



T.C

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MEDULLOBLASTOMA TÜMÖR OLGULARIMIZDA KLİNİK VE
MOLEKÜLER OLARAK WNT VE SHH ALT GRUPLARININ
RETROSPEKTİF OLARAK BELİRLENMESİ**

Dr. İsmail Seçkin Kaya

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2020



T.C

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MEDULLOBLASTOMA TÜMÖR OLGULARIMIZDA KLİNİK VE
MOLEKÜLER OLARAK WNT VE SHH ALT GRUPLARININ
RETROSPEKTİF OLARAK BELİRLENMESİ**

Dr. İsmail Seçkin Kaya

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Mevlüt Özgür Taşkapılıoğlu

BURSA-2020

İÇİNDEKİLER

Özet.....	iii
İngilizce Özet.....	v
Giriş	1
1.1. Pediatrik Beyin Tümörleri.....	1
1.2. Medulloblastoma Tarihçesi.....	2
1.3. Medulloblastoma Epidemiyolojisi.....	4
1.4. Medulloblastoma Klinik Özellikleri.....	5
1.5. Medulloblastoma Moleküler Mekanizması.....	6
1.5.1. WNT-MB Alt Grubu Medulloblastomalar.....	7
1.5.2. SHH-MB Alt Grubu Medulloblastomalar.....	8
1.5.3. Grup 3-MB Alt Grubu Medulloblastomalar.....	10
1.5.4. Grup 4-MB Alt Grubu Medulloblastomalar.....	11
1.6. Medulloblastoma Radyolojik Özellikleri.....	12
1.7. Medulloblastoma Tanı ve Tedavisi.....	14
Gereç ve Yöntem.....	20
2.1. Hastaların Seçim Kriterleri.....	20
2.2. Parafinize Edilmiş Doku Örneklerinden RNA Elde Edilmesi.....	21
2.3. Komplementer DNA (Complamenter DNA, cDNA) Sentezi.....	21
2.4. RT-PCR Analizi.....	22
2.5. İstatistiksel analiz.....	23
Bulgular.....	24
3.1. Hasta Özellikleri.....	24
3.2. Elde Edilen RNA'ların Miktar ve Kalite Tayini.....	26
3.3. Medulloblastoma Hastalarının Klinik Alt Gruplandırılması.....	27
3.4. Medulloblastoma Hastalarının Moleküler Alt Gruplandırılması.....	28
3.5. Medulloblastoma Hastalarının Moleküler Olarak Belirlenen Alt Gruplarında WNT-MB ve SHH-MB ile İlişkili Gen Ekspresyon Düzeylerinin Analizi.....	31

3.6. Medulloblastoma Hastalarının Moleküler ve Klinik Olarak Belirlenen Alt Gruplarının Karşılaştırılması.....	32
3.7. Medulloblastoma Hastalarında WNT-MB ve SHH-MB Alt Grubu Hastalardaki Genel Sağ kalım ilişkileri.....	34
Tartışma ve Sonuç.....	35
Kaynaklar.....	41
Kısaltmalar.....	48
Teşekkür.....	50
Özgeçmiş.....	51

ÖZET

Medulloblastoma (MB), çocukluk çağında görülen en yaygın malign beyin tümörüdür. Bu tümörlerde tedavi; cerrahiye ek olarak radyoterapi ve kemoterapidir. Ancak uygulanan kemoterapi, MB'lara özgü olmayıp diğer pediatrik glial tümörlerde kullanılan ilaçlarla sınırlı kalmaktadır. Son dönemde yapılan çalışmalarda her MB'nın aynı özellikte olmadığı, moleküler düzeyde farklı alt gruplarının bulunduğu, farklı hastalarda değişik prognoz gösterdiği belirtilmiştir ve Wingless (WNT), Sonic Hedgehog (SHH), Grup 3 ve Grup 4 olmak üzere dört alt gruba ayrılmıştır.

MB'ların biyolojik alt tiplerine dayanan bu grup ayrımları genellikle klinik olarak yapılabilmektedir. Klinik olarak belirlenen alt grupların, moleküler olarak da belirlenmesi ve desteklenmesi, hasta gruplarının net ayrımının yapılması ve tedavi protokollerinin bu doğrultuda şekillenmesi için önemli olabileceği düşünülmektedir.

Mevcut tez çalışmasında hasta seçim kriterlerine göre belirlenen Türk popülasyonuna ait MB'larda, CTNNB1, AXIN, PTCH1, SMO, SUFU ve GLI1 mRNA ekspresyon değişimleri incelenerek WNT-MB ve SHH-MB alt tiplerinin moleküler düzeyde belirlenmesi ve klinik olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda klinik olarak WNT-MB ve SHH-MB gruplarının ayrımı; hastaların yaşı, cinsiyeti, sağ kalım süresi, lezyonun yerleşim yeri ve radyolojik özellikleri dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Moleküler ayrımı ise CTNNB1, AXIN, PTCH1, SMO, SUFU ve GLI1 mRNA ekspresyon değişimlerinin gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) analizi ile incelenerek gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak olguların moleküler anlamda %17,8'inin WNT-MB, %22,2'sinin SHH-MB grubuna dahil olduğu belirlenmiştir. Klinik ve moleküler verilere göre yapılan grup ayrımları karşılaştırıldığında WNT-MB grubunda %72,7, SHH-MB grubunda ise %66,6 oranında eşleşme gözlemlenmiştir.

Bu tez, WNT-MB ve SHH-MB gruplarına dahil olmayan tümörlerin klinik, patolojik ve demografik özelliklerine ve MYC, MYCN, GFLB1, OTX-2, KDM6A, SNCAIP genlerinin mRNA düzeylerine göre Grup 3-MB ve Grup 4-MB olarak ayrılabilmesine zemin hazırlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Medulloblastoma, WNT, SHH, Moleküler Tanı

SUMMARY

Retrospective Clinical And Molecular Determination Of WNT And SHH Subgroups In Our Medulloblastoma Tumor Cases

Medulloblastoma (MB) is the most widely seen malign brain tumor in childhood. In addition surgery, treatment for this tumor is radiotherapy and chemotherapy but there is no spesific chemotherapy for MBs. It is limited by theraphies which is used for other pediatric glial tumours. Recent researches showed that, all MB cases have not same property, have different subgroups in molecular level, shows different prognosis for different patients and divided into four groups such as Wingless (WNT), Sonic Hedgehog (SHH), Group 3 and Group 4.

Generally, these group distinctions based on the biological subtypes of MBs can usually be made clinically. It is thought that clinically determined subgroups can be important for molecular identification and support, differentiate patient groups obviously, and determining the treatment protocols from this respect.

In this thesis study, it was aimed to determine the WNT and SHH subtypes at the molecular level and to compare them clinically by examining the CTNNB1, AXIN, PTCH1, SMO, SUFU and GLI1 mRNA expression changes in MBs of Turkish population determined according to patient selection criteria. In this context, the clinical distinction between WNT and SHH groups are realized by considering the age, gender, survival time, location of the lesion and radiological features of the patients. Molecular separation was performed by real time PCR (RT-PCR) analysis of CTNNB1, AXIN, PTCH1, SMO, SUFU and GLI1 mRNA expression changes.

As a result, it was determined that 17.8% of the cases were included in the WNT group and 22.2% in the SHH group. When comparing group

differences based on clinical and molecular data, 72.7% matches were observed in the WNT group and 66.6% in the SHH group.

This thesis will set the grounds for the tumors that are not included in the WNT and SHH groups to be divided into Group 3 and Group 4 in terms of the clinical, pathological and demographic characteristics and mRNA levels of the MYC, MYCN, GFLB1, OTX-2, KDM6A, SNCAIP genes.

Keywords: Medulloblastoma, WNT, SHH, Molecular diagnosis

GİRİŞ

1. Genel Bilgiler

1.1. Pediatrik Beyin Tümörleri

Santral sinir sistemi (SSS) tümörleri, çocukluk çağında lösemi ve lenfomaların ardından en sık görülen malignitelerdir. Bunun dışında çocukluk çağında en sık görülen solid malignite, SSS tümörleridir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki pediatrik primer malign ve benign tüm SSS tümörlerinin insidansı 53,67/1.000.000/ yıldır (1).

Sürveyans, epidemiyoloji ve uluslararası çocuk kanserleri sınıflamasına (ICCC) göre beyin tümörleri tüm çocukluk çağı kanserleri arasında en yaygın ölüm nedenidir. Belirti ve semptomlar; tümörün yeri, çocuğun yaşı ve tümör büyüme hızı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Supratentorial tümörler; 3 yaşından önce ve 10 yaşından sonra daha sık görülürken, 4 ila 10 yaş arası dönemde infratentorial tümörler daha yaygındır. Küçük çocuklarda Medulloblastoma (MB) veya atipik teratoid/ rabdoid tümör (AT/RT) gibi embriyonal kökenli tümörlerin görülme sıklığı daha yüksek iken büyük çocuklarda ise glial kökenli tümörler daha sık görülür (2).

Son 30 yılda, tedavi seçeneklerindeki gelişmelere paralel olarak çocukluk çağı kanserlerinde sağ kalım oranlarında da önemli iyileşmeler olmuştur (3). Çocukluk çağı kanserleri ICCC'na göre 12 ana grup altında incelenir (4) (Tablo-1) .

Tablo-1: Uluslararası Çocuk Kanseri Sınıflaması (4)

1.	Lösemiler, myeloproliferatif ve myelodisplastik hastalıklar
2.	Lenfomalar ve retiküloendotelyal neoplazmlar
3.	Santral sinir sistemi neoplazmları
4.	Nöroblastoma ve diğer periferik sinir hücresi tümörleri
5.	Retinoblastoma
6.	Renal tümörler
7.	Hepatik tümörler
8.	Malign kemik tümörleri
9.	Yumuşak doku ve diğer ekstraosseöz sarkomlar
10.	Germ hücreli tümörler, trofoblastik tümörler ve gonad neoplazmları
11.	Diğer malign epitelyal neoplazmlar ve malign melanoma
12.	Diğer ve net ayırd edilememiş malign tümörler

Yaşlara göre dağılımda farklılıklar olsa da Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) ve Türk Pediatrik Hematoloji Derneği (TPHD)’nin kayıtlarına göre, ICCC ile benzer şekilde, çocukluk çağında ülkemizde de lösemi/lenfomalar ardından en sık SSS tümörleri görülür (5, 6).

SSS embriyonel tümörleri, genellikle çocuk yaş grubunu etkileyen çoğu malign, kötü diferansiye tümörlerdir. Embriyonel SSS neoplazileri kategorisinde 2016 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından revize edilen sınıflama sonucunda; MB, Çok katmanlı rozet oluşturan embriyonel tümörler, Medulloepitelyoma, Nöroblastoma, Ganglionöroblastoma, AT/RT yer alır. Bu lezyonlar cerrahi sonrası hem kemoterapi hem de kraniospinal radyasyon ile agresif olarak tedavi edilirler. Sağ kalım ve tedaviye verilen yanıt farklı klinik tablolar arasında değişmektedir. SSS’nin tüm embriyonel tümörleri DSÖ evre IV olarak kabul edilmektedir (7).

1.2. Medulloblastoma Tarihçesi

“Medulloblastoma” adı ilk olarak 1925 yılında Harvey Cushing ve Percival Bailey tarafından tanımlanmıştır. Cushing ve Bailey başlangıçta ergenlerde görülen posterior fossa tümörünü tanımlamak için “Spongioblastoma cerebelli” terimini kullanmışlardır. Ancak Globus ve Strauss bu tümörün adını “Spongioblastoma” olarak tanımlanan farklı bir glial tümörden ayırt etmek için “Medulloblastoma” olarak değiştirmişlerdir (8, 9).

Cushing, ilk olarak MB'nın tanımlayıcı özelliklerini, yani serebellar vermisten köken aldığını, uzak metastaz yaptığını, genç erkeklerde daha sık görüldüğünü, belirti ve bulguların çok kısa süre içinde ortaya çıktığını ve postoperatif mortalitenin %30 olduğunu tanımlamıştır. Ardından daha geniş rezeksiyon uygulanan hastaların sadece biyopsi yapılan hastalara kıyasla daha uzun sağ kalım süresine sahip olduğunu gözlemlemiştir (10).

1970'lerde sağ kalım sürelerini iyileştirmek için tedavi protokolüne cerrahiye ek olarak radyoterapi ve adjuvan kemoterapi eklenmiştir (11).

1980'lerin başlarında, MB'lar ile supratentorial bölgede ortaya çıkan diğer küçük yuvarlak mavi hücreli tümörler arasındaki histolojik benzerliğe dayanarak, bu tümörlerin ilkel nöroektodermal tümörler (PNET'ler) grubu içinde sınıflandırılması önerilmiştir (12). Ancak yeni yapılan çalışmalar sonucunda posterior fossadaki küçük yuvarlak mavi hücreli tümörlerin, serebral korteks ve pineal bölgede yerleşmiş tümörlerden moleküler olarak farklı olduğu görülmüştür (13, 14). Bu bilgiler ışığında 2007 DSÖ sınıflamasında MB ve alt tipleri, diğer SSS PNET'lerinden, pineoblastomalardan ve AT/RT tümörlerinden ayrılmıştır (15).

Yakın geçmişte MB'nın tedavi öncesi prognozu histopatolojik alt sınıflandırma ile değerlendirilmekteydi. 2007 yılında yapılan DSÖ MB sınıflamasında; klasik tip, desmoplastik/nodüler tip, ileri derecede nodülerite gösteren tip ve büyük hücreli/anaplastik alt tip olmak üzere dört alt grup mevcuttu (16). Bu sınıflamaya göre Desmoplastik/nodüler tip en iyi prognoza sahipken, büyük hücreli/anaplastik tip en kötü prognoza sahiptir. Klasik tip en sık görülen tiptir.

MB'ların biyolojisine ilişkin 2010 Boston'da yapılan konsensusta tümör 4 moleküler alt gruba ayrılmıştır; Wingless (WNT), Sonic Hedgehog (SHH), Grup 3 ve Grup 4 (17). Bu 4 alt grup, benzersiz bir genetik ve gen ekspresyonunun yanı sıra demografik ve klinik özelliklerle de karakterize edilmiştir. Bu bilgiler henüz klinik çalışmalarda risk sınıflandırması için kullanılmamasına rağmen, kanıtlar prognozun alt grup ilişkisi ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu göstermektedir (18).

1.3. Medulloblastoma Epidemiyolojisi

Birçok kaynak tarafından önceden MB'nın çocuklarda en sık görülen malign SSS tümörü olduğunu belirtilmesine rağmen, Amerika Birleşik Devletleri Merkez Beyin Tümörü Kayıtlarından (CBTRUS) alınan en son veriler, yüksek dereceli gliomların biraz daha yaygın olduğunu göstermektedir (19, 20). MB 0-19 yaş arası çocuklarda tüm SSS tümörlerinin %6,5'ini, malign SSS tümörlerinin %11,3'ünü temsil eder, ancak posterior fossa yerleşimli tümörler göz önüne alındığında bu oran %30-55'e kadar çıkmaktadır (Tablo-2) (20, 21, 22). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 326 yeni pediatrik MB tanısı konulmaktadır (20, 23).

Tablo-2: CBTRUS verilerine göre 2012-2016 yılları arasında pediatrik hastalarda histopatolojik tanı insidansları (20).

Tanı	Tanı konulmuş hasta sayısı (5 yıl)	Tüm SSS tümörlerine oranı	Malign SSS tümörlerine oranı
Tüm SSS tümörleri	4986	%100	-
Malign SSS tümörleri	2884	%57,8	-
Malign olmayan SSS tümörleri	2102	%42,1	-
Malign gliomalar	574	%11,5	%19,9
Glioblastoma Multiforme	149	%2,9	%5,1
Embriyonel tümörler	502	%10,0	%17,4
Medulloblastoma	326	%6,53	%11,3

MB insidansı bimodal dağılım gösterir. 3-4 yaş arasında ve 8-10 yaş arasında artmış olarak izlenmektedir. Tanı anındaki ortalama yaş 5-7 olarak bildirilmiştir. Vakaların yüzde 5'inden azı, Turcot sendromu olarak bilinen ailesel adenomatöz polipozis veya Gorlin sendromu olarak da bilinen nevoid bazal hücreli karsinom sendromu ve Li-Fraumeni sendromu gibi kansere yatkınlığı olan kalıtsal sendromlar ile ilişkilidir (24). Çocuklarda erkek cinsiyette biraz daha yaygındır ve kadın/ erkek insidansı 0,63'tür. Belirgin bir ırksal veya etnik yatkınlık yoktur (25). MB, erişkin beyin tümörlerinin %1'inden azını oluşturmaktadır ve 7. dekada dek görülebilmektedir.

1.4. Medulloblastoma Klinik Özellikleri

MB doğası gereği agresif tutum sergiler, boyutundaki hızlı ilerlemeden dolayı bu hastalar genellikle haftalar ile aylar arasında (genellikle 6-12 hafta) hızlı gelişen semptomlarla başvururlar. Sıklıkla serebellar disfonksiyon ve kafa içi basınç artışı sendromunun belirti ve semptomlarının bir kombinasyonu görülür. IV. ventrikülün tavanında serebellar vermisten köken alırlar ki bu durum obstrüktif hidrosefaliye neden olur. Özellikle ventrikül içi yerleşim gösteren ependimomalar gibi, diğer posterior fossa tümörleriyle benzer klinik bulgulara sahiptirler (26).

Artmış kafa içi basıncın klasik semptomları arasında irritabilite, letarji, bulantı ve kusma, papil ödem, sabah olan şiddetli baş ağrıları, anoreksi ve davranış değişiklikleri bulunur (27). Sırt ağrısı, hemiparezi, görme alanı defekti, denge bozukluğu, işitme kaybı ve nöbet eşlik eden diğer semptomlardır. Bebeklerde artmış intrakranial basınç tam olarak kapanmamış sütürler nedeniyle baş çevresi artışına neden olur (28).

Serebellar tutulum belirtileri lezyonun yerine bağlı olarak değişebilir. Orta hat serebellar yerleşimde trunkal ataksi (tandem yürüyüşü ve Romberg testinde bozulma) izlenirken, serebellar hemisferik tümörlerde apendiküler ataksi (hızlı yapılan hareketlerde, parmak burun testinde, diz topuk testinde bozukluk) bulguları izlenir. Ek olarak kranial sinir tutulumu ya bu sinirlerin doğrudan basıya maruz kalması sonucu olarak ya da artmış kafa içi basıncının bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. 6. kranial sinir disfonksiyonuna bağlı olan diplopi sık görülür. En sık 4. ve 6. kranial sinirlerin tutulumu görülür (29).

Daha agresif seyreden tümörlerde spinal metastaz (%10-35) ile ilgili semptomlar (paraparezi, tetraparezi, seviye veren his kusuru, inkontinans, üriner retansiyon, sırt ve/veya bel ağrısı) görülebilir (21). %5 gibi bir oranda ekstrasöral metastazlar da görülebilir (22). Ekstrasöral metastazların ventriküloperitoneal şant operasyonuna bağlı geliştiği de görülmüştür (30).

1.5. Medulloblastoma Moleküler Mekanizması

MB'lar genellikle sporadik olarak meydana gelmektedir ancak nadir durumlarda Li-Fraumeni, Turcot veya Gorlin sendromu gibi kalıtsal hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (31). Birbirinden bağımsız birçok araştırma grubu tarafından yürütülen genomik ve klinik çalışmalar, bütün MB'ların aynı olmadığını, aslında bu tümörlerin moleküler düzeyde birkaç farklı alt gruba ayrıldığını göstermiştir. İlerleyen çalışmalarda ise bu alt grupların her birinin kendine özgü hayatta kalma, yaş demografisi ve genetik değişiklikleri içerdiği belirtilmiştir. MB farklı prognozlara sahip olan WNT, SHH (TP53 mutant ve TP53 mutant olmayan), Grup 3 ve Grup 4 olmak üzere dört farklı alt gruptan oluştuğu gösterilmiştir (Tablo-3) (18, 32).

Tablo-3: MB'nın moleküler alt grupları (33).

Özellikler	WNT	SHH	Grup 3	Grup 4
Görülme oranı (%)	%10	%30	%25	%35
Sıklıkla görüldüğü yaş	10-12 yaş 	<3, >16 yaş 	infant ve genç çocuk 	10 yaş 
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	1:1	1:1	1:2	1:3
Yerleşim yeri	4. ventrikül laterali, sisternalara uzanım gösterir	Parankimal yerleşim	4. ventrikül vermian orta hat	4. ventrikül vermian orta hat
Histopatolojik uyum	Klasik tip	Desmoplastik tip	Klasik tip ve Desmoplastik tip	Klasik tip ve Desmoplastik tip
Tanı anında metastaz durumu(%)	%5-10	%15-20	%40-45	%35-40
Nüks paterni	Çok nadir	Lokal	Metastatik	Metastatik
Prognoz	İyi	İnfantta iyi, diğerlerinde orta	Kötü	Orta-kötü
Genetik değişimler	CTNNB, DDX3X, SMARCA4, TP53	PTCH1, SMO, SUFU, TP53, GLI2, MYCN	GLI1, GFL1B, MYC, OTX2, SMARC4	KDM6A, SNCAIP, CDK6, MYCN

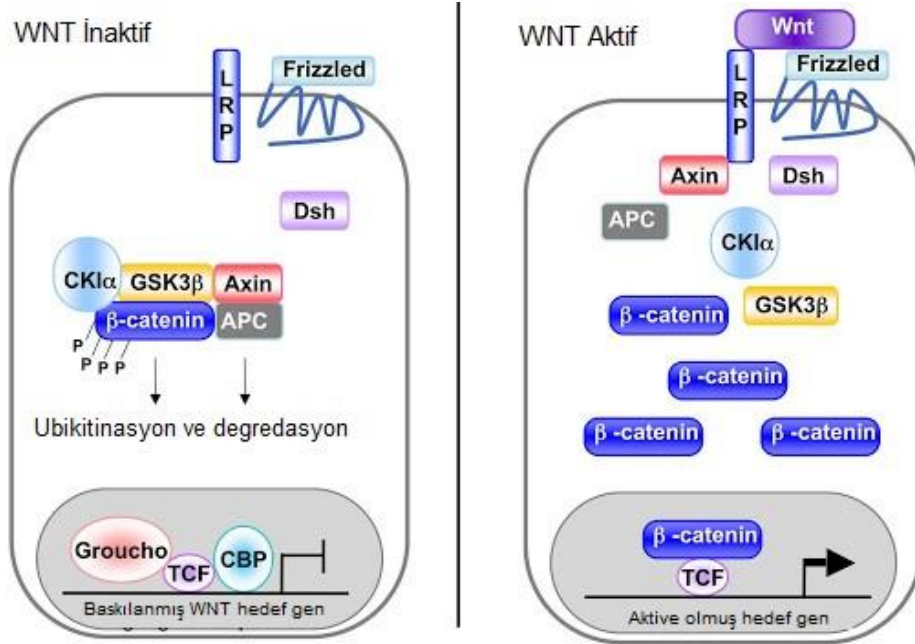
1.5.1. WNT-MB Alt Grubu Medulloblastomalar

WNT sinyal yolağı, embriyolojik gelişim sürecinde, hücre proliferasyonunu ve hücre göçünü kontrol etmede önemli bir rol oynamaktadır. (34, 35). Bu yolak organogenezin önemli aşamalarını düzenleyerek evrimsel süreç boyunca korunmuştur (36). WNT yolağı gelen sinyalin düzenlenmesinde rol oynayan birtakım salgılanmış glikoproteinlerden oluşmaktadır (Şekil-3) (36). WNT sinyali yokluğunda CTNNB1 geninin ürünü olan beta-katenin proteini APC, kazein kinaz (CK1), glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3)'ün oluşturduğu AXIN kompleksi tarafından yıkılır (37). CK1 ve GSK3 beta-katenin'in amino terminal bölgesini fosforile ederek β -Trcp ve E3 ubiquitin ligaz alt birimi tarafından tanınması sağlanarak ubiquitinasyon ve proteazomal degradasyona uğrar (38). Beta-katenin'in sürekli olarak yıkımı beta-katenin birikimini engelleyerek çekirdeğe ulaşmasını önler. Böylece WNT hedef genleri DNA'ya bağlı T hücre faktörü/ lenfoid arttırıcı faktör protein ailesi tarafından bastırılır. WNT sinyali varlığında ise WNT ligantları hücre membranı üzerinde yer alan Frizzled (Fz) ve LRP5/6 reseptörüne bağlanarak sinyal yolağı aktif hale gelir. Oluşan WNT-Fz-LRP6 kompleksine Dshveled proteini katılır. LRP6 fosforile olarak aktif hale gelir ve AXIN kompleksi bu yapıya bağlanarak baskılanır. Bunun sonucunda ise AXIN, beta-kateninin yıkımını gerçekleştiremez ve çekirdekte beta-katenin birikimi gerçekleşir. Böylece WNT hedef genlerinin ekspresyonu aktif hale gelir (37).

WNT-MB'lar, tüm MB'ların yaklaşık %10'unu oluşturur ve en nadir görülen alt gruptur (39). Genellikle çocuklarda ve gençlerde görülmektedir. WNT-MB'lar klasik tip histopatolojik özelliklere sahiptir ve cinsiyet ve yaşa bağlı farklılık göstermektedir. Bu grup MB hastaları %95 oranında iyi prognoza sahip olup çok düşük metastatik özellik göstermektedir (35). Gelişmekte olan beyinde WNT yolu, nöronal olgunlaşma ve sinaps oluşumu üzerinde geniş düzenleyici etkilere sahiptir (35). Bu sinyal yolağı WNT ligantlarının CTNNB1'in serbest bırakılması sonucunda çekirdeğe sinyal gönderen Frizzled reseptörlerine bağlanmasıyla aktive edilir (33, 35). Burada görev alan önemli negatif düzenleyiciler, çekirdekte CTNNB1 birikimini önleyen APC ve AXIN' dir

(40). CTNNB1 12. kromozomun p kolunda lokalize olan ve 19 ekzon içeren bir gendir. CTNNB1 geni tarafından kodlanan beta-katenin, WNT sinyal yolağında anahtar rol oynamaktadır. WNT sinyal yolağının düzensiz aktivasyonu sonucunda beta-katenin birikmesine yol açmaktadır. Bu proteinin yüksek seviyede olması hücre proliferasyonunu artırarak tümör oluşumuna sebep olmaktadır (34, 41, 42).

WNT-MB tümörleri, CTNNB1, DDX3X, SMARCA4, TP53 gen mutasyonlarının veya CTNNB1, APC ve AXIN mRNA ekspresyonlarının incelenmesi ile belirlenmektedir.

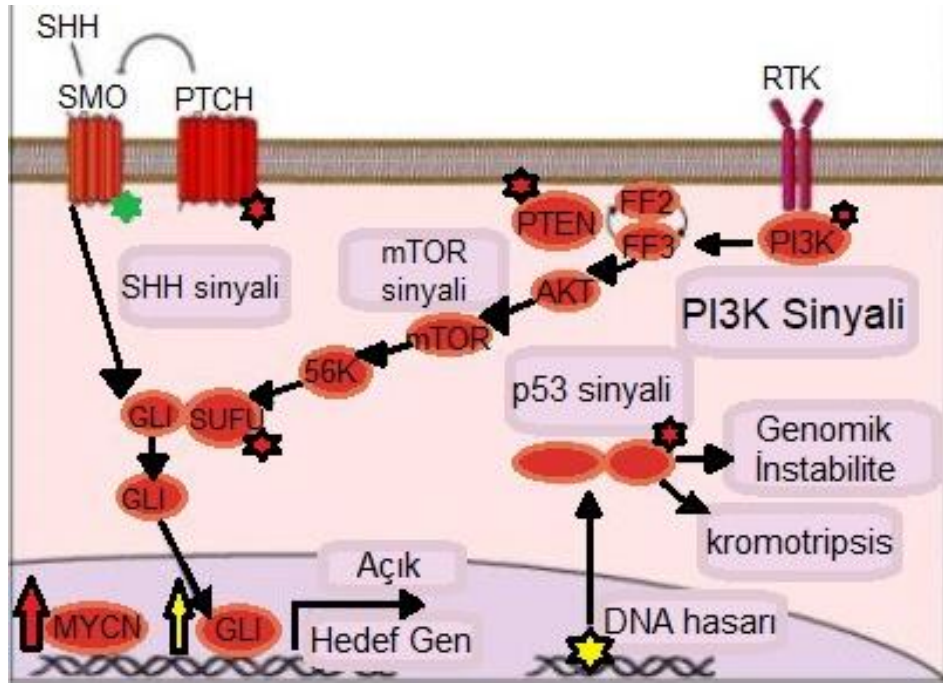


Şekil-2: WNT sinyal yolağı (36).

1.5.2. SHH-MB Alt Grubu Medulloblastomalar

SHH sinyal yolağı embriyonik gelişim sürecinde ve hücre farklılaşma basamaklarında görev almaktadır (Şekil-3). SHH sinyal yolağının anormal aktivasyonu tümör oluşum mekanizmasında oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Bu sinyal yolağının ligantları SHH, Indian-Hedgehog (Ihh) ve Desert-Hedgehog (Dhh), reseptörleri ise PTCH1, SMO, SUFU, KIF7 ve PKA'dır (43). SHH sinyal yolağında PTCH, SHH ile reseptör ligant bağlantısını

oluşturur, SMO ise sinyal dönüştürücü olarak görev almaktadır. SHH sinyal yolağının ana hedef genleri PTCH1, PTCH2 ve GLI1'dir. Ligant yokluğunda PTCH1, SMO'yu inhibe eder, bu inhibisyon sonucunda GLI transkripsiyonel baskılayıcı görevi görerek gen ekspresyonunu engeller. Ligantların varlığında ise SHH, PTCH1 ile bağlanır ve SMO'nun inhibisyonu engelleyerek transdüksiyon yolunu aktive eder (44).



Şekil-3: SHH sinyal yolağı (35).

SHH-MB'lar, tüm MB'ların yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır ve beş yıllık sağ kalım oranı %60-80 arasındadır (45, 46). Bebeklik ve erişkin çağı MB'ları sıklıkla SHH-MB alt grubudur (39). SHH-MB'ların yaklaşık %20'sinde tanı anında metastaz mevcuttur (33). Bu alt grup PTCH1 veya SUFG genlerinin germ hattı mutasyonlarının neden olduğu Gorlin sendromu ile ilişkilendirilmektedir (32, 34). Erken serebellar gelişim esnasında Purkinje hücreleri SHH glikoproteinlerini salgılar ve granül hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü uyarır. SHH yolağının yüksek aktivasyonu granül hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasını ve tümör oluşumunu başlatan GLI transkripsiyon faktörünün ifadesinin artmasına sebep olmaktadır (47). TP53'ün sebep olduğu Li-Fraumeni sendromu, özellikle pediatrik vakalarda yaşam boyu

tümör oluşum riskini taşımaktadır ve MB gelişiminde oldukça önemli rol oynamaktadır (32). TP53 mutasyonları SHH-MB'lerinin yaklaşık %20'sinde bulunmaktadır (33). SHH-MB grubunda en yaygın görülen genetik değişimler, PTCH1, SMO ve SUFU tümör baskılayıcı genlerindeki mutasyonlardır (17). TP53'ün inaktivasyonu ve bununla beraber MYCN ve GLI' nin birlikte amplifikasyonu SHH-MB'lar için yüksek riski oluşturmaktadır. SHH-MB alt grubunda ayrıca farklı yaş gruplarına özgü farklı moleküler değişiklikler ve risk faktörleri bulunmaktadır. SUFU mutasyonları ağırlıklı olarak bebeklerde bulunurken, yüksek riskli hastalarda gözlenen GLI amplifikasyonu çocuklarda ve gençlerde bulunmaktadır (48).

1.5.3. Grup 3-MB Alt Grubu Medulloblastomalar

Grup 3-MB'lar, tüm MB'ların yaklaşık olarak %25'ini oluşturmaktadır. Bazı istisna durumlarının dışında sadece bebeklerde ve çocuklarda görülmektedir. Grup 3-MB'lar en kötü sağ kalım ve en yüksek metastatik yayılım oranına sahip gruptur, 5 yıllık ortalama sağ kalım % 45'tir (35, 49). Bu gruba ait tümörler histopatolojik olarak yüksek oranda büyük hücreli/ anaplastik tip (%40) ile uyumludur ve son derecede agresif özelliktedir (35, 39, 50). Bu grup MB'lar erkeklerde 2 kat daha sık görülmektedir (33, 51). Grup 3-MB'larda vakaların % 40-45'inde tanıda leptomeningeal metastaz vardır. Ayrıca nüks gelişen vakalarda nüks paterni sıklıkla lokal değil metastatiktir. Lezyon yerleşimi 4. ventriküle komşu vermian orta hatta görülmektedir (18).

Genel olarak aşırı eksprese edilen bir mekanizma tanımlanmamıştır ancak MYC amplifikasyonu ve izokromozom 17q bu tümörlerde sıklıkla gözlenen değişikliklerdir (17). Bunlara ek olarak OTX-2' nin amplifikasyonu, SMARCA4 mutasyonu ve GFI1 ve GFI1B' nin güçlendirici aktivasyonu tekrarlayan genetik değişikliklerdir. Ayrıca Grup 3-MB'larda nadir derecede tekrarlayan tek nükleotit polimorfizmleri bulunmaktadır (35).

MB'ların arasında en kötü prognoza sahip olan Grup 3-MB'ların oluşumunda etkili olan moleküler olaylar tanımlanmaya başlansa da bu grup tümörlerin ayırıcı tanısında ve tedavisinde kullanılabilecek etkili sinyal yolağı

WNT-MB ve SHH-MB gruplarının aksine henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (52).

1.5.4. Grup 4-MB Alt Grubu Medulloblastomalar

Grup 4-MB'lar sıklıkla 10 yaş civarında izlense de tüm yaş gruplarında görülebilmektedir. %35 oranla en sık görülen alt grup olmasına rağmen moleküler alt yapısı en az anlaşılmış alt gruptur (32). Grup 4-MB'ların kadınlara oranla erkeklerde görülme oranı 3 kat daha yüksektir (32). Grup 4-MB'lar, yüksek metastaz oranına ve orta kötü düzeyde bir prognoza sahiptir. 5 yıllık sağ kalım %75-90 düzeyindedir (53), ancak radyoterapiden yararlanamayan bebeklerde sağ kalım oranı daha zayıftır (54). Genel olarak olguların %30-40'ında tanı sırasında metastatik yayılım mevcuttur (55). Lezyon yerleşimi Grup 3-MB gibi IV. ventriküle komşu vermian orta hatta görülmektedir.

Grup 3-MB'larda olduğu gibi, bu alt grupta da altta yatan patogeneze yeterince anlaşılamamıştır ve bu da tedavi için büyük bir sorun oluşturmaktadır. İlk olarak γ -aminobutirik asit ve nöronal genlerin yüksek ifadeleriyle tanımlanmıştır (32). Grup 4-MB genomu genellikle tetraploiddir ve en yaygın yapısal değişiklik, hastaların %80'inde bulunan izokromozom 17q'da meydana gelmektedir (35, 52). Ancak Grup 3-MB'lardan farklı olarak bu anormallik bu alt grupta kötü prognoza neden olmamaktadır (17). Grup 4-MB'lar da Grup 3-MB'lar gibi tekrarlayan tek nükleotit polimorfizmlerine sahiptir. KDM6A' nın mutasyonu, MYCN ve CDK6' nın amplifikasyonu, kadınlarda kromozom X kaybı ve SNCAIP' nin duplikasyonları bu alt gruptaki tümörlere ait sitogenetik değişikliklerdir (17, 56). KDM6A mutasyonu Grup 4-MB'ların yaklaşık %13'ünde görülmektedir (48). KDM6A bir lizin demetilazdır ve H3K27me3'ü demetilatlar. KDM6A mutasyonları olmayan Grup 4-MB'lar ise H3K27me3 demilaz fonksiyonunu EZH2'yi aşırı ifade ederek sağlamaktadır (32). Ancak Grup 3-MB'larda olduğu gibi Grup 4-MB'ların spesifik tümör oluşumunu kesin olarak ortaya çıkarabilen bir çalışma yoktur (52).

1.6. Medulloblastoma Radyolojik Özellikleri

Çocuklarda posterior fossa kitlelerinin radyolojik ayırıcı tanısında MB'lar, ependimomalar, AT/RT, beyin sapı gliomaları ve yaygın olarak görülen pilositik astrositomalar akılda tutulmalıdır (57). Bunların dışında koroid pleksus papillomları ve Von Hippel Lindau tanılı hastalarda görülen hemanjioblastomalar da unutulmamalıdır.

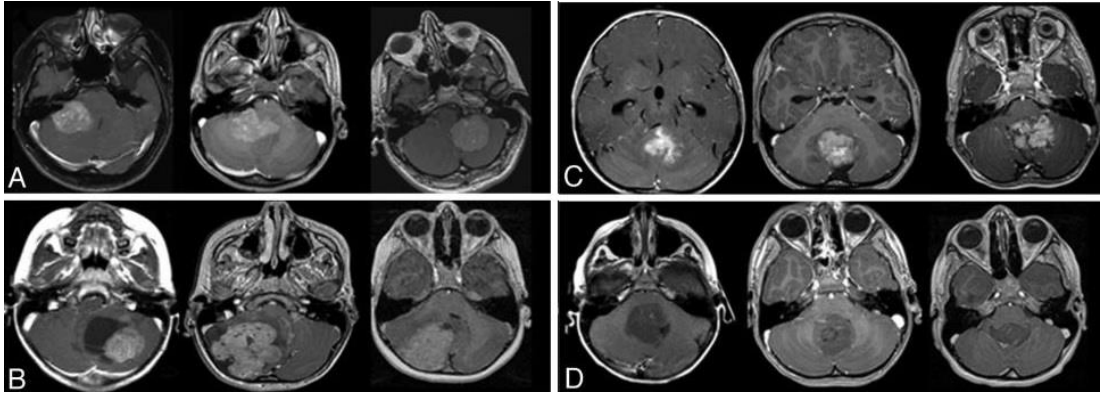
MB'lar hem bilgisayarlı tomografi (BT) hem de manyetik rezonans görüntülemede (MRG) farklı özelliklere sahiptir. Çocuklarda MB'ların geneli orta hatta serebellar vermisten kaynaklanıp IV. ventrikül içine protrüde olma eğilimindedir. Ancak serebellar kortikal yerleşim veya serebellopontin açısı ve sisterna magna gibi boşluklara uzanım göstermesi de mümkündür. Obstrüktif hidrosefaliye sekonder olarak ventriküler dilatasyon sıklıkla görülür. %10-20 oranında kalsifikasyon görülür ve bu olguların %90'ında belirgin kontrastlanma artışı mevcuttur.

MRG incelemesinde T1 ağırlıklı görüntülemede hipointensiteler ve %90 oranında heterojen kontrast tutulumu sergilerler. T2 ağırlıklı görüntülemede ise izo/hiperintens özellikte olup kistik formasyon, kalsifikasyon ve nekroz içermeleri nedeniyle yaygın olarak heterojen görünürler. Difüzyon ağırlıklı görüntülemelerde difüzyon kısıtlanması gösterirken FLAIR sekanslarda hiperintens görünmektedirler.

MR spektroskopide artmış kolin pikleri ve azalmış kreatin ve N-asetil asetat pikleri görülürken, nadiren de olsa laktik asit ve lipid piklerinde artış görülür (30). Blüml ve ark.'nın (58) çalışmasında Grup 3-MB ve Grup 4-MB hastalarında taurin ve kreatin piklerinin arttığı, SHH-MB'larda kolin ve lipid piklerinin arttığı ancak WNT-MB'larda MR spektroskopinin güvenilir olmadığı ifade edilmiştir.

Perreault ve ark. (59), MB moleküler alt tiplerinin tümörün büyüme paterni ve tümör yerleşim yeri ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu bildirilmiştir (Şekil-1). Bu çalışmada serebellopontin açısı, foramen Luschka ve serebellar pedikül içinde yer alan tümörlerin büyük oranla WNT-MB tipinde olduğu, genellikle ekstraparankimal yerleştikleri, beyinsapı ve

serebellar yüzeylere tutunmuş halde bulundukları görülmüştür. SHH-MB'ların serebellar hemisferler içinde bulunan tek moleküler alt grup olduğu, Grup 3-MB ve Grup 4-MB'ların hepsinin orta hat vermis veya IV. ventrikülde yerleştiği görülmüştür. Grup 3-MB'larda lezyon sınırlarının düzensiz olma olasılığı daha yüksekken, Grup 4-MB'lar genellikle daha düzgün sınırlıdırlar ve kontrast tutulumu göstermezler veya minimal kontrastlanma gösterirler. Grup 3-MB'lar vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ile ilişkisinden dolayı daha vaskülerdir, dolayısıyla kontrast tutulumu sıktır. Kistik formasyon, kanama, ödem ve nekroz varlığı herhangi bir moleküler alt grup ile spesifik olarak ilişkili görülmemiştir (59).



Şekil-1: MB'nın moleküler alt gruplarına göre karakteristik MRG özellikleri gösterilmekte. **A;** Serebellopontin açı ve foramen Luschka ile ilişkili tutulum gösteren WNT-MB görüntüsü gösterilmiştir. **B;** SHH-MB sıklıkla serebellar hemisferlerde bulunur. **C;** Grup 3-MB orta hatta dördüncü ventrikülde ve vermiste yerleşim gösterir ve komşu parankime invazyon gösterir. Sınırları düzensizdir ve yoğun kontrast tutarlar. **D;** Grup 4-MB'lar da orta hatta dördüncü ventrikül içinde yer alırlar, ancak genelde kontrast ile boyanmazlar ve sınırları daha düzenlidir (59).

Toronto'daki Hospital for Sick Children'da SHH-MB, Grup 3-MB ve Grup 4-MB tümörleri olan hastaların yaklaşık % 30'unda şant cerrahisi gerektiren hidrosefali geliştiği ancak WNT-MB hastalarının hiçbirinde BOS diversiyon cerrahisi gerekmediği bildirilmiştir. Bu durumun, bu moleküler alt grupta tanı anında yaşı daha büyük olması ve metastazın görülmemesinin bir sonucu olduğu düşünülmüştür (60).

1.7. Medulloblastoma Tanı ve Tedavisi

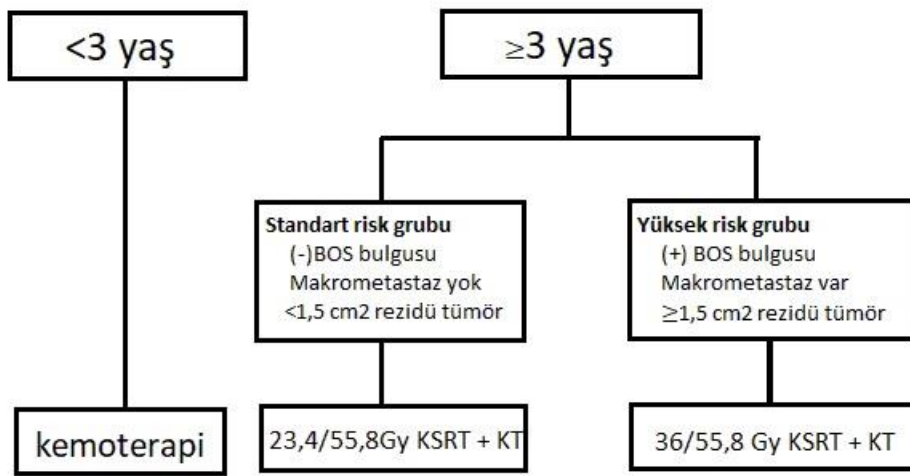
MB tanısı öncelikle anamnez, fizik muayene ve laboratuvar testleri ile başlar. Tanıda MRG önemli bir standarttır. MRG incelemesinde genel olarak T1'de hipointens, T2'de hiperintens görünümün dışında farklı şiddette kontrast tutulumu saptanır. Kanama, nekroz ve kistik formasyon önde gelen bulgulardır. Cerrahi öncesi yapılacak kraniospinal MRG evreleme ve tedavi planını belirleme açısından önem arz etmektedir. Cerrahi sonrası dönemde ise rezidü tümörü saptamak ve değerlendirmek amacıyla ilk 24–48 saat içinde kranial MRG incelemesi yapılmalıdır. Hastaların %10-35'inde başvuru sırasında tümöral BOS bulguları ve/veya spinal metastaz vardır (61). BOS tutulumunu göstermek için LP yapılmalıdır. Bu tümörler kemik ve kemik iliğine metastaz yapabilir, bundan dolayı mümkünse hastalara tüm vücut kemik sintigrafisi ve/veya kemik iliği biyopsisi yapılmalıdır (29). Kesin tanı histopatolojik inceleme ile konulur.

En sık kullanılan evreleme sistemi Chang tarafından 1969 yılında düzenlenmiş Chang evreleme sistemidir (Tablo-4) (62). Tanı ve tedavi konusundaki gelişmeler ve hastalığın epigenetik karakterinin daha iyi anlaşılması sonucu bu evreleme dışında başka prognostik faktörler ortaya konulmuştur (29). Son yıllardaki çalışmalar Chang sistemindeki T evresinin prognozda yeri olmadığını göstermiş, yaş ve metastaz varlığının prognoz ile ilişkisini daha etkili vurgulanmıştır (29, 63).

Tablo-4: Chang evreleme sistemi (62).

T derecesi	
T1	Tümör < 3 cm
T2	Tümör ≥ 3 cm
T3a	Tümör ≥ 3 cm ve aqueductus sylvius ve foramen luschka'lara ulaşmış
T3b	Tümör ≥ 3 cm ve beyin sapı invazyonu mevcut
T4	Tümör ≥ 3 cm ve tümör aqueductus sylvius veya foramen magnum sınırlarının dışına taşmış
M derecesi	
M0	Metastaz yok
M1	BOS içerisinde mikroskopik tümör hücresi mevcut
M2	Primer bölge dışında intrakranial nodüler metastaz mevcut
M3	Spinal subaraknoid alanda metastaz mevcut
M4	SSS dışına metastaz mevcut

Tedavi öncesi prognostik faktörler değerlendirilerek hastaya uygun tedavi algoritması seçilir. Bu dönemde hastalar standart risk ve yüksek risk olmak üzere iki risk gruba ayrılır. Bu ayırmada yaş, BOS tutulumu, metastaz varlığı (M derecesi) ve rezidüel tümör hacmi önemlidir. T derecesinin evresi sağ kalım ile korelasyon göstermediği için bunun yerine postoperatif rezidüel tümör hacmi kavramı önemli hale gelmiştir. Postoperatif dönemde verilecek radyoterapi tedavi dozları ve kemoterapi ajanları bu iki risk grubuna göre belirlenir (Şekil-4) (64, 65).



Şekil-4: Risk grubuna göre tedavi modalitesi.

Bu hastalıkta erkek cinsiyet kötü prognostik faktördür ve küçük çocuklarda metastaz riski artmıştır (63). Metastaz riskini artıran asıl neden küçük çocuklarda dar çalışma sahası nedeniyle total rezeksiyonun daha zor olması ve bu hastaların yan etkilerden dolayı konvansiyonel dozda kraniospinal radyoterapi (KSRT) alamamasıdır. Aynı zamanda küçük çocuklarda tümörün doğal seyri daha agresif özelliktedir (29). Children's Oncology Group (COG) tarafından yapılan bir çalışmada 3 yaş altı vakalarda hastalıksız sağ kalım oranı %32 iken, 3 yaş üstündeki vakalarda ise %58 oranında bildirilmiştir (66).

En önemli prognoz göstergesi metastatik evredir (67). Children's Cancer Group 921 randomize faz 3 (COG921) çalışmasında M0 ve M1

hastalarda 5 yıllık genel sağ kalım %78 iken, M2 ve M3 hastalarda %21 oranında genel sağ kalım saptanmıştır (66).

Günümüzde kabul gören tedavi modalitesi 3 yaşın üzerindeki çocuklarda gross total rezeksiyon, adjuvan kemoterapi ve KSRT'dir (63, 68). 3 yaşından küçük olgularda ise serebral gelişim henüz tamamlanmadığı için radyoterapi 3 yaş sonrasına ertelenir. Bu ertelenme sürecinde ise yoğun dozda kemoterapi uygulanmaktadır (61).

Cerrahi, hastalığın tedavisinde en önemli basamağı oluşturur ve gross total rezeksiyon hedeflenmelidir. Subtotal rezeksiyon yapılan ve 1.5 cm²'den fazla rezidü tümörü olan vakaların daha kötü prognozla seyrettiği birçok çalışmada ortaya konmuştur (66). Postoperatif rezidü tümör miktarının en önemli prognostik faktörlerden olması gross total rezeksiyonun önemini desteklemektedir (64, 65). Ancak son yıllarda yapılan başka çalışmalarda hastaya defisit vermemek için yapılan totale yakın rezeksiyonlarda aqueductus sylvii'nin açık olması şartıyla ortalama sağ kalımda anlamlı farklılık olmadığı ortaya konmuştur (46, 69). Hidrosefali ve/ veya KİBAS varsa cerrahi öncesi antiödem tedavi başlanmalı, hatta gerekirse VP şant cerrahisi yapılmalıdır (66).

MB kemoterapiye iyi cevap veren tümörlerdendir. MB tedavisinde kemoterapinin sağladığı fayda ilk kez International Society of Pediatric Oncology (SIOP) tarafından kanıtlanmış, ardından Pediatric Oncology Group (POG) ve Children's Cancer Group (CCG) tarafından yapılan çalışmalar ile desteklenmiştir. Kemoterapi sayesinde hastalığın kontrolü daha iyi sağlanmış ve genel sağ kalım oranı artmıştır (70). Standart riskli hastalarda cerrahinin ardından kemoterapi ve düşük doz (23,4 Gy) KSRT ile birlikte posterior fossaya klasik doz (55,8 Gy) radyoterapi uygulamasının genel sağ kalımı arttırdığı gösterilmiştir (71, 72). SIOP II (International Society of Paediatric Oncology) çalışması ile yüksek riskli hastalarda RT ve adjuvan kemoterapinin belirgin genel sağ kalım avantajı sağladığı gösterilmiştir (71).

Kemoterapötik ajanların kullanımı yıllar içerisinde ciddi değişiklikler göstermektedir. Geçmişe bakıldığında tek ajan kemoterapi, kombine kemoterapi, hedeflenmiş ajanların monoterapi ve kombine terapi olarak

kullanımı, kemoterapötiklerle hedeflenmiş ajanların kombine terapileri, hematopoetik kök hücre nakilleri gibi tedaviler mevcuttur (73). Kemoterapi konusunda güncel yaklaşım standart riskli ve radyoterapi almış hastalarda adjuvant tedavi için sisplatin, lomustin ve vinkristin kullanımıdır (74, 75). Vinkristin radyoterapi ile birlikte eş zamanlı olarak kullanılmasının dışında adjuvant tedavinin de bir parçasıdır. Yüksek riskli hastalarda ve özellikle 3 yaşından küçük hastalarda karboplatin, sisplatin, vinkristin ve siklofosfamid kombinasyonunun daha etkili olduğu bazı kaynaklarda bildirilse de erken toksisite nedeniyle doz ayarlaması gerektirmiş, özellikle ototoksisite saptanmıştır (76, 77). Yüksek riskli grupta özellikle metastazın eşlik ettiği olgularda ortalama sağ kalım süresini arttırmak amacıyla konvansiyonel KSRT ve kemoterapi sonrası yüksek doz kemoterapi ve hematopoetik kök hücre nakli bazı merkezlerde halen denenmektedir (78). Kök hücre naklini içeren protokollerin amacı 3 yaş altındaki radyoterapi alamayan hastalarda da radyoterapiye kadar olan süre içinde sağ kalımı uzatmak ve hastayı radyoterapi tedavisine yetiştirebilmektir (75). Halen net bir ortak konsensus olmamasına rağmen Cefalo ve ark.'nın (79) çalışmaları sonrası rekürren vakalarda birçok merkezde yaygın olarak Temozolamid'in kullanımı devam etmektedir.

Devam etmekte olan bir çalışmada (NCT02442297) antikorlar ve T lenfositlerin tedavide kullanımında daha güçlü etki göstermesi üzerine yoğunlaşmış, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) antikoru T lenfositlere bağlanacak şekilde değiştirilmiş ve kimerik antijen reseptörü (CAR) oluşturulmuştur. CAR-T hücreleri kanser hücrelerini öldürebilmektedir ancak bu hücrelerin yaşam süresi çok kısadır. Bu çalışmanın amacı, HER2-CAR T hücrelerinin ömrünü uzatmak, en büyük güvenli dozunu bulmak, yan etkilerin ne olduğunu öğrenmek ve beyin tümörü olan hastalarda tedaviye yardımcı olup olamayacağını görmektir (80).

Table 4. Response rates of phase I studies including patients with medulloblastoma.

	N (MB patients)	CR	PR	SD	PD	Objective response rate (%)	Disease control rate (%)	Reference (year of publication)
Conventional chemotherapeutic single agent								
Temozolomide	6	2	0	NA	NA	33	33	28 (2006)
Fotemustine	6	0	0	1	5	0	16	29 (2009)
Cloretazine	7	0	0	1	6	0	14	30 (2008)
Irinotecan	19	0	1	1	17	5	11	31 (2003)
Liposomal Daunorubicine	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	32 (2006)
Plitidepsin	3	0	0	1	2	0	33	33 (2012)
Depsipeptide	1	0	0	0	1	0	0	34 (2006)
Fenretidine	2	0	0	0	2	0	0	35 (2006)
Pemetrexed	1	0	0	0	1	0	0	36 (2007)
Oxaliplatin	5	0	0	1	4	0	20	37 (2007)
Satraplatin	1	0	0	1	0	0	100	38 (2015)
Intrathecal liposomal Ara-C	7	0	0	2	5	0	29	39 (2004)
Total	60	2	1	8	43	—	—	
ORR/DCR ²	—	ORR 3/58 = 5%		DCR 11/58 = 19%		—	—	
Median objective response/disease control rate (Range) ³						0 (0–33)	16 (0–100)	
Conventional chemotherapeutics combination								
TMZ + VP16	14	1	1	7	3	17 ¹	75	40 (2010)
O6-Benzylguanine + TMZ	10	0	0	2	8	0	20	41 (2007)
Cisplatin + Topotecan	1	0	0	0	1	0	0	42 (2002)
Irinotecan + Cisplatin	1	0	0	1	0	0	100	43 (2003)
CPM + Topotecan	3 ⁴	0	0	1	2	0	33	44 (2004)
Cisplatin + TMZ	2	0	0	0	2	0	0	45 (2005)
Carboplatin + Irinotecan	2	1	1	0	0	100	100	46 (2009)
Oxaliplatin + VP16	3	1	0	0	2	33	33	47 (2009)
Oxaliplatin + Irinotecan	1	0	0	0	1	0	0	48 (2009)
Irinotecan + TMZ + VCR	2	0	0	2	0	0	100	49 (2010)
Oxaliplatin + Ifosfamide + VP16	2	0	1	0	1	50	50	50 (2015)
Total	41	3	3	13	20	—	—	
ORR/DCR	—	ORR 6/39 = 15%		DCR 19/39 = 48%		—	—	
Median objective response/disease control rate (Range) ³						0 (0–100)	33 (0–100)	
Targeted agent monotherapy								
Vismodegib	33	1	0	0	32	3	3	26 (2013)
Lonarfarnib	2	0	0	1	1	0	50	51 (2007)
Cilengitide	3	0	0	1	2	0	33	52 (2008)
Lapatinib	15 ⁴	0	0	1	14	0	7	21 (2010)
Valproic acid	2	0	0	0	2	0	0	53 (2011)
MK-0752	4 ⁴	0	0	0	4	0	0	54 (2011)
Erlotinib	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	78 (2015)
Lenalidomide	6 ⁴	NA	NA	NA	NA	NA	NA	55 (2011)
Pazopanib	1	0	0	0	1	0	0	56 (2011)
Enzastaurin	1	0	0	0	1	0	0	57 (2013)
PTC299	1	0	0	0	1	0	0	58 (2015)
Dendritic cells	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	59 (2015)
3F8 monoclonal antibody	4	0	0	0	4	0	0	60 (2004)
MK-0752	1	0	0	0	1	0	0	61 (2007)
RG1507	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	62 (2011)
AT9283	2	0	0	0	2	0	0	63 (2015)
Sonidegib	24	2	0	0	22	8	8	27 (2010)
SU101	4	0	0	1	3	0	25	64 (2004)
Temsirolimus	2	0	0	NA	NA	0	NA	65 (2011)
MK-2206	3 ⁴	0	0	0	3	0	0	66 (2014)
Vorinostat + retinoic acid	9	0	0	1	8	0	11	67 (2010)
Total	120	3	0	5	101	—	—	

(Continued)

Şekil-5: Tedavide yıllar içinde değişiklikler olmakla birlikte ortak bir konsensus yoktur (73).

MB radyosensitif bir tümördür. Postoperatif adjuvan KSRT tedavisi 3 yaşın üzerindeki çocuklarda standarttır. Tedavide günlük 1,8 Gy'lık fraksiyonlarla toplamda 54-59 Gy verilir (81). Gamma knife, cyber knife, yoğunluk ayarlı radyoterapi (IMRT) yöntemlerinin MB'nın tedavisinde yeri yoktur. Radyoterapi sonrası uzun dönem kognitif, nöropsikolojik ve nöroendokrin disfonksiyon gelişme riski yüksektir (65). Tedavinin yan

etkilerinden dolayı dozun azaltılmasını amaçlayan çalışmalar devam etmektedir. Standart riskli grupta yapılan CCG 9892 çalışmasında kemoterapiye eş zamanlı KSRT tedavisinde (kraniospinal 23,4 Gy, posterior fossa 55,8 Gy) sağ kalımda bir düşüş izlenmemiştir (3 ve 5 yıllık, sırasıyla %86 ve %79). Ancak POG 8631/ CCG923 çalışmasında kemoterapi verilmeksizin radyoterapi dozunda azalma yapılırken (kraniospinal 23,4 Gy, posterior fossa 36 Gy) genel sağ kalım olumsuz etkilenmiştir (82). Özetle radyoterapide verilen dozun azaltılıp tedaviye kemoterapinin eklenmesi sağ kalım konusunda olumsuz etki göstermemiştir; tam aksine tedaviye uyumun arttığı başarılı sonuçlarla karşılaşmıştır (29, 63).

Günümüzde radyoterapi cihazları ve bunların uygulama tekniklerindeki ilerlemeler sayesinde radyoterapiye bağlı gelişen yan etkiler azaltılmaktadır. Yaşam kalitesinin iyileştirilmesi, sekonder malignite gelişiminin engellenmesi, nörokognitif ve nöroendokrin yan etkilerin azaltılması açısından proton radyoterapisi önerilmektedir (83). Bu tedavi gelişen tedavi yöntemlerinden en uygunudur çünkü hedefe yüksek doz radyoterapi verilirken hedef dışı bölgelerde doz minimize edilir, bu sayede tedaviye bağlı komplikasyonlar azaltılmaktadır (82). Ancak bu yöntem yüksek maliyeti nedeniyle günümüzde yaygın olarak kullanılamamaktadır.

Mevcut tez çalışmasında, Türk popülasyonuna ait tek merkezden elde edilen MB hastalarının klinik ve moleküler olarak WNT-MB ve SHH-MB grup ayrımlarının belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Aynı zamanda moleküler olarak belirlenen WNT-MB ve SHH-MB hasta gruplarının prognoz ile ilişkisinin ortaya konması hedeflenmektedir. Böylelikle bu tez çalışmasının, çocukluk çağı malign beyin tümörlerinde en yaygın görülen MB tümörlerinin alt gruplarına ayrılmasına ve tedavi protokollerinin bu yönde şekillenmesine yönelik yeni çalışmaların oluşturulmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Elde edilen bulgular ile WNT-MB ve SHH-MB gruplarının klinik, patolojik, demografik ve moleküler özelliklerine göre ayrımının yapılması ve geliştirilecek yöntem ile Grup 3-MB ve Grup 4-MB tümörlerinin ayrımının yapılabilmesine imkan sağlayacak çalışmalara zemin hazırlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hastaların Seçim Kriterleri

Bu çalışmada Nisan 2005 - Şubat 2018 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Hastanesi Nöroşirürji Anabilim Dalı'nda cerrahi olarak tedavi edilen ve patoloji sonucu MB olarak sonuçlanan hastalar, Avicenna Hastane Bilgi İşletim Sistemi ve bu sisteme aktarılmayan hastalarda ise hastane arşiv dosyaları kullanılarak tarandı. Kontrol grubu olarak Uludağ Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında normal olarak değerlendirilmiş 5 adet beyin dokusu kullanıldı.

Çalışılan tüm materyaller için Bursa Uludağ Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 2020-12/16 numara ile onay alınmıştır. Patoloji sonuçları ve preparatları elde edilen 67 hastadan hastane bilgi işletim sisteminde ve arşiv biriminde klinik retrospektif verilerine ulaşılamayan, patoloji preparatları epigenetik çalışmaya uygun olmayan, familial vaka olan ve yandaş kanseri olan 22 hasta çalışma dışı bırakılmıştır (Tablo-5). Hasta seçim kriterlerine uyan 45 olgu tez çalışmasına dahil edilmiştir.

Tablo-5: Çalışmaya dahil edilen hasta seçim ve ret kriterleri

Seçim kriterleri	Ret kriterleri
Histopatolojik tanısının MB olması	Bilgi işletim sisteminde ve arşivde hasta verilerine erişilememesi Patolojik preparatların epigenetik çalışmaya uygun olmaması Yandaş malignite olması Ameliyat öncesi kemoterapi ya da radyoterapi almış olması Rezeksiyon materyali olmayıp sadece biyopsi materyali olması Operasyon sonrası ilk 30 gün içinde farklı sebeplerden dolayı ölmesi

2.2. Parafinize Edilmiş Doku Örneklerinden RNA Elde Edilmesi

Parafine gömülü 45 tümör doku ve 5 normal doku örneği Bursa Uludağ Üniversitesi patoloji arşivinden temin edildi. Doku örneklerinin her birinden 2 cm kesilerek 1.5 µl'lik steril ependorf tüplere aktarıldı. Bu örnekler üzerine %95 'lik alkol ve ksilen eklenerek parafinden uzaklaştırıldı. Ardından RNeasy FFPE Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak protokol doğrultusunda RNA izolasyonu gerçekleştirildi.

Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık oranları Beckman Coulter DU-640 spektrofotometre cihazı kullanılarak 260/ 280 nm dalga boylarında absorbanslarının ölçülmesi ile belirlendi.

2.3. Komplementer DNA (Complamenter DNA, cDNA) Sentezi

İzolasyonu gerçekleştirilen total RNA'dan cDNA sentezi yapıldı. İlk olarak RNA örneklerinin konsantrasyonlarının eşitlenmesi amacıyla 100 ng'lık ara stoklar hazırlandı. Elde edilen ara stok RNA'lardan High Capacity cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, ABD) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Bu kit protokolü doğrultusunda Tablo-6'daki gösterilen reaksiyon karışımı 0.2 µl'lik PCR tüpleri içerisine hazırlandı.

Tablo-6: cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon karışımı

	1 örnek için (µl)
10X RT Buffer	2.0 µL
25X dNTP Mix (100 mM)	0,8 µL
10X RT Random Primer	2,0 µL
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	1,0 µL
RNase Inhibitor	1,0 µL
Nuclease-free H ₂ O	3,2 µL
Toplam	10,0 µL

Tablo-7’de belirtilen PCR koşulları doğrultusunda reaksiyon gerçekleştirildi. Sentezi gerçekleştirilen cDNA’ -20 °C’de saklandı.

Tablo-7: cDNA sentezi için gerekli reaksiyon koşulları

PCR Programı	Süre
25 °C	10 dakika
37 °C	120 dakika
85 °C	5 dakika
4 °C	∞

2.4. RT-PCR Analizi

CTNNB1, AXIN, PTCH1, SMO, GLI, ve SUFU genlerinin ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi amacıyla, sentezlenen cDNA’ lardan Taqman Master Mix kullanılarak Gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) analizi yapıldı (Tablo-8). Tablo-9’da gösterilen reaksiyon bileşenleri ve Tablo-10’daki RT-PCR şartları doğrultusunda Step one Plus™ RT-PCR (Applied Biosystem, California, ABD) cihazında analizler gerçekleştirildi. Analiz sonucunda elde edilen CT değerleri “RT2 Profiler PCR Array Data Analysis version 3.5” kullanılarak incelendi. Kontrol olarak GAPDH geni kullanıldı ve deney 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

Tablo-8: Ekspresyon seviyesi incelenen genler ve HS numaraları

Genler	HS numaraları
CTNNB1	Hs00355045_m1
AXIN	Hs00394718_m1
PTCH1	Hs00181117_m1
SMO	Hs01090242_m1
GLI	Hs00171790_m1
SUFU	Hs00960520_m1
GAPDH	Hs02786624_g1

Tablo-9: Reaksiyon karışımının hazırlanması

	1 örnek için (µL)
20x Taqman Gene Expression Assay	0,5 (µL)
2x Taqman Gene Expression Assay Master Mix	5 (µL)
cDNA (500 ng)	2 (µL)
RNase-free water	2,5 (µL)
Toplam	10 (µL)

Tablo-10: Reaksiyon koşulları

50 °C	2 dk	40 siklus
95 °C	10 dk	
95 °C	15 sn	
60 °C	60 dk	

2.5. İstatistiksel Analiz

Mevcut tez çalışmasında değerlendirilen genlerin ekspresyon profilleri web-tabanlı RT² PCR Array Data Analysis (<https://dataanalysis2.qiagen.com/>) programında yapıldı. Her bir genin tüm hastalardaki ekspresyon profili belirlendikten sonra grafikler Graphpad version 8 (Graphpad Software, California/ ABD) programında çizildi. Grupların yaşam süresi üzerine etkileri SPSS 25.0 (IBM, New York/ ABD) programındaki Kaplan-Meier testi ile analiz edildi. Analiz sonucundan p<0.05 ten küçük olan veriler anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

3.1. Hasta Özellikleri

Çalışmamızda MB tanılı 45 hasta analiz edildi. Hastaların 26'sı (%57,7) erkek, 19'u (%42,2) kadındı. Çalışmadaki hastalarda yaş 4 ay ile 17 yaş arasında (median 8,68 yaş) değişmekteydi. Tümörlerin 19'u (%42,2) vermiyan orta hatta IV. ventrikül içinde yerleşimliydi, 11'i (%24,4) orta hattan bazal sisternalara, foramen luschkaya ve/ veya serebellopontin açığına uzanmaktaydı, 15'i (%33,3) serebellar kortekste yerleşimliydi.

Postoperatif MRG incelemelerinde tüm hastalarda gross total rezeksiyon saptandı. 12 (%26,6) hastada spinal metastaz saptanırken, 23(%51,1) hastada BOS diversiyon ihtiyacı saptandı.

Yirmi sekiz (%62,2) hastanın takiplerinde hayatını kaybettiği, 17 (%37,7) olgunun ise halen yaşadığı saptandı. Ölen hastalarda ortalama sağ kalımın 29,6 ay olarak hesaplandı. Halen yaşamını sürdürmekte olan 17 hastanın Haziran 2020 tarihi baz alınarak hesaplanan sağ kalım sürelerinin en az 41 ay, en çok 180 ay (ortalama 101 ay) olduğu gözlemlendi. Ölen hastalarda ortalama sağ kalımın 29,6 ay (1,5-105±27,7) olduğu saptandı.

Ortalama Ki-67 indeksi 453.8/1000 olarak hesaplandı. 25 (%55,6) hastada ortalama Ki-67 değerinin üzerinde değer saptanırken, 20 (%44,6) olguda Ki-67 değeri ortalamasının altında idi (Tablo-11).

Tablo-11: MB hastalarının klinikopatolojik özellikleri

Değişkenler	Toplam (N=45)
Cinsiyet	
Kadın	19 (%42,2)
Erkek	26 (%57,7)
Yaş	
0-3 yaş	7 (%15,5)
3-10 yaş	21 (%46,6)
10-16 yaş	15 (%33,3)
16-18 yaş	2 (%4,4)
Yerleşim yeri	
Vermian orta hatta IV. ventrikül içinde yerleşimli	19 (%42,2)
Orta hattan bazal sisternalara / foramen luschkaya / serebellopontin açığa uzanmakta	11 (%24,4)
Serebellar hemisferde yerleşimli	15 (%33,3)
Tedavi protokolü	
Vinkristin (VINC) (+) RT (+)	11 (%24,4)
Vinkristin Etoposid Karboplatin (VEC) (+) RT (+)	18 (%40)
VINC/VEC (+) RT (+) Temozolamid (+)	6 (%13,3)
VINC (+) RT (-)	0
VEC (+) RT (-)	5 (%11,1)
Ek tedavi almamış (reddetmiş / exitus)	5 (%11,1)
KSRT (+)	8 (%17,7)
Sağ kalım süresi	
Yaşayanların ortalama sağ kalım süresinin (101 ay) üzerinde yaşayan hayatta olanlar	7 (%41,1)
Yaşayanların ortalama sağ kalım süresinin (101 ay) altında yaşayan hayatta olanlar	10 (%58,9)
Ölenlerin ortalama sağ kalım süresinin (29,6 ay) üzerinde yaşamış hayatını kaybetmiş olan hastalar	10 (%35,7)
Ölenlerin ortalama sağ kalım süresinin (29,6 ay) altında yaşamış hayatını kaybetmiş olan hastalar	18 (%64,3)
Tüm hastaların ortalama sağ kalım süresinin (56,5 ay) üzerinde yaşamış tüm hastalar	16 (%28,5)
Tüm hastaların ortalama sağ kalım süresinin (56,5 ay) altında yaşamış tüm hastalar	29 (%64,5)
KI-67 indeksi değeri	
Ortalama üstü (>453,8/1000)	25 (%55,6)
Ortalama altı (<453,8/1000)	20 (%44,4)
Klinik verilere dayanarak moleküler alt grup seçimi	
WNT-MB	11 (%24,4)
SHH-MB	15 (%33,3)
Grup 3-MB	11 (%24,4)
Grup 4-MB	6 (%13,3)
Karar verilemeyen	2 (%4,4)

3.2. Elde Edilen RNA'ların Miktar ve Kalite Tayini

Elde edilen RNA'ların miktar ve kalitesi Beckman Coulter DU-640 spektrofotometre cihazı kullanılarak ölçüldü (Tablo-12).

Tablo-12: Örneklerin RNA konsantrasyonları ile ilgili nanodrop ölçümleri

Hasta No	Nükleik Asit Konsantrasyonu	Ünite	A260/A280	Örnek tipi	Faktör
P1	883.2	ng/µl	1.9	RNA	40
P2	150.4	ng/µl	1.9	RNA	40
P3	38.7	ng/µl	1.9	RNA	40
P4	43.3	ng/µl	1.9	RNA	40
P5	34.6	ng/µl	1.8	RNA	40
P6	10.6	ng/µl	2.0	RNA	40
P7	17.2	ng/µl	1.9	RNA	40
P8	23.3	ng/µl	1.9	RNA	40
P9	46.6	ng/µl	2.0	RNA	40
P10	45.4	ng/µl	2.1	RNA	40
P11	75.2	ng/µl	2.1	RNA	40
P12	41.2	ng/µl	1.9	RNA	40
P13	35.8	ng/µl	2.1	RNA	40
P14	39.8	ng/µl	1.9	RNA	40
P15	26.7	ng/µl	1.9	RNA	40
P16	595.2	ng/µl	1.9	RNA	40
P17	25.3	ng/µl	1.9	RNA	40
P18	37.9	ng/µl	2.0	RNA	40
P19	22.2	ng/µl	2.0	RNA	40
P20	402.3	ng/µl	1.9	RNA	40
P21	45.6	ng/µl	1.9	RNA	40
P22	21.2	ng/µl	1.9	RNA	40
P23	57.3	ng/µl	2.1	RNA	40
P24	25.4	ng/µl	1.9	RNA	40
P25	20.7	ng/µl	1.9	RNA	40
P26	91.3	ng/µl	1.9	RNA	40
P27	37.6	ng/µl	1.9	RNA	40
P28	195.5	ng/µl	1.9	RNA	40
P29	113.2	ng/µl	2.0	RNA	40
P30	21.7	ng/µl	1.9	RNA	40
P31	18.9	ng/µl	2.0	RNA	40
P32	77.8	ng/µl	1.9	RNA	40
P33	41.9	ng/µl	1.9	RNA	40
P34	165.3	ng/µl	1.9	RNA	40
P35	373.9	ng/µl	1.9	RNA	40
P36	38.4	ng/µl	1.9	RNA	40
P37	203.2	ng/µl	2.0	RNA	40
P38	459.8	ng/µl	2.1	RNA	40
P39	889.6	ng/µl	1.9	RNA	40
P40	230.4	ng/µl	1.9	RNA	40
P41	878.2	ng/µl	1.9	RNA	40
P42	656.4	ng/µl	2.0	RNA	40
P43	835.4	ng/µl	2.1	RNA	40
P44	30.9	ng/µl	2.0	RNA	40
P45	486.4	ng/µl	2.0	RNA	40

3.3. Medulloblastoma Hastalarının Klinik Alt Gruplandırılması

Hastaların klinik progresleri detaylı olarak incelendi. Hastaların yaşı, cinsiyeti, sağ kalım süreleri, ortalama sağ kalım sürelerine kıyasla daha az veya çok hayatta kalması (45, 84, 85), spinal metastazın olup olmaması (29), BOS diversiyon ihtiyacı olup olmaması (60), histopatolojik bakıda Ki-67 indeksinin ortalama değerden düşük veya yüksek olması (86), radyolojik incelemelerde lezyonun yerleşim yeri, vasküleritesi, kistik formasyon, ödem, nekroz varlığı ve kontrast tutulum yoğunluğu (30, 57, 59) gibi klinikopatolojik veriler değerlendirilerek olguların genetik alt grupları tahmin edilmeye çalışıldı.

Tümör yerleşim yeri orta hattan bazal sisternalara, foramen luschkaya ve/veya serebellopontin açığına uzanmakta olan, sıklıkla 10-12 yaş aralığına yakın yaşta, iyi prognoza sahip, BOS diversiyon ihtiyacı olmayan hastalar WNT-MB alt grubuna dahil edildi. Serebellar korteks yerleşimli tümörü olan, bimodal yaş dağılımlı (<3, >15 yaş), infantlarda iyi ancak büyük çocuklarda kısmen ılımlı prognozlu ve şant ihtiyacı olabilen hastalar SHH-MB alt grubuna dahil edildi.

Vermian orta hat ve IV. ventrikül içinde yerleşimli, vasküleriteden zengin ve yoğun kontrast tutan tümörü olan, kötü prognozla seyreden, spinal metastazı olan infant ve genç çocuk yaş grubundaki sıklıkla erkek hastalar Grup 3-MB alt grubuna, yine vermian orta hat tümörü olan ancak vasküleriteden fakir ve nadir kontrast tutan tümörü olan, daha çok 10 yaş civarındaki orta kötü prognozlu erkek hastalar ise Grup 3-MB'dan ayrılarak Grup 4-MB alt grubuna dahil edildi.

WNT-MB alt grubuna dahil edilen 11 hastanın 7'si kadın 4'ü erkekti (Kadın/Erkek oranı = 1,7/1). Hastalar 2,5 yaş ila 15,5 yaş aralığındaydı ve ortalama yaş 8,95 yıl olarak hesaplandı. Hastaların sadece 1'i hayatını kaybetti. Yaşamakta olan 10 hastanın Haziran 2020 tarihi baz alınarak hesaplanan sağ kalım süreleri dahil edildiğinde ortalama sağ kalım 9,36 yıl olarak hesaplandı.

SHH-MB alt grubuna dahil edilen 15 hastanın 6'sı kadın 9'u erkekti (Kadın/Erkek oranı = 2/3). Hastalar 1,5 ila 17 yaş aralığındaydı ve ortalama

yaş 10,8 yıl olarak hesaplandı. Hastaların 12'si hayatını kaybetti, yaşamakta olan 3 hastanın Haziran 2020 tarihi baz alınarak hesaplanan sağ kalım süreleri dahil edildiğinde ortalama sağ kalım 4,16 yıl olarak hesaplandı.

Bu tahminler hastanemiz Bursa Uludağ Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalının genetik laboratuvar çalışmaları sonrası elde ettiği sonuçlar ile karşılaştırıldı.

3.4. Medulloblastoma Hastalarının Moleküler Alt Gruplandırılması

MB hastalarının WNT-MB ve SHH-MB moleküler alt gruplarına gruplandırılması bu yollarda yer alan spesifik genlerin ekspresyon profilleri değerlendirilerek yapıldı. WNT sinyal yolağının aktivitesinin belirlenebilmesi için AXIN ve CTNNB1 genlerini, SHH sinyal yolağını aktivitesinin belirlenebilmesi için ise GLI, SMO, SUFU ve PTCH1 genlerinin ekspresyonları incelendi. Hastaların tüm moleküler alt grupları Tablo-13, 14, 15, 16 ve 17'de ifade edildi.

Tablo-13: WNT yolağı aktif olduğu düşünülen hastaların incelenen genlerine ait CT değerleri

Hasta No	CTNNB1	AXIN	PTCH1	SMO	SUFU	GLI
P1	29,92334938	31,89824677	31,31463814	30,90249825	30,23260498	31,35981
P4	33,34471893	37,13394547	35,29870224	33,70285797	32,99644852	Belirsiz
P5	32,10314941	33,06726837	34,48836136	34,96702576	34,31785583	Belirsiz
P6	Belirsiz	35,20174408	37,42163467	Belirsiz	37,13742065	Belirsiz
P15	35,29828262	32,73532104	34,48461151	32,74627304	33,77596664	32,64498
P21	28,23941422	29,74406815	26,6630249	30,14196968	31,14177513	27,55166
P22	32,77260208	33,56413269	37,89949417	Belirsiz	36,68754196	Belirsiz
P31	30,79523277	36,13742447	34,22055054	35,57910156	34,27984619	Belirsiz
P37	29,60584068	35,46809387	34,17284012	33,93776703	33,75271225	29,3282
P44	30,4997673	35,952034	31,84303856	35,33149719	34,72510529	32,40512
P45	26,50996399	31,40849113	34,38082504	33,33787537	32,26106644	Belirsiz

Tablo-14: SHH yolağı aktif olduğu düşünölen hastaların incelenen genlerine ait CT değeri

Hasta No	CTNNB1	AXIN	PTCH1	SMO	SUFU	GLI
P3	29,9128838	31,8410473	34,6317558	31,6097736	31,9103413	Belirsiz
P7	34,499115	Belirsiz	36,8701401	36,515522	36,1361237	37,289211
P8	34,0842705	35,3284988	32,8282013	34,6799126	34,6802521	33,378155
P9	Belirsiz	19,7430153	Belirsiz	Belirsiz	Belirsiz	Belirsiz
P11	32,87957	32,9759102	32,827877	34,5157547	34,4506569	33,232014
P12	30,178854	30,4705791	32,3716431	30,2434521	35,0066376	29,787495
P13	37,0533028	Belirsiz	37,0680199	37,0412369	Belirsiz	35,271015
P18	31,194643	31,7170448	30,2254524	32,9403801	32,4640503	30,480764
P20	32,421627	32,9230042	32,7851257	32,8758621	30,5749798	Belirsiz
P28	27,4183769	29,1948376	30,322073	28,4745636	30,9544125	32,392304
P32	37,2882729	Belirsiz	36,8317871	Belirsiz	35,134079	Belirsiz
P34	35,1321449	Belirsiz	37,0526161	36,9527283	36,9774055	Belirsiz
P35	27,2252445	35,2611771	28,3200989	33,3041878	32,5732231	26,473517
P40	28,7140808	34,0942497	27,3966599	32,9695587	32,2248535	28,833025
P42	29,6038837	35,2985458	32,3916664	32,8064346	32,1506805	Belirsiz

Tablo-15: Grup 3-MB olduğı düşünölen hastaların incelenen genlerine ait CT değeri.

Hasta No	CTNNB1	AXIN	PTCH1	SMO	SUFU	GLI
P2	29,3256779	31,168148	31,7018757	30,9178486	31,726635	Belirsiz
P23	31,1376839	32,2254868	34,603241	32,8609581	34,1545181	Belirsiz
P24	32,3062248	32,7164459	36,127079	32,2234192	32,7576599	Belirsiz
P25	33,6528358	33,1251717	35,4348946	35,8874741	33,5934219	35,97694
P26	35,1653481	Belirsiz	37,4087715	35,8186798	33,8505821	Belirsiz
P27	33,2727776	33,8770485	35,1692314	35,7663994	33,8614845	Belirsiz
P30	31,5349503	33,3407135	30,8365326	32,639019	33,7082748	31,212357
P33	32,6734314	Belirsiz	35,1593285	36,3418045	Belirsiz	34,826294
P41	29,9429741	33,4467468	30,3692417	32,6254425	31,9235439	29,461315
P43	30,1921215	35,790535	29,4062347	32,0590019	32,9382095	29,539217

Tablo-16: Grup 4-MB olduğu düşünölen hastaların incelenen genlerine ait CT değeri.

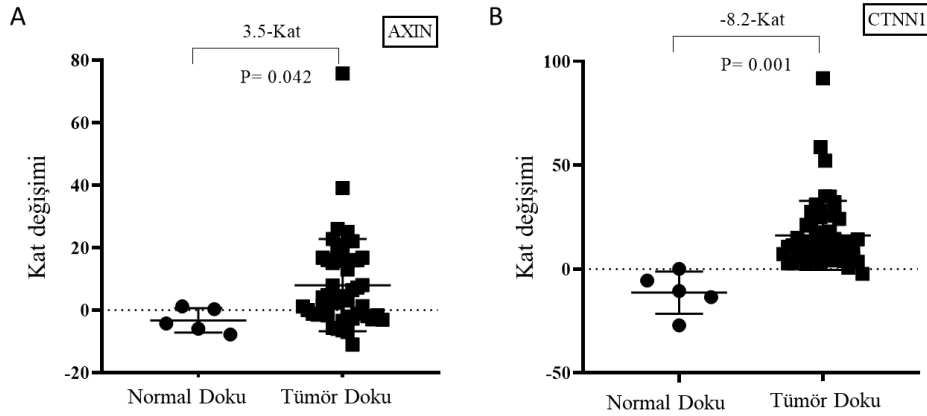
Hasta No	CTNNB1	AXIN	PTCH1	SMO	SUFU	GLI
P10	36,2041702	35,4674606	35,8503304	35,7079163	35,6600266	Belirsiz
P14	33,3447151	Belirsiz	34,3219604	34,0745697	34,3030281	35,909763
P17	33,1081924	33,5999222	34,5524445	34,7437706	33,7648163	Belirsiz
P19	32,4085464	32,258419	32,2097015	32,4138832	32,514473	34,275662
P36	29,3712196	33,3509216	31,2991009	31,688118	33,1503983	29,246519
P38	30,4662304	36,5874863	33,6229477	35,633812	33,6254349	35,739101

Tablo-17: Klinik olarak alt gruba ayırmada kararsız kalınan hastaların incelenen genlerine ait CT değeri.

Hasta No	CTNNB1	AXIN	PTCH1	SMO	SUFU	GLI
P16	34,372413 6	33,6545677	35,815609	35,6641541	35,1213531	Belirsiz
P29	34,665046 7	Belirsiz	35,3910103	35,2085991	36,363018	Belirsiz

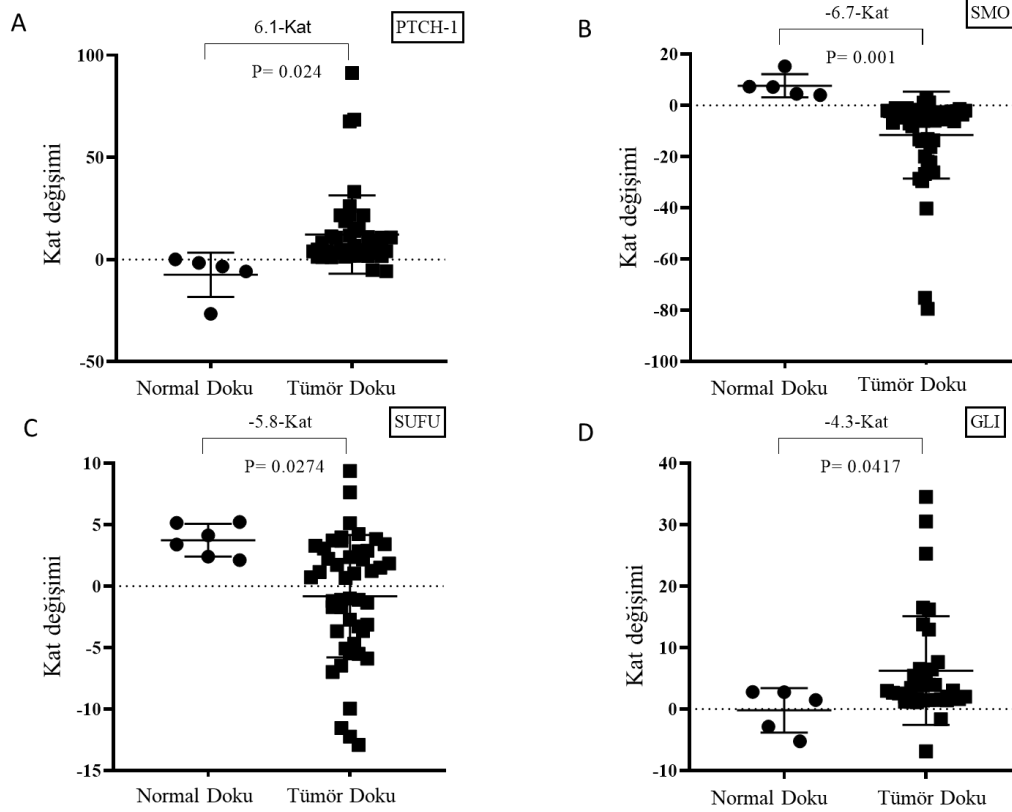
3.5. Medulloblastoma Hastalarının Moleküler Olarak Belirlenen Alt Gruplarında WNT-MB ve SHH-MB ile İlişkili Gen Ekspresyon Düzeylerinin Analizi

MB hastalarının moleküler olarak belirlenen alt gruplarında WNT-MB ile ilişkili AXIN ve CTNNB1 genlerinin ekspresyon seviyeleri incelendi. Tümör dokularının, normal doku ile karşılaştırılmasında AXIN ve CTNNB1 genlerinin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak artış gözlemlendi (Sırasıyla; 3.5 kat, $p=0.042$; 8.2 kat, $p=0.001$) (Şekil-6).



Şekil-6: Normal dokuların ve tümör dokularının WNT-MB ile ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerindeki etkileri. **A:** AXIN, **B:** CTNNB1.

SHH-MB ile ilişkili GLI, SMO, SUFU ve PTCH1 genlerinin ekspresyon seviyeleri incelendi. Tümör dokularının, normal dokular ile karşılaştırılmasında PTCH1 ve GLI genlerinin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak artış, SMO ve SUFU geninin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak azalma gözlemlendi (Sırasıyla; 6.1 kat, $p=0.024$; 4.3 kat, $p=0.041$; -6.7 kat, $p=0.001$; -5.8 kat, $p=0.027$) (Şekil-7).



Şekil-7: Normal dokuların ve tümör dokularının SHH-MB ile ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerindeki etkileri. **A:** PTCH1, **B:** SMO, **C:** SUFU, **D:** GLI.

3.6. Medulloblastoma Hastalarının Moleküler ve Klinik Olarak Belirlenen Alt Gruplarının Karşılaştırılması

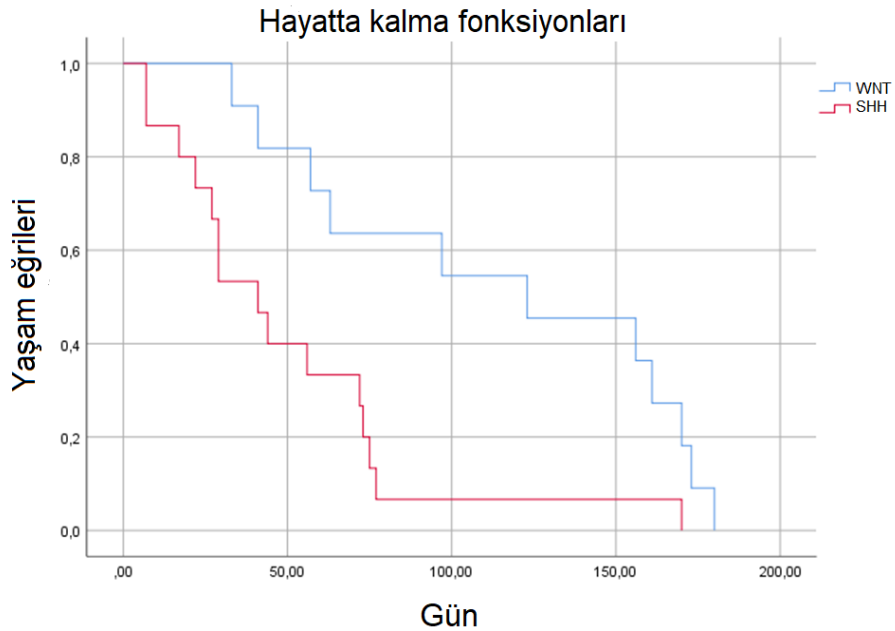
MB hastalarının ayrı ayrı moleküler ve klinik olarak belirlenen alt gruplarının karşılaştırılmaları Tablo-18’de belirtilmiştir. Klinik olarak 11 hasta WNT-MB alt grubu olarak tanımlanmıştır. Bu hastalardan yapılan moleküler analizlerde ise klinik olarak belirlenen 11 hastanın 8’i moleküler olarak WNT-MB alt grubunda tanımlanmıştır (Klinik ile eşleşme oranı: %72,7). Klinik olarak 15 hasta SHH-MB alt grubu olarak tanımlanmıştır. Bu hastalardan yapılan moleküler analizlerde ise klinik olarak belirlenen 15 hastanın 10’u moleküler olarak SHH-MB alt grubunda tanımlanmıştır (Klinik ile eşleşme oranı: %66,6).

Tablo-18: Hasta gruplarının klinik ve moleküler olarak karşılaştırılması

Hasta	Klinik Tanı	Moleküler tanı	Eşleşme
P1	WNT	WNT	+
P2	GRUP 3	-	-
P3	SHH	-	-
P4	WNT	-	-
P5	WNT	WNT	+
P6	WNT	-	-
P7	SHH	SHH	+
P8	SHH	SHH	+
P9	SHH	-	-
P10	GRUP 4	-	-
P11	SHH	SHH	+
P12	SHH	SHH	+
P13	SHH	SHH	+
P14	GRUP 4	-	-
P15	WNT	SHH	-
P16	GRUP 3-WNT?	Karar verilemedi	-
P17	GRUP 4	-	-
P18	SHH	SHH	+
P19	GRUP 4	-	-
P20	SHH	-	-
P21	WNT	WNT	+
P22	WNT	WNT	+
P23	GRUP 3	-	-
P24	GRUP 3	-	-
P25	GRUP 3	-	-
P26	GRUP 3	-	-
P27	GRUP 3	-	-
P28	SHH	-	-
P29	GRUP 3-4?	Karar verilemedi	-
P30	GRUP 3	-	-
P31	WNT	WNT	+
P32	SHH	SHH	+
P33	GRUP 3	-	-
P34	SHH	-	-
P35	SHH	-	-
P36	GRUP 4	-	-
P37	WNT	WNT	+
P38	GRUP 4	-	-
P39	GRUP 3	-	-
P40	SHH	SHH	+
P41	GRUP 3	-	-
P42	SHH	SHH	+
P43	GRUP 3	-	-
P44	WNT	WNT	+
P45	WNT	WNT	+

3.7. Medulloblastoma Hastalarında WNT-MB ve SHH-MB Alt Gruplarındaki Hastaların Genel Sağ kalım İlişkileri

WNT-MB ve SHH-MB alt gruplarındaki hastalarda genel sağ kalımı incelemek için Kaplan-Meier eğrileri uygulandı. Moleküler düzeyde tanımlanan WNT-MB grubunda 8 olgudan yalnızca 1'inin (%12.5), SHH-MB olarak tanımlanan 10 olgudan ise 8'inin (%80) takip süresi içerisinde öldüğü saptandı. WNT-MB alt grubundaki hastaların, SHH-MB alt grubundaki hastalar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha uzun sağ kalım gösterdiği belirlendi ($p<0.001$) (Şekil-8).



Şekil-8: WNT-MB ve SHH-MB alt gruplarındaki hastaların sağ kalımda Kaplan-Meier eğrileri.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada tek merkezde takip edilen 45 MB tanılı olguda WNT-MB ve SHH-MB alt gruplarının klinik ve moleküler düzeyde analiz edilerek popülasyonumuzda görülme sıklıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada diğer moleküler yöntemlere göre daha kolay ve ucuz olan RT-PCR tekniğine dayalı gen ekspresyon analiz yönteminden yararlanılmıştır. Böylelikle mevcut tez çalışmasında bu yöntemin rutin pratikte kullanılabilirliği incelenmiştir.

MB'nın farklı moleküler alt gruplarının varlığı ilk olarak 2002 yılında Pomeroy ve ark. (13) tarafından gösterilmiştir. Çalışmada DNA mikrodizi gen ekspresyon verileri incelenerek PTCH, GLI ve MYCN'nin desmoplastik/nodüler tip MB ile yüksek derecede ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Aynı konuda çeşitli çalışmalar sonucunda MB transkriptomlarındaki farklılıklar saptanarak büyük ölçüde yakın sonuçlar elde edilmiş ve çeşitli alt gruplar oluşturulmaya devam edilmiştir.

2006 yılında Thompson ve ark. (87) ve 2008 yılında Kool ve ark. (88) A, B, C, D ve E olmak üzere beş ayrı moleküler alt tipin olduğunu açıklamışlardır. 2010 yılında Cho ve ark. (45) altı ayrı moleküler alt grubun (C1-C6) olduğunu, Northcott ve ark. (46) ise SHH, WNT, Grup C ve Grup D adında dört ayrı moleküler alt grubun olduğunu açıklamışlardır.

2010 yılında Boston'da yapılan konsensusta bu alt grupların sayısı, doğası ve varyasyonları tartışılmış, sonuç olarak demografik özellikleri, histolojileri ve klinik sonuçları birbirinden oldukça farklı olan WNT, SHH, Grup 3 ve Grup 4 adında dört ana transkripsiyonel MB alt grubunun olduğu kabul edilmiştir (18).

WNT-MB alt grubu en nadir görülen alt gruptur. Tüm MB'ların yaklaşık % 10'u bu alt grup içindedir (54). MB alt grupları içinde en iyi prognoza sahip olan alt gruptur ve 5 yıllık ortalama sağ kalım % 95'in üzerindedir (52). Bu moleküler alt grup histopatolojik olarak genellikle klasik tip MB ile ilişkilidir. WNT-MB 3 yaşından büyük çocuklarda veya gençlerde görülür, sıklığı 10-12

yaş arasında pik yapar ve infantlarda çok nadir görülür (18). Cinsiyet ayrımında belirgin bir farklılık görülmemiştir (89). Yerleşim yeri IV. ventrikülün lateralinde olmakla birlikte sisternalara uzanım göstermesi karakteristik özelliğidir (59). Vakaların %85-90'ında, WNT sinyal yolunun aktivasyonu, CTNNB1 ekson 3'ünde somatik mutasyonların aktive edilmesinden kaynaklanır ve β -katenin'in aşırı ekspresyonuna yol açmaktadır (45). Monosomi 6, WNT-MB vakaların %70-80'inde görülmektedir (48). WNT-MB nadiren APC'de germ hattı mutasyonu ile ortaya çıkan Turcot sendromu ile ilişkilidir (90). Bu tümörlerde metastaz oranı diğer alt gruplara kıyasla oldukça düşüktür (%5-10) (91). Rekürrens nadir görülür, görülse de lokal rekürrenslere bahsedilmiştir (92).

SHH-MB alt grubu, tüm MB'ların yaklaşık % 30'unu temsil eder ve prognoz orta düzeydedir. 5 yıllık bir ortalama sağ kalım yaklaşık % 70'tir (93). Desmoplastik/ nodüler varyant histopatoloji ile SHH-MB arasında güçlü bir ilişki vardır (18). SHH-MB'lar bimodal dağılım gösterir, en sık bebeklerde (<3 yaş) ve yetişkinlerde (>16 yaş) görülür, 4-15 yaş arası hastalarda ise daha az sıklıkta görülür. Bebek hastalarda erkeklerde daha sık gözlenir (94). Tanı anında metastaz oranı WNT-MB tümörlerinden daha çok olmakla birlikte yaklaşık %15-20 olduğu kabul edilmektedir. Prognoz infantlarda iyidir ancak erişkin hastalarda orta düzeyde seyretmektedir (52).

SHH yolu aktivasyonunun altında yatan genetik olaylar yaşa bağımlıdır: bebeklerde PTCH1 (Gorlin sendromu) mutasyonları sık görülür (95). Ayrıca, SHH-MB'lı bebekler, sadece kemoterapi rejimiyle bile iyi bir prognoz gösterirler. 3 ila 16 yaş arası çocuklarda çoğunlukla TP53 (Li-Fraumeni sendromu) mutasyonları görülür. Bu nedenle, tüm pediatrik SHH-MB tümörleri, potansiyel bir Gorlin sendromu veya Li Fraumeni sendromu ön tanısı ile araştırılmalıdır (49).

Somatik TP53 mutasyonları sıklıkla SHH yolunun aktivasyonunu indükleyen GLI2 ve MYCN amplifikasyonları ile birlikte ortaya çıkar. SHH-MB'ların yaklaşık %30'unda bulunan TP53 mutasyonu, %40 oranında 5 yıllık sağ kalım ile çok kötü prognoza sahiptir (96). Bu nedenle, 2016 DSÖ SSS tümörleri sınıflaması, SHH-MB'yı TP53 mutasyonu olan ve olmayan olarak ikiye ayırır. TP53 mutasyonlarını eksprese eden hücrelerin daha az

radjosensitif olduğu ve dolaylı olarak TP53 mutasyonu olan SHH-MB alt grubunun daha kötü prognozlu olduğu bilinmektedir (97).

Mevcut tez çalışmasında MB hastalarının WNT-MB ve SHH-MB moleküler alt gruplandırılması, literatürden farklı olarak mutasyon taraması ile değil bu yollarda yer alan spesifik genlerin ekspresyon profillerine bakılarak değerlendirildi. Böylelikle rutin pratikte kolaylık sağlayan bir yöntemin kullanılabilirliği değerlendirildi. WNT sinyal yolağının aktivesinin belirlenebilmesi için AXIN ve CTNNB1 genlerinin ekspresyonları, SHH sinyal yolağını aktivitesinin belirlenebilmesi için ise GLI, SMO, SUFU ve PTCH1 genlerinin ekspresyonları incelendiğinde Türk popülasyonuna ait tek merkez MB olgularının %17,8'inin moleküler olarak WNT-MB grubuna, %22,2'sinin moleküler olarak SHH-MB alt grubuna dahil olduğu belirlendi.

Klinik ve moleküler verilere göre yapılan grup ayrımı karşılaştırıldığında WNT-MB grubunda %72,7 oranında, SHH-MB grubunda ise %66,6 oranında eşleşme gözlemlendi. Kool ve ark.'nın (88) 2008 yılında 62 adet MB tanılı olgularda yaptıkları çalışmada %14,51 oranında WNT-MB, %24,19 oranında ise SHH-MB alt grubuna rastlamışlardır. Kool ve ark.'nın (52) 2012 yılında 7 merkez verileri ile yapmış oldukları Rusya popülasyonuna ait 550 adet MB vakalarının dahil edildiği meta analiz sonucunda ise WNT-MB tümörlerinin %11 ve SHH-MB tümörlerinin ise %28 oranında olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte David ve ark.'nın (98) MB tanılı 235 adet vaka ile yaptıkları çalışmada WNT-MB tümörlerinin %14 oranında, SHH-MB tümörlerinin %31 oranında olduğunu ifade etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda bu gruplarda yer alan genlere ait mRNA ekspresyon profilleri analiz edilmiştir. Bununla birlikte WNT-MB ve SHH-MB tümör gruplarının ayrıldığı literatürde yer alan çalışmaların çoğunda immun boyama ve mutasyon analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak bu tarama yöntemleri gen ekspresyon analiz yöntemlerine göre uzun sürmekte ve daha masraflı olmaktadır. Ancak elde edilen sonuçlarda, gen ekspresyon analiz yönteminin de mutasyon tarama yöntemi kadar hassas olduğu tespit edilmiştir.

Mevcut tez çalışmasında normal dokuyla tümör dokusunun karşılaştırılmasıyla WNT sinyal yolağına ait olan AXIN ve CTNNB1 genlerinin

istatistiksel olarak yüksek ekspresyon gösterdiği belirlenmiştir. Silva ve ark.'nın (99) 61 adet MB vakasında immunohistokimyasal, mutasyon ve ekspresyon yöntemleri kullanılarak yaptıkları çalışmada, mevcut tez çalışmasına paralel olarak WNT sinyal yolağına ait tüm genlerin ekspresyon seviyelerinin yüksek eksprese edildiği gözlemlenmiştir. Mevcut tez çalışmasında SHH-MB ile ilişkili GLI, SMO, SUFU ve PTCH1 genlerinin ekspresyon seviyeleri incelendiğinde normal dokuya göre tümöral dokuda PTCH1 geninin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak artış, GLI, SMO ve SUFU geninin ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak azalma gözlemlendi. Literatüre bakıldığında MB olgularında SHH-MB alt grubunun tanımlanmasında immun boyamanın tercih edildiği görülmektedir. Mevcut tez, bu grubun belirlenmesinde gen ekspresyon analizinin kullanılması ile öncü çalışmalardan biridir.

RT-PCR yöntemine dayalı gen ekspresyon analizi nükleik asitlerin miktarlarının belirlenmesinde günümüzde kullanılan bir metottur. Mutasyon analizi ise DNA'nın belirli bölgelerini PC ile çoğalttıktan sonra baz diziliminin açılmasına dayalı bir yöntemdir. Mutasyon analiz yönteminin zamanı genin incelenen bölgesinin büyüklüğüne göre değişmektedir. RT-PCR yönteminden sonuç alma zamanı ise standarttır ve diğer yöntemlere göre çok daha kısa sürelidir. Bu nedenle RT-PCR yöntemi çok daha kullanışlı ve ucuzdur.

MB'ların biyolojik alt tiplerine dayanan sınıflandırma ve risk sınıflandırması genellikle klinik olarak yapılabilmektedir. Klinik olarak belirlenen alt grupların, moleküler olarak belirlenmesi geçmişte klinik parametrelere göre tabakalı olan hasta gruplarının yeniden birleştirilmesi için önemli olabileceği düşünülmektedir (100). Son bir yıl içinde, MB ile ilgili dört ayrı uluslararası genom temelli çalışmanın sonuçları yayınlanmıştır. Parsons ve ark. (101) bütün genom dizilemesi, Northcott ve ark. (46) ve Cho ve ark. (45) gen ekspresyonu ve kopya sayısı analizi ve Remke ve ark. (102) yetişkin MB hastalarının bir grubunu karakterize etmek için benzer gen ekspresyonu ve kopya sayısı analizi gerçekleştirmiştir.

Bu veriler göz önüne alındığında MB hastalarının moleküler olarak analiz edilmesinin ve gruplandırılmasının klinik olarak belirlenen alt gruplarının desteklenmesini sağlayabileceğini ortaya çıkarmıştır.

Mevcut tez çalışmasında, klinik olarak WNT-MB alt grubunda belirlenen 11 hastanın moleküler olarak 8'inin bu alt grupta olduğu tanımlanmıştır. Klinik olarak SHH-MB alt grubunda belirlenen 15 hastanın ise moleküler olarak 10'unun bu grupta olduğu belirlenmiştir. Böylece klinik ve moleküler olarak belirlenen moleküler alt gruplarında yüksek benzerlik saptanmıştır.

45 vaka ile gerçekleştirilen mevcut tez çalışmasında 8 olgunun moleküler olarak WNT-MB alt grubunda, 10 olgunun ise SHH-MB alt grubunda olduğu belirlenmiştir. Beş yıllık sağ kalıma bakıldığında WNT-MB alt grubunda yer alan 8 olgunun %12,5'inde, SHH-MB alt grubunda yer alan 10 olgunun ise %80'inde kötü prognoz gözlenmiştir. WNT-MB alt grubundaki hastaların, SHH-MB alt grubundaki hastalar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha uzun sağ kalım gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen bulguların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Mevcut tezde elde edilen bulguların hasta sayısının ve incelenen parametrelerinin artırılmasına ihtiyaç bulunmakla birlikte elde edilen bulgulara göre Türk popülasyonunda tek merkezden elde edilen MB olgularında WNT-MB alt grubunun görülme sıklığının %17,8 ve SHH-MB alt grubunun görülme sıklığının ise %22,2 oranında olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda mevcut tez çalışmasında RT-PCR tekniğine dayalı gen ekspresyon analiz yönteminin rutin pratiğe uygun olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen klinik ve moleküler sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde WNT-MB alt grubuna dahil olan hastaların SHH-MB alt grubuna dahil olan hastalara göre daha iyi prognoza sahip olduğu tespit edilmiştir. Mevcut tez, Türk popülasyonunda MB tümörlerinde bu kapsamda veri elde edilen ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

Elde edilen bulgular, Grup 3-MB ve Grup 4-MB ile ilgili yapılacak çalışmalara öncü olma potansiyeli taşımaktadır. Böylelikle mevcut tez çalışmasının, çocukluk çağında görülen malign beyin tümörleri arasında en yaygın olan MB tümörlerinin alt gruplarına ayrılmasına ve tedavi protokollerinin

bu doğrultuda şekillenmesine y6nelik yeni çalışmaların oluşturulmasına katkı sağlayacağı d6ř6n6lmektedir.

KAYNAKLAR

- 1) Siegel DA, Li J, Henley SJ, et al. Geographic Variation in Pediatric Cancer Incidence — United States, 2003–2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2018;67:707–713.
- 2) Udaka YT, Packer RJ. Pediatric Brain Tumors. *Neurol Clin.* 2018;36(3):533-556.
- 3) Girardi F, Allemani C, Coleman MP. Worldwide Trends in Survival From Common Childhood Brain Tumors: A Systematic Review. *J Glob Oncol.* 2019;5:1-25.
- 4) Steliarova-Foucher E, Stiller C, Lacour B, Kaatsch P. International Classification of Childhood Cancer, third edition. *Cancer.* 2005;103(7):1457-1467.
- 5) Yaman Bajin I, Kutluk T. Çocukluk çağı kanserlerinin epidemiyolojisi ve risk faktörleri. *Kanser gündemi dergisi.* 2016; 4/1- 2:21-25.
- 6) Kutluk MT, Yeşilipek A. Turkish National Pediatric Cancer Registry 2002-2008 (Turkish Pediatric Oncology Group and Turkish Pediatric Hematology Society). *J Clin Oncol.* 2017; 31.
- 7) Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016;131(6):803-820.
- 8) Bailey P, Cushing H. Medulloblastoma cerebelli: a common type of midcerebellar glioma of childhood. *Arch Neurol Psychiatry.* 1925;14(2):192–224.
- 9) Globus JH, Strauss I. Spongioblastoma multiforme: a primary malignant form of brain neoplasm: its clinical and anatomic features. *Arch Neurol Psychiatry.* 1925;14(2):139–191.
- 10) Paterson E, Farr RF. Cerebellar medulloblastoma: treatment by irradiation of the whole central nervous system. *Acta radiol.* 1953;39(4):323-336.
- 11) Tait DM, Thornton-Jones H, Bloom HJ, Lemerle J, Morris-Jones P. Adjuvant chemotherapy for medulloblastoma: the first multi-centre control trial of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP I). *Eur J Cancer.* 1990;26(4):464-469.
- 12) Rorke LB. The cerebellar medulloblastoma and its relationship to primitive neuroectodermal tumors. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1983;42(1):1-15.
- 13) Pomeroy SL, Tamayo P, Gaasenbeek M, et al. Prediction of central nervous system embryonal tumour outcome based on gene expression. *Nature.* 2002;415(6870):436-442. doi:10.1038/415436a
- 14) Spence T, Sin-Chan P, Picard D, et al. CNS-PNETs with C19MC amplification and/or LIN28 expression comprise a distinct histogenetic diagnostic and therapeutic entity. *Acta Neuropathol.* 2014;128(2):291-303.

- 15) Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97-109.
- 16) Rutkowski S, von Hoff K, Emser A, et al. Survival and prognostic factors of early childhood medulloblastoma: an international meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2010;28(33):4961-4968.
- 17) Shih DJ, Northcott PA, Remke M, et al. Cytogenetic prognostication within medulloblastoma subgroups. *J Clin Oncol.* 2014;32(9):886-896.
- 18) Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol.* 2012;123(4):465-472.
- 19) Rickert CH, Paulus W. Epidemiology of central nervous system tumors in childhood and adolescence based on the new WHO classification. *Childs Nerv Syst.* 2001;17(9):503-511.
- 20) Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro Oncol.* 2019;21(Suppl 5):v1-v100.
- 21) Laurent JP, Cheek WR. Brain tumors in children. *J Pediatr Neurosci.* 1985;1:15-32.
- 22) Allen JC. Childhood brain tumors: current status of clinical trials in newly diagnosed and recurrent disease. *Pediatr Clin North Am.* 1985;32(3):633-651.
- 23) Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro Oncol.* 2015;17 Suppl 4(Suppl 4):iv1-iv62.
- 24) McNeil DE, Côté TR, Clegg L, Rorke LB. Incidence and trends in pediatric malignancies medulloblastoma/primitive neuroectodermal tumor: a SEER update. *Surveillance Epidemiology and End Results. Med Pediatr Oncol.* 2002;39(3):190-194.
- 25) Smoll NR, Drummond KJ. The incidence of medulloblastomas and primitive neuroectodermal tumours in adults and children. *J Clin Neurosci.* 2012;19(11):1541-1544.
- 26) Dai CY, Nakamura JL, Haas-Kogan D. Central Nervous System. In: Hansen EK, Roach III M, editors. *Handbook of evidence based radiation oncology.* New York, NY: Springer; 2006:15-54
- 27) Kun LE, Tarbell NJ. Current Treatment and Contraversies in Childhood Brain Tumors. In: *ASTRO Education session.* Atlanta, GA; 2004
- 28) Polkinghorn WR, Tarbell NJ. Medulloblastoma: tumorigenesis, current clinical paradigm, and efforts to improve risk stratification. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007;4(5):295-304.
- 29) Rood BR, Macdonald TJ, Packer RJ. Current treatment of medulloblastoma: recent advances and future challenges. *Semin Oncol.* 2004;31(5):666-675.
- 30) Koeller KK, Rushing EJ. From the archives of the AFIP: medulloblastoma: a comprehensive review with radiologic-pathologic correlation. *Radiographics.* 2003;23(6):1613-1637.

- 31) Johansson G, Andersson U, Melin B. Recent developments in brain tumor predisposing syndromes. *Acta Oncol.* 2016;55(4):401-411.
- 32) Archer TC, Mahoney EL, Pomeroy SL. Medulloblastoma: Molecular Classification-Based Personal Therapeutics. *Neurotherapeutics.* 2017;14(2):265-273.
- 33) Miranda Kuzan-Fischer C, Juraschka K, Taylor MD. Medulloblastoma in the Molecular Era. *J Korean Neurosurg Soc.* 2018;61(3):292-301.
- 34) Millard NE, De Braganca KC. Medulloblastoma. *J Child Neurol.* 2016;31(12):1341-1353.
- 35) Skowron P, Ramaswamy V, Taylor MD. Genetic and molecular alterations across medulloblastoma subgroups. *J Mol Med (Berl).* 2015;93(10):1075-1084.
- 36) Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis.* 2008;4(2):68-75.
- 37) He X, Semenov M, Tamai K, Zeng X. LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/beta-catenin signaling: arrows point the way. *Development.* 2004;131(8):1663-1677.
- 38) Carballo GB, Honorato JR, de Lopes GPF, Spohr TCLSE. A highlight on Sonic hedgehog pathway. *Cell Commun Signal.* 2018;16(1):11.
- 39) Kool M, Korshunov A, Remke M, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathol.* 2012;123(4):473-484.
- 40) Farndon PA, Del Mastro RG, Evans DG, Kilpatrick MW. Location of gene for Gorlin syndrome. *Lancet.* 1992;339(8793):581-582.
- 41) Jones DT, Jäger N, Kool M, et al. Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma. *Nature.* 2012;488(7409):100-105.
- 42) Northcott PA, Hielscher T, Dubuc A, et al. Pediatric and adult sonic hedgehog medulloblastomas are clinically and molecularly distinct. *Acta Neuropathol.* 2011;122(2):231-240.
- 43) Choy SW, Cheng SH. Hedgehog signaling. *Vitam Horm.* 2012;88:1-23.
- 44) Skoda AM, Simovic D, Karin V, Kardum V, Vranic S, Serman L. The role of the Hedgehog signaling pathway in cancer: A comprehensive review. *Bosn J Basic Med Sci.* 2018;18(1):8-20.
- 45) Cho YJ, Tsherniak A, Tamayo P, et al. Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. *J Clin Oncol.* 2011;29(11):1424-1430.
- 46) Northcott PA, Korshunov A, Witt H, et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol.* 2011;29(11):1408-1414.
- 47) Marino S. Medulloblastoma: developmental mechanisms out of control. *Trends Mol Med.* 2005;11(1):17-22.
- 48) Northcott PA, Jones DT, Kool M, et al. Medulloblastomics: the end of the beginning. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(12):818-834.
- 49) Ramaswamy V, Taylor MD. Medulloblastoma: from myth to molecular. *JCO.* 2017;35(21):2355–2363.
- 50) Coluccia D, Figuereido C, Isik S, Smith C, Rutka JT. Medulloblastoma: tumor biology and relevance to treatment and prognosis paradigm. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2016;16(5):43.

- 51)Huang G-H, Xu Q-F, Cui Y-H, Li N, Bian X-W, Lv S-Q. Medulloblastoma stem cells: promising targets in medulloblastoma therapy. *Cancer Sci.* 2016;107(5):583–589.
- 52)Kool M, Korshunov A, Remke M, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathol.* 2012;123(4):473-484.
- 53)Ramaswamy V, Remke M, Bouffet E, et al. Risk stratification of childhood medulloblastoma in the molecular era: the current consensus. *Acta Neuropathol.* 2016;131(6):821-831.
- 54)Ramaswamy V, Remke M, Adamski J, et al. Medulloblastoma subgroup-specific outcomes in irradiated children: who are the true high-risk patients?. *Neuro Oncol.* 2016;18(2):291-297.
- 55)Ramaswamy V, Remke M, Shih D, et al. Duration of the pre-diagnostic interval in medulloblastoma is subgroup dependent. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61(7):1190–1194.
- 56)Swartling FJ, Grimmer MR, Hackett CS, et al. Pleiotropic role for MYCN in medulloblastoma. *Genes Dev.* 2010;24(10):1059-1072.
- 57)Poretti A, Meoded A, Huisman TA. Neuroimaging of pediatric posterior fossa tumors including review of the literature. *J Magn Reson Imaging.* 2012;35(1):32-47.
- 58)Blüml S, Margol AS, Sposto R, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma identification using noninvasive magnetic resonance spectroscopy. *Neuro Oncol.* 2016;18(1):126-131.
- 59)Perreault S, Ramaswamy V, Achrol AS, et al. MRI surrogates for molecular subgroups of medulloblastoma. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014;35(7):1263-1269.
- 60)Schneider C, Ramaswamy V, Kulkarni AV, et al. Clinical implications of medulloblastoma subgroups: incidence of CSF diversion surgery. *J Neurosurg Pediatr.* 2015;15(3):236-242.
- 61)Vézina LG, Packer RJ. Infratentorial brain tumors of childhood. *Neuroimaging Clin N Am.* 1994;4(2):423-436.
- 62)Chang CH, Housepian EM, Herbert C Jr. An operative staging system and a megavoltage radiotherapeutic technic for cerebellar medulloblastomas. *Radiology.* 1969;93(6):1351-1359.
- 63)Packer RJ, Goldwein J, Nicholson HS, et al. Treatment of children with medulloblastomas with reduced-dose craniospinal radiation therapy and adjuvant chemotherapy: A Children's Cancer Group Study. *J Clin Oncol.* 1999;17(7):2127-2136.
- 64)Yao MS, Mehta MP, Boyett JM, et al. The effect of M-stage on patterns of failure in posterior fossa primitive neuroectodermal tumors treated on CCG-921: a phase III study in a high-risk patient population. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997;38(3):469-476.
- 65)Chintagumpala M, Berg S, Blaney SM. Treatment controversies in medulloblastoma. *Curr Opin Oncol.* 2001;13(3):154-159.
- 66)Zeltzer PM, Boyett JM, Finlay JL, et al. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children's Cancer

- Group 921 randomized phase III study. *J Clin Oncol*. 1999;17(3):832-845.
- 67) Yazigi-Rivard L, Masserot C, Lachenaud J, et al. Childhood medulloblastoma. *Arch Pediatr*. 2008;15:1794-804.
 - 68) Kühl J, Müller HL, Berthold F, et al. Pre-radiation chemotherapy of children and young adults with malignant brain tumors: results of German pilot trial HIT'88/89. *Klin Paediatr*. 1998;17:832-45
 - 69) Thompson EM, Hielscher T, Bouffet E, et al. Prognostic value of medulloblastoma extent of resection after accounting for molecular subgroup: a retrospective integrated clinical and molecular analysis. *Lancet Oncol*. 2016;17(4):484-495.
 - 70) Krischer JP, Ragab AH, Kun L, et al. Nitrogen mustard, vincristine, procarbazine, and prednisone as adjuvant chemotherapy in the treatment of medulloblastoma. A Pediatric Oncology Group study. *J Neurosurg*. 1991;74(6):905-909.
 - 71) Bailey CC, Gnekow A, Wellek S, et al. Prospective randomised trial of chemotherapy given before radiotherapy in childhood medulloblastoma. International Society of Paediatric Oncology (SIOP) and the (German) Society of Paediatric Oncology (GPO): SIOP II. *Med Pediatr Oncol*. 1995;25:166-78
 - 72) Tait DM, Thornton-Jones H, Bloom HJ, Lemerle J, Morris-Jones P. Adjuvant chemotherapy for medulloblastoma: the first multi-centre control trial of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP I). *Eur J Cancer*. 1990;26(4):464-469.
 - 73) Bautista F, Fioravanti V, de Rojas T, et al. Medulloblastoma in children and adolescents: a systematic review of contemporary phase I and II clinical trials and biology update. *Cancer Med*. 2017;6(11):2606-2624.
 - 74) De Braganca KC, Packer RJ. Treatment Options for Medulloblastoma and CNS Primitive Neuroectodermal Tumor (PNET). *Curr Treat Options Neurol*. 2013;15(5):593-606.
 - 75) Martin AM, Raabe E, Eberhart C, Cohen KJ. Management of pediatric and adult patients with medulloblastoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2014;15(4):581-594.
 - 76) Bartlett F, Kortmann R, Saran F. Medulloblastoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2013;25(1):36-45.
 - 77) Schell MJ, McHaney VA, Green AA, et al. Hearing loss in children and young adults receiving cisplatin with or without prior cranial irradiation. *J Clin Oncol*. 1989;7(6):754-760.
 - 78) Gandola L, Massimino M, Cefalo G, et al. Hyperfractionated accelerated radiotherapy in the Milan strategy for metastatic medulloblastoma. *J Clin Oncol*. 2009 Feb;27(4) 566-571.
 - 79) Cefalo G, Massimino M, Ruggiero A, et al. Temozolomide is an active agent in children with recurrent medulloblastoma/primitive neuroectodermal tumor: an Italian multi-institutional phase II trial. *Neuro Oncol*. 2014;16(5):748-753.
 - 80) Phase I study if intracranial injection of T cells expressing HER2-specific chimeric antigen receptors (CAR) in subjects with HER2-

Positive tumors of the central nervous system (iCAR). NCT02442297, H-31973-iCAR.

- 81) Lin R, Hug EB, Schaefer RA, Miller DW, Slater JM, Slater JD. Conformal proton radiation therapy of the posterior fossa: a study comparing protons with three-dimensional planned photons in limiting dose to auditory structures. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;48(4):1219-1226.
- 82) Thomas PR, Deutsch M, Kepner JL, et al. Low-stage medulloblastoma: final analysis of trial comparing standard-dose with reduced-dose neuraxis irradiation. *J Clin Oncol*. 2000;18:3004-11.
- 83) Jain N, Krull KR, Brouwers P, Chintagumpala MM, Woo SY. Neuropsychological outcome following intensity-modulated radiation therapy for pediatric medulloblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;51:275- 9.
- 84) Adamski J, Ramaswamy V, Huang A, Bouffet E. Advances in managing medulloblastoma and intracranial primitive neuro-ectodermal tumors. *F1000Prime Rep*. 2014;6:56.
- 85) Fattet S, Haberler C, Legoix P, et al. Beta-catenin status in paediatric medulloblastomas: correlation of immunohistochemical expression with mutational status, genetic profiles, and clinical characteristics. *J Pathol*. 2009;218(1):86-94.
- 86) Sengupta S, Chatterjee U, Banerjee U, Ghosh S, Chatterjee S, Ghosh AK. A study of histopathological spectrum and expression of Ki-67, TP53 in primary brain tumors of pediatric age group. *Indian J Med Paediatr Oncol*. 2012;33(1):25-31.
- 87) Thompson MC, Fuller C, Hogg TL, et al. Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations. *J Clin Oncol*. 2006;24(12):1924-1931.
- 88) Kool M, Koster J, Bunt J, et al. Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PLoS One*. 2008;3(8):e3088.
- 89) Clifford SC, Lannering B, Schwalbe EC, et al. Biomarker-driven stratification of disease-risk in non-metastatic medulloblastoma: Results from the multi-center HIT-SIOP-PNET4 clinical trial. *Oncotarget*. 2015;6(36):38827-38839.
- 90) Robinson G, Parker M, Kranenburg TA, et al. Novel mutations target distinct subgroups of medulloblastoma. *Nature*. 2012;488(7409):43-48.
- 91) Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med*. 1995;332(13):839–847.
- 92) Trubicka J, Szperl M, Grajkowska W, et al. Identification of a novel inherited ALK variant M1199L in the WNT type of medulloblastoma. *Folia Neuropathol*. 2016;1(1):23–30.
- 93) Northcott PA, Korshunov A, Pfister SM, Taylor MD. The clinical implications of medulloblastoma subgroups. *Nat Rev Neurol*. 2012;8(6):340–351.
- 94) Ellison DW, Kocak M, Dalton J, et al. Definition of disease-risk stratification groups in childhood medulloblastoma using combined

- clinical, pathologic, and molecular variables. *J Clin Oncol*. 2011;29(11):1400–1407.
- 95) O'Malley S, Weitman D, Olding M, Sekhar L. Multiple neoplasms following craniospinal irradiation for medulloblastoma in a patient with nevoid basal cell carcinoma syndrome. Case report. *J Neurosurg*. 1997;86(2):286–288.
 - 96) Zhukova N, Ramaswamy V, Remke M, et al. Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma. *J Clin Oncol*. 2013;31(23):2927–2935.
 - 97) Williams JR, Zhang Y, Zhou H, et al. A quantitative overview of radiosensitivity of human tumor cells across histological type and TP53 status. *Int J Radiat Biol*. 2008;84(4):253–264.
 - 98) Ellison DW, Dalton J, Kocak M, et al. Medulloblastoma: clinicopathological correlates of SHH, WNT, and non-SHH/WNT molecular subgroups. *Acta Neuropathol*. 2011;121(3) 381-396.
 - 99) Silva Rd, Marie SK, Uno M, et al. CTNNB1, AXIN1 and APC expression analysis of different medulloblastoma variants. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68(2):167-172.
 - 100) Schwalbe EC, Lindsey JC, Straughton D, et al. Rapid diagnosis of medulloblastoma molecular subgroups. *Clin Cancer Res*. 2011;17(7):1883-1894.
 - 101) Parsons DW, Li M, Zhang X, et al. The genetic landscape of the childhood cancer medulloblastoma. *Science*. 2011;331(6016):435-439.
 - 102) Remke M, Hielscher T, Northcott PA, et al. Adult medulloblastoma comprises three major molecular variants. *J Clin Oncol*. 2011;29(19):2717-2723.

KISALTMALAR

Bu tezde kullanılmış kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklama
MB	Medulloblastoma
PNET	Primitif nöroektodermal tümör
AT/RT	Atipik teratoid rabdoid tümör
WNT	Wingless
SHH	Sonic Hedgehog
SSS	Santral sinir sistemi
BOS	Beyin omurilik sıvısı
LP	Lomber ponksiyon
KSRT	Kraniospinal radyoterapi
RT	Radyoterapi
KT	Kemoterapi
IMRT	Intensity modulated radiotherapy
KİBAS	Kafa içi basınç artışı sendromu
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
TPOG	Türk pediatrik onkoloji grubu
TPHD	Türk pediatrik hematoloji derneği
ICCC	International classification of child cancer
ABD	Amerika birleşik devletleri
CBTRUS	Central brain tumor registry of the USA
COG	Children's oncology group
SIOP	International society of pediatric oncology
POG	Pediatric oncology group
CCG	Children's cancer group
CAR	Chimeric antigen receptor
HER	Human epidermal growth factor receptor
cDNA	Complementary DNA
PCR	Polymerase chain reaction
RT-PCR	Real time polymerase chain reaction
CTNNB1	Catenin beta 1
AXIN	Axis inhibitor protein
PTCH1	Protein patched homolog 1
SMO	Smoothed, Frizzled Class Receptor
SUFU	Suppressor of fused
GLI 1	Glioma associated oncogene homolog 1
MYC	MYC proto-oncogene
MYCN	N-myc proto-oncogene protein
GFLB1	Galactosidase Beta 1
OTX-2	Orthodenticle Homeobox 2

KDM6A	Lysine Demethylase 6A
SNCAIP	Synuclein alpha interacting protein
DDX3X	DEAD-Box Helicase 3 X-Linked
TP53	Tumor protein 53
APC	Adenomatous polyposis coli
CK1	Kazein kinaz 1
GSK3	Glukojen sentaz kinaz 3
KIF7	Kinesin like protein 7
PKA	Protein kinase A
GFI1	Growth factor independent gene
GFI1B	Growth factor independent 1B repressor.
VEGF	Vascular endotelial growth factor
CD6K	Cyclin dependent kinase 6
H3K27me3	Trimethylation of histone H3 lysine 27
EZH2	Enhancer of zeste homolog 2

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince daima ilgi ve desteklerini gördüğüm, yetişmemde emeği geçen hocalarım Prof. Dr. Selçuk Yılmazlar, Prof. Dr. Ahmet Bekar, Prof. Dr. Şeref Doğan, Prof. Dr. Hasan Kocaeli ve Doç. Dr. Özgür Taşkapılıoğlu'na, Uzm. Dr. Pınar Eser Ocak'a ve tezimin hazırlanmasında desteğini ve yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı hocası Prof. Dr. Berrin Tunca ve ekibine ve bu zorlu süreçte beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, teknisyenlere, hemşirelere ve personellere sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren annem, babam ve ne kadar şanslı olduğumu her zaman hissettiren tüm aileme, desteğini hiç esirgmeden varlığıyla bana güç veren ve hayatıma anlam katan sevgili eşim Almira'ya teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

15.11.1988 tarihinde Uşak'ta doğdum. İlk öğrenimimi Uşak'ta Özel Üftade Koleji'nde ve Halit Ziya Uşaklıgil Orta Okulu'nda tamamladım. Liseyi Isparta Süleyman Demirel Fen Lisesi'nde ve Özel Üftade Koleji'nde tamamladım. Üniversiteyi Manisa Celal Bayar Tıp Fakültesi'nde tamamladım ve 2014 yılında Uludağ Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. 02.12.2014 tarihinden beri Uludağ Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.