli olanlarda daha fazla oranda p53 boyanması görülmüştür.

ST yerleşimli grade 2 ependimom ve grade 3 anaplastik ependimom arasında p53 boyanma oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p = 0,279$ ).

PF yerleşimli grade 2 ependimom ve grade 3 anaplastik ependimom arasında p53 boyanma oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p = 0,854$ ).

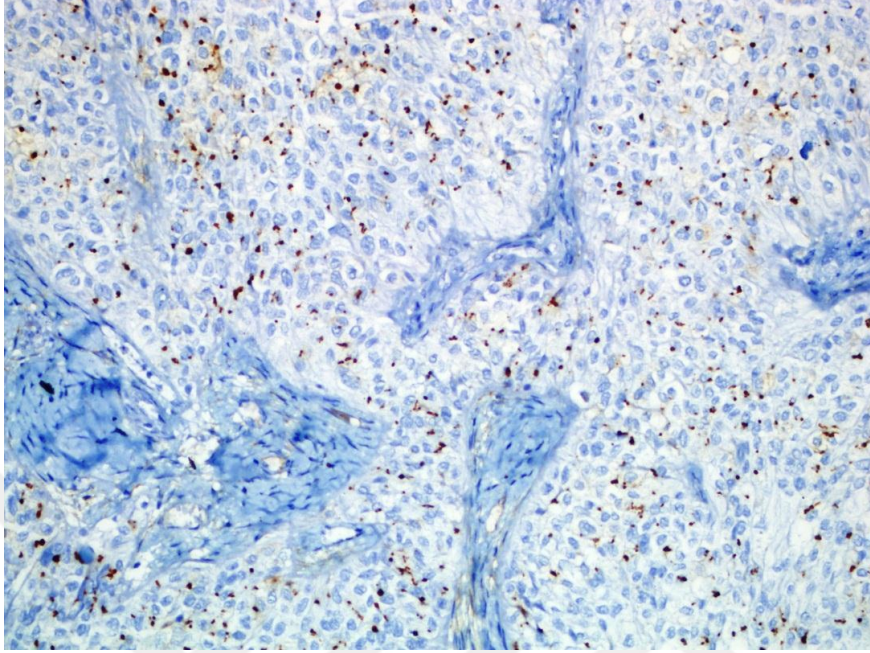
SP yerleşimli grade 2 endimom ve grade 1 miksopapiller endimom arasında p53 boyanma oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,009). Miksopapiller endimomlarda daha fazla oranda p53 boyanması izlenmektedir.

P53 boyanma oranı ile hastada nüks gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,423).

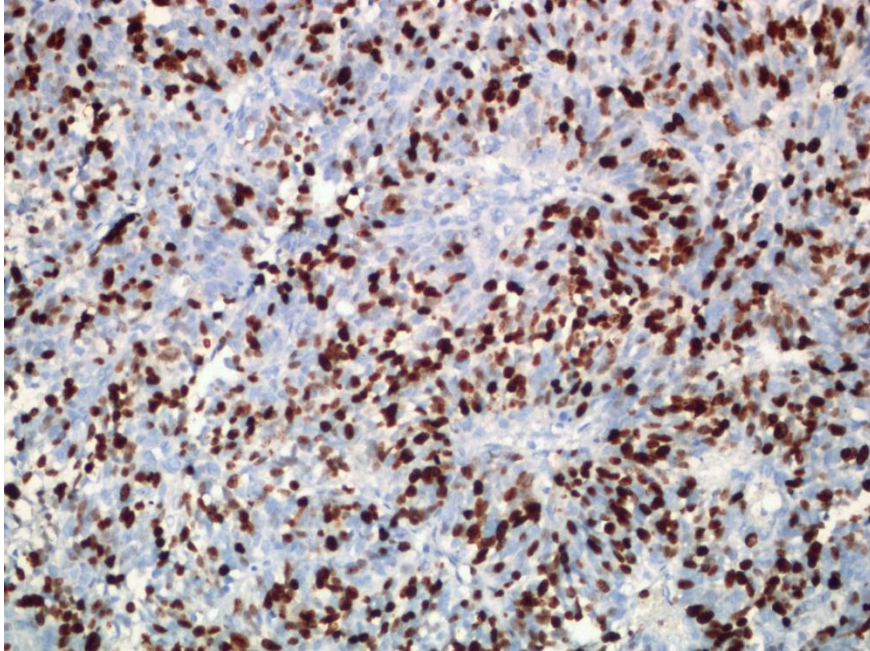
P53 boyanma şiddeti açısından histolojik tümör tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla birlikte (p=0,07), anaplastik endimomda orta ve şiddetli derecede boyanma daha sık gözlenmiştir. Anaplastik endimom ve endimom arasında p53 boyanma şiddeti açısından anlamlı fark saptanmıştır (p=0,019).

P53 boyanma şiddeti açısından tümör gradeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,054).

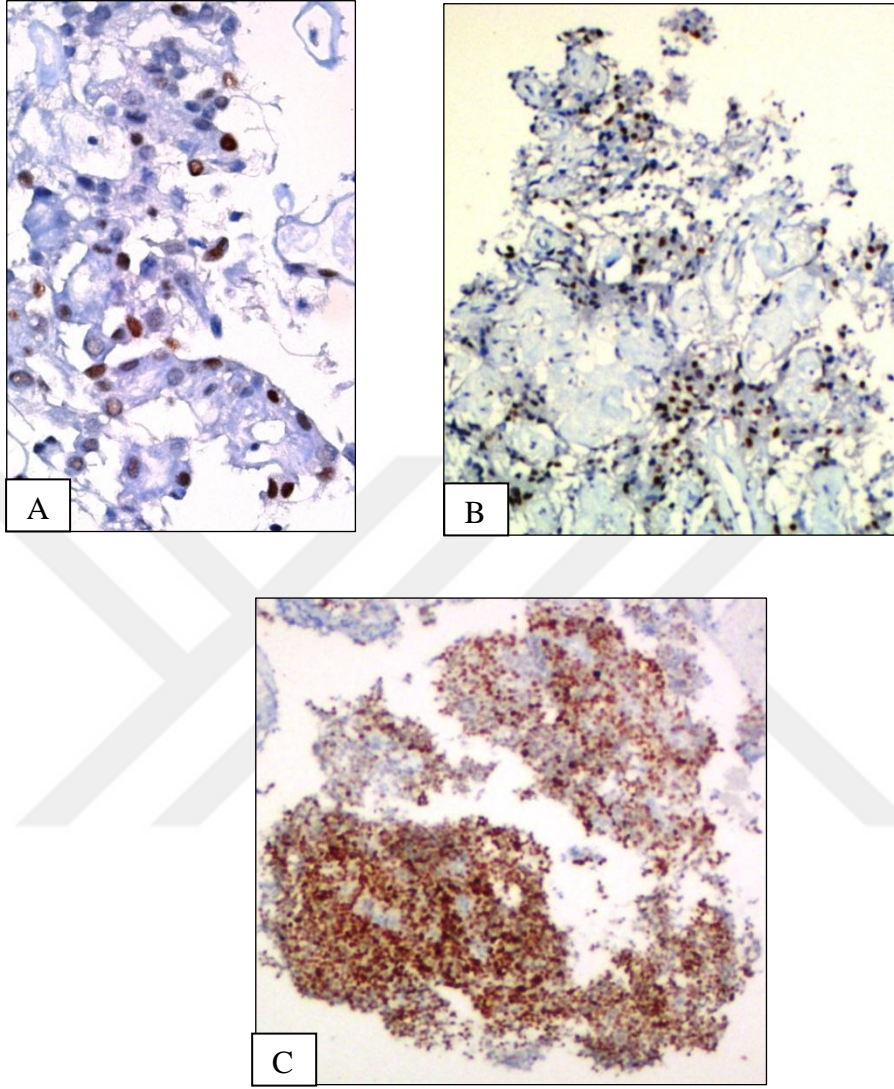
İmmünohistokimyasal ki-67 ve p53 boyanma oranları arasında istatistiksel olarak zayıf düzeyde korelasyon bulunmuştur (p=0,303 Spearsman's rho testi uygulanmıştır).



**Resim 8:** Grade 3 anaplastik ependimomda EMA'nın perinükleer noktasal boyanması (İHKx200).



**Resim 9:** Grade 3 anaplastik ependimomda izlenen yüksek ki-67 proliferasyon indeksi (İHKx200).

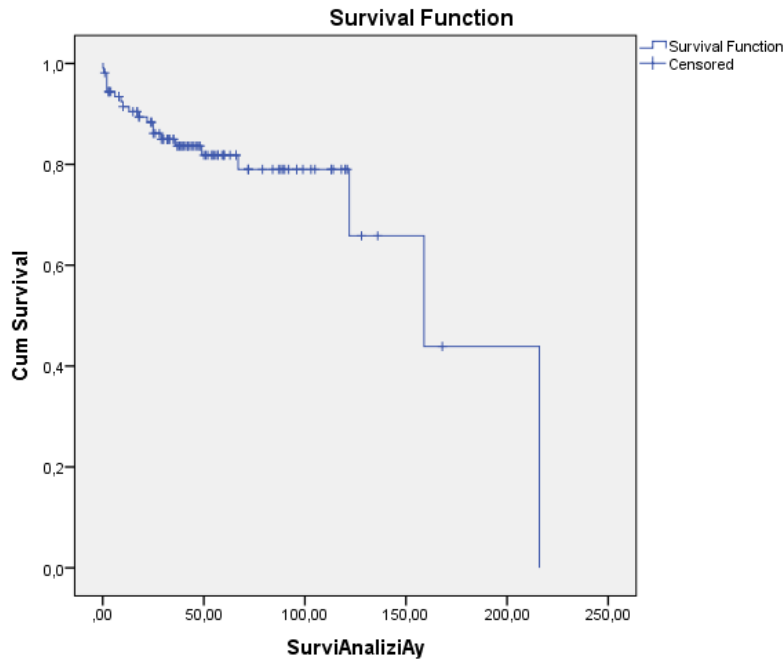


**Resim 10:** Ependimomlarda p53 boyanma şiddetleri A: Grade 2 ependimomda p53'ün zayıf boyanması (x200), B: Grade 2 ependimomda p53'ün orta şiddette boyanması (x100), C: Grade 3 anaplastik ependimomda p53'ün şiddetli boyanması (x40).

### 4.3 Klinikopatolojik Özellikler, Ki-67, p53 Boyanmasının Genel Sağ Kalım ile İlişkisi

Hastaların takip süreleri 1 ay ile 216 ay arasında değişmekte olup ortalama değer 42 ay olarak bulunmuştur. İki hastanın sağ kalım bilgisine ulaşılamamıştır. Takip süresi içinde hastaların 21'inin (%19,4) hayatını kaybettiği görülmüştür. Tüm hastalarda 5 yıllık genel sağ kalım yaklaşık %80'dir (Grafik 3).

**Grafik 3:** Genel sağ kalım eğrisi



Hastaların yaşa göre genel sağ kalımı incelendiğinde 18 yaş ve altı hastaların yaklaşık 1/4'ünün, 18 yaş üstü hastaların yaklaşık 1/5'inin takip süresi içinde hayatını kaybettiği görülmektedir. Bu iki yaş grubu arasında genel sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 22).

**Tablo 22:** Yaş ile genel sağ kalım arasındaki ilişki

	<b>Eksitus</b>	<b>Yaşiyor</b>	<b>p değeri</b>
<b>18 yaş ve altı hastalar</b>	5 (% 26,3)	14 (% 73,7)	0,522
<b>18 yaş üstü hastalar</b>	16 (% 18)	73 (% 82)	

#: Satır yüzdesi

Histolojik tümör tipleri içinde anaplastik ependimomlarda hastaların yarısı takip süresi içinde hayatını kaybetmiştir. Bu grupta beş yıllık sağ kalım yaklaşık olarak %55'dir. Grade 2 ependimomlarda genel sağ kalım daha iyi olup beş yıllık genel sağ kalım % 80'nin üzerine çıkmaktadır. Anaplastik ependimom ve grade 2 ependimom arasında genel sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0,005, p değeri fisherin kesin testi ile belirlenmiştir).

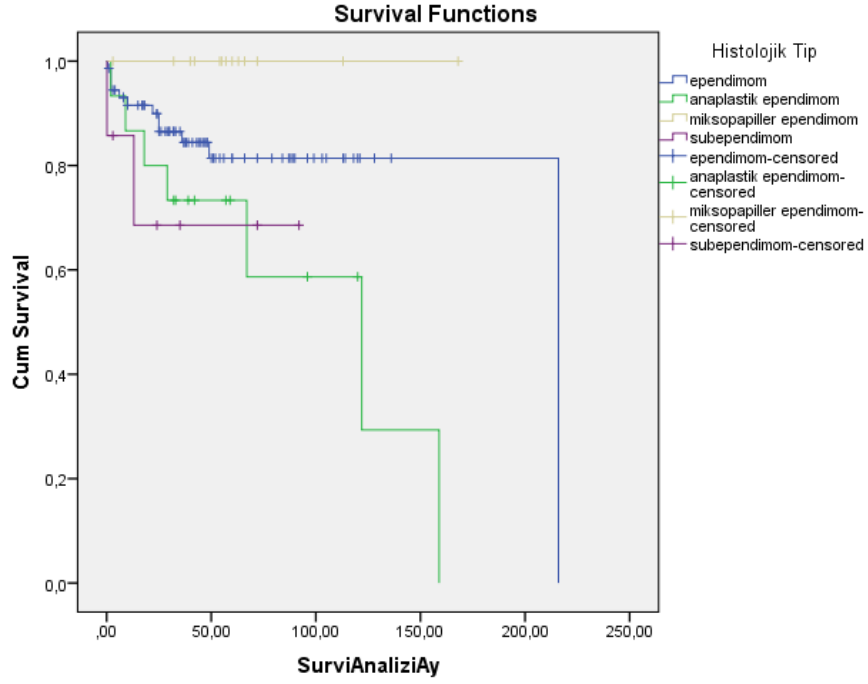
Miksopapiller ependimomlarda genel sağ kalımın %100 olduğu görülmüştür. Subependimom olup kaybedilen 2 hastanında yaşı 60 üzeri olup birisi ameliyat komplikasyonlarına bağlı diğeri ise ileri yaşa bağlı kaybedilmiştir (Tablo 23 ve Grafik 4).

**Tablo 23:** Histolojik tümör tiplerine göre genel sağ kalımın dağılımı

	<b>Eksitus</b>	<b>Yaşiyor</b>
<b>EPN</b>	12 (% 16,4)	61 (% 83,6)
<b>Anaplastik EPN</b>	7 (% 46,7)	8 (% 53,3)
<b>MPE</b>	0 (% 0)	13 (% 100)
<b>SE</b>	2 (% 28,6)	5 (% 71,4)

#: Satır yüzdesi

**Garfik 4:** Histolojik tümör tiplerine göre genel sağ kalım eğrisi



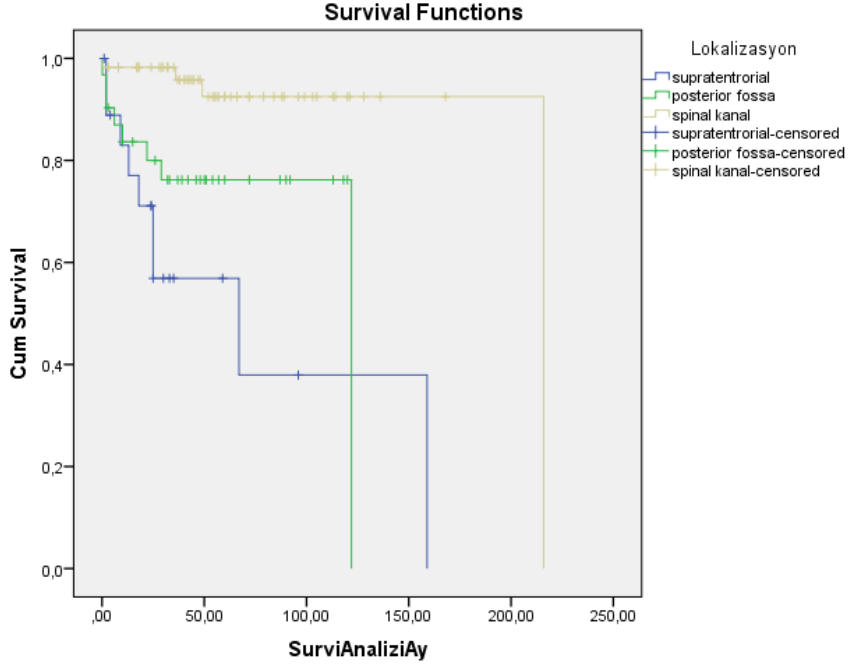
Genel sağ kalım ile tümörün lokalizasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ST tümörlerde sağ kalımın diğer lokalizasyonlara göre daha düşük olduğu görülmüştür (Tablo 24 ve Grafik 5).

**Tablo 24:** Genel sağ kalım ile tümörün lokalizasyonu arasındaki ilişki

	<b>Eksitus</b>	<b>Yaşiyor</b>	<b>p değeri</b>
<b>ST</b>	9 (% 47,4)	10 (% 52,6)	0,0001
<b>PF</b>	8 (% 25,8)	23 (% 74,2)	
<b>SP</b>	4 (% 7)	53 (% 93)	

#: Satır yüzdesi

**Grafik 5:** Tümörün lokalizasyonuna göre genel sağ kalım eğrisi



Total/subtotal tümör rezeksiyonu ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,12$ ,  $p$  değeri fisherin kesin testi ile belirlenmiştir).

Tümörde nüks ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p= 0,0001$ ,  $p$  değeri fisherin kesin testi ile belirlenmiştir).

Cerrahi sonrası ek tedavi uygulaması ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 25).

**Tablo 25:** Uygulanan ek tedavi ile genel sağ kalım arasındaki ilişki

	<b>Eksitus</b>	<b>Yaşıyor</b>	<b>p değeri</b>
<b>Tedavi almayan</b>	9 (% 12,7)	62 (% 87,3)	0,001
<b>RT</b>	3 (% 16,7)	15 (% 83,3)	
<b>KT</b>	2 (% 50)	2 (% 50)	
<b>RT+KT</b>	7 (% 58,3)	5 (% 41,7)	

#: Satır yüzdesi

Grade 2 ependimomlarda lokalizasyona göre genel sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olup, ST yerleşimli olanlarda daha fazla eksitus izlenmektedir (Tablo 26).

**Tablo 26:** Grade 2 ependimomlarda lokalizasyona göre genel sağ kalım

	<b>Eksitus</b>	<b>Yaşıyor</b>	<b>p değeri</b>
<b>ST</b>	3 (% 37,5)	5 (% 62,5)	0,09
<b>PF</b>	5 (% 22,7)	12 (% 77,3)	
<b>SP</b>	4 (% 9,3)	39 (5 90,7)	

#: Satır yüzdesi

Grade 3 anaplastik ependimomlarda ST yerleşimli olanlarda daha fazla eksitus izlenmekle birlikte, lokalizasyona göre genel sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 27).

**Tablo 27:** Grade 3 anaplastik ependimomlarda lokalizasyona göre sağ kalım

	<b>Eksitus</b>	<b>Yaşıyor</b>	<b>p değeri</b>
<b>ST</b>	5 (% 62,5)	3 (% 37,5)	0,592
<b>PF</b>	2 (% 33,3)	4 (% 66,7)	

#: Sütun yüzdesi

p değeri fisher'in kesin testi ile belirlenmiştir.

SP grade 2 ependimom hastalarının 4/39'u kayıp edilirken, mikropapiller ependimom hastalarının tümü yaşamaktadır.

İmmünohistokimyasal olarak ki-67 proliferasyon indeksi ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ( $p=0,037$ , Mann Whitney U testi uygulanmıştır).

İmmünohistokimyasal olarak p53 ekspresyon oranı ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır ( $p=0,408$  Mann Whitney U testi uygulanmıştır).

#### 4.4 Floresan İn Situ Hibridizasyon Bulguları

Çalışmamızda 107 olgunun tümör dokusuna, ayrıca nüks eden 8 olgunun nüks tümör dokularına ve metastaz yapan 2 olgunun metastatik tümör dokusu dahil olmak üzere toplam 122 adet tümör dokusuna RELA FISH boyaması yapılmıştır. SP yerleşimli bir olguda doku artefaktı nedeniyle boyanma elde edilememiştir (Tablo 28).

**Tablo 28:** RELA FISH boyaması yapılan tümör dokularının lokalizasyon dağılımı

	ST	PF	SP
Primer tümör	19	32	56
Nüks tümör	7	3	3
Metastatik tümör	0	2	0

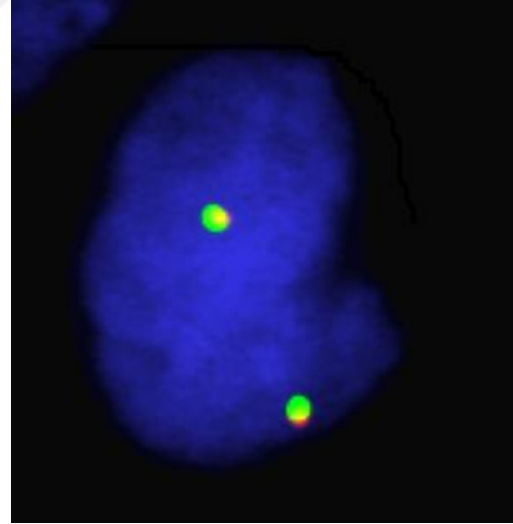
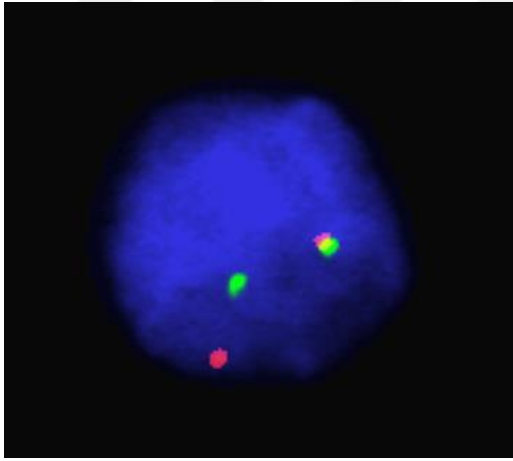
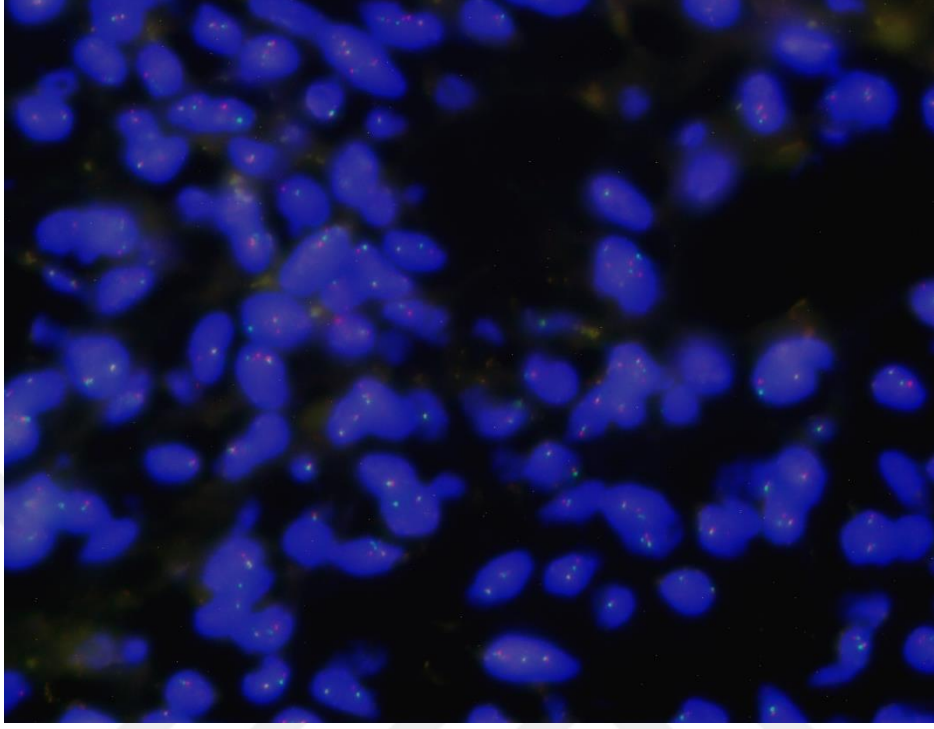
ST yerleşimli 19 olgunun 2'sinde RELA gen lokusunda break apart saptanmıştır. SP ve PF'da yerleşim gösteren hiçbir tümör dokusunda RELA gen lokusunda break apart görülmemiştir. RELA gen füzyonu saptanan olgulardan biri grade 2 endimomu olan 15 yaşında kız hastadır. Tümör sağ talamik bölgede lokalize ve 1,3 cm çapındadır. Subtotal rezeksiyon yapılan hastaya takiben RT verilmiştir. Hastada 24 ay sonra PF'da metastaz gelişmiştir. Metastaz nedeniyle ikinci kez opere edilerek grade 2 endimom, şeffaf hücreli varyant tanısı almıştır. Metastaz tanısından 1 ay sonra hasta hala hayattadır. Primer tümör ki-67 ile % 4 oranında proliferatif aktivite göstermekteyken, metastatik tümör % 30 oranında proliferatif aktivite içermektedir. Ayrıca p53 ile primer tümörde % 40 oranında ve şiddetli boyanma saptanırken, metastatik tümörde bu oran düşüktür. FISH yöntemi ile RELA gen füzyon varlığı hastanın primer ve metastatik tümör

dokusunda değerlendirilmiştir. Metastatik tümör dokusunda break apart saptanmış ancak primer tümör dokusunun yaygın nekroz içermesi nedeniyle değerlendirme suboptimal olmuştur.

Diğer RELA gen füzyonu saptanan olgu grade 3 anaplastik ependimomu olan 28 yaşında erkek hastadır. Tümör sol frontal bölgede yerleşim göstermekte ve tümör çapı 2 cm'dir. Gross total rezeksiyon sonrası hasta RT almıştır. İlk tanıyı takiben hastada 19 ay, 31 ay ve 49 ay sonra 3 kez nüks gelişmiştir. Nüks tümörler 3 kez rezeke edilmiş, herbiri grade 3 anaplastik ependimom olarak raporlanmıştır. Tedavi rejimine RT yanısıra KT eklenmiştir. Hasta ilk tanıdan 67 ay sonra kaybedilmiştir. Olguda primer tümör ve nükslerde ki-67 ile sırasıyla % 30, % 50, % 80 ve % 60 oranında proliferatif aktivite izlenmiştir. İmmünhistokimyasal p53 ekspresyonları da % 80, % 30, % 80 ve % 85 oranındadır. P53 ile genellikle şiddetli boyanma grlmştir. FISH yöntemi ile primer tümör dokusu ve üç nüks tümör dokusunda da RELA gen lokusunda break apart saptanmıştır (Tablo 29, Resim 11-12).

**Tablo 29:** RELA füzyon geni pozitif ependimom olguları

	Olgu 1	Olgu 2
Yaş	15	28
Cinsiyet	Kız	Erkek
Lokalizasyon	Sağ talamik bölge	Sol frontal bölge
Tümör çapı	1,3 cm	2 cm
Histolojik tümör tipi	Ependimom	Anaplastik ependimom
Grade	Grade 2	Grade 3
Tümör rezeksiyon durumu	Subtotal rezeksiyon	Total rezeksiyon
Nüks	Yok	3 kez
Metastaz	Var (PF)	Yok
Postoperatif tedavi	RT	RT+KT
Survivans	Yaşıyor (25 ay)	Eksitus (67 ay)
Ki-67 (Primer-Nüks)	% 4, % 30	% 30, % 50, % 80, % 60
p53 (Primer-Nüks)	% 40, % 10	% 80, % 30, % 80, % 85
P53 şiddeti (Primer-Nüks)	Şiddetli, zayıf	Şiddetli, orta, şiddetli, şiddetli
EMA	Dot-like pozitif	Dot-like pozitif



**Resim 11:** RELA füzyon pozitif ependimom. Üstteki resim: Çok sayıda hücrede break apart FISH probu ile yeşil ve kırmızı sinyallerde ayrılma izlenmektedir. Sol alt resim: Break apart pozitif tümör hücresi. Sağ alt resim: Break apart negatif tümör hücresi.

## 5 TARTIŞMA

Ependimomlar heterojen bir nöroepitelyal tümör grubudur (65). Kaynaklandığı intrakranial ve spinal kanal boyunca farklı histolojik tipler izlenir ve farklı yaş gruplarında görülür (66). Her yaş grubunda görülmekle birlikte çocuklarda daha sıktır. Genel olarak ve çocuk yaş grubunda en sık PF'da, erişkinlerde ise en sık SP bölgede izlenir (69-72).

Çalışmamızda olguların büyük kısmını (% 81,8) 18 yaş üstü erişkinler oluşturmaktadır ve buna bağlı olarak tümörün en sık yerleşim gösterdiği lokalizasyon PF yerine SP bölge (% 53,2) olarak karşımıza çıkmaktadır. 18 yaş ve altı olgu sayısının beklenenden oldukça az olmasının (20/110), hastanemizin beyin cerrahi bölümünün 3. basamak referans merkez olması nedeni ile operasyonu daha zor ve nörolojik komplikasyonları daha çok olan SP vakaların daha fazla ameliyat edilmesinden ve yine hastanemizin hasta popülasyonunun genel epidemiyolojiyi yansıtmada sınırlı kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda, literatürde yapılan seri çalışmalarda olduğu gibi (69,70,78,82) en sık grade 2 ependimom (% 68,2) görülmüştür. Çocuk ve erişkin her iki yaş grubunda da en sık izlenen grade 2 ependimomdur. Grade 3 anaplastik ependimom ise çocuklarda daha sık tanımlanmıştır. PF ve SP bölgede en sık grade 2 ependimom görülürken, grade 3 anaplastik ependimom ST bölgede daha sık yerleşim göstermektedir. ST yerleşim gösteren grade 3 anaplastik ependimom olgularının çoğu erişkin hasta iken, çocuklarda görülen grade 3 anaplastik

ependimomlar genellikle PF yerleşimlidir. SP yerleşimli olguların hiçbiri grade 3 anaplastik ependimom tanısı almamıştır. Sonuçta, erişkin hastalarda yüksek dereceli ependimomlar genellikle ST alanda izlenmiş olup, düşük dereceli olanların SP bölgede yerleşim göstermesi dikkat çekicidir. Bu durum ependimomlarda lokalizasyon bağımlı faktörlerin olabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca çalışmamızda çocuk ve erişkin hastalar arasında tümör lokalizasyonu ve derecesi açısından anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,001$  ve  $p=0,002$ ).

Olgularımızın 7'si subependimomdur. Bunların sadece bir tanesi SP yerleşimli olup, altı tanesi intrakranial yerleşimlidir. 5 yaşında bir olgumuzda PF yerleşimli subependimom görülmüştür. Subependimomlar genellikle orta ya da ileri yaşta izlenmekte olup, literatürde çok az sayıda çocuk vaka bildirilmiştir. Bildirilen çocuk olguların çoğunda tümör, bizim olgumuzda olduğu gibi 4. ventrikülde yerleşim göstermektedir (73).

Miksopapiller ependimomların histogenezi ile ilgili birçok spekülasyon olup, bir teoride embriyonel dönemde orta hat gelişimindeki bir düzensizliğin tümörün lumbosakral ve sakrokoksigeal bölgede lokalize olmasına neden olduğu söylenmektedir (92). Çalışmamızda miksopapiller ependimom olgularının tümü (13/110) tipik lokalizasyon olan lomber bölgede lokalizedir. Olguların sadece biri 13 yaşında çocuk hasta, kalanı erişkin hastalardır. Çocuk ve erişkin miksopapiller ependimom olgularını karşılaştıran bir çalışmada; tümörün çocuklarda daha sıklıkla sakrokoksigeal bölgedeki ekstramedüller yumuşak dokuda izlendiği (90) ve bunların spinal kordda izlenenlere göre daha ağrısız ve yavaş seyirli olduğu söylenmektedir (91). Ayrıca SSS ependimomları ile ekstraaksiyal gelişen

ependimomların immünohistokimyasal profilinde izlenen farklılık nedeni ile bu iki grup arasında prekürsörlerin farklı olabileceğini ifade eden çalışma mevcuttur (93).

Ependimomlarda prognostik faktörlerin tanımlanmasına yönelik çalışmalar tümörün nadir görülmesi nedeni ile retrospektiftir. Geniş vaka serilerinden birini içeren Rodriguez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) 'ın veritabanındaki 2408 ependimom olgusu değerlendirilmiştir. Olguların 2132'si grade 2 ependimom ve 276'sı grade 3 anaplastik ependimomdur. Bu çalışmada genç yaş, erkek cinsiyet, yüksek tümör derecesi, intrakranial lokalizasyon ve yetersiz cerrahi rezeksiyon hastalarda kötü klinik gidiş ile ilişkili faktörler olarak saptanmıştır (94). Amirian ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pediatrik ve erişkin hastalar arasında prognostik belirteçler açısından farklılık olabileceği düşünülmüş ve SEER veritabanındaki ependimom olguları çocuk ve erişkin olarak iki yaş grubuna ayrılarak incelenmiştir. Pediatrik hastalarda anaplastik histoloji ve infratentorial lokalizasyon, erişkin hastalarda ise supratentorial lokalizasyon artmış mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Her iki grupta da tümörün total rezeksiyonu sağ kalımı arttırmaktadır (95). Eli ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 183 erişkin ependimom olgusu incelenmiş ve supratentorial lokalizasyon, infratentoryal lokalizasyona göre progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalım açısından anlamlı olarak kötü bulunmuştur (96). Teksas Üniversitesi MD Anderson'da yapılan 123 erişkin ependimom olgusunu içeren başka bir çalışmada, tümör anaplazisinin ve intrakraniyal lokalizasyonun, spinal bölgeye göre, daha kötü klinik gidiş ve sağ kalım gösterdiği saptanmıştır (71). Son yıllarda

Elizabeth ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli bir çalışmada, çok değişkenli analizlerde supratentorial lokalizasyon, grade 3, subtotal rezeksiyonun (RT almış ya da almamış) olgularda erken tümör progresyonu açısından önemli risk faktörlerini oluşturduğu gösterilmiştir (69).

Ependimomlarda tüm SSS tümörlerinde olduğu gibi derecelendirmedeki amaç; farklı histolojik derecelerdeki tümörlerin farklı klinik prognozlarını öngörebilmektir. Ancak özellikle farklı yaş gruplarında ve SSS'nin farklı lokalizasyonlarında tümörün histolojik derecesine göre öngörülen prognozda uyumsuzluk izlenmektedir ve buna karşı çıkan araştırma grubu artmaktadır (67-68). Raghunathan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 238 grade 2 ve grade 3 ependimom olgusu DSÖ derecelendirme sisteminde kullanılan histolojik özellikler yönünden incelemiş ve bu histolojik özelliklerin klinik gidiş ile ilişkisi araştırılmıştır. Hiperselüler alanların varlığı, nekroz, mikrovasküler proliferasyon ve artmış mitotik indeks PF yerleşimli ependimomlarda kötü progresyonsuz sağ kalım ile anlamlı ilişkili bulunmuş ancak, yaygın ependimal kanal formasyonu ile ilişki saptanmamıştır. Buna benzer olarak ST yerleşimli ependimomlarda mikrovasküler proliferasyon ve artmış mitotik aktivitenin kötü progresyonsuz sağ kalım ile anlamlı ilişkisi saptanmış olup, buna karşın PF'dan farklı olarak nekroz ve hiperselülerite kötü progresyonsuz sağ kalım ile ilişkili bulunmamıştır. Yaygın ependimal kanal formasyonu ise ST yerleşimde kötü progresyonsuz sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur. SP tümörlerde ise bu özelliklerin hiçbiri kötü progresyonsuz sağ kalım ile ilişkili bulunmamıştır. Bulgular ependimomların spesifik histolojik

özelliklerinin kliniği belirlediği ve bu özelliklerin orijin aldıkları bölgelerle ilişkili olduğunu desteklemektedir (97).

Tüm bu çalışmalarda yaş, tümör lokalizasyonu, rezeksiyon durumu ve tümör derecesinin prognoz açısından önemli olduğu gösterilmiştir. Ancak derecelendirme konusu tartışmalı olup, yukarıda bahsedildiği gibi bazı serilerde klinik gidiş ile korele iken, bazı çalışmalarda bu korelasyon görülememiştir. Bu nedenle son zamanlarda yapılan çalışmalarda aynı histolojik gradelerde izlenen genetik heterojenitenin biyolojik özellikleri belirlediği ve prognozu daha iyi öngördüğü ileri sürülmektedir (22,66).

Çalışmamızda olguların %28'inde subtotal rezeksiyon izlenmiş olup, bunlar çoğunlukla PF yerleşimlidir. ST yerleşimli olgularda da subtotal rezeksiyon oranı yüksektir (%40). SP bölgede tümör genellikle total rezeksiyon edilmiş olup, bu oran yaklaşık % 85'dir. Üç lokalizasyonda da en çok grade 2 ependimomda subtotal rezeksiyon görülürken, grade 3 anaplastik ependimomların çoğunlukla PF yerleşimlilerinde subtotal rezeksiyon dikkati çekmiştir. SP yerleşimli grade 2 ependimomlara göre mikropapiller ependimomlarda subtotal rezeksiyon oranı daha yüksektir. Lokalizasyon ile total/subtotal rezeksiyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır, ancak histolojik tümör tipleri ve grade arasında total/subtotal rezeksiyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Elizabeth ve Eli'nin yaptığı seri çalışmalarda bizim çalışmamızla uyumlu şekilde subtotal rezeksiyon benzer oranda ve infratentorial lokalizasyonda sık görülmüştür (69,96). Çalışmamızda 18 yaş ve altı hastaların yarısından fazlasında subtotal rezeksiyon izlenmiştir. 18 yaş ve altı ile 18 yaş üstü

arasında total/subtotal tümör rezeksiyonu açısından anlamlı fark saptanmıştır. Bu sonuca olguların yaş dağılımının lokalizasyon ilişkili olması neden olabilir.

Çalışmamızda 19 olguda nüks, 2 olguda metastaz geliştiği görülmüştür. Metastaz gelişen olguların ST yerleşimli grade 2 ependimom olması dikkat çekici olup, literatürde bu şekilde bildirilen vakalar mevcuttur (109). Bu durum ependimomlarda dercelendirmenin prognostik öngörü değerini düşürmektedir.

Çalışmamızda subtotal rezeksiyon yapılan olguların %36'sında, total rezeksiyon yapılan olguların %10'nunda nüks gelişmiştir. Grade 3 anaplastik ependimomda nüks daha sık izlenmiş olup, bu vakaların yarısından fazlasında nüks gelişmiştir. Tümörde nüks gelişimi açısından total/subtotal tümör rezeksiyonu, histolojik tümör tipi ve grade arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Nüks çocuklarda daha sık izlenmiştir. 18 yaş ve altı ile 18 yaş üstü olgular arasındada nüks gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu farkın 18 yaş ve altında grade 3 anaplastik ependimomların, subtotal rezeksiyonun ve intrakranial lokalizasyonun daha sık görülmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Nüks ile ilişkili bu bulgular literatürdeki çalışmalar ile uyumludur (71,94).

Nüks ST yerleşimli olanlarda daha sık izlenmekle birlikte, nüks gelişimi ile lokalizasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fak saptanmamıştır ( $p=0,051$ ). Bu durumun vaka sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Aynı derecedeki tümörlerin lokalizasyon bağımlı nüks durumu incelendiğinde, grade 2 ve grade 3 tümörlerde lokalizasyonlar arasında (ST, PF ve

SP) nüks gelişimi açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Yine ST yerleşimli grade 2 ve grade 3 tümörler arasında ve PF yerleşimli grade 2 ve grade 3 tümörler arasında nüks gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Aynı lokalizasyon içinde grade 2 ile grade 3 arasında anlamlı fark izlenmemiş olması dikkat çekicidir. Vaka sayısının az olması nedeniyle yorumlamanın yerinde olmayacağı düşünülmüştür.

Ependimomlarda tedavi yaklaşımında yaygın standart uygulama maksimum güvenli total rezeksiyon ve bunu takip eden fokal radyoterapi olup, tümörün güvenli sınırlar ile geniş cerrahi rezeksiyonu çok uzun zamandır sağ kalım ile ilişkili olduğu bilinen tek klinik prognostik belirteçtir (40). Eğer hastanın postoperatif 24-48 saat içinde çekilen MR’ında büyük bir rezidü tümör yükü görülmüşse ve kalan tümör kolayca rezeke edilebilecek durumda ise maksimum rezeksiyon için “second look” cerrahide birkaç grup tarafından önerilmektedir (98,99). Cerrahi sonrası uygulanan RT’nin grade 3 ependimomlarda ve total eksize edilememiş düşük dereceli ependimomlarda etkin bir adjuvan tedavi olduğu belirtilmektedir. Ancak total rezeksiyon yapılmış grade 2 ependimomlar ile ilgili durum net değildir (66). Bazı çalışmalarda infratentorial yerleşimli tümörlerde rezeksiyon durumu ne olursa olsun postoperatif RT verilmesi gerektiği söylenmektedir (100). ST ve SP yerleşimli tümörlerde subtotal rezeksiyonu takiben verilen RT’nin, yalnızca total rezeksiyon yapılan hastalara göre progresyonsuz sağ kalımı kısalttığı görülmüş ve RT almayan subtotal rezeksiyon yapılan hastalar ile arasında fark saptanmamıştır. Bu gibi durumlar klinik karar verme sürecindeki değişikliklere yansımaktadır. Araştırmacılar arasında RT

tedavisinin sağ kalım üzerine etkisi konusunda konsensus mevcut olmayıp (101), bazı çalışmalarda faydası olduğu gösterilmekle birlikte (102) bazı çalışmalarda gösterilememiştir (103-105). Ayrıca radyasyon uygulanacak optimal alan ve radyasyon dozajıda hala tartışmalı bir konudur (66).

Ependimom tedavisinde kemoterapinin rolü henüz iyi tanımlanmamıştır. KT özellikle genç hastalarda, gelişmekte olan sinir sistemine etkileri nedeniyle RT'yi ertelemek için kullanılmaktadır (106-107). Erişkinlerde retrospektif çalışmalar mevcut olup, rekküren hastalığı olanlarda platin bazlı kemoterapi rejimleri ile nitrozüre bazlı tedavi rejimlerine göre daha yüksek cevap ve daha düşük progresyon oranı izlenmiştir (108).

Çalışmamızda olgulara uygulanan postoperatif tedavi dağılımı biraz kafa karıştırıcıdır. Grade 2 tümörler genellikle RT almıştır. Ancak grade 2 tümörler içinde total rezeksiyon yapıp RT alanlar ve subtotal rezeksiyon yapıp RT almayan olgular görülmüş olup, RT almayan grupta nüks gelişmeyen ve hala yaşayan hastalar mevcuttur. Grade 2 total rezeksiyon yapılmış ST yerleşimli tümörü olan bir çocuk hasta RT+KT almış ancak kaybedilmiştir. Anaplastik ependimomların neredeyse tümü postoperatif RT+KT şeklinde ek tedavi almıştır. olup bu daha çok RT+KT şeklindedir. PF yerleşimli tümörü total eksize edilmiş tedavi almayan erişkin bir anaplastik ependimom olgusunda hasta 4 yılın üzerinde nüks gelişmeden yaşamaktadır. Bu durum grade 2 ve grade 3 tümörler içindeki heterojeniteyi yansıtmaktadır. Sadece KT 5 yaş ve altı hastalara verilmiştir.

Çalışmamızda ependimolarda 5 yıllık genel sağ kalım %80 olarak bulunmuştur. Sağ kalım açısından grade 2 ve grade 3 arasında istatistiksel anlamlı fark olup, grade 3 tümörlerde 5 yıllık genel sağ kalım %55, grade 2 tümörlerde %80 olarak saptanmıştır. Genel sağ kalım ile lokalizasyon arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. ST lokalizasyonda yerleşim gösterenlerde genel sağ kalım daha kötüdür. Grade 2 tümörler içinde lokalizasyonun genel sağ kalım üzerine etkisine bakıldığında ST yerleşimli olanlarda genel sağ kalımın daha kötü olduğu bulunmuş olup bu istatistiksel olarak anlamlıdır. Literatürden farklı olarak tümörün total/subtotal rezeksiyon durumu arasında genel sağ kalım açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Bu ameliyat notuna ulaşamadığımız olguların sayısının fazla olmasından kaynaklanmış olabilir. MD Anderson'da yapılan çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi ilişki saptanmamış olup buna postoperatif radyolojik verilerin olmamasının sebep olabileceği gösterilmiştir (71).

İmmünohistokimyasal EMA ekspresyonu olguların % 77,4'ünde izlenmiş, benzer şekilde Martin ve Werner'in yaptığı çalışmada 54 ependimom olgusunda % 89 oranında boyanma saptanmıştır. Çalışmamızda olgularda büyük oranda perinükleer noktasal boyanma görülmüştür. Negatif vakarın yaklaşık yarısı grade 2 ependimomdur. Miksopapiller ependimomlarda beklendiği gibi yüksek oranda EMA ekspresyon kaybı görülmüştür. Grade 3 anaplastik ependimomların sadece birinde boyanma izlenmemiş olup, tümör derecesi ile EMA ekspresyonun kaybı arasında ilişki görülmemiştir (74). EMA ekspresyonunun glioblastom ve oligodendrogliom gibi başka glial tümörlerde de gösterildiği Ishizava ve

arkadaşlarının yaptığı çalışmada antipodoplanin antikorunun ependimom tanısında yardımcı olabileceği söylenmiştir (75). Maria-Magdalena ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da NHERF1/EBP50 antikorunun EMA negatif vakaların %35'inde pozitif saptanarak ependimom tanısında faydalı olarak kullanılabilmesi söylenmektedir (76).

Ki-67 antijeni hücre siklusunda proliferatif fazda eksprese olan bir non-histon proteindir. Tümör içinde proliferatif havuzdaki hücre sayısını belirlemeye yardımcı olmaktadır (77). Çalışmamızda tümör derecesi arttıkça ki-67 proliferasyon indeksinin arttığı izlenmiş olup, gradeler arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Özellikle grade 3 ependimomlarda vakalarının büyük kısmında %5 ve üzerinde ki-67 proliferasyon indeksi görülmüştür. Lakshmi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bizim çalışmamızda olduğu gibi ki-67 proliferasyon indeksi grade ile anlamlı olarak korele bulunmuştur (78). Grade 3 ependimomlar için belirtilen ki-67 proliferasyon indeks sınırı mevcut olmayıp, bizim çalışmamızda dikkati çeken %5 ve üzeri sınır değerinin derecelendirmede kullanılmasının önerilmesi için büyük seri çalışmalar gerekmektedir.

Ki-67 proliferasyon indeksi SP yerleşimli tümörlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük izlenmiştir. Tüm grade 2 ependimomlar arasında ki-67 proliferasyon indeksi intrakranial lokalizasyonda daha yüksek bulunmuştur ve bu istatistiksel olarak anlamlıdır. ST yerleşimli grade 3 tümörlerde grade 2 tümörlerden daha yüksek oranda ki-67 proliferasyon indeksi mevcut olup bu durum PF içinde geçerlidir.

Çalışmamızda ki-67 proliferasyon indeksi ile nüks ve genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Nüks için median değer %3 olarak bulunmuştur. Literatürde daha önce yapılan birçok çalışmada ki-67 proliferasyon indeksinin endimomlarda prognostik belirteç olduğu söylenmektedir (79-83).

Ependimomlarda immünohistokimyasal p53 pozitifliği birçok çalışmada kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (84,85). Fakat TP53 mutasyon varlığı nadiren izlenmekte olup (86,87), Theophilos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 130 endimom vakasında %3 olarak saptanmıştır (42). Yapılan birçok çalışmada endimomlarda p53 geninin fonksiyonel olarak bozulduğu sonucuna varılmıştır (88,89). Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak grade 3 anaplastik endimom ve miksopapiller endimomda daha fazla oranda boyanma izlenmiştir. P53 ile grade arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olup ( $p=0,05$ ), grade 2 tümörler ile grade 3 tümörler arasında anlamlı fark bulunmuştur. Dikkat çekici olarak ST yerleşimli tümörlerde p53 daha yüksek oranda boyanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlıdır. Grade 3 endimomlarda ST yerleşimli olanlarda PF'ya göre anlamlı olarak daha yüksek oranda boyanma saptanmıştır. ST yerleşimli grade 2 endimom ile grade 3 anaplastik endimom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Sonuçta p53 boyanması daha çok ST yerleşimli tümörlerde görülmektedir. Bu durum RELA füzyon gen varlığı ile ilişkili olabilir.

P53 boyanma oranı ile nüks gelişimi ve genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

DNA metilasyon profili çalışmaları ile ependimomlarda lokalizasyona (ST, PF ve SP) spesifik genetik değişiklikler saptanmıştır. Ependimomlar bu saptanan genetik değişikliklere ve tesbit edilen spesifik mutasyonlara göre 9 moleküler alt gruba ayrılmıştır. Bu gruplardan ST-EPN-RELA ve PF-EPN-A daha çok çocuklarda görülmektedir ve prognozları oldukça kötüdür. Yeni yapılan moleküler subgruplamanın özellikle prognozu kötü olan iki gruba yönelik efektif tedavi stratejilerinin tanımlanmasına yardımcı olabileceği ve olguların prognozunu daha iyi öngörebileceği düşünülmektedir (25).

RELA füzyon gen varlığı RT-PCR, RNA sekanslama ve FISH gibi yöntemler kullanılarak gösterilebilmektedir. Bunlardan FISH'in en kolay yöntem olduğu söylenmektedir (7). İmmünohistokimyasal olarak hücre adezyon molekülü olan L1CAM ekspresyonunun birçok glial tümörde görülmekle birlikte RELA füzyon gen varlığı ile ilişkisini gösteren yayınlar mevcuttur. Sınırlı sayıda çalışma mevcut olmakla birlikte, ependimomlarda L1CAM immünohistokimyasal ekspresyonunun C11orf95-RELA füzyonu ile güçlü bir ilişkisinin olması nedeniyle füzyonun saptanmasında potansiyel bir immünohistokimyasal marker olabileceği ifade edilmektedir (5,110).

Bölümümüzde son 10 yıl içerisinde sadece 19 adet ST lokalizasyonlu ependimom tanısı mevcuttur. Olguların çoğu erişkin hastadır. Bu lokalizasyonda sadece 2 hastada RELA füzyon gen varlığı gösterilmiştir. Bunlardan biri grade 3 anaplastik ependimomu olan erişkin hastadır. Hastada tümör total rezeksiyonla çıkarılmış ve hastada 3 kez nüks izlenmiştir ve agresif klinik gidişi nedeni ile RT+KT birlikte verilmiştir. Olgunun primer tümörü ve üç nüksünde de RELA gen füzyonu

gösterilmiş olup, bu sonuç literatür ile uyumludur (25). Diğer hasta grade 2 ependimomu olan çocuk hastadır. Tümör subtotal eksize edilmiştir. RT uygulanan hastada tümör derecesi düşük olduğu halde metastaz gelişmiştir. Olgunun primer tümöründe yaygın nekroz varlığı ve doku kalitesinin kötü olması nedeni ile RELA FISH boyamasında suboptimal sonuç alınmıştır. Bu dokuda şüpheli break apart görülmesine karşın tam değerlendirme yapılamamıştır. Olgunun metastatik tümöründe break apart saptanmıştır. Bu bulgular RELA gen füzyon varlığının tümör derecesi düşük olsa bile kötü prognozla ilişkili olduğunu doğrulamaktadır.

Torsten ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 19 pediatrik ST ependimom tümör örneğinin 14'ünde RELA gen füzyon varlığı saptanmıştır (111). Parker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 122 ST ependimom olgusunun 88'inde RELA gen füzyon varlığı gösterilmiştir. Bu tümörlerin %77'si grade 3 anaplastik ependimom ve %23'ü grade 2 ependimomdur (25). RELA gen füzyon varlığı daha çok grade 3 ependimomlarda izlense de, önemli bir oranda grade 2 ependimomlarda da görülmektedir. Aynı şekilde iyi prognozla ilişkili olan YAP1 füzyon varlığı daha çok grade 3 ependimomlarda gösterilmiş olmakla birlikte grade 2 ependimomlarda da saptanmıştır (25). Bu durum derecelendirmenin prognostik öngörüdeki duyarlılığını azaltmaktadır. Derecelendirme prognozla ilişkili gibi görülsede, kötü ve iyi prognostik moleküler bulguların farklı derecelerde gösterilmesi nedeniyle ependimomlarda derecelendirme ile prognoz örtüşmemektedir. Tek başına derecelendirme dikkate alınarak yapılan tedavi yöntemleri doğru bir tedavi olmamaktadır.

Moleküler subgruplamanın yapılmasını takiben, intrakranial ependimomlara klinik yaklaşımda moleküler sınıflamanın dikkate alınmasının önemi vurgulanarak, bu tümörlerde uygulanacak olan tedavi stratejilerine yönelik alınmış konsensus kararları mevcuttur (12). Ependimomlarda tümü ile moleküler sınıflamaya geçilmesi gerektiği söylenmektedir. Ancak ependimom insidansı oldukça düşük olup, tüm hastanelerin bu sınıflandırmayı yapabilecek ekipman bulundurması mümkün değildir. Referans merkezleri belirlenerek olgular yönlendirilmeli ya da daha kolay uygulanabilir immünohistokimyasal markerlar önerilmelidir. İmmünohistokimyasal ve klinik tanı kriterlerindeki sınırlar her moleküler grup için net şekilde çizilmelidir.

RELA füzyon pozitif iki olgunun kötü prognozla ilişkili olarak ki-67 proliferasyon indeksleri oldukça yüksek orandadır. Yine immünohistokimyasal p53 ekspresyonu dikkat çekici olarak çok yüksek oranda ve şiddetli boyanma şeklinde izlenmiştir. Bu durumu NF-kB sinyal yolunun aktivasyonu ve MDM2 ekspresyonunun artması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak bu 2 olguda TP53 mutasyonu bakılmamıştır. P53 tümör süpressör geninin sağlam olduğu düşünülürse bu vakaların Tzeridis ve arkadaşlarının çalışmasında gösterildiği gibi MDM2 inhibitörleri aracılığıyla p53 geninin yeniden aktive edilerek tümör hücresinde apoptozun indüklenmesi ile fayda görebileceği düşünülmektedir. Bu konuda yapılacak ileri çalışmalar ile mutasyona spesifik optimal tedavi stratejileri geliştirilebilir.

Sonuç olarak; nadir görülen RELA gen füzyon varlığı lokalizasyona spesifik olup, ST olgularda tanımlanan yaş ve derecelendirmeden bağımsız

moleküler bir belirteçtir. DSÖ sınıflamasında kullanılan derecelendirmenin tek başına prognozun belirlenmesinde yeri sınırlıdır. Bu nedenle ependimom olgularında iyi/kötü prognozu belirleyen ve ayrıca hedefe yönelik tedavilerin oluşturulmasında rolü olan moleküler belirteçlerin derecelendirmenin yanı sıra patoloji raporlarında yer alması gerekmektedir.



## 6 SONUÇLAR

1. Çalışmamızda değerlendirilen 110 olgunun büyük kısmı (90/110) 18 yaş üstü hasta olup, erişkin yaş nedeniyle tümör en sık SP bölgede (%53,2) görüldü. 18 yaş ve altı hastalarda ise tümör en sık PF'da (%60) izlendi.

2. Histolojik tümör tipleri içinde en sık grade 2 ependimom (75/110), 2. sıklıkta grade 3 anaplastik ependimom (15/110), 3. sıklıkta mikropapiller ependimom (13/110) ve 4. sıklıkta subependimom (7/110) görüldü. Her iki yaş grubunda da en sık grade 2 ependimom saptandı. Grade 3 anaplastik ependimom çocuklarda daha sık ve yüksek oranda (% 40) tesbit edildi. Nadir bir durum olarak 5 yaşında bir hastada PF yerleşimli subependimom ve 13 yaşında bir hastada lumbal bölge yerleşimli mikropapiller ependimom görüldü.

3. ST yerleşimli olgu sayısı 19 (13 erişkin, 6 çocuk)'dur. Bu bölgede grade 2 ependimom (8/19) ve grade 3 anaplastik ependimom (8/19) eşit sayıda izlendi. Tümör 32 olguda (20 erişkin, 12 çocuk) PF yerleşimliydi. Bu alanda en sık grade 2 ependimom (23/32) izlenirken, grade 3 anaplastik ependimom daha az sayıda (6/32) görüldü. SP bölgede lokalize olgu sayısı 58 (56 erişkin, 2 çocuk) olup, çoğunlukla grade 2 ependimom (44/58) şeklindeydi. Özellikle bu lokalizasyonda yerleşim gösteren mikropapiller ependimom daha az olguda (13/58) saptandı.

4. Nüks, 18 yaş ve altı hastalarda, grade 3 anaplastik ependimomda ve subtotal tümör rezeksiyonu yapılan olgularda anlamlı olarak daha sıktı. Fakat tümör lokalizasyonları ile nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

5. Grade 2 ependimom ya da grade 3 anaplastik ependimomlarda, lokalize olduğu alan (ST, PF ve SP) ile nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

6. Grade 2 ependimomlarda yalnızca RT, grade 3 anaplastik ependimomlarda RT+KT daha sık tercih edilmişti. Subtotal tümör rezeksiyonu yapılan olguların yaklaşık 1/3'üne postoperatif tedavi verilmezken, total tümör rezeksiyonu yapılan olguların %18'ine postoperatif tedavi seçeneklerinden biri uygulanmıştı. ST ve PF yerleşimli tümörlerin yarısından fazlasına postoperatif tedavi verilmiş olup, SP yerleşimli tümörlerde bu oran düşüktü (~% 15) ve çoğunlukla RT şeklindeydi. Postoperatif tedavi almayanların yaklaşık %10'unda nüks gelişirken, her üç tedavi seçeneğinden birini alan olgularda da nüks görülmüştür. Nüksün en fazla izlendiği grup RT+KT alan gruptur.

7. İki olguda (% 1,9) metastaz mevcuttu ve ikisinde ST yerleşimli grade 2 ependimom olgularıydı.

8. Gradeler arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Anaplastik ependimomların büyük kısmında (14/16) ki-67 proliferasyon indeksi %5 ve üzerinde olarak görüldü. Tümörde lokalizasyonlar arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından anlamlı fark bulunmakla birlikte, farklılık SP lokalizasyonda düşük izlenen ki-67 proliferasyon indeksiden kaynaklanmaktadır.

9. İntrakranial yerleşimli grade 2 ependimomlarda ki-67 proliferasyon indeksi SP yerleşimli olanlardan anlamlı olarak daha yüksektir. Grade 3 anaplastik

ependimomlarda ST ve PF lokalizasyonu arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından anlamlı fark mevcuttur. ST yerleşimli grade 2 ependimom ile grade 3 anaplastik ependimom arasında ve PF yerleşimli grade 2 ependimom ile grade 3 anaplastik ependimom arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından anlamlı fark saptanmakla birlikte, SP yerleşimli grade 2 ependimom ile grade 1 miksopapiller ependimom arasında ki-67 proliferasyon indeksi açısından anlamlı fark saptanmadı.

10. p53 boyanma oranı ile histolojik tümör tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış olup, anaplastik ependimom ve miksopapiller ependimomda daha yüksek oranda boyanma görüldü. P53 ST yerleşimli tümörlerde anlamlı olarak daha fazla oranda boyanmaktadır. Ancak bu lokalizasyonda grade 2 ve grade 3 arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Grade 2 ependimomlarda lokalizasyonlar arasında p53 boyanma oranı açısından anlamlı fark yokken, grade 3 anaplastik ependimomlarda ST yerleşimli olanlar PF yerleşimli olanlardan p53 ile anlamlı olarak daha fazla oranda boyanmaktadır. p53 boyanma şiddeti açısından histolojik tümör tipleri ve tümör gradeleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak anaplastik ependimomlarda genellikle şiddetli p53 boyanması görüldü.

11. Ki-67 proliferasyon indeksi ile nüks gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmış olup, p53 boyanma oranı ile nüks gelişimi arasında anlamlı fark saptanmadı. Nüks eden vakalarda median ki-67 proliferasyon indeksi %3 olarak bulundu.

12. Ependimomlarda 5 yıllık genel sağ kalım %80 olarak bulundu.

13. Grade 3 anaplastik ependimomlarda 5 yıllık sağ kalım yaklaşık %55 iken, grade 2 ependimomlarda bu oran %80'e çıkmaktadır. Bu iki grade arasında genel sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur. Miksopapiller ependimomlarda genel sağ kalım % 100'dür. Subependimomlarda da sağ kalım iyi olup, kaybedilen 2 hastanın ileri yaşa ve ameliyat komplikasyonuna bağlı kaybedildiği görüldü.

14. ST yerleşimli tümörlerde genel sağ kalım daha kötüdür ve tümör lokalizasyonu ile sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur.

15. Grade 2 ependimomlarda lokalizasyona göre sağ kalım açısından anlamlı fark saptanırken, grade 3 anaplastik ependimomlarda anlamlı fark saptanmadı. Her iki gradede ST yerleşimli olanlarda daha yüksek oranda eksitus görüldü. SP yerleşimli grade 2 ependimomlarda eksitus tanımlandı.

16. Total/subtotal tümör rezeksiyonu ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

17. Nüks durumu ile genel sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Nüks gelişen hastalarda sağ kalım azalmaktadır.

18. Ki-67 proliferasyon indeksi ile genel sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulunmuş olup, p53 boyanma oranı ile genel sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

19. ST yerleşimli 2 olguda FISH yöntemi ile RELA füzyon gen varlığı saptandı. Her iki olguda da kötü prognoz izlenmiş olup, bu olgular grade 2 çocuk hasta ve grade 3 erişkin hastadır. Çocuk hastada metastaz gelişmiş, erişkin hastada 3 kez nüks izlenmiştir. Erişkin hasta ilk tanısından 67 ay sonra kaybedilmiş olup, çocuk hasta ilk tanıdan 24 ay sonra gelişen metastaz sonrası 1 aydır hala hayattadır.

20. RELA füzyon gen varlığı nüks ve metastatik tümör dokularında da saptanmıştır.

21. RELA gen füzyon varlığı ST lokalizasyona spesifik olup, PF ve SP yerleşimli tümörü olan hiçbir olguda görülmedi.

22. RELA füzyon pozitif iki olguda da kötü prognozla ilişkili olarak yüksek ki-67 proliferasyon indeksleri izlendi. Aynı şekilde p53 boyanma oranları ve şiddetleri de yüksek olup, bunun NF-kB sinyal yolundaki MDM2 ekspresyonunun artmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

## 7 ÖZET

### EPENDİMOMLARDA FISH YÖNTEMİ İLE RELA FÜZYON GEN VARLIĞININ VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK P53 BOYANMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Ependimomlar, nadir görülen heterojen nöroepitelyal malign tümörlerdir. Çocuklarda daha sık görülür ve prognozları oldukça kötüdür.

Ependimomlarda, derecelendirmenin prognostik öngörü ve tedavi yaklaşımını yönlendirmedeki kısıtlılığı nedeniyle ve farklı lokalizasyonlarda tümör gelişimine neden olan farklı kök hücrelerin saptanmasıyla birlikte moleküler çalışmalar başlamıştır. DNA metilasyon profili çalışmaları ile ependimomlar lokalizasyona spesifik 9 moleküler subgruba ayrılmıştır. Bu gruplardan biri olan “RELA füzyon pozitif ependimom” 2016 yılı DSÖ sınıflamasına giren tek moleküler gruptur. ST lokalizasyonda görülmektedir. Çoğunlukla çocuklarda saptanmakla birlikte erişkinlerde de gösterilmiştir. Kötü prognozla ilişkilidir. NF-Kb sinyal yolağıyla ilişkili olan bu füzyon geni, çeşitli teröpatik çalışmalar için hedeftir.

Çalışmamızda Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda 2006-2017 yılları arasında tanı almış 110 ependimom olgusu yaş, histolojik tümör tipi, grade, lokalizasyon, rezeksiyon durumu, nüks gelişimi ve genel sağ kalım açısından incelendi. Tümör dokularında immünhistokimyasal olarak ki-67, p53 ve EMA ekspresyonuna bakıldı. Ayrıca hazırlanan tümör doku mikrodizinine RELA

FISH boyaması yapılarak RELA füzyon gen varlığı araştırıldı. Tüm parametreler birbiriyle karşılaştırıldı ve prognostik anlamları değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal olarak ki-67 proliferasyon indeksi ile nüks ve genel sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanırken, p53 ile her ikisiyle de anlamlı ilişki bulunamadı.

ST yerleşimli, grade 2 ependimomu olan çocuk hastada ve grade 3 anaplastik ependimomu olan erişkin hastada olmak üzere 2 olguda break apart FISH probu ile RELA füzyon gen varlığı saptandı. Her iki olguda da ki-67 ve p53 ile yüksek oranda boyanma görüldü. PF ve SP yerleşimli hiçbir olguda RELA gen füzyon varlığı görülmedi.

RELA gen füzyon varlığı; lokalizasyon bağımlı, tümör derecesinden bağımsız ve kötü prognozla ilişkili moleküler bir belirteçdir. Ancak az sayıda vakada görüldüğü için, bu değerlendirme referans merkezler tarafından yapılmalıdır. Kolay uygulanabilir immünohistokimyasal markerların belirlenmesi için seri çalışmalar gereklidir.

*Anahtar kelimeler:* Ependimom, RELA füzyon geni, FISH, immünohistokimya.

## 8 SUMMARY

### DETECTION OF RELA FUSION GENE BY FISH AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STAIN WITH P53 IN EPEDYMOMAS

Ependymomas are rare heterogenic neuroepithelial malignancies. Incidence among children is more frequent and the prognosis of the disease is worse than adults.

Molecular studies regarding ependymoma have started mainly due to the following reasons: (i) assessment is limited for prognostic prediction and treatment approach, and (ii) different root cells that cause tumor development at different locations were discovered. Based on the methylation profiling studies on ependymoma, the tumors are sub-grouped under 9 categories according to their locations. RELA fusion-positive ependymoma is the only genetically defined subtype accepted by World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System in 2016. It occurs at supratentorial region. Although it occurs mostly among children, some studies also reported among adults. RELA fusion positivity is associated with worse prognosis. The fusion gene related to NF-Kb signal pathway which is targeted for therapeutic practice.

In this study, we examined 110 ependymomas diagnosed between 2006 and 2017 in the Pathology Department of Gazi University Medical School. We compared with many factors such as age, histological tumor type, grade, location, resection, recurrence, and survival. We studied the expression of ki-67, p53, and EMA immunohistochemistry in tumor tissues. Additionally, we investigated the

RELA fusion gene presence in microarrays of tumor tissues by RELA FISH staining. We compared all the relevant parameters and looked at the prognostic values.

Although there is a significant correlation between ki-67 proliferation index and both recurrence and survival, there is no significant correlation between p53 and either factor.

We found RELA fusion gene by break apart FISH probe at 2 cases: A child with a grade 2 ependymoma at supratentorial region and an adult with grade 3 anaplastic ependymoma at the same region. In both cases, high degree of staining with ki-67 and p53 was also observed.

The presence of RELA gene fusion is dependent on location whereas it is independent of tumor grade. It is also a molecular marker associated with worse prognosis. However, since this occurred in a small number of cases, further evaluation should be made by reference centers. Further series of experiments are needed to discover other immunohistochemical markers that are easier to handle.

*Key words:* Ependymoma, RELA fusion gene, FISH, Immunohistochemistry.

## 9 KAYNAKLAR

1. David N. Louis, Matthew P.Frosch, Hernando Mena, Elisabeth J. Rushing, Alexander R. Judkins Non-Neoplastik Diseases of the Central Nervous System, DC 20306-6000, 2009.
2. Nathalie Spassky, Florian T.Merkle, Nuria Flames, Anthony D.Tramontin, Jose Manuel Garcia-Verdugo and Arturo Alvarez-Buylla. Adult Ependymal Cells Are Postmitotic and Are Drived From Radial Glial Cells during Embryogenesis, Journal of Neuroscience 2005, 25 (1) 10-18.
3. Taylor MD, Poppleton H, Fuller C, Su X, Liu Y, Jensen P, et al. (2005) Radial glial cells are candidate stem cells of ependymoma. Cancer Cell. 8(4):323-35.
4. Johnson RA, Wright KD, Poppleton H, Mohankumar KM, Finkelstein D, Pounds SB, et all. (2010). Cross-species genomics matches driver mutations and cell compartments to model ependymoma. Nature. 466(7306):632-6.
5. Parker M, Mohankumar KM, Punchihewa C, Weinlich R, Dalton JD, Li Y, et al. (2014). C11orf95-RELA fusion drive oncogenetic NF-kB signalling in ependymoma. Nature. 506(7489):451-5.
6. Matthew J. Schniederjan and Daniel J. Brat. Biopsy Interpretation of the Central Nervous System, 2011.
7. WHO. Classification of tumours of the central nervous system. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Ellison DW, Figarella-Branger D, et al,

eds. World Health Organization Classification of Tumours. Revised 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2016.

8. Lehman, NL, Central nervous system tumors with ependymal features: a broadened spectrum of primarily ependymal differentiation? *J Neuropathol Exp Neurol.* 2008;67(3):177-88.

9. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Rouse C, Chen Y, Dowling J, et al. (2014). CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007-2011. *Neuro Oncol.* 16 Suppl 4:iv1-63.

10. Purdy E, Johnston DL, Bartels U, Fryer C, Carret AS, Crooks B, et al. Ependymoma in children under the age of 3 years: a report from the Canadian Pediatric Brain Tumour Consortium. *J Neurooncol.* 117(2):359-64.

11. Schoenberg BS, Schoenberg DG, Christine BW, Gomez MR (1976) The epidemiology of primary intracranial neoplasms of childhood. A population study. *Mayo Clin Proc.* 51(1):51-6.

12. Pajtler WK, Mack SC, Ramaswamy V, Smith CA, Witt H, et al. The current consensus of the clinical management of intracranial ependymomas and its distinct molecular variants. (2017). *Acta Neuropathol* 133:5-12.

13. Schiffer D, Giordana MT (1998). Prognosis of ependymoma. *Childs Nerv Syst.* 14(8):357-61.

14. Kudo H, Oi S, Tamaki N, Nishida Y, Matsumoto S. (1990) Ependymoma diagnosed in the first year of life in Japan in collaboration with the International Society for Pediatric Neurosurgery. *Childs Nerv Syst.* 6(7):375-8.
15. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 2011, 10th edition, p 2308.
16. Bouffet E, Perilongo G, Canete A, Masmino M (1998). Intracranial ependymomas in children: a critical review of prognostic factors and a plea for cooperation. *Med Pediatr Oncol.* 30(6):319-29 discussion 329-31.
17. Ellison DW, Kocak M, Figarella-Branger D, Felice G, Catherine G, Pietsch T, et al.(2011) Histopathological grading of pediatric ependymoma: reproducibility and clinical relevance in European trial cohorts. *J Negat Results Biomed.* 10:7.
18. Figarella-Branger D, Civatte M, Bouvier-Labit C, Gouvernet J, Gambarelli D, Gentet JC, et al. (2000). Prognostic factors in intracranial ependymomas in children *J Neurosurg.* 93(4):605-13.
19. Godfraind C (2009). Classification and controversies in pathology ependymoma. *Child Nerv Syst.* 25(10):1185-93.
20. Tihan T, Zhou T, Holmes E, Burger PC, Ozuysal S, Rushing EJ (2008). The prognostic value of histological grading of posterior fossa ependymomas in children: a Children's Oncology Group Study and review of prognostic factors. *Mod Pathol.* 21(2):165-77.

21. Mack SC, Witt H, Piro RM, Gu L, Zuyderduyn S, Stütz AM, et al. (2014). Epigenomic alterations define lethal CIMP- positive ependymomas of infancy. *Nature*. 506(7489):445-50.
22. Pajtler KW, Witt H, Sill M, Jones DT, Hovestadt V, Kratochwill F et al. (2015). Molecular Classification of Ependymal Tumors across All CNS Compartments, Histopathological Grades, and Age Groups. *Cancer Cell*. 27(5):728-43.
23. Witt H, Mack SC, Ryzhova M, Bender S, Sill M, Isserlin R, et al. (2011). Delineation of two clinically and molecularly distinct subgroups of posterior fossa ependymoma. *Cancer Cell*. 20(2):143-57.
24. Kilday JP, Rahman R, Dyer S, Ridley L, Lowe J, Coyle B, et al. (2009). Pediatric ependymoma: biological perspectives. *Mol Cancer Res*. 7(6):765-86.
25. Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Benner A, Remke M, Ryzhova M, et al. (2010). Molecular staging of intracranial ependymoma in children and adults. *J Clin Oncol*. 28(19):3182-90.
26. Rubio MP, Correa KM, Ramesh V, MacCollin MM, Jacoby LB, von Deimling A, et al. Analysis of the neurofibromatosis 2 gene in human ependymomas and astrocytomas. *Cancer Res* 1994;54(1):457.
27. Carter M, Nicholson J, Ross F, Crolla J, Allibone R, Balaji V, et al. (2002). Genetic abnormalities detected in ependymomas by comparative genomic hybridization. *Br J Cancer*. 86(6):929-39.

28. Poppleton H, Gilbertson RJ, (2007). Stem cells of ependymoma. *Br J Cancer*. 96(1):6-10.
29. Kilday JP, Mitra B, Domerg C, Ward J, Andreiuolo F, Osteso-Ibanez T, et al. (2012). 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), Societe Francaise d'Oncologie Pediatrique (SFOP), and International Society for Pediatric Oncology (SIOP). *Clin Cancer Res*. 18(7):2011-11.
30. Uyar Bozkurt S. Current Pathogenesis, Histological and Molecular Approaches in Ependymal Tumors. *Türkiye Klinikleri J Med Pathol-Special Topics* 2016;1(2):30-7.
31. Yuan Yao, Stephen C. Mack, Michael D. Taylor. Molecular genetics of ependymoma *Chin J Cancer*. 2011 Oct; 30(10): 669-681.
32. Dyer S, Prebble E, Davison V, Davies P, Ramani P, Ellison D, Grundy R. Genomic imbalances in pediatric intracranial ependymomas define clinically relevant groups. *Am. J. Pathol*. 2002; 161:2133–2141.
33. Mack SC, Witt H, Piro RM, Gu L, Zuyderduyn S, Stütz AM, Wang X, Gallo M, Garzia L, Zayne K, et al. Epigenomic alterations define lethal CIMP-positive ependymomas of infancy. *Nature*. 2014; 506:445–450
34. Mendrzyk F, Korshunov A, Benner A, Toedt G, Pfister S, Radlwimmer B, Lichter P. Identification of gains on 1q and epidermal growth factor receptor

overexpression as independent prognostic markers in intracranial ependymoma. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12:2070–2079.

35. Wani K, Armstrong TS, Vera-Bolanos E, Raghunathan A, Ellison D, Gilbertson R, Vaillant B, Goldman S, Packer RJ, Fouladi M, et al. Collaborative Ependymoma Research Network. A prognostic gene expression signature in infratentorial ependymoma. *Acta Neuropathol.* 2012; 123:727–738.

36. Nobusawa S, Hirato J, Yokoo H. Molecular genetics of ependymomas and pediatric diffuse gliomas: a short review. *Brain Tumor Pathol* 2014;31(4):229-33.

37. Nagasawa DT, Trang A, Choy W, Spasic M, Yew A, Zarinkhou G, et al. Genetic expression profiles of adult and pediatric ependymomas: molecular pathways, prognostic indicators, and therapeutic targets. *Clin Neurol Neurosurg* 2013;115(4):388-99.

38. 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.

39. Ebert C, von Haken M, Meyer-Puttlitz B, Wiestler OD, Reifenberger G, Pietsch T, von Deimling A. Molecular genetic analysis of ependymal tumors. NF2 mutations and chromosome 22q loss occur preferentially in intramedullary spinal ependymomas. *Am. J. Pathol.* 1999; 155:627–632.

40. 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; 10:258–266.
41. Archer TC, Pomeroy SL. Posterior fossa ependymomas: a tale of two subtypes. *Cancer Cell.* 2011; 20:133–134.
42. Tzaridis T, Milde T, Pajtler KW, Bender S, Jones DT, et al. (2016) Low-dose Actinomycin-D treatment re-establishes the tumour suppressive function of P53 in RELA-positive ependymoma. *Oncotarget.* 20;7(38):61860-61873.
43. Ho DM, Hsu CY, Wong TT, Chiang H. A clinicopathologic study of 81 patients with ependymomas and proposal of diagnostic criteria for anaplastic ependymoma. *J Neurooncol* 2001;54(1):77-85.
44. 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;98(10):2232-44.
45. Chen X, Li C, Che X, Chen H, Liu Z. Spinal myxopapillary ependymomas: a retrospective clinical and immunohistochemical study. *Acta Neurochir (Wien)* 2016;158(1):101-7.
46. 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.
47. Raghunathan A, Wani K, Armstrong TS, Vera-Bolanos E, Fouladi M, Gilbertson R, et al. Collaborative Ependymoma Research Network (2013).

Histological predictors of outcome in ependymoma are dependent on anatomic site within the central nerve system. *Brain Pathol.* 23(5):594-94.

48. Figarella-Branger D, Civatte M, BouvierLabit C, Gouvernet J, Gambarelli D, Gentet JC, et al. Prognostic factors in intracranial ependymomas in children. *J Neurosurg* 2000;93(4):605-13.

49. Jensen RA, Page DL, P53: The promising story continues to unfold. *Humon Pathol.* 1993;24:455-456.

50. 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.

51. Ragel BT, Osborn AG, Whang K, Townsend JJ, Jensen RL, Couldwell WT, (2006). Subependymomas: an analysis of clinical and imaging features. *Neurosurgery* . 58.(5):881-90.

52. Fuller CE, Narendra S. Ependymomas and choroid plexus tumors. In: Perry A, Brat DJ, eds. *Practical Surgical Neuropathology: a Diagnostic Approach*, 1sted. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010. p.103-23.

53. Prayson RA (1997). Myxopapillary ependymoma: a clinicopathologic study of 14 cases including MIB-1 and p53 immunoreactivity. *Mod Pathol.* 10(4):304-10.

54. Vege KD, Giannini C, Scheithauer BW (2000). The immunophenotype of ependymomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 8(1):25-31.

55. Fouladi M, Helton K, Dalton J, Gilger E, Gajjar A, Merchant T, et al. (2003) Clear cell ependymoma: a clinicopathologic and radiographic analysis of 10 patients. *Cancer* . 98(10):2232-44.
56. Kawano N, Yasui Y, Utsuki S, Oka H, Fujii 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;21(1):17-21.
57. Ishizawa K, Komori T, Shimada S, Hirose T. Olig2 and CD99 are useful negative markers for the diagnosis of brain tumors. *Clin Neuropathol* 2008;27(3):118-28.
58. Andreiuolo F, Puget S, Peyre M, Dantas-Barbosa C, Boddaert N, Philippe C, et al. (2010). Neuronal differentiation distinguishes supratentorial and infratentorial childhood ependymomas. *Neuro Oncol*. 12(11):1126-34.
59. <https://www.cancer.gov/types/brain/patient/child-glioma-treatment-pdq> (cited 2017 20 September).
60. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A, *Annu Rev Neurosci*. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. 2009; 32():149-84.
61. Venkatramani R, Dhall G, Patel M, Grimm J, Hawkins C, McComb G, Krieger M, Wong K, O'Neil S, Finlay JL. Supratentorial ependymoma in children: to observe or to treat following gross total resection? *Pediatr. Blood Cancer*. 2012; 58:380–383

62. Bouffet E, Foreman N. Chemotherapy for intracranial ependymomas. *Childs Nerv. Syst.* 1999; 15:563–570.
63. Bouffet E, Tabori U, Huang A, Bartels U. Ependymoma: lessons from the past, prospects for the future. *Childs Nerv. Syst.* 2009; 25:1383–1384. author reply 1385.
64. Gatta G, Botta L, Rossi S, Aareleid T, Bielska-Lasota M, Clavel J, Dimitrova N, Jakab Z, Kaatsch P, Lacour B, et al. EURO CARE Working Group. Childhood cancer survival in Europe 1999-2007: results of EURO CARE-5—a population-based study. *Lancet Oncol.* 2014; 15:35–47.
65. Frank Y.Lin, Murali Chintagumpala. Advances in Management of Pediatric Ependymomas. *Curr Onkol Rep* (2015) 17:47.
66. Jing Wu, Terri S. Armstrong, Mark R. Gilbert. Biology and management of ependymomas. *Neuro-Oncology* 18(7), 902-913, 2016.
67. Godfraind C. Classification and controversies in pathology of ependymomas. *Childs Nerv Syst.* 2009;25(10):1185–1193.
68. Mack SC, Taylor MD. The genetic and epigenetic basis of ependymoma. *Childs Nerv Syst.* 2009;25(10):1195–1201.
69. Elizabeth Vera-Bolanos, Kenneth Aldape, Ying Yuan et al. Clinical course and progression-free survival of adult intracranial and spinal ependymoma patients. *Neuro-Oncology* 17(3), 440-447, 2015.

70. Mina Asaid, Patrick D. Preece, Mark A. Rosenthal ve Katharine J. Drummond. Ependymoma in adults: Local experience with an uncommon tumor. *Journal of Clinical Neuroscience* 22 (2015) 1392-1396.
71. Armstrong TS, Vera-Bolanos E, Bekele BN, et al. Adult ependymal tumors: prognosis and the M.D. Anderson Cancer Center experience. *Neuro Oncol* 2010;12:862–70.
72. Roger E. McLendon, Eric Lipp, Diane Satterfield et al. Prognostic marker analysis in pediatric intracranial ependymomas. *J Neurooncol* (2015) 122:255–261.
73. Zonggang Hou, Zhen Wu, Junting Zhang et al. Clinical features and management of intracranial subependymomas in children. *Journal of Clinical Neuroscience* 20 (2013) 84–88.
74. Martin Hasselblatt, Werner Paulus. Sensitivity and specificity of epithelial membrane antigen staining patterns in ependymomas. *Acta Neuropathol* (2003) 106 : 385–388.
75. K. Ishizawa, T. Komori, S. Shimada et al. Podoplanin is a potential marker for the diagnosis of ependymoma: a comparative study with epithelial membrane antigen (EMA). *Clinical Neuropathology*, Volume 28 - Sept/Oct (373 - 378).
76. Maria-Magdalena Georgescu, Paul Yell, Bret C Mobley et al. NHERF1/EBP50 is an organizer of polarity structures and a diagnostic marker in ependymoma. Georgescu et al. *Acta Neuropathologica Communications* (2015) 3:11

77. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133:1710-5.
78. Lakshmi P Manasa, MS Uppin, C Sundaram. Correlation of p53 and KI-67 expression with grade and subtype of ependymoma. *Indian J. Pathol Microbiol* 2012;55:308-13.
79. Donald Ming-Tak Ho, Chih-Yi Hsu, Tai-Tong Wong ve Hung Chiang. A clinicopathologic study of 81 patients with ependymomas and proposal of diagnostic criteria for anaplastic ependymoma. *Journal of Neuro-Oncology* 54: 77–85, 2001.
80. Rushing EJ, Brown DF, Hladik CL, Risser RC, Mickey BE, White CL III. Correlation of bcl-2, p53, and MIB-1 expression with ependymoma grade and subtype. *Mod Pathol* 1998;11:464-70.
81. Suzuki S, Oka H, Kawano N, Tanaka S, Utsuki S, Fujii K. Prognostic value of Ki-67 (MIB-1) and p53 in ependymomas. *Brain Tumor Pathol* 2001;18:151-4.
82. Suri VS, Tatke M, Singh D, Sharma A. Histological spectrum of ependymomas and correlation of p53 and Ki-67 expression with ependymoma grade and subtype. *Indian J Cancer* 2004;41:66-71.
83. Sharma MC, Ghara N, Jain D, Sarkar C, Singh M, Mehta VS. A study of proliferative markers and tumor suppressor gene proteins in different grades of ependymomas. *Neuropathology* 2009;29:148-55.

84. Korshunov A, Golanov A, Timirgaz V. Immunohistochemical markers for prognosis of ependymal neoplasms. *Journal of neuro-oncology*. 2002;58:255–270.
85. Korshunov A, Golanov A, Timirgaz V. Immunohistochemical markers for intracranial ependymoma recurrence. An analysis of 88 cases. *Journal of the neurological sciences*. 2000;177:72–82.
86. Fink KL, Rushing EJ, Schold SC, Jr, Nisen PD. Infrequency of p53 gene mutations in ependymomas. *Journal of neuro-oncology*. 1996;27:111–115.
87. Nozaki M, Tada M, Matsumoto R, Sawamura Y, Abe H, Iggo RD. Rare occurrence of inactivating p53 gene mutations in primary non-astrocytic tumors of the central nervous system: reappraisal by yeast functional assay. *Acta neuropathologica*. 1998;95:291–296.
88. Verstegen MJ, Leenstra DT, Ijlst-Keizers H, Bosch DA. Proliferation- and apoptosis-related proteins in intracranial ependymomas: an immunohistochemical analysis. *Journal of neuro-oncology*. 2002;56:21–28.
89. Gaspar N, Grill J, Georger B, Lellouch-Tubiana A, Michalowski MB, Vassal G. p53 Pathway dysfunction in primary childhood ependymomas. *Pediatric blood & cancer*. 2006;46:604–613.
90. Helwig EB, Stern JB. Subcutaneous sacrococcygeal myxopapillary ependymoma. A clinicopathologic study of 32 cases. *Am J Clin Pathol* 1984; 81:156–161.

91. Patrick J. Cimino, Ashima Agarwal, and Louis P. Dehner. Myxopapillary Ependymoma in Children: A Study of 11 Cases and a Comparison With the Adult Experience. *Pediatr Blood Cancer* 2014;61:1969–1971.
92. Sebire NJ, Fowler D, Ramsay AD. Sacrococcygeal tumors in infancy and childhood. A retrospective histopathological review of 85 cases. *Fetal Pediatr Pathol* 2004; 23:295–303.
93. Idowu MO, Rosenblum MK, Wei XJ, et al. Ependymomas of the central nervous system and adult extra-axial ependymomas are morphologically and immunohistochemically distinct—A comparative study with assessment of ovarian carcinomas for expression of glial fibrillary acidic protein. *Am J Surg Pathol* 2008; 32:710–718.
94. Rodriguez D, Cheung MC, Housri N, Quinones-Hinojosa A, Camphausen K, Koniaris LG. Outcomes of malignant CNS ependymomas: an examination of 2408 cases through the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) database (1973–2005). *J Surg Res.* 2009;156(2):340–351.
95. Amirian ES, Armstrong TS, Aldape KD, Gilbert MR, Scheurer ME. Predictors of survival among pediatric and adult ependymoma cases: a study using Surveillance, Epidemiology, and End Results data from 1973 to 2007. *Neuroepidemiology.* 2012;39(2):116–124.
96. Eli T. Sayegh, Derick Aranda, Joseph M. Kim. Prognosis by tumor location in adults with intracranial ependymomas. *J Clin Neurosci.* 2014 Dec; 21(12): 2096–2101.

97. Raghunathan A, Wani K, Armstrong TS, et al. Histological predictors of outcome in ependymoma are dependent on anatomic site within the central nervous system. *Brain Pathol.* 2013;23(5):584–594.
98. Massimino M, Solero CL, Garre ML, et al. Second-look surgery for ependymoma: the Italian experience. *J Neurosurg Pediatr.* 2011;8(3):246–250.
99. Foreman NK, Love S, Gill SS, Coakham HB. Second-look surgery for incompletely resected fourth ventricle ependymomas: technical case report. *Neurosurgery.* 1997;40(4):856–860; discussion 860.
100. Rogers L, Puschel J, Spetzler R, et al. Is gross-total resection sufficient treatment for posterior fossa ependymomas? *J Neurosurg.* 2005;102(4):629–636.
101. Iqbal MS, Lewis J. An overview of the management of adult ependymomas with emphasis on relapsed disease. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2013;25(12):726–733.
102. Oh MC, Ivan ME, Sun MZ, et al. Adjuvant radiotherapy delays recurrence following subtotal resection of spinal cord ependymomas. *Neuro Oncol.* 2013;15(2):208–215.
103. Aizer AA, Ancukiewicz M, Nguyen PL, 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):411–419.
104. Feldman WB, Clark AJ, Safaee M, et al. Tumor control after surgery for spinal myxopapillary ependymomas: distinct outcomes in adults versus children. *J Neurosurg Spine.* 2013;19(4):471–476.

105. Ghia AJ, Mahajan A, Allen PK, et al. Supratentorial gross-totally resected non-anaplastic ependymoma: population based patterns of care and outcomes analysis. *J Neurooncol*. 2013; 115(3):513–520.
106. Duffner PK, Horowitz ME, Krischer JP, et al. Postoperative chemotherapy and delayed radiation in children less than three years of age with malignant brain tumors. *N Engl J Med*. 1993;328(24):1725–1731.
107. Souweidane MM, Bouffet E, Finlay J. The role of chemotherapy in newly diagnosed ependymoma of childhood. *Pediatr Neurosurg*. 1998;28(5):273–278.
108. Gornet MK, Buckner JC, Marks RS, Scheithauer BW, Erickson BJ. Chemotherapy for advanced CNS ependymoma. *J Neurooncol*. 1999;45(1):61–67.
109. Wael Alshaya, Vivek Mehta, Beverly A. Wilson et al. Low-grade ependymoma with late metastasis: autopsy case study and literature review. *Childs Nerv Syst* (2015) 31:1565–1572.
110. Shumpei Onishi, Fumiyuki Yamasaki, Yoshiko Nakano et al. RELA fusion positive anaplastic ependymoma: molecular characterization and advanced MR imaging. *The Japan Society of Brain Tumor Pathology* 2017.
111. Torsten Pietsch, Inken Wohler, Tobias Goschzik et al. Supratentorial ependymomas of childhood carry C11orf95-RELA fusion leading to pathological activation of the NF- $\kappa$ B signalling pathway. *Acta Neuropathol* (2014) 124:609-611.