



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK  
CERRAHİ ANABİLİM DALI



**MALİGN PERİFERİK SİNİR KILIFI TÜMÖRÜNDE ING-2 GEN  
FONKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. ŞAMİL SÜLEYMANOV**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. ARİF TÜRKMEN**  
**İSTANBUL – 2020**



**T.C.**  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA**  
**CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ**  
**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**MALİGN PERİFERİK SİNİR KILIFI TÜMÖRÜNDE ING-2 GEN**  
**FONKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. ŞAMİL SÜLEYMANOV**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. ARİF TÜRKMEN**  
**İSTANBUL – 2020**

## ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerinin yanı sıra tecrübelerinden büyük kazanç sağladığım ve yetişmemde sonsuz emekleri olan değerli hocalarım emekli öğretim üyesi Sn. Prof.Dr.Muzaffer ALTINDAŞ, emekli öğretim üyesi Sn. Prof.Dr.M. Zeki GÜZEL, Sn.Prof.Dr.Oğuz ÇETİNKALE, Sn.Prof.Dr.Yağmur AYDIN, Sn.Prof.Dr.Arif TÜRKMEN, Sn. Doç.Dr.Hakan ARSLAN, Sn.Doç.Dr.Semih BAĞHAKİ ve Sn.Op.Dr.Anıl DEMİRÖZ'e sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Asistanlığım süresince benden destek, birikim ve hoşgörülerini esirgemeyen sayın tez danışmanım Prof.Dr.Arif TÜRKMEN'e, tez çalışması için yaptıkları katkılardan dolayı Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan sayın Prof.Dr.Nil ÇOMUNOĞLU'na, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Ortopedi Anabilim Dalı'ndan sayın Prof.Dr.Murat HIZ'a, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan sayın Prof.Dr.Sadrettin PENÇE'ye ve Yrd.Doç.Hani ALSADONI'ye ve tezim sürecinde yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Dr.Mehmet Fatih OKYAY'a, Dr.Royal KHANKISHIYEV'e, Dr.Tuğba Feryal YILDIZ'a, Dr.Hasan KÖMÜRCÜ'ye, Dr.Mehmet Beşir ÖNER'e, Dr.Başak DAĞHAN'a, Dr.Koray TEMİZ'e, Dr.Uğur ÇELİK'e, Dr.Fatih ÇİNAR'a, Dr.Servet Yekta AYDIN'a, Dr.Can Ege YALÇIN'a ve ayrıca Op.Dr.Uğur ŞAHİN'e, Op.Dr.Müge YALÇIN'a, Op.Dr.Alp ERCAN'a sonsuz teşekkür ederim. Plastik Cerrahi Kliniği hemşire, personel ve tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen, aramızdan erken ayrılan sevgili annem Sn.Dr.Ayşe SAİDOVA'ya ve sevgili babam Sn.Dr.EHMED SÜLEYMANOV'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

**Dr.Şamil SÜLEYMANOV**

**İstanbul 2020**

# İÇİNDEKİLER

SİMGE VE KISALTMALAR .....	I
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	III
ETİK KURUL ONAYI.....	VI
TEZ/PROJE FİNANSAL DESTEK BİLDİRİMİ.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT .....	IX
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümörü .....	3
2.1.1 Tanım .....	3
2.1.2 İnsidans ve Epidemiyoloji.....	3
2.1.3 Risk Faktörleri.....	4
2.1.4 Etyopatogenez ve Moleküler Değişimler.....	7
2.1.5 Tanı ve Klinik .....	8
2.1.6 Histopatoloji.....	12
2.1.7 Evreleme .....	14
2.1.8 Tedavi.....	17
2.1.9 Lokal Nüks ve Metastaz.....	19
2.1.10 Prognoz .....	20
2.2 Hücre Siklusu .....	21
2.3 ING (Inhibition of Growth) Gen Ailesi.....	22

2.3.1	ING Gen Ailesi Üyeleri, Yapısal Özellikleri ve Fonksiyonları .....	24
3	AMAÇ .....	38
4	GEREÇ VE YÖNTEM .....	39
4.1	Hasta Seçimi .....	39
4.2	Örneklerin Seçilmesi .....	40
4.3	Genetik - Moleküler İncelemeler .....	40
4.4	Sonuçların Değerlendirilmesi .....	44
4.4.1	İstatistiksel Değerlendirme .....	44
5	BULGULAR .....	46
5.1	Klinik Bulgular .....	46
5.2	Histopatolojik Bulgular .....	47
5.3	Genetik - Moleküler Bulgular .....	48
5.4	İstatistiksel Bulgular .....	52
6	TARTIŞMA .....	56
7	SONUÇ .....	61
8	KAYNAKLAR .....	62
9	ÖZGEÇMİŞ .....	74

## SİMGE VE KISALTMALAR

**18F-FDG:** 18F-florodeoksiglukoz

**AJCC:** American Joint Committee on Cancer

**AML:** Akut miyeloid lösemi

**BCC:** Bazal hücreli karsinom

**BT:** Bilgisayarlı tomografi

**CDK:** Sikline bağımlı kinazlar

**EMA:** Epitelyal membran antijeni

**FNCLCC:** Federation Nationale des Centers de Lutte Contre Cancer

**HAT:** Histon asetil transferaz

**HCC:** Hepatoselüler karsinom

**HDAC:** Histon deasetilaz

**HE:** Hemotoksin ve eozin

**HIF:** Hypoxia inducible factor

**HPF:** Bir büyük büyütme alanı

**HSP70:** Isı şoku proteini 70

**IGCNBx:** Görüntü kılavuzluğunda kor iğne biyopsisi

**ING:** Büyüme inhibitörü

**KT:** Kemoterapi

**LID:** Lamin interacting domain

**LZL:** Leucine Zipper-Like

**MCM:** Minikromozom bakım

**MPSKT:** Malign periferik sinir kılıfı tümörü

**MR:** Manyetik rezonans görüntüleme

**NCI:** Ulusal Kanser Enstitüsü

**NCR:** Novel Conserved Region

**NER:** Nükleotid eksizyon onarımı

**NF1:** Nörofibromatozis Tip1

**NLS:** Nuclear Localization Signal  
**PBD:** Bromodomain  
**PBR:** Poly Basic Region  
**PDGFRA:** Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü- $\alpha$   
**PET / MR:** PET ve MR kombine sistemi  
**PET-BT:** Pozitron emisyon tomografisi  
**PHD:** Plant Homedomain  
**PHD:** Plant Homedomain  
**PIP:** PNCA- Interacting Protein motif  
**PN:** Pleksiform nörofibromlar  
**Rb:** Retinoblastoma  
**RT:** Radyoterapi  
**RTK:** Reseptörü tirozin kinazı olan  
**SCC:** Sküamöz hücreli karsinom  
**SUV<sub>max</sub>:** Maksimum standartlaştırılmış alım değeri  
**SV40:** Simian virüsü 40  
**TBG:** Tümör baskılayıcı gen  
**UICC:** Uluslararası Kanser Kontrolü Birliği  
**YDS:** Yumuşak doku sarkomları



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. NF1 tmörgenezinde yer alan sinyal iletim yollarını gösteren çizim .....	5
Şekil 2. 35 yaşında erkek hasta sol uyluğunda şişlik .....	10
Şekil 3. Aksiyel BT, PET ve PET / BT görüntüleri. ....	11
Şekil 4. (A) Gros nümune. (B) NF1 tanımlı sağ uylukta büyük 16 cm'lik tümörü olan hastanın hemotoksilin ve eozin boyması.....	13
Şekil 5. (a) FDG-PET / BT görüntüsü. ....	20
Şekil 6. Hücre siklusunun aşamaları. ....	21
Şekil 7. ING ailesi protein inhibitörünün aracılık ettiği bir sinyal yollarının modeli.23	
Şekil 8. ING genleri lokalizasyonu, yapısı ve transkriptleri. ....	25
Şekil 9. ING protein yapısı.....	27
Şekil 10. ING ailesi protein alanları ve fonksiyonları.....	28
Şekil 11. Multipl tümör baskılayıcı fonksiyonların regülasyonunda ING-p53 ağı... 32	
Şekil 12. ING2 ve Beta aktin amplifikasyon sonuçları.....	51
Şekil 13. ING2 ve Beta aktin erime eğrisi. (Melting Curve) .....	52

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Malign periferik sinir kılıfı tümöründe moleküler yolaklarda düzensizlik....	7
Tablo 2. AJCC tarafından Gövde ve Ekstremitte bölgesi Yumuşak Doku Sarkomları için tanımlanmış evreleme .....	14
Tablo 3. FNLCC derecelendirme sistemi(80).....	15
Tablo 4. AJCC tarafından Retroperitonyum bölgesi Yumuşak Doku Sarkomları için tanımlanmış evreleme .....	16
Tablo 5. Baş boyun bölgesi primer tümör (T) tanımı .....	16
Tablo 6. Karın ve torasik viseral organlar primer tümör (T) tanımı .....	17
Tablo 7. Reverse-transkripsiyon karışımı. ....	42
Tablo 8. ING2 ve B-aktin geninin qRT- PCR’da kullanılan primer dizisi. F: Düz primer, R: Ters primer.....	42
Tablo 9. Reaksiyon için gereken SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit karışımı .....	43
Tablo 10. qRT- PCR kondüsyonları.....	43
Tablo 11. Hastaların cinsiyeti, biyopsi alınma yılı, tanı aldıklarındaki yaşı, tümör bölgesi, etiyoloji ve FNCLLC grade’i . ....	47
Tablo 12. Sağlam ve tümörlü dokulardan qRT-PCR ile elde edilen Ct değerleri ve hesaplanan Delta Ct ve Delta delta Ct değerleri. T: tümörlü doku, N: sağlam doku.	49
Tablo 13. ING 2 tespit edilemeyen vakalar. ....	50
Tablo 14. Cinsiyet dağılımı.....	52
Tablo 15. Tanı yaşı ve sağkalım özellikleri. ....	53
Tablo 16. Tümörlerin klinik ve histolojik özellikleri.....	53
Tablo 17. Normal ve tümörlü dokuların delta ct, delta delta ct ve kat değişimi verileri. ....	54
Tablo 18. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve etiyoloji arasındaki ilişki. ....	54
Tablo 19. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve cinsiyet arasındaki ilişki. ....	54

Tablo 20. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve FNCLLC grade'i arasındaki ilişki. ....	55
Tablo 21 Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve sağkalım arasındaki ilişki. ....	55
Tablo 22. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve grade arasındaki korrelasyon. ....	55



# ETİK KURUL ONAYI

İÜC Tarih ve Sayı: 07/08/2019-121637



T.C.  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-  
Konu :Uzm.Öğr.Dr.Shamil  
SÜLEYMANOV'un etik kurul  
kararı A-51

## PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : 26.07.2019 tarih, 58170629-604.01.01-114771 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Arif TÜRKMEN**'in danışmanlığında **Uzm.Öğr.Dr.Shamil SÜLEYMANOV**'un yürüttüğü **Prof.Dr.Murat HIZ, Prof.Dr.Sadrettin PENÇE, Doç.Dr.Nil ÇOMUNOĞLU ve Araş.Gör.Dr.Hanni ALSAADONI**'nin yardımcılıklarında "**Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümöründe ING-2 Gen Fonksiyonlarının Araştırılması**" başlıklı Uzmanlık Tezi hakkında (RETROSPEKTİF/ARAŞTIRMA FONU) hakkında ilgi yazınız ve ekleri **06 Ağustos 2019** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP ) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

e-İmzalı  
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR  
Başkan

e-İmzalı  
Prof. Dr. Suat Nail ÖMEROĞLU  
Bölüm Başkanı V.

Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :  
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak için:<http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE6LEH6Y2>

Ayrıntılı bilgi için iribat : Güler SOYDANER Dahili : 22300

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

## **TEZ/PROJE FİNANSAL DESTEK BİLDİRİMİ**

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TTU-2019-34077



## ÖZET

**Amaçlar:** Malign periferik sinir kılıfı tümörü(MPSKT) teşhis ve tedavisi zor olan agresif bir tümördür. Büyüme inhibitörü geni 2(ING2) apoptozu başlatma, hasarlı DNA onarımı, hücresel yaşlanmayı kontrol etme, hücre proliferasyonu durdurma, kromatinin yeniden düzenlenmesi gibi fonksiyonları olan bir tümör baskılayıcı genidir. Çalışmamızda ING2 ekspresyon düzeyinin MPSKT patogenezindeki rolünü, ekspresyon seviyesi ile klinikopatolojik faktörler arasındaki ilişkiyi ve prognoz üzerindeki rolünü incelemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** 2000-2019 yılları arasında MPSKT tanısı alan ve ameliyat öncesinde radyoterapi veya kemoterapi almayan uygun 40 hasta seçildi. Hastalarının parafin bloklarından normal ve tümörlü doku örnekleri alındı. Örneklerden RNA izolasyonu yapılarak RT-PCR yöntemi ile ING2 mRNA ekspresyon düzeyleri ölçüldü. Tümörlü ve sağlam dokularda ölçülen ING2 mRNA Delta Ct, Delta-Delta Ct değerleri karşılaştırıldı. 12 hastada ING2 mRNA düzeyi ölçülemediğinden istatistiksel değerlendirme 28 hasta üzerinden yapıldı.

**Bulgular:** Tümörlü dokularda ING2 mRNA ekspresyon düzeyinde normal dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu izlendi ( $p=0,008$ ). Buna rağmen cinsiyet, etiyoloji, histopatolojik grade ve sağkalım ile ekspresyon düzeyi arasında herhangi bir istatistiksel anlamlı fark veya korrelasyonun bulunmadı.

**Sonuç:** ING2 gen ekspresyonunun tümörlü dokularda normal dokulara göre düşük bulunması ING2 geninin MPSKT'lerinde bir tümör baskılayıcı gen olduğu belirlendi. Bulgulara dayanarak ING2 gen ekspresyon seviyesinin MPSKT gelişimine katkıda bulunabileceği ancak sağkalım ve histopatolojik evre üzerine etkisi olmadığı tespit edildi.

**Anahtar sözcükler:** MPSKT, sarkom, büyüme inhibitörü 2, ekspresyon

## ABSTRACT

**Aim:** Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) is an aggressive tumor that is difficult to diagnose and treat. Inhibitor of growth 2(ING2) is a tumor suppressor gene with functions such as initiating apoptosis, damaged DNA repair, controlling cellular aging, halting cell proliferation, and rearranging chromatin. In our study, we aimed to investigate the role of ING2 expression in MPNST pathogenesis, relation with clinicopathological factors and its role in prognosis.

**Materials and Methods:** 40 patients who were diagnosed as MPNST between 2000-2019 and did not receive radiotherapy or chemotherapy before surgery were selected. After that healthy and tumorous tissue samples were retrieved from parafine blocks. By isolating RNA we measured ING2 mRNA expression levels in tumorous and non-tumorous tissue samples with RT-PCR method. ING2 mRNA Delta Ct, Delta-Delta Ct values measured tumorous and non-tumorous tissues were compared. Statistical analysis was performed on 28 patients, since ING2 mRNA level could not be measured in 12 patients.

**Results:** We found out that ING2 mRNA expression levels in tumorous tissues significantly decreased compared to healthy tissues ( $p=0,008$ ). However, ING2 expression in MPNST was not significantly correlated with other clinical parameters as gender, etiology, histopathological grade and survival.

**Conclusion:** Our results showed that ING2 gene expression level was decreased in tumor tissues compared to normal tissue. Based on the findings, it can be suggested that the level of ING2 gene expression may contribute to the development of MPNST but has no effect on survival and histopathological stage.

**Keywords:** MPNST, sarcoma, Inhibitor of growth 2, expression

This study was funded by Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University-Cerrahpasa. Project number: TTU-2019-34077

# 1 GİRİŞ

Sarkomlar, yumuşak doku sarkomları(YDS) ve kemik sarkomlarından oluşmakta olup, herhangi bir yaşta görülebilen, tüm yetişkin malignitelerinin yaklaşık %1'ni ve pediatrik malignitelerin % 15'ini oluşturan heterojen bir mezenkimal malignite grubudur. Diğer kanser tipleri ile karşılaştırıldığında, YDS hemen hemen her anatomik bölgede gelişebilir ve yumuşak doku sarkomlarının çocukluk çağında ortaya çıkma eğilimi daha fazladır(1). Malign periferik sinir kılıfı tümörleri (MPSKT) nadir görülen, periferik sinirlerden köken alan iğsi hücreli malignitelerdir ve tüm yumuşak doku sarkomlarının yaklaşık % 3 ile %10'unu oluşturmaktadır. Tüm MPSKT vakalarının yaklaşık % 50'si nörofibromatozis Tip1(NF1) kaynaklı, kalanı ise sporadik olarak gelişmektedir(2). NF1 (ayrıca von Recklinghausen hastalığı olarak da adlandırılır) Neurofibromin 1 geninde mutasyonlarla karakterize otozomal dominant kalıtmı, hem yüzeysel hem de derin nörofibromların geliştiği yüksek penetrasyonlu genetik hastalıktır(3,4). NF1 hastalarında MPSKT insidansı %8 ile %12 kadar yüksek olabilir(2). MPSKT genel popülasyondaki görülme sıklığı 1: 100.000 iken, NF1 hastalarında bu oran 1: 3,500'dür(5).

MPSKT gelişimi için diğer bir ana risk faktörü radyasyona maruz kalmaktır. MPNST hastalarının %3 ila %10'unun radyasyona maruz kalma klinik geçmişi mevcuttur(6). Radyasyonla ilişkili MPSKT için latens süresi yaklaşık 15 yıldır(7). Sporadik MPSKT hastalarında tanı yaşı ortalama 41 iken, NF1 ile ilişkili MPSKT hastaları genelde daha genç yaşta (ortalama 28 yaş) tanı almaktadır(8).

MPSKT agresif bir tümör olup, yüksek lokal nüks oranına ve metastaz eğilimine sahiptir. Cerrahi rezeksiyon tedavinin temelini oluşturmaktadır(2). Radyoterapi lokal kontrol sağlamada ve nüksetme başlangıcını geciktirmede faydalı olmakla birlikte, uzun süreli sağ kalım üzerinde radyoterapinin çok az etkisi vardır(3). Çoğu yumuşak doku sarkomu gibi, MPSKT'leri de geleneksel kemoterapiye duyarsızdır. Kemoterapi yumuşak doku sarkomlarında genellikle metastatik hastalığın tedavisine kullanılmaktadır(9). Çok az ilacın hastalıkta etkili



olduğu gösterilmiş ve tek ajan doksorubisin veya doksorubisin+ifosfamid kombinasyonu hastaların sadece % 20 ile % 25'inde faydalı olmuştur(10). MPSKT'leri kötü prognoza sahiptirler. Yüksek dereceli MPSKT'lü hastalar için toplam 5 yıllık sağ kalım oranı %20 ile %50 arasında değişmekte olup ; bu hasta grubunda ölüm oranı %75'e kadar varmaktadır(11).

Tümör baskılayıcı gen (TBG) tümör gelişimini engelleyen bir proteini kodlar. Kayıpları malign transformasyona neden olmaktadır. Büyüme inhibitörü (ING) gen ailesi proteinleri tümör baskılayıcı olarak tanımlanmıştır. Ailenin ING1-5 olmak üzere beş üyesi mevcuttur(12). ING2 geni 4. kromozom 4q35.1 lokusunda yerleşir ve tek bir proteini kodlar(13). ING2'nin hücre büyümesi, apoptoz ve DNA onarımı gibi ortak fonksiyonel özellikleri mevcuttur(14).ING2'nin p300, p53, mSin3A-HDAC kompleksi, Brg bazlı SWI-SNF kompleksi, BRMS1, trimetillenmiş histon H3 lizin 4 (H3K4me3) ve ayrıca fosfatidilinositol 5-fosfat dahil olmak üzere bir çok protein ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. ING2, mSin3A-HDAC1 / 2 kompleksi üyesi olarak H3K4me3'e bağlanarak gen ekspresyonunu baskılar(15). ING2'nin p53 ile işbirliği yaparak hücre döngüsünü G1-fazında tuttuğu ve apoptozisi arttırdığı bilinmektedir(16). Ek olarak ING2'nin nükleotid eksizyon onarımının (NER) ilk aşamalarında kromatin gevşemesinde ve DNA'daki fotolezyonlara XPA'nın temininde yer aldığı gösterilmiştir(17).

Yapılan çalışmalarda, kutanöz melanom, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom ve akciğer kanseri dahil bir çok kanser türlerinde ING2 ekspresyon düzeyinin azaldığı gösterilmiştir. ING2 heterozigosite kaybı, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarda ilerlemiş tümör evresi ile ilişkili bulunmuştur. Ancak ING2'nin bir onkogen olarak davrandığı bazı kanser tiplerine de rastlanmıştır. Kolorektal kanser, Burkitt lenfoma ve servikal karsinom gibi kanser türlerinde ING2 ekspresyon düzeyinin arttığı izlenmiştir. ING2 fonksiyonlarının kanser tipine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği düşünölmüştür(15).

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümörü

#### 2.1.1 Tanım

Malign periferik sinir kılıfı tümörü (MPSKT) periferik sinir sisteminden kaynaklanan veya sinir kılıfı differansiyasyonu gösteren tüm maligniteler için önerilen terim olmakla birlikte, daha önceden bilinen isimleri malign nöroma, malign neurilemmoma, nörojenik sarkom, nörofibrosarkom ve malign schwannoma olan tümörleri içerir (3,18). MPSKT nadir, agresif ve heterojen grup tümörlerinden olup, etkili tedavisi zor olan tümörlerdir (19).

#### 2.1.2 İnsidans ve Epidemiyoloji

MPSKT 2 alt türde (nörofibromatozis tip 1 (NF1) ilişkili ve sporadik) görülen ve genel popülasyonda insidans oranı 100.000'de 1 olan, agresif, tedavi edilemez sarkomlardır. MPSKT tüm yumuşak doku sarkomlarının yaklaşık % 5-10 unu oluşturmaktadır(6)(20). MPSKT çoğunlukla yetişkinlerde, belirgin cinsiyet ve ırk ayrımı olmadan, yaşamın üçüncü ila altıncı on yılında görülür. Ancak NF1 ile ilişkili tümörlerde yaklaşık bir on yıl önce ortaya çıkma eğilimindedir (6,21,22). Nörofibromatozis tip 1 ile ilişkili MPSKT'leri daha genç insanlarda görülmekte ve erkek baskınlığı(% 80) gözlemlenmektedir(23). MPSKT kendiliğinden veya NF1 ile ilişkili ortaya çıkabilir. MPSKT'lerinin yaklaşık %50'si nörofibromatozis tip 1(NF1) kaynaklı gelişmektedir(24). NF1'li hastaların hayat boyu %8 ile %13 arasında MPSKT geliştirme riskleri mevcut olup genellikle hastalık önceden var olan bir nörofibrom zemininde ortaya çıkmaktadır. MPSKT'lerinin yaklaşık %10'unda daha önce radyasyona maruz kalma öyküsü mevcut olup, hastalık ortalama olarak 15 yıl sonra ortaya çıkmaktadır. Geri kalan vakalar altta yatan bir neden olmadan kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. MPSKT'leri genellikle büyük çaplı (> 10 cm) ve yüksek dereceli, nüks ve metastaz oranı yüksek olup 5 yıllık sağ kalım oranı % 20 ile % 50 arasında değişen özelliğe sahiptir(6,7,25,26). NF1 ilişkili MPSKT'ünde sağ

kalım oranının düştüğü gözlenmekte olup, Vasconcelos ve ark. tarafından 92 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada en önemli sağ kalım göstergesinin NF1 durumu olduğu bulunmuştur(27).

### 2.1.3 Risk Faktörleri

#### A. Nörofibromatozis Tip 1

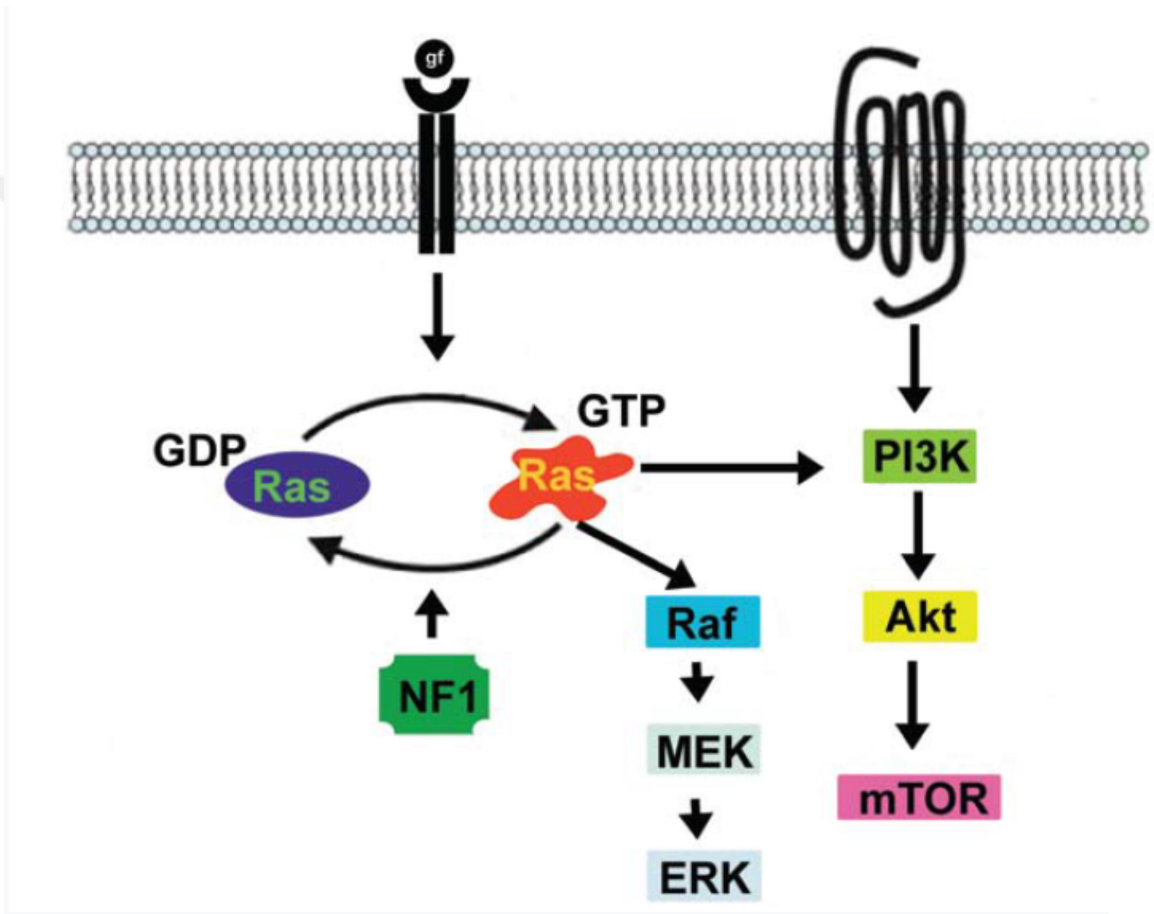
MPNST'lerin yarısı nörofibromatozis tip 1(NF1) ile ilişkilidir. NF1 3000 canlı doğumdan 1'ini etkileyen, otozomal dominant geçişli, insanda en yaygın görülen kanser genetik yatkınlık sendromu olarak bilinmektedir. NF1 ilk defa 1880'lerde Alman patolog von Recklinghausen tarafından birden fazla 'cafe-au-lait' lekeleri olarak adlandırılan kutanöz hiperpigmentasyon alanları, sayısız nörofibromlar, yavaş büyüyen ve patolojik olarak düzensiz yapılı sinir kılıf tümörleri olarak tarif edilmiştir. Bu sendromun penetran bir hastalık olması, değişken ekspresivite göstermesi ve fenotipik heterojenitesi nedeniyle malign transformasyon gibi klinik komplikasyonların erken tespiti zordur(19).

Nörofibromlar ağırlıklı olmak üzere Schwann hücreleri, fibroblastlar ve aksonların etrafını saran çok miktarda kolajen içeren hücre dışı matriksten oluşur. Ayrıca perinöral hücreler, mast hücreleri, perisitler ve endotel hücreleri dahil olmak üzere birçok başka hücre çeşitlerini de barındırmaktadır(28).

Homozigotizmin embriyo için ölümcül olduğu bu otozomal dominant kalıtlı hastalıkta, tüm etkilenen bireyler heterozigot NF1 mutasyonuna sahiptir(29,30). Hem somatik, hem de germline mutasyonlardan sorumlu nokta mutasyonları, NF1 geninin hatasız uç birleştirmesini (İng. splicing) en sık bozan nedenlerdendir(31–33). En az 1.347 farklı NF1 gen mutasyonu tanımlanmıştır(34). İnsan NF1 geni için gözlenen yüksek mutasyon oranından beklenebileceği gibi, neredeyse gelişen mutasyonların yarısı de novo meydana gelmektedir(35).

1990 yılında NF1 geninin tanımlanması NF1 ile ilişkili nörolojik anormalliklerin moleküler patogenezi hakkında daha iyi bir anlayışa sahip olmamızı sağlamıştır. NF1 geni büyük bir gen olup, 2818 amino asitten oluşan nörofibromin denilen büyük bir proteinin sentezini kontrol etmektedir. Nörofibromin protein analizinde Ras guanozin trifosfat(GTP)az proteinlerini negatif olarak regüle eden proteinlerinin katalitik alanı ile benzerlik gösteren çarpıcı bir sekansını ortaya çıkarmıştır. Ras GTPaz aktive edici proteinleri (GAP'ler) Ras'ın aktif GTP'ye bağlı formundan inaktif guanozin difosfat (GDP)'a bağlı formuna dönüştürme işlemini

hızlandırarak, Ras'ı inaktive etme görevini icra etmektedirler. Birçok hücre türünde aktif GTP'ye bağlı Ras güçlü bir büyüme arttırıcı sinyal sağlar ve in vitro ve in vivo olarak onkogenik transformasyonun oluşmasını kolaylaştırır. GAP molekülleri, örneğin nörofibromin, Ras'ı etkisiz hale getirerek Ras aracılı mitojenik sinyalleşmeyi azaltmakta ve hücre çoğalmasını engellemektedir. NF1 gen ekspresyonunun kayıp olması, nörofibromin Ras GAP fonksiyonunun eksik olmasına neden olur. Ras aktivitesinin artması hücre çoğalması ve tümör oluşmasıyla sonuçlanır(Şekil 1)(36).



Şekil 1. NF1 tümörogenezinde yer alan sinyal iletim yollarını gösteren çizim. Büyüme faktörleri (gf) hücre yüzeyindeki reseptörler ile etkileşime girer, guanin nükleotid değişim faktörlerini aktive eder ve bunun sonucunda Ras aktif hale geçer. Aktif Ras hücre içi sinyaller göndererek fosfoinositol 3 ' kinazı (PI3K), AKT ve mTOR yolunu aktive eder. Aktifleşmiş Ras ayrıca Raf-MAK (mitojen-aktifleştirilen kinaz) / MEK yolağını aktif hale getirerek ERK(hücre dışı sinyal-bağımlı kinaz)'i stimule ederek, ki o da devamında çekirdeğe girerek transkripsiyonu teşvik eder. Normalde nörofibromin GAP ilişkili alanı ile Ras'ı azaltır, bu nedenle NF1'de olduğu gibi yokluğunda veya azalmış seviyelerde bu yolların tümü boyunca sinyal artarak hücre çoğalmasına yol açar ve apoptozu inhibe eder.

Gottfried ON, Viskochil DH, Couldwell WT. Neurofibromatosis Type 1 and tumorigenesis: Molecular mechanisms and therapeutic implications yayınından alınmıştır (28)

NF1 tanısını koymak için aşağıdaki klinik özelliklerden en az ikisinin pozitif olması gereklidir:

- Prepubertal çağda 5 mm'den büyük ve postpubertal çağda 15 mm'den büyük altı ya da daha fazla kafe-au-lait makülü
- İki veya daha fazla nörofibrom veya bir pleksiform nörofibrom
- Deri kıvrımı (aksiller veya inguinal) çili
- Optik yol tümörü
- İki veya daha fazla iris hamartomu
- Karakteristik kemik lezyonu
- Nörofibromatozis tip 1 tanılı birinci derece akraba

Pozitif aile öyküsü ve doğumda veya erken bebeklik döneminde ortaya çıkan kafe-au-lait makülleri hastalığın tipik bulgularıdır. Kafe-au-lait makülleri yaşamın ilk 2 yılında boyut ve sayı olarak artar. Deri kıvrımındaki çillenme en sık aksiller ve inguinal bölgelerde gözlenir, erken çocukluk döneminde, en sık 5 ile 8 yaş arasında görülür. Optik yol gliomları genellikle 7 yaşından önce neredeyse tamamen pediatrik popülasyonda görülür(37).

Nörofibromlar iyi huylu Schwann hücreli tümörlerdir. Dört alt tipi vardır: deri, deri altı, nodüler veya diffüz pleksiform ve spinaldir. İntrakutanöz nörofibromlar geç çocukluk veya erken ergenlik döneminde gelişir ve malign transformasyona uğramaz. Pleksiform nörofibromlar tipik olarak doğumda mevcut olup, ergenlik ve erken erişkinlik döneminde büyümeye devam eder. Pleksiform nörofibromlar NF1 hastalarının yaklaşık % 30-50'sinde gelişir. Deri nörofibromlarından farklı olarak birçok sinir fasikülünden köken alır ve sinir boyunca büyüyebilir. Daha da önemlisi, pleksiform nörofibromlar malign transformasyon riski taşır(38).

### **B. Aile Öyküsü:**

Yapılan bir çalışmada MPSKT tanısı konulmuş hastalarının %19,4'ünde en az 1 kan bağı olan akrabasında MPSKT tanısı mevcutken, bu oranın ailesinde MPSKT tanısı olmayanlarda %7,5 olması anlamlı bir fark olarak değerlendirilmiştir (P=0,022). Ayrıca aile öyküsü olanlarda MPSKT'nün 10 yaşından önce görülmesi daha olası olarak bulunmuştur(P=0,029)(39).

#### 2.1.4 Etyopatogenez ve Moleküler Değişimler

Birçok NF1 hastalarında MPSKT gelişiminin olmaması veya gecikmesi ek gen mutasyonlarının gerekli olduğu düşünülmektedir(Tablo 1)(40). Nörofibromlar ve MPSKT'lerinde TP53/p53, CDKN2A/p16, CDKN1B/p27, TGFB1/TGF- $\beta$ 1,HGF/HGF $\alpha$  ve onun reseptörü MET gibi gen / protein ekspresyonları arasında birçok farklı gen mutasyonları tarif edilmiştir(41).

**Tablo 1.**

Malın periferik sinir kılıfı tümöründe moleküler yollarda düzensizlik(11).

Moleküler yolak	Normal görevi	MPSKT'ündeki değişiklik
NF1	Tümör supresör	Aşağı regülasyon
PTEN	Tümör supresör PI3K / AKT / mTOR sinyal kaskadı negatif regülatörü	Aşağı regülasyon
IGF1R	PI3K / AKT / mTOR sinyal kaskadı pozitif regülatörü	Yukarı regülasyon
EGFR	PI3K / AKT / mTOR sinyal kaskadı pozitif regülatörü	Yukarı regülasyon
MAPK	RAF / MEK / ERK sinyal kaskadı fosforilasyonu	Yukarı regülasyon

#### I. Platelet-Derived Growth Factor Receptor-A (PDGFRA)

Gelecek vaat eden bir aday, reseptörü tirozin kinazı olan (RTK), trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü- $\alpha$  (PDGFRA)'dır. PDGFRA geni aşırı ekspresyonu ve kromozomal amplifikasyonu MPSKT'lerinde bildirilmiştir ve bu gen iyi huylu pleksiform nörofibromlar ve MPSKT'leri analizinde en fazla ekspresyona uğradığı görülmüş, iyi huylu - kötü huylu tümör geçişinde RTK upregüle olabileceği düşünülmüştür. Dahası, MPSKT hastalarında PDGFRA sıklıkla fosforile ve aktiftir. Hem PDGFRA, hem de ligandı PDGF-A insan MPSKT hücrelerinde birlikte aşırı ekspresyonu görülmüş, insan MPSKT'lerinde PDGF-A ligandının bir otokrin tarzında hareket ederek büyüme desteklediği öne sürülmüştür. Parakrin stimülasyonu da MPSKT büyümesini desteklemektedir, çünkü nf1 - / - fare Schwann hücreleri nf1 + / + farelerine göre PDGF-B gibi büyüme faktörü ligandlarını eksprese

eder. Sonuç olarak, hem otokrin, hem de parakrin PDGF reseptörünün aktivasyonu insan MPSKT oluşumunu hızlandırdığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda PDGFRA'yı hedef alan RTK inhibitörlerinin büyümeyi ve MPSKT hücre hatlarında invazyon oranını azalttığı kanıtlanmıştır (40).

## II. TP53

Birçok insan tümöründe TP53 ağının işlevsiz olduğu öne sürülmüştür. Malign periferik sinir kılıf tümöründe TP53 nokta mutasyonu ilk defa 1989 yılında nörofibromatozis tip 1 hastasında bildirilmiştir. Bir on yıl sonra, iki bağımsız laboratuvar, TP53 ve NF1 geninin her birinin bir allelinin eşzamanlı tahrip edilmesi fare modellerinde malign periferik sinir kılıfı tümörlerine benzer tümörlerin oluştuğunu göstermiştir. Bu tümörler mutasyonun aynı kromozom üzerinde (cis cinsinden) olduğunda ve diğer 17.kromozomun kaybı sonucunda ortaya çıkan heterozigotluk kaybında ve her iki gen ürününün tamamen işlev bozukluğu sonucunda ortaya çıkmıştır.

## III. CDKN2

CDKN2 geni, siklin bağımlı kinaz inhibitörü nörofibromlarda etkilenmeyen ama MPSKT'lerinin % 50'den fazlasında inaktif halde bulunmuştur. Bu gen iki protein ürünü p16 ve p19'u üretir. p16 hücre siklusunu Rb(Retinoblastoma) yolağı üzerinden negatif yönde düzenlerken, p19 p53 yolağı üzerinden siklusu negatif yönde düzenler. Çalışmalar sporadik ve NF1 ile ilişkili MPSKT'lerde p16'ın eksikliğini göstermiştir. Ayrıca MPSKT'lerin yaklaşık % 25'inde Rb(retinoblastoma) kaybı da görülür(42,43).

### 2.1.5 Tanı ve Klinik

MPNST tipik olarak yetişkin yaşamın bir hastalığıdır, çünkü çoğu tümörler ortalama 35 yaş olmak üzere 20-50 yaş arası ortaya çıkar(44-49). NF1'li hastalar sporadik lezyonlu hastalara göre genellikle daha erken yaşta ve daha büyük tümör ile tanı almaktadır. Diğer sarkomlarda olduğu gibi, genellikle tanıdan birkaç ay önce lezyonların büyümesi görülmektedir. Ana sinirlerde ortaya çıkan MPSKT'lerinde genellikle aşırı derecede ağrı, parestezi ve zayıflık gibi hem duysal, hem motor semptomlar görülebilmektedir. Ağrı değişkendir ancak bu NF1 ilişkili hastalarda daha sık görülür. Aslında, ağrı ya da önceden var olan bir lezyonda ani büyümede

malign transformasyon olasılığını dışlamak amaçlı hemen biyopsi yapılmalıdır. Görüntülemesinde spesifik bulgu olmadığından, her zaman korelasyon için patolojik doğrulama gereklidir(50).

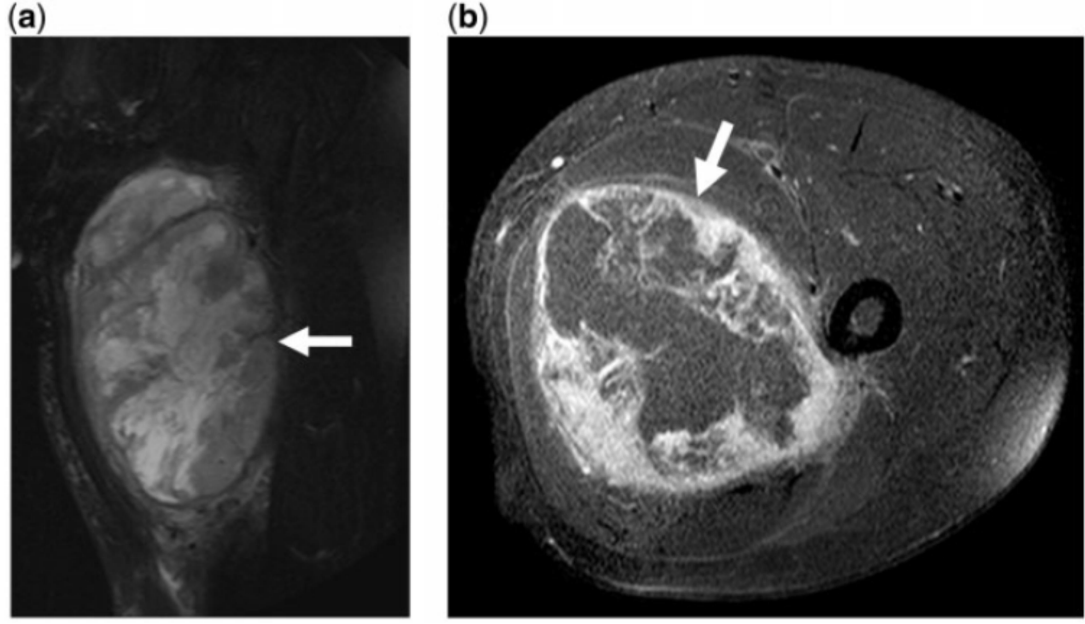
Düz radyografi, yumuşak doku kitlesinin komşu kemiklerde yaptığı değişiklikleri ve uzak metastazları (akciğer ve plevral boşluk) gösterebilir, kalsifikasyon sık rastlanan bir durum değildir(51). Ancak radyografinin duyarlılığı çok düşük bulunmuştur(52). Ultrasonografi homojen olmayan bir hipoeoik kitlede nekroz, kanama veya kalsifikasyon odaklarını gösterebilir. Her ne kadar ultrasonografi yumuşak doku tümörlerini göstermede oldukça hassas olsa da maligniteyi saptama kabiliyeti düşüktür. Renkli, güç ve spektral Doppler tekniği maligniteyi düşündüren kitlede damar tıkanıklıkları, darlık, şant, trifurkasyon ve lup gibi vasküler değişiklikleri kolayca gösterebilir(53).

Bilgisayarlı tomografinin (BT) yumuşak doku kitlelerinin teşhisinde çok az bir katkısı vardır. BT'de görünen nekroz, kanamaya ikincil yüksek atenüasyon ve heterojen görünüm malign tümörlerde sık görülen bulgudur(52,54).

Manyetik rezonans görüntüleme (MR) benign ve malign periferik sinir kılıfı tümörleri ayırımında, özellikle NF1 hastalarında, BT'ye göre üstündür. T1 ağırlıklı sekanslarda MPSKT'leri genellikle kaslara göre daha izointens ve T2 ağırlıklı sekanslarda ise tipik fasiküler görünüm ile birlikte daha hiperintensdir(52). Ayrıca MR'da malignite düşündüren özellikler arasında hızlı boyut artışı, T1 ağırlıklı görüntülerde heterojenite ve periferik kalınlaşma ile beraber intratumoral kanama veya nekroz varlığı olabilir(Şekil 2) (55–57). Li ve ark. yaptığı çalışmada MR'da görülen büyük boyut ve infiltratif özellikler maligniteyi gösterdiği, oysa ayrılmış yağ işareti (kitlenin etrafındaki sağlam yağ düzlemleri) benign tümörlerin göstergesi olduğunu söylemiş olsa da(58), buna karşın Wasa ve ark. tarafından MPSKT'lerin genellikle iyi sınırlanmış kenarlara sahip olduğu ifade edilmiştir(57).

MPSKT'lerinin karakteristik bir kriteri olan tümör boyutu, iyi huylu periferik sinir kılıfı tümörlerine(PSKT) göre çok daha büyüktür. Demehri ve ark. MPSKT için tümör boyutunu  $68 \pm 18$  mm, iyi huylu PSKT için tümör boyutunu ise  $39 \pm 23$  mm olarak ölçmüşler. Diğer araştırma gruplarında da benzer sonuçlar alınmış ve olası eşik değeri 5 cm olarak kabul edilmiştir(57,59–61).





**Şekil 2.** 35 yaşında erkek hasta sol uyluğunda şişlik şikayeti ile başvurmuş. (a) Koronal T2 ağırlıklı MR görüntüsünde ağırlıklı olarak hiperintens kitle (ok), merkezi önemli derecede hiperintens olarak izlenen nekroz alanı. (b) Aksiyel kontrastlı, T1 ağırlıklı görüntüde periferik sınırlarda tutulum (ok) ile birlikte geniş bir merkezi nekroz alanı.

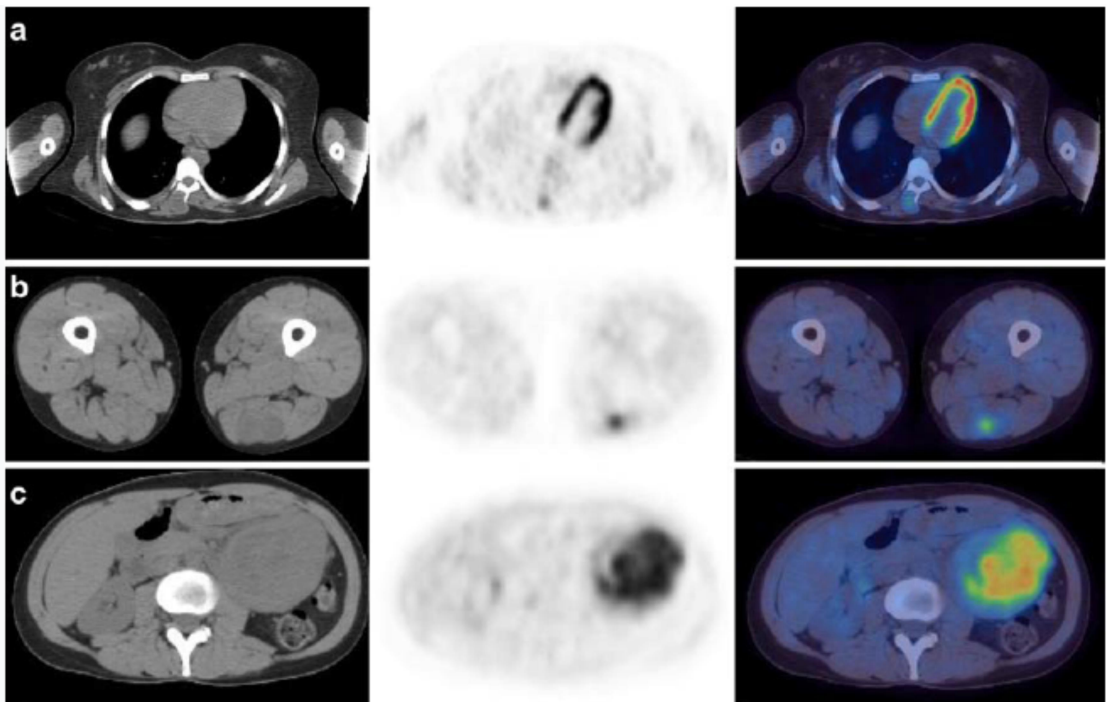
Kamran SC, Shinagare AB, Howard SA, Hornick JL, Ramaiya NH. A-Z of malignant peripheral nerve sheath tumors yayınından alınmıştır(50).

Halihazırda, <sup>18</sup>F-florodeoksiglukoz (<sup>18</sup>F-FDG) pozitron emisyon tomografisi / bilgisayarlı tomografi (PET / BT), MPSKT'lerin saptanması için iyi bilinen hassas görüntüleme yöntemi olarak kabul edilmektedir. Dahası, <sup>18</sup>F-FDG PET / BT ameliyat öncesi tümör evresinin belirlenmesi, biyopsi işlemlerinin tümör içindeki en yüksek tanısal verim bölgesinden alınabilmesi ve endişe verici görüntüleme özelliklerine sahip hastalarda radikal cerrahi açısından bilgi verebilir. Maksimum standartlaştırılmış alım değeri (SUVmax), NF1 hastalarında benign pleksiform nörofibromlar(PN) ile MPSKT'lerini ayırt etmek için kullanılan en çok kabul edilen PET / BT parametresidir. Malign tümörlerde SUVmax değer aralığı geniş olmasına rağmen (SUVmax 1.8-7.0), en yaygın kullanılan katof değeri SUVmax 3.5'dur(62). Warbey ve ark. SUVmax 3.5 katof değerinin NF1 ile ilişkili MPSKT teşhisinde FDG PET/BT duyarlılığın 0.97 ve özgüllüğün 0.87 olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 3)(63).

Çocuklar ve / veya NF1 gibi tümör supresör gen bozuklukları olan hassas popülasyonlarda art arda PET / BT taramaları yapmak toplam vücutta yüksek radyasyon maruziyetine sebep olacağından, ileride radyasyona bağlı maligniteler, en

sık MPSKT'leri ve az sayıda bildirilmiş yüksek dereceli beyin gliomaları, görülme riskini artıracaktır(6,64,65).

Tüm vücut PET ve MR kombine sistemi (PET / MR) MR'ın yüksek çözünürlüğü ve fonksiyonel bilgisi ile PET'in metabolik aktivite bilgisini birleştirerek, NF1 hastalarındaki tümörleri doğru bir şekilde değerlendirmede, iyi huylu pleksiform nörofibrom ile MPSKT'leri arasında kesin ayırım yapmada başarı sağlamıştır. PET / BT ile karşılaştırıldığında, PET / MR daha düşük radyasyonla üstün anatomik kontrast çözünürlük sunar, çünkü MR görüntü elde etmek için iyonlaştırıcı radyasyon kullanmaz(62).



**Şekil 3. Aksiyel BT, PET ve PET / BT görüntüleri 4. saat. (a) Sağ erector spinae kasında (SUVmax 4.2) biyopsi ile kanıtlanmış bir atipik nörofibrom, fokal alanda artan [<sup>18</sup>F] FDG tutulumu. (b) Sol uyluk arka kas sisteminde (SUVmax 6.2) biyopsi ile kanıtlanmış düşük dereceli MPNST, fokal alanda artmış [<sup>18</sup>F] FDG tutulumu. (c) Sol yanda (SUVmax 10.0) biyopsi ile kanıtlanmış yüksek dereceli MPNST, heterojen bir şekilde artmış [<sup>18</sup>F] FDG alımını göstermektedir. Warbey VS, Ferner RE, Dunn JT, Calonje E, O'Doherty MJ. FDG PET/CT in the diagnosis of malignant peripheral nerve sheath tumours in neurofibromatosis type-1 yayınından alınmıştır (63).**

Hastaların cerrahi ve onkolojik tedavisine rehberlik etmesi açısından preoperatif doku tanısı almak önemlidir. Graham ve ark. görüntü kılavuzluğunda kor iğne biyopsisi (IGCNBx) yöntemi ile iyi huylu ve kötü huylu periferik sinir kılıfı tümörü ayırımını % 94 doğruluk oranı ile belirleyebildiklerini ve yapılmasını önermişlerdir(66).

### 2.1.6 Histopatoloji

Kaba muayenede MPSKT'leri beyazımsı, fuziform, yer yer dejenerasyon ve ikincil kanama alanları olan kitle şeklinde izlenir(Şekil 4). Tümörün epinörium ve perinörium boyunca yayılması nedeniyle sinirin proksimal ve distal kısmı kalınlaşmış olabilir. Schwann hücre kökenli olmasına rağmen vakaların % 50'sinde olgun Schwann hücre göstergesi olan S-100 bulunmayabilir(67). MPSKT'nün genel olarak bilinen epitelioid, glandüler ve kötü huylu triton (rabdomyosarkomatöz) varyantları mevcuttur(68).

Histolojik analizde MPSKT'lerinde kapsülsüz infiltrasyon, sarmal şeklinde işsi hücreler, irregüler ve düzensiz çekirdekler, kist oluşumu ve nükleer palisading izlenmektedir(69). Malignite için patolojik kriterler tümör hücreleri tarafından çevre dokuya invazyon, vasküler invazyon, belirgin nükleer pleomorfizm, nekroz ve mitozun varlığıdır(42).

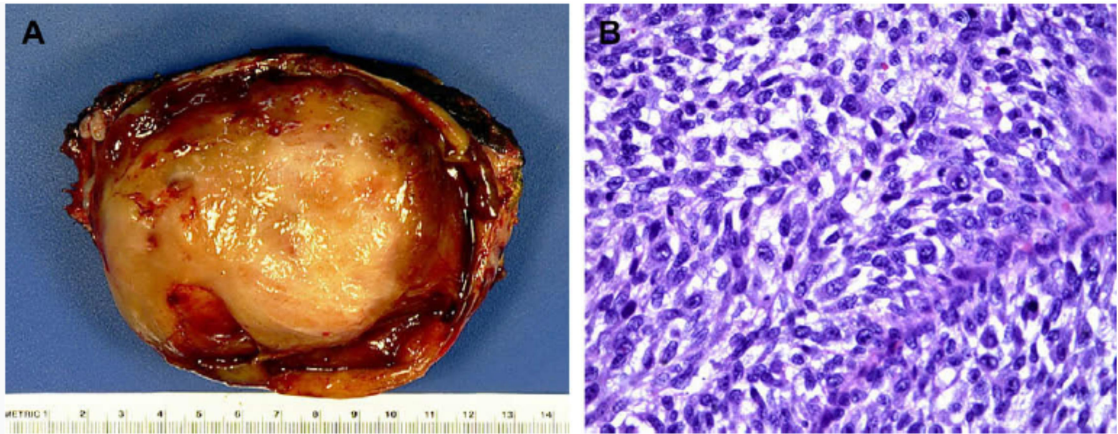
H&E boyama ile tümör evre I -den III-e kadar sınıflandırılır. Ayrıca yumuşak doku sarkomları selülerite, nükleer pleomorfizm, anaplazi, mitotik oran (10 büyük büyütme alanında mitotik sayı), mikrovasküler proliferasyon, nekroz derecesi ve invazyon gibi kriterlerle değerlendirilir(70,71). İyi huylu periferik sinir kılıfı tümörlerinde görülen güçlü diffüz boyamanın aksine MPSKT'lerinin tipik olarak zayıf fokal S-100 ve Leu-7 ile boyanması schwann hücre kaynaklı farklılaşmayı gösterir. MPSKT'lerini diğer tümörlerden ayırmada kullanılan ve genellikle negatif olan sitokeratin, desmin, HHF-35, EMA, GFAP ve HMB-45 gibi boyalar daha faydalıdır(Şekil 4). HHF-35 ve desmin triton MPSKT'lerinde, EMA glandüler ve perinöral MPSKT'lerinde ve sitokeratin boyanması ise glandüler ve epitelioid MPSKT'lerinde istisnai olarak görülebilir(68).

Epitelioid MPSKT'lerinde malign epitelioid hücrelerin hakimiyeti görülmektedir. Bu varyantta S-100 boyamaya güçlü diffüz immünoreaktivite mevcuttur. Diğer MPSKT'lerinin aksine, epitelioid MPSKT'leri NF1 ile ilişkili değildir. Glandüler MPNST'lerinde sıklıkla musin ilişkili sitokeratin-pozitif bezlerin oluşumu görülmektedir. Diğer tümörün aksine, glandüler elementler histolojik olarak iyi huylu görünür ve EMA ile boyanabilir. Kötü huylu triton tümörleri (rabdomyosarkomatöz MPSKT'ler) embriyonal rabdomyosarkomu andıran malign hücrelere sahip yüksek derecede kötü huylu MPSKT'leridir. Diğer MPSKT türlerinin aksine, malign triton tümörleri kaslara özgü antijenler ve desmin ile boyanabilir. Bu

tümörlerde ayrıca sık sık kondrosarkom, osteosarkom alanları veya glandüler farklılaşma görülür(68).

Büyük büyütme alanında 5'den az, 5-10 ve 10'dan fazla mitotik oranlar sırasıyla 0, 1 ve 2 puan olarak değerlendirilir. 10 büyük büyütme alanında 5 den fazla puan alan tümörler yüksek dereceli tümörler olarak kabul edilir, çünkü hiperselülarite ve nükleer atipisi olan tümörde tek bir mitotik figür görülmesi önemli olabilir(3).

Bu tümörlerin hücresel orijini ve histopatolojik özellikleri monofazik sinovyal sarkom, leiomyosarkom, ve fibrosarkom gibi diğer iğsi hücreli sarkomlar ile benzerliği sebebiyle tanı konulmaları zor olabilmektedir. MPSKT'lerini diğer iyi huylu veya habis iğsi hücreli neoplazilerden, çok sık görülen melanom gibi kutanöz lezyonlardan ayırmak çetrefilli olabilir(72). Başka ilginç klinik özellik bu tümörün multifokal oluşu ve aynı histolojiye sahip ikinci primer tümörlerin gelişmesidir(6). Özellikle küçük periferik sinir dalından gelişen vakalarda tümörün sinir kaynaklı olduğunu göstermek her zaman mümkün değildir. Nambisan ve ark. MPSKT vakalarının % 61'inde sinir kaynaklı oldukları gösterememiş, Bilge ve ark. ise vakaların yalnızca % 45 ila% 56'sında sinir kaynaklı olduklarını gösterebilmişlerdir(73,74). Buna rağmen damarın subendotelial zonlardaki proliferasyonu, damar lümenine neoplastik hücre herniasyonu ve büyük damar duvarında küçük damarların proliferasyonu gibi MPSKT'lerine özgün özellikler mevcuttur(75).



**Şekil 4. (A) Gros nümune. (B) NF1 tanılı sağ uylukta büyük 16 cm'lik tümörü olan hastanın hemotoksilin ve eozin boyması. İmmünohistokimyasal boyamada nadir görülen S-100 pozitifliği ve AE 1 / AE3, epitelyal membran antijeni (EMA), desmin ve MyoD1 negatifliği malign periferik sinir kılıfı tümörünün tanısını desteklemiştir. Gupta G, Mammis A MA. Malignant peripheral nerve sheath tumors yanınından alınmıştır (75).**

### 2.1.7 Evreleme

MPSKT için kullanılan en yaygın evreleme modeli American Joint Committee on Cancer (AJCC) yumuşak doku sarkomu evreleme sistemidir(76). AJCC Evreleme El Kitabı'nın 8. baskısında yumuşak doku sarkomları için anatomik bölgeye özgü evreleme (ekstremiteler ve gövde, retroperiton ve baş ve boyun bölgesi) sistemi getirilmiştir(Tablo 2,4,5,6). Baş ve boyun sarkomları diğer bölgedeki sarkomlarına kıyasla başvuru sırasında genellikle daha küçük olduğundan bölgeye özgü evreleme daha uygun görülmüştür(77).

AJCC yedinci baskıdaki primer yumuşak doku sarkomu derinliğinin (yüzeysel veya yüzeysel fasyadan derin) evrelemedeki önemi sekizinci baskıda evreleme faktörü olmaktan çıkmıştır. Ek olarak, lenf düğümü ve uzak organ metastazı tümör histolojisi veya boyutuna bakılmaksızın artık evre IV hastalık olarak kabul edilmektedir. Bu arada, Uluslararası Kanser Kontrolü Birliği (UICC) sekizinci baskısı TNM sınıflaması lenf nodu metastazını evre IIIB olarak sınıflandırmaktadır. Retroperiton yerleşimli yumuşak doku sarkomu ile ilgili evrelemede AJCC yedinci baskısındaki gibi evre IIIB olarak aynı kalmaktadır. Retroperitonyum sarkomu için diğer evre sınıflamaları gövde ve ekstremiteler sarkomu sınıflaması ile aynı kalmaktadır(Tablo 4)(78).

Yumuşak doku sarkomu histolojik derecenin değerlendirilmesi için Federation Nationale des Centers de Lutte Contre Cancer (FNCLCC) sistemi tavsiye edilir. Bu sistemde histolojik derece üç grup (derece 1, 2 ve 3) olarak sınıflandırılır. 1 düşük dereceye, 2 ve 3 ise yüksek dereceye karşılık gelmektedir(Tablo 3).

**Tablo 2.**

AJCC tarafından Gövde ve Ekstremiteler bölgesi Yumuşak Doku Sarkomları için tanımlanmış evreleme (8.baskı 2017)(79)					
EVRE	TÜMÖR	LENF NODU	METASTAZ	DERECE	EVRELEMENİN KISA ÖZETİ
<b>IA</b>	T1	N0	M0	G1,GX	<5cm,düşük dereceli tümör
<b>IB</b>	T2,T3,T4	N0	M0	G1,GX	>5cm,düşük dereceli tümör
<b>II</b>	T1	N0	M0	G2,G3	<5cm,yüksek dereceli tümör
<b>IIIA</b>	T2	N0	M0	G2,G3	5-10cm,yüksek dereceli tümör
<b>IIIB</b>	T3,T4	N0	M0	G2,G3	>10cm,yüksek dereceli tümör
<b>IVA</b>	Herhangi	N1	M0	Herhangi G	Lenf nodu tutulumlu tümör
<b>IVB</b>	Herhangi	Herhangi N	M1	Herhangi G	Uzak metastazlı tümör

- T1-** Tümör en geniş çapı  $\leq 5$  cm boyutunda  
**T2-** Tümör en geniş çapı  $> 5$  cm ve  $\leq 10$  cm boyutunda  
**T3-** Tümör en geniş çapı  $> 10$  cm ve  $\leq 15$  cm boyutunda  
**T4-** Tümör en geniş çapı  $> 15$  cm boyutunda  
**N0-** Bölgesel lenf düğümü metastazı yok veya bilinmeyen lenf düğümü durumu  
**N1-** Bölgesel lenf bezi metastazı  
**M0-** Uzak metastaz yok  
**M1-** Uzak metastaz var

**G(Derece):** Birkaç farklı derecelendirme sistemi geliştirilmiştir. Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) ve Fransa Kanser Merkezleri Federasyonu Sarkom Grubu (FNCLCC) şeması en başarılı değerlendirme sistemi olarak kabul edilmektedir. FNCLCC derecelendirme sistemi üç ana parametrenin değerlendirilmesine dayanır: 1. Tümör diferansiyasyonu; 2. Mitotik sayım; 3. Nekroz varlığı. Her parametre bir puan oluşturur ve toplam puan tümörün histolojik derecesini belirler(Tablo 3)(80).

**Tablo 3. FNCLCC derecelendirme sistemi(80)**

<b>Tümör Diferansiyasyonu</b>	
1 puan	Normal yetişkin mezenkimal dokusuna benzeyen sarkom
2 puan	Histolojik tipten kesin olduğu sarkom
3 puan	Miksoid varyantlarında ekspresyon zayıf olabilir
<b>Mitotik sayım</b>	
1 puan	0-9 mitoz/10 Büyük büyütme alanı
2 puan	10-19 mitoz/10 Büyük büyütme alanı
3 puan	$\geq 20$ mitoz/10 Büyük büyütme alanı
<b>Tümör nekrozu</b>	
0 puan	Nekroz yok
1 puan	$< 50\%$ nekroz varlığı
2 puan	$> 50\%$ nekroz varlığı
<b>Histolojik derece</b>	
<b>Derece 1</b>	Toplam puan: 2-3
<b>Derece 2</b>	Toplam puan: 4-5
<b>Derece 3</b>	Toplam puan: 6-8

**Tablo 4.**

AJCC tarafından Retroperitonyum bölgesi Yumuşak Doku Sarkomları için tanımlanmış evreleme (8.baskı 2017)(81)

EVRE	TÜMÖR	LENF NODU	METASTAZ	DERECE
IA	T1	N0	M0	G1,GX
IB	T2,T3,T4	N0	M0	G1,GX
II	T1	N0	M0	G2,G3
IIIA	T2	N0	M0	G2,G3
IIIB	T3,T4	N0	M0	G2,G3
	Herhangi	N1	M0	Herhangi G
IV	Herhangi	Herhangi N	M1	Herhangi G

**T1-** Tümörün en geniş çapı  $\leq 5$  cm boyutunda

**T2-** Tümörün en geniş çapı  $> 5$  cm ve  $\leq 10$  cm boyutunda

**T3-** Tümör en geniş çapı  $> 10$  cm ve  $\leq 15$  cm boyutunda

**T4-** Tümör en geniş çapı  $> 15$  cm boyutunda

**N0-** Bölgesel lenf düğümü metastazı yok veya bilinmeyen lenf düğümü durumu

**N1-** Bölgesel lenf bezi metastazı

**M0-** Uzak metastaz yok

**M1-** Uzak metastaz var

AJCC 8. baskısında baş ve boyun, karın ve torasik iç organlar için farklı T kriterleri belirlenmiş olsada bu bölgelerdeki yumuşak doku sarkomlarının prognostik evre grupları tanımlanmamıştır(Tablo 5,6)(78).

**Tablo 5.**

Baş boyun bölgesi primer tümör (T) tanımı(81)

T kategori	T kriteri
<b>TX</b>	Primer tümör değerlendirilemiyor
<b>T1</b>	Tümör $\leq 2$ cm
<b>T2</b>	Tümör $> 2$ ila $\leq 4$ cm
<b>T3</b>	Tümör $> 4$ cm
<b>T4</b>	Komşu yapılara invazyon gösteren tümör
<b>T4a</b>	Orbita invazyonu, kafa tabanı / dura invazyonu, merkezi kompartman vissera invazyonu, yüz iskelet tutulumu veya pterigoid kasları tutulumu olması
<b>T4b</b>	Beyin parankima invazyonu, karotis arterin etrafını sarma, prevertebral kas invazyonu veya perinöral yayılım ile merkezi sinir sistemi tutulumu

**Tablo 6.****Karın ve torasik viseral organlar primer tümör (T) tanımı(81)**

T kategori	T kriteri
TX	Primer tümör değerlendirilemiyor
T1	Organda sınırlı tümör
T2	Tümör organ dışına yayılmış
T2a	Seroza veya visseral peritona invazyon
T2b	Seroza ötesine (mezenter) yayılım
T3	Başka organa invazyon
T4	Multifokal tutulum
T4a	Multifokal (2 bölge)
T4b	Multifokal (2-5 bölge)
T4c	Multifokal (>5 bölge)

**2.1.8 Tedavi**

MPSKT'lerinde geniş cerrahi sınırlarla eksizyon, kemoterapi (KT) ve adjuvan radyoterapi (RT) gibi tedavi seçenekleri mevcuttur.

**2.1.8.1 Cerrahi Tedavi**

Tüm yumuşak doku tümörlerinde olduğu gibi MPSKT'lerinde de ana hedef negatif cerrahi sınırları elde etmektir(3,82). Cerrahi olarak çıkartılabilirliği büyük ölçüde tümörün yerleşim yerine göre değişmekte olup, paraspinal yerleşimli tümörlerin %20'si, ekstremitte yerleşimli tümörlerin % 95'i eksize edilebilmektedir (83). Ancak, tam eksizyon her zaman mümkün değildir. Yapılan bir çalışmada 40 yıl boyunca yapılan 34 MPSKT cerrahi tedavisinde tam eksizyonun sadece % 47 vakada sağlanabildiği görülmüştür(67).

Bu tümörlere birçok farklı, bazıları tartışmalı olan, cerrahi yaklaşım mevcuttur. Negatif cerrahi sınırlarla tümör eksizyonunda sinir ve önemli yumuşak doku sakrifiye edilmesi gerekeceğinden, birçok cerrah nihai cerrahi öncesi ince iğne biyopsi alarak tanının doğrulanması önermektedir. Diğer cerrahlar ise bu yöntemle tümörün malign kısmı biyopside alınamazsa yanlış tanı veya tümörün yayılımını hızlandıracağını düşünmektedir. Bu yaklaşımın başka bir modifikasyonu tümörün farklı kadranslarından açık biyopsi alınmasıdır. Bir başka grup ise ilk aşamada tümörün kabaca olarak kapsülüne hasar vermeden çıkarılması ve nihai tedavinin tanı sonrasına bırakılmasını şeklinde aşamalı eksizyonu önermektedir. Tanı sonrası nihai



cerrahide eksizyonun donmuş kesitlerle sınırların her yönde 2 cm olacak şekilde yapılması tedavi açısından yeterli olacağı söylenmektedir(75).

Ne yazık ki, brakial veya pelvik pleksus veya proksimal kolda gelişen nörojenik sarkomlar için sinir felci gelişmeden veya bazen ekstremitte amputasyonu yapmadan temiz sınırlarla geniş bir rezeksiyon yapmak mümkün değildir. Bu yüzden geniş lokal rezeksiyon nörojenik sarkomlar için uzuv distal kısımlarında daha iyi sonuç vermektedir. Daha proksimal lezyonlar için uzuv amputasyonu gerekebilmekte olup, çoğu hasta bu öneriyi reddetmektedir(75).

Malign brakial ve lumbosakral pleksus lezyon eksizyonu sonrası sinir rekonstrüksiyonu önerilmemektedir. Çünkü ameliyat sonrası ihtiyaç duyulan adjuvan radyasyon ve kemoterapi aksonların büyüme yeteneğini bozarak, yapılan işlemi faydasız kılacaktır. Ayrıca, MPSKT ameliyatı sonrasında hayatta kalma süresi etkili reinnervasyon gerçekleşmesi için yeterli kadar uzun değildir. Geniş tümörlerde veya yeterli eksizyon sonrası nükseden vakalarda amputasyon kararı vermek gereklidir(3).

#### **2.1.8.2 Radyoterapi**

Radyoterapi lokal kontrol sağlamada ve nüks etme süresini geciktirmede faydalı olmakla birlikte, uzun süreli sağkalım üzerinde çok az etkisi vardır. Adjuvant radyoterapi mümkün olan her durumda orta ile yüksek dereceli tümörlerde ve düşük dereceli tümörlerde marjinal eksizyon sonrasında mutlaka verilmelidir(3).

Işınlamanın zamanlaması (ameliyattan önce veya sonra), artıları ve eksileri Toronto Üniversitesi tarafından incelenmiştir. Ameliyat sonrası radyoterapide ameliyat alanının 5 cm sağlam sınırlarla ışınlanması önerilmektedir. Preoperatif radyoterapide ise tümörün 5 cm'lik bir sağlam sınır ile ışınlanmasını önerilmektedir. Genelde uygulanan doz 6000 ila 7000 cGy'dir. Tümör boyutu, yerleşimi ve yayılımı nedeniyle ameliyat sonrasında radyoterapi verilmesi zor olacaksa, ana sinir yolları üzerinden diseksiyon planlanacaksa (mikroskopik hastalığın kritik yapılarda bırakılması ihtimali) veya defekt alanın greft veya flep ile kapatılması öngörülüyorsa, ameliyat öncesinde radyoterapi verilmesi önerilmektedir(75).

#### **2.1.8.3 Kemoterapi**

Çoğu yumuşak doku sarkomu gibi, MPSKT'leri de geleneksel kemoterapiye duyarsızdır. Kemoterapi yetişkin yumuşak doku sarkomlarında genellikle metastatik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Sistemik yayımda, özellikle akciğer

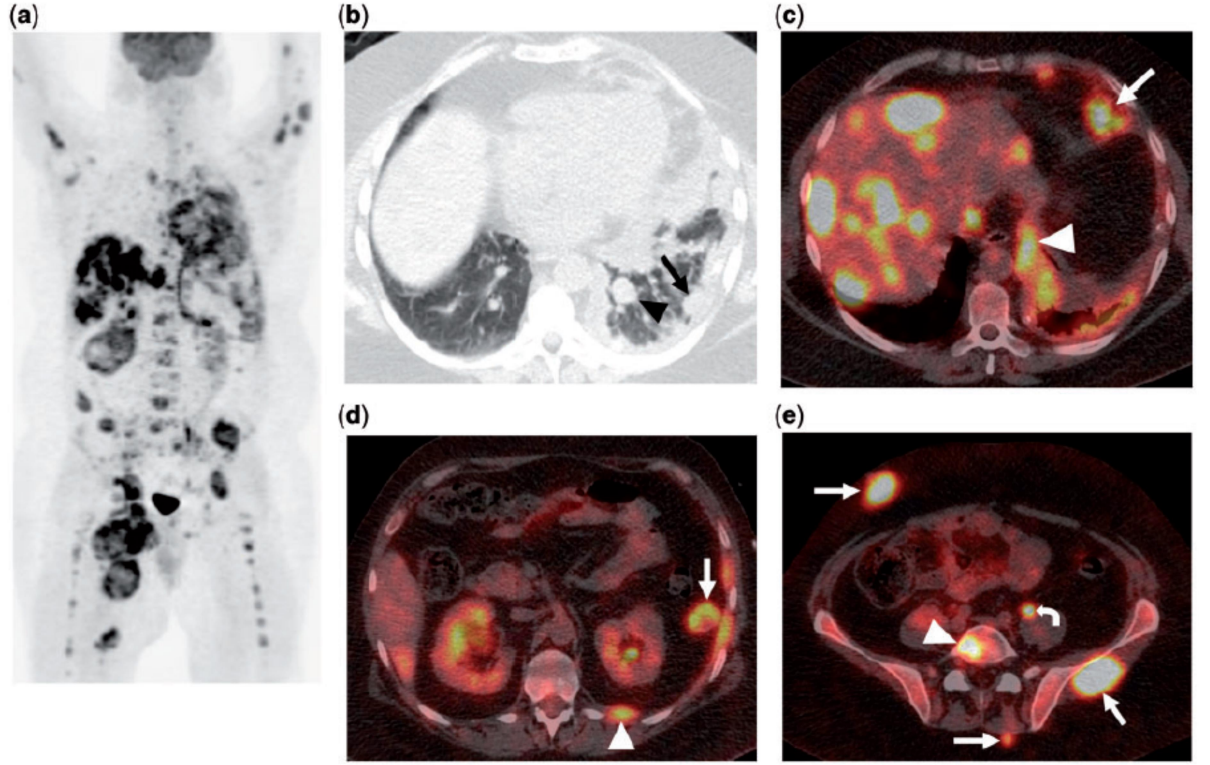
metastazı, terminal dönemde sınırlı etkinliğine rağmen kemoterapi endikasyonu mevcuttur(9).

Çok az ilacın hastalıkta etkili olduğu gösterilmiş ve tek ajan doksorubisin veya doksorubisin+ifosfamid kombinasyonu hastaların sadece % 20 ila % 25'inde faydalı olmuştur(10). Dakarbazin'in bu tümörlere karşı etkinliğe sahip olduğu görüldükten sonra doksorubisin ile birleştirilerek Cyclophosphamide, Vincristine, Adriamycin ve Dakarbazin (CYVADIC) rejimi kullanılmaya başlanmıştır(84).

### **2.1.9 Lokal Nüks ve Metastaz**

MPSKT'lerinde lokal nüks oranı % 22 ile %42 arasında değişmektedir; hastaların % 20 ila %30'unda metastaz izlenmektedir. Pozitif cerrahi sınır, tümörün gövde yerleşimli olması ve büyük tümör boyutu gibi faktörler lokal nüks olasılığını arttırmaktadır(25,85).

Metastatik yayılım en fazla akciğere olmaktadır. Ekstrapulmoner metastaz kemik, karaciğer, periton ve merkezi sinir sistemine olmaktadır(Şekil 5)(25,85). Lenf nodu metastazı çok nadir görülmektedir. PET/BT uzak metastazları göstermek için çok faydalıdır(86). Büyük tümör boyutu, yüksek tümör derecesi ve lokal nüks varlığı gibi faktörler uzak metastaz olasılığını belirlemektedir. Tümör boyutunun >5 cm olması, lokal nüks ve gövde yerleşimli tümörler hastalık üzerinde belirgin bir olumsuz etki ile sağ kalımı kötü etkilemektedir(25,85).



**Şekil 5.** (a) FDG-PET / BT görüntüsü akciğerleri, plevrayı, lenf bezlerini, karaciğeri, peritonu, kemikleri ve yumuşak dokuyu içeren yaygın metastatik hastalığı göstermektedir. (b) Aynı PET / BT görüntüsünde akciğer penceresinde, aksiyal BT kesitlerinde pulmoner nodül (ok başı) ve geniş plevral kalınlaşma (ok) görülmektedir. (c) Kaynaşık aksiyal PET / BT görüntüsünde çoklu FDG-tutulumlu karaciğer metastazları, epifrenik lenf nodu (ok) ve plevral nodülerite (ok başı) görülmektedir. (d) Kaynaşık aksiyal PET / BT görüntüsünde tekrar plevral nodül (ok ucu) ve peritoneal metastaz (ok) izlenmektedir. (e) Kaynaşık aksiyal PET / BT görüntüsünde yumuşak doku metastazları(oklar) ve kemik metastazını(ok başı) göstermektedir. Sol üreterde (kavisli ok) fizyolojik tutulum görülmektedir. Wasa J, Nishida Y, Tsukushi S, Shido Y, Sugiura H, Nakashima H, et al. MRI features in the differentiation of malignant peripheral nerve sheath tumors and neurofibromas yayınından alınmıştır (57).

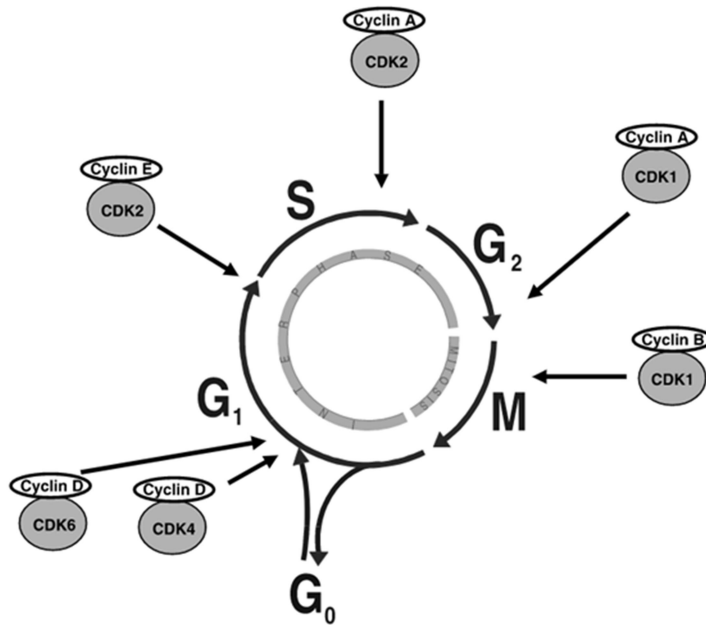
### 2.1.10 Prognoz

MPSKT'de prognoz özellikle tamamen rezeke edilemeyen tümörlerde kötüdür. Diğer yumuşak doku sarkomları ile karşılaştırıldığında MPSKT'leri en yüksek sarkom spesifik ölüm riskini taşımaktadır(87). Büyük tümörler (> 5 cm), gövde yerleşimli, pozitif cerrahi sınırlı, yüksek dereceli, S100β negatif boyalı, p53 pozitif tümörlerin tümü ve NF1 varlığı negatif prognostik faktörlerdir(85,88). Beş yıllık sağkalımın geniş serilerde %16 ile %52 arasında değiştiği bildirilmiş ve NF1 ilişkili olanlarda sağkalımın sporadik MPSKT'lerine göre daha kötü olduğu görülmüştür(6,89,90).

## 2.2 Hücre Siklusu

Hücre bölünmesi esas olarak DNA replikasyonu ve kopyalanmış kromozomların iki ayrı hücreye eşit şekilde dağıtılması ile karakterize iki ardışık süreçten oluşur. İlk başta hücre bölünmesi iki aşamada; hücre bölünmesinin olduğu mitoz(M) ve iki mitoz arasında interfaz evrelerinden oluşmaktadır. Mitozun evreleri profaz, metafaz, anafaz ve telofaz olmak üzere dörde ayrılmaktadır. Mikroskop altında izlendiğinde interfazda hücre basit olarak hacimsel büyümekte olup, ancak farklı tekniklerle interfazın G<sub>1</sub>-S-G<sub>2</sub> şeklinde evrelerinin olduğu görülmüştür. İnterfaz, hücrenin bölünmeye hazırlandığı ve büyüdüğü evredir. G<sub>1</sub> fazında DNA replikasyonu için hazırlık, RNA ve protein sentezi gerçekleşir. S fazında DNA replikasyonu tamamlanır ve hücrenin mitoz için hazırlandığı G<sub>2</sub> fazına geçilir. G<sub>1</sub> fazındaki hücre DNA replikasyonuna başlamadan önce istirahat fazı olan G<sub>0</sub>'da bekleyebilir. İnsan vücudundaki büyümeyen ve proliferasyon olmayan hücrelerin büyük kısmı G<sub>0</sub> fazında bekleyen hücrelerinden oluşmaktadır(91,92).

Hücre siklusunda bir fazdan diğerine geçiş düzenli bir şekilde olur ve geçiş süreci farklı proteinler tarafından düzenlenir. Anahtar düzenleyici protein sıklıne bağımlı kinazlardır(CDK). Hücre döngüsünün belirli noktalarında aktive edilen bir serin / treonin protein kinaz ailesi olan CDK hücre siklusunda G<sub>1</sub>-S geçişi, G<sub>2</sub>-M geçişi ve metafaz-anafaz geçişini kontrol etmektedir(Şekil 6)(92).

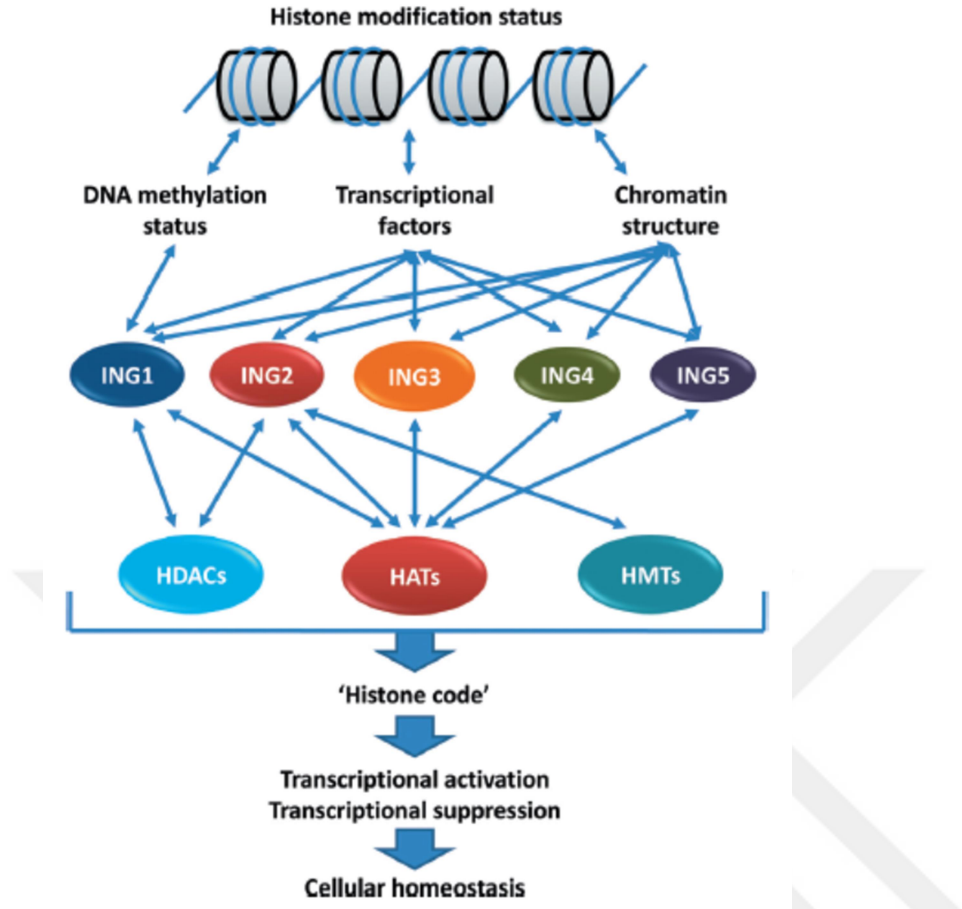


**Şekil 6. Hücre siklusunu aşamaları.** Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. The cell cycle: A review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer yayınından alınmıştır.(92).

Hücre homeostazisi hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptozis (programlı hücre ölümü) ile sürdürülmektedir. Hücre siklusu içindeki olayları düzenleyen ve kontrol eden etkileşimler çok sayıda ve komplekstir. Hücre siklusunun düzenlenmesindeki hatalar hücre bölünmesinin kontrolünün bozulmasına neden olur. Hücre siklusu kontrol noktalarında değişimler kanser gelişimine neden olabilir. Kanser gelişiminde tümör baskılayıcı fonksiyon, DNA onarımı ve apoptozis kritik yolaklardır(93).

### 2.3 ING (Inhibition of Growth) Gen Ailesi

Tümör baskılayıcı gen (TBG) tümör gelişimini engelleyen bir proteini kodlar. Bu genler hücre çoğalmasını negatif etkiler ve / veya genom stabilitesini düzenlemede katkı sağlar. Kayıpları malign transformasyona neden olmaktadır. İki sınıfa ayrılırlar. Tip 1 TBG'ler veya "bakıcılar" doğrudan bakım süreci ile DNA bütünlüğünü DNA tamir yolları ile sağlamaktadır (örneğin, BRCA1 / 2, MSH2, vb.); oysa, Tip II TBG'ler veya "Kapı bekçileri" hücre döngüsünü, yaşlanmayı, otofaji, apoptozu kontrol eder, anjiyogenez ve hücre invazyonunu baskılar (örneğin, p53, pRb, vb.)(94). Büyüme inhibitörü (ING) gen ailesi proteinleri tümör baskılayıcı olarak tanımlanmıştır(95). ING proteinlerinin histon asetil transferaz (HAT) ve histon deasetilaz (HDAC) enzim kompleksinin bir bileşeni olması ING gen ailesinin gen transkripsiyonu düzenlediğini düşündürmektedir(Şekil 7)(95). ING ailesinin tüm izoformları p53 aktivasyonu yapmaktadır. Aktivasyon hem direkt yolla, hem de indirekt olarak p53 yolağındaki MDM2, ARF, p300 ve p21 yolu üzerinden de olabilmektedir. Tümör baskılanması ING proteinleri ekspresyonu ile birçok farklı yolla sağlanmaktadır(96). Doku kültüründe gerçekleştirilen aşırı-ekspresyon çalışmalarında ING proteinlerinin bir kısmının p53 tümör baskılayıcı protein ve / veya nükleer faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B) protein kompleksi ile etkileşebildiğini göstermiştir. ING ile ilişkili proteinler, DNA onarımından hücre büyümesi ve sağ kalımına kadar, enflamasyon ve tümör baskılanması gibi birçok görevde yer aldığı, ayrıca gen transkripsiyonunu modifiye etme, p53 ve NF- $\kappa$ B aktivitesini değiştirme yeteneklerinin olduğu gösterilmiştir(97).



Şekil 7. ING ailesi protein inhibitörünün aracılık ettiği bir sinyal yollarının modeli. Unoki M, Kumamoto K, Takenoshita S, Harris CC. Reviewing the current classification of inhibitor of growth family proteins yayınından alınmıştır(95).

Kanser, çoklu mutasyon biriktirmiş ve sonuçta kötü huylu özellikler kazanan hücrelerin başlattığı karmaşık bir genetik hastalıktır. Nadir istisnalar dışında, kanserler tek somatik hücre silsilesinden gelişir. Neoplastik hücreler çoğalırken genetik veya epigenetik değişimler sonucu selektif avantajlar sağlayan değişmiş fenotipte hücreler birikir. Tümör supresör genler kanserlerde değişmiş anahtar gen sınıfıdır. Tümör baskılayıcı proteinlerin hücre siklusunu durdurma, hücre yaşlanması, DNA onarımı, sinyal iletimi ve apoptoz gibi hücresel işlemleri düzenlediği bilinmektedir. Dış büyüme sinyallerini hücre içine ileten proteinler, nükleus ve sitoplazmadaki diğer enzimlerin işlevlerini düzenleyen kinazlar, hücre büyümesi, bölünmesi ve hayatta kalması ile ilgili düzenleyici proteinler gibi birçok farklı tümör supresör protein bulunmaktadır(97).

### 2.3.1 ING Gen Ailesi Üyeleri, Yapısal Özellikleri ve Fonksiyonları

Tüm ING gen üyeleri fetal ve yetişkin organlarda farklı ekspresyon seviyelerinde mevcuttur(97). Garkavtser ve ark. 1996 yılında yaptıkları bir çalışmada yedi meme kanserli olgu ile normal memeli epiteli arasındaki farkı araştırırken ING genlerinin ilk üyesini tespit ederek genetik supresör element olarak isimlendirmişler.(98). Bu genetik supresör elementlerin hücre döngüsünü düzenleyerek hücrenin büyümesini kontrol ettiği ortaya konulmuş daha sonraki çalışmalarda aynı aileden %32 ile %76 oranında benzerlik gösteren 4 yeni üye (ING2, ING3, ING4, ING5) daha bulunmuştur(91,97).

Tüm ING genleri bağımsız kromozomlar üzerinde haritalanmış ve ilginç bir şekilde tüm ING genleri ING3 hariç ilgili kromozomlarının subtelomerik bölgesinde yerleştiği bulunmuştur. ING1'in 5, ING2'nin 2, ING3'nin 13, ING4 ve ING5'in 8 ekzonu vardır. Bunların kendi aralarında farklı dizilimleri ile izoformlar ortaya çıkarır(Şekil 8)(13).

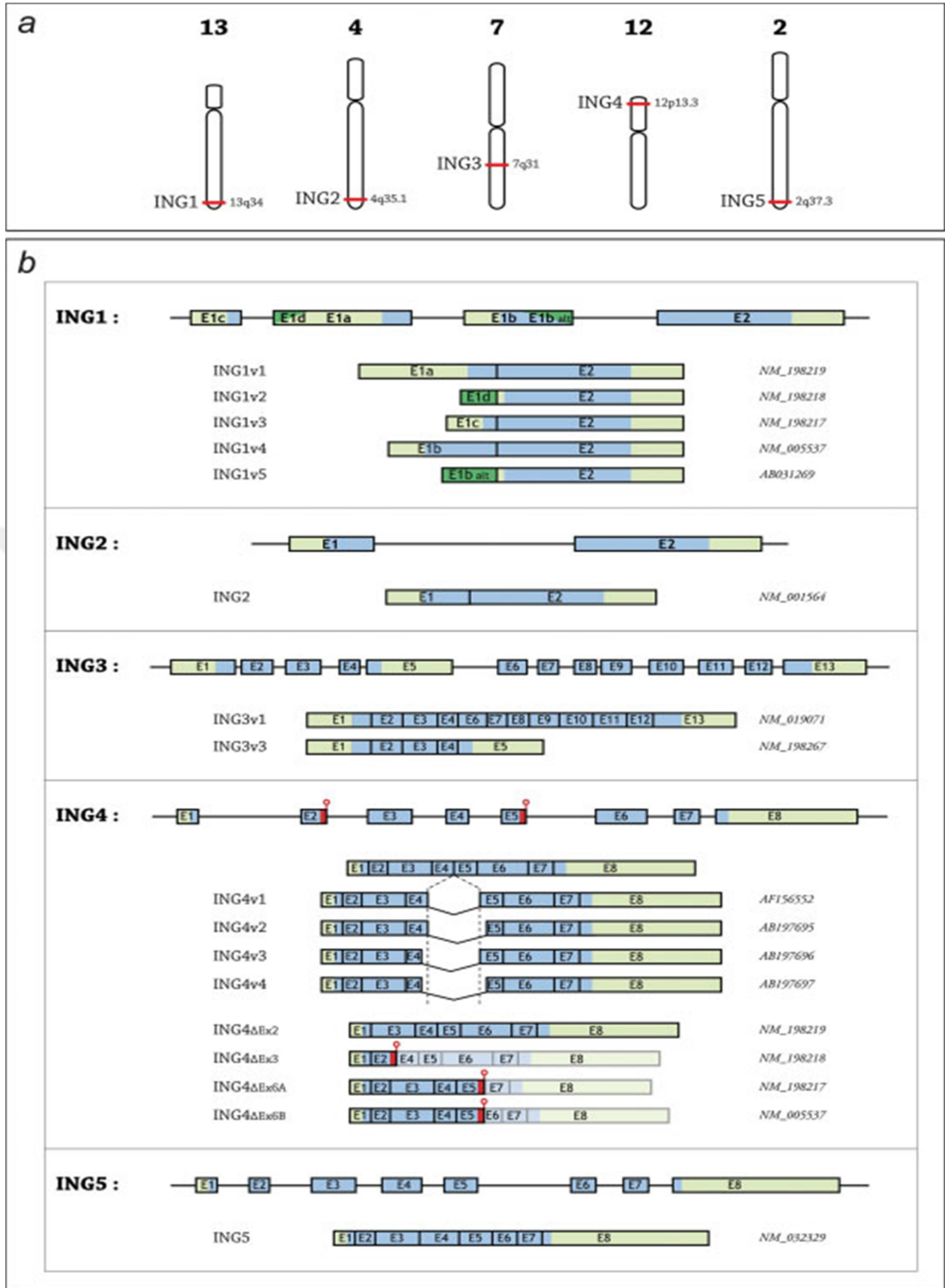
ING1 geni 13. kromozom 13q33-34 lokusunda yerleşir ve 4 proteini kodlar.

ING2 geni 4. kromozom 4q35.1 lokusunda yerleşir ve tek bir proteini kodlar.

ING3 geni 7. kromozom 7q31 lokusunda yerleşir ve 2 farklı protein kodlar.

ING4 geni 12. kromozom 12p13.3 lokusunda yerleşir ve 8 farklı protein kodlayabilir.

En son bulunan ING5 ise 2. kromozom 2q73.3 lokusunda yerleşir ve sadece tek 1 proteini kodlar(Şekil 8)(13).



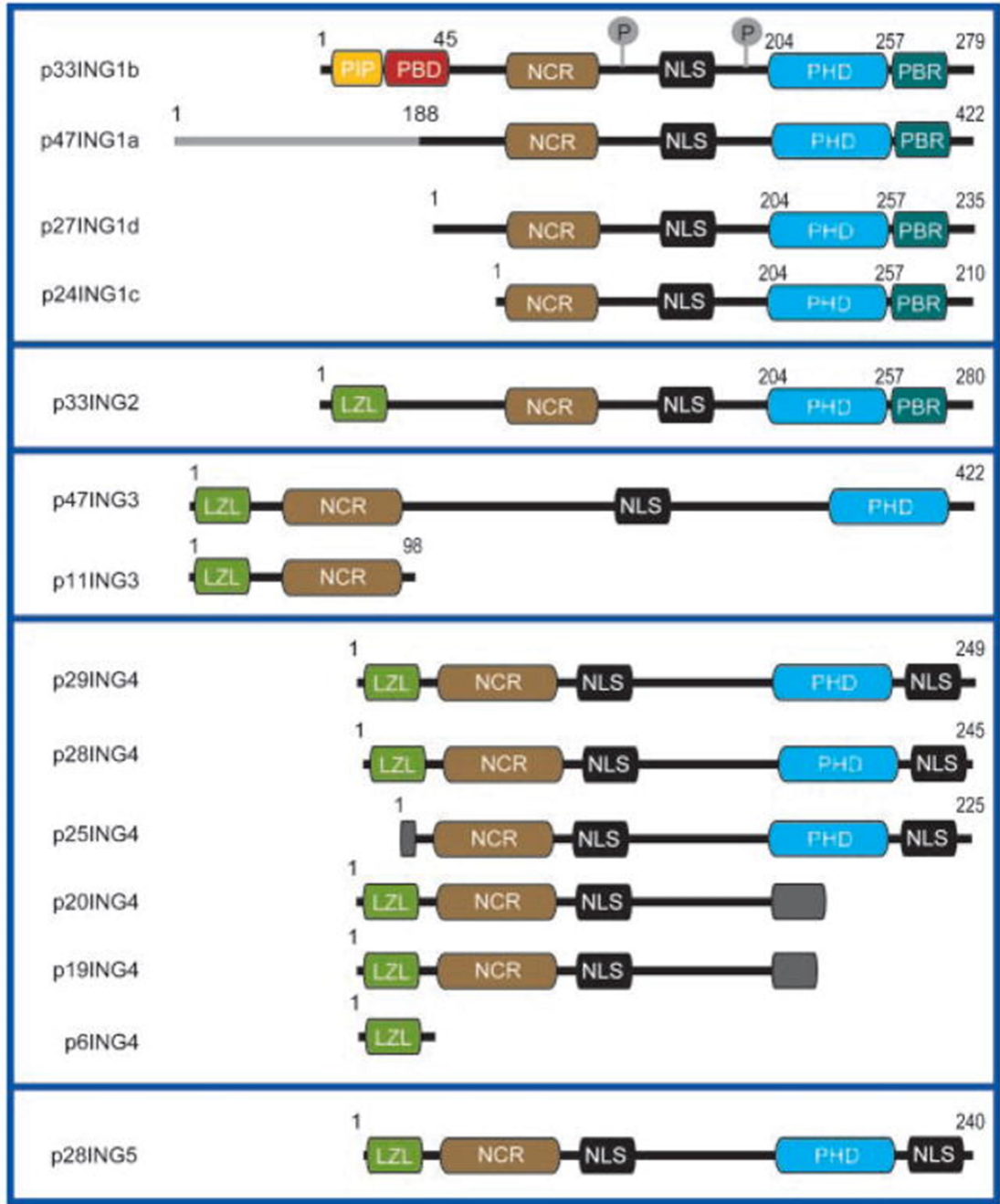
Şekil 8. ING genleri lokalizasyonu, yapısı ve transkriptleri. (a) Kromozomal lokalizasyon. Her ING geni farklı bir kromozom üzerinde ve ING3 hariç olmak üzere subtelerik bölgede yerleşir. (b) ING ailesinin genomik organizasyonu ve varyantları. Her ING geni genomik DNA'sı ve aşağısında mRNA transkriptleri gösterilmiştir. Resimde (E) ekzonlar kutucuklarda gösteriliyor. Mavi bölgeler gen kodlayan, sarılar kodlamayanları, kırmızılar stop kodonunu belirtmektedir. ING1v2 ve ING1v5 aynı proteini kodlar. Ythier D, Larrieu D, Brambilla C, Brambilla E, Pedoux R. The new tumor suppressor genes ING: Genomic structure and status in cancer yayınından alınmıştır (13).



ING proteinlerin C-terminal ucunda Plant Homedomain (PHD), Nuclear Localization Signal (NLS) ve net fonksiyonu bilinmeyen Novel Conserved Region (NCR) yerleşmektedir. PHD bölgesi tipik olarak iki Zn<sup>2+</sup> + iyonunu bağlayan yaklaşık olarak 60 amino asit içerir. İnsan veya farede toplam kaç adet PHD proteininin bulunduğu bilinmemesine rağmen, şimdiye kadar insanlarda yaklaşık olarak 150 farklı PHD alan taşıyan protein tespit edilmiştir(99). PHD parmakları kromatin düzenlemede rol alan nükleer proteinlerde bulunma eğiliminde olmasından dolayı PHD alanlarının kromatin yeniden biçimlenmesinde yer aldığı düşünülmüştür(100).

ING4 ve ING5 proteinlerinde ilave bir tane olmak tüm ING proteinleri NLS içerir. Son zamanlarda, ING1 de NLS'nin rolünü anlaşılması için birçok çalışma yapılmış olup NLS kaybı proteinin sitoplazmik birikimine neden olmuştur(101,102). ING proteinlerinin nükleer lokalizasyonu işlevleri için kritik öneme sahip olup bazı kanserlerde ING1'in nükleer boyanmasında eksiklik izlenmiştir. Ayrıca ING4'de NLS'sin silinmesi ortak birleşme deneylerinde proteinin artık p53'e bağlanamadığı gözlemlenmiştir(103,104).

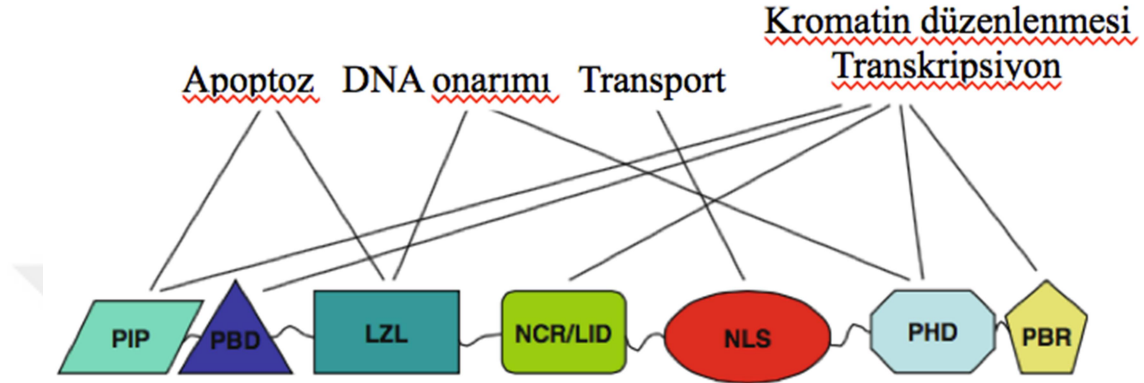
ING proteinlerinin N-terminalleri daha değişkendir ve bildirilen proteinin-protein bağlanmasına aracılık etme, farklı nükleer komponentlere ve kromatin yeniden şekillendirme komplekslerini hedef alan proteinlerin bağlanma alanı olarak fonksiyonu mevcuttur(105). Bu terminalde bir LZL alanı ve bir NCR mevcuttur(Şekil 9). LZL, proteinin N-ucunda birbirinden yedi amino asit ile ayrılan dört ila beş korunmuş lösin ve izolösin kalıntısından oluşarak bu uçta hidrofobik yüzey oluşturmaktadır(97). Wang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ING2'nin LZL motifinin nükleotid eksizyon onarımı ve apoptozis indüksiyonu için gerekli olduğunu gösterilmiştir(17).



**Şekil 9. ING protein yapısı.** Her ING proteini üç korunan alandan oluşmaktadır : PHD, NCR ve NLS. NLS p53'e bağlanma noktası olarak bilinmektedir. Leucine Zipper-Like (LZL) alan ING 2-5'te bulunmaktadır. Bu alan hakkında çok az şey bilinmektedir, ancak ING2'nin DNA onarımı ve apoptozda işlev görme yeteneğini etkilediği bildirilmiştir. ING1 ek olarak Partial Bromodomain (PBD) ve PNCA- Interacting Protein motif (PIP) alanlarına sahiptir. PBD alanının mSin3-HDAC kompleksinin SAP30 alt birimine bağlandığı görülmektedir. ING1 ve ING2'nin her ikisi de fosfoinositid bağlanmasına dahil olduğu düşünülen bir Poly Basic Region (PBR)'a sahiptir. Coles AH, Jones SN. The ING gene family in the regulation of cell growth and tumorigenesis yayınından alınmıştır(97).

PIP kutusu PCNA'ya bağlanarak ING1 aracılı apoptozisi başlatır. PBD ve NCR / LID SAP30, HDAC ve HAT'a bağlanarak onların aktivitesini düzenler. NLS karyopherin-a ve  $\beta$  transporter proteinlerine bağlanarak ING proteinlerini

çekirdekdeki fonksiyonel bölgelerine taşınmasını sağlamaktadır. Ayrıca, p53 ile etkileşime aracılık etmektedir. PHD motifi belirli lokuslarda transkripsiyonu düzenleyen HAT ve / veya HDAC aktivitesini regüle etmektedir. Hem PHD hem de PBR, PtdInsPs'e bağlanır; PBR ayrıca kromatin yeniden düzenleme ve transkripsiyonunda rol almaktadır(Şekil 10)(106).



**Şekil 10. ING ailesi protein alanları ve fonksiyonları.** Ythier D, Larrieu D, Brambilla C, Brambilla E, Pedoux R. The new tumor suppressor genes ING: genomic structure and status in cancer yayınından alınmıştır(13).

Yapılan çalışmalar ING proteinlerinin hücre döngüsü kontrol noktalarında yer alarak hücre döngüsünün ilerlemesini etkileyebildikleri gösterilmiştir(105). Bu çalışmaların çoğunda ING1 proteini kullanılmış ama ING2-5'i kullanılan daha az çalışmada da ING proteinlerin benzer şekilde fonksiyon gösterdiği görülmüştür. ING protein düzeyi baskılanmış durumlarda hücre yayılımının ve göçünün arttığı ve temas inhibisyonunun azaldığı görülmüştür(98). ING proteinlerinin p53 fonksiyonu için de gerekli olduğunu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(107). Ayrıca p53'ten bağımsız olarak NF- $\kappa$ B'nin düzenlenmesi ve hypoxia inducible factor (HIF) yolağı üzerinden ING proteinlerinin fonksiyon gösterdiği son çalışmalarda bulunmuştur(108). Bir başka çalışmada ING proteinlerinin kromatin yeniden yapılanma komplekslerinde alt birim olarak fonksiyonlarının olduğu bulunmuştur(109).

### 2.3.1.1 ING1 ve Fonksiyonları

#### ING1 ve Büyüme Regülasyonu:

İnsan diploid fibroblastlarında ING1'in aşırı ekspresyonu, G0 / G1 fazında bulunan hücrelerin sayısında % 50 artışla sonuçlanmış, bu durumun ING1'in G1 – S geçişinde rolü olabileceği düşünülmüştür. Tam tersi durumda, antisens ING1

hücrelerde bu duraksamayı iptal ederek hücrelerin S fazına girmesini sağlamaktadır(98). ING1'in hem G1 / S, hem de G2 / M hücre döngüsü kontrolünde rolü vardır. ING1'in siklin B1 ekspresyonunu negatif etkilemesi G2 / M hücre döngüsü kontrol noktasındaki olası rolünü kanıtlamaktadır. Ek olarak, ING1 ekspresyonunu ile siklin E ekspresyonu arasında ters ilişki olduğu bulunmuştur(110).

Ayrıca hücre döngüsünde ING1 ekspresyonu G0-G1 geçişinde azaldığı, geç G1'de artarak S fazında maksimuma ulaştığı, ardından G2'deki yeniden düzeyinin azaldığı düşünülmektedir(111). Ek olarak, p33ING1b'nin ektopik ekspresyonu topoizomeraz II inhibitörü olan doksorubisinin etkisini artırarak hücre döngüsünü durdurarak çift sarmal DNA'ın parçalanmasını sağlamaktadır. Doksorubisinin hücre sayısı iki katına çıkma zamanını azalttığı ve G2 / M'deki hücre sayısını artırdığı bulunmuştur. p33ING1b aşırı ekspresyonu nedeniyle hücre döngüsü durmasını sağlayan etki DNA ya hasar veren ajana spesifik olduğu, sisplatin veya UV ışınması ile hücre döngüsünde duraksamanın olmadığı izlenmiştir(112).

### **ING1 ve Apoptozis:**

Helbing ve ark. ilk defa P19 teratokarsinom hücrelerinde serum yoksunluğu ile uyarılan apoptoz öncesinde ING1b protein ekspresyonun arttığını gözlemlemiştir. Dikkat çekici bir şekilde ING1'e karşı bir antisens ekspresyonu bu hücrelerde apoptoza karşı koruma sağlamıştır(113). Bir başka çalışmada UV ışınma sonrası ING1b PCNA ile PIP (PCNA interacting protein) alanı ile etkileşime girerek hücrede apoptoz başlattığı, PIP alanı mutasyonlu ING1b'nin hücreleri UV kaynaklı apoptozdan koruduğu gösterilmiştir. ING1b'nin UVB ışınması sonrası melanom hücrelerinde ölüm oranını artırdığı izlenmiştir(114). Ayrıca ING1b'nin endojen Bax ekspresyonunu artırdığı ve mitokondriyal zar potansiyelini değiştirerek bu süreçle mitokondriyal hücre ölümü başlattığı bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise melanom hücrelerinde UV ışınması ile ING3 tarafından mitokondriyal yol kullanılmadan Fas ve kaspaz-8 aktivasyonu ile apoptozun başlatıldığı görülmüştür(115). Buna karşın diğer bir çalışmada adenovirüs aracılı ING4'ün aşırı ekspresyonu meme kanseri ve hepatoselüler karsinom hücrelerinde intrinsik yolla apoptozisin teşvik ettiği görülmüştür(116,117).

## **ING1 ve DNA Onarımı:**

Normal hücrelerde genomik stabiliteyi korumak için nükleotit eksizyon onarımı, yanlış eşleşme onarımı, translüzyon DNA sentezi, homolog olmayan uç birleştirme ve homolog rekombinasyonel onarımı gibi kazanılmış mekanizmalar mevcut olup, DNA onarım mekanizmalarındaki kusurlar genomik dengesizliğe ve kansere yatkınlığa yol açabilir.

ING ailesi üyelerinin DNA'nın düzenlenmesinde rolü keşfedildiklerinden kısa süre sonra anlaşılmıştır. ING1 eksikliği olan farelerin normal farelere göre tüm vücut gama ışımaya karşı daha duyarlı olduğu bulunmuştur(118). ING proteinlerinin histon asetilasyonunu ya arttırıp, ya da azaltarak kromatin yeniden yapılanmasını histon asetil transferazlar ve histon deasetilaz HDAC1 gibi kompleksler vasıtasıyla düzenlediği gösterilmiştir(109). Bu kompleksler zarar görmüş DNA'nın etrafındaki kromatin yapısını değiştirerek tamir için gereken araçların erişimini sağlamaktadır(119).

ING2'nin histon H4 asetilasyonu, kromatin gevşemesi ve UV ışımaya sonrası hasar tanıma proteini kseroderma pigmentosum grup A proteininin DNA'nın hasarlı bölgesine ulaştırması gibi fonksiyonları ING2'nin nükleotid eksizyon onarım işlemi için gerekli kromatin yeniden yapılanmasındaki rolünü göstermektedir(120). Çok benzer bir rol ING1b 'de UV ile indüklenen DNA hasarlı melanom hücrelerinde gözlemlenmiştir(121)

## **ING1 ve P53**

İnsan ING1 geni 13 numaralı kromozomda yerleşerek 4 farklı izoformu p47ING1a, p33ING1b, p24ING1c ve p27ING1d'yi kodlar. ING proteinleri ile p53 arasındaki ilişkiyi gösteren ilk kanıt simian virüsü 40 (SV40) büyük T-antijeni tarafından p24ING1c'nin büyümeyi inhibe edici etkisi baskılanmasıdır(111). p24ING1c'nin büyüme baskılayıcı etkisinin sadece normal hücrede gözlenmesi ancak p53-sıfır veya mutant p53 hücrelerinde gözlenmemesi bu iki tümör baskılayıcı arasındaki karşılıklı ilişkinin doğrudan kanıtı niteliğindedir(122). Birçok çalışmada ING proteinlerinin farklı tipte hücreleri p53'e bağımlı apoptoza karşı hassaslaştırdığı bulunmuştur(112,114,123,124). ING'in apoptozu artırması p53'un durumuna bağlı olsa da, ING1 transkripsiyonu p53'ten bağımsız şekilde gerçekleşir(125). Etoposid tedavisi sonrasında p33ING2 ekspresyon seviyesinin p53-sıfır Calu-6 akciğer kanseri

hücre çizgisinde etoposid tarafından indüklendiği bulunarak, p33ING2 birikiminin p53 bağımsız olduğunu düşündürmüştür(126).

ING proteinlerinin p53 yanıtını nasıl artırdığına dair iki ana mekanizma ile açıklanabilir: ING üyelerinin p53 ile birleşmesi ve ING aracılı p53'ün asetilasyonu. Leung ve ark. yaptığı bir çalışmada p33ING1b'nin p53'e bağlanmak için MDM2 ile yarıştığı izlenmiştir. Ayrıca MDM2 ekspresyonu p53 stabilitesini azaltırken, p33ING1b bu azalmayı doza bağımlı şekilde tersine çevirmiştir(127). p33ING1b, p29ING4 ve p28ING5'in p53 ile birleştiği, p33ING2 ve p47ING3'ün birleşmediği bilinmektedir. Her ne kadar bazı ING proteinleri fiziksel olarak p53 ile birleşme de, p53 aktivitesini protein stabilitesini artırarak düzenleyebilirler. P33ING2'nin aşırı ekspresyonu RKO kolorektal karsinom hücrelerinde p53'ün Lys-382 bölgesinden asetilasyonunu arttırdığı görülmüştür(14,128). Posttranslasyonel p53'ün C-terminal bölgesi içinde asetilasyonu ve fosforilasyonu p53'ün aktivasyonu kolaylaştırdığı ve DNA'ya bağlanma aktivitesi arttığı düşünülmektedir(129,130).

Etoposide maruziyeti sonrası antisens ING2 ekspresyonlu osteosarkom OsACL hücrelerinde endojen p33ING2 ve asetillenmiş p53 seviyesinin orantılı olarak düştüğü bulunmuştur(14).Öte yandan, p47ING3'ün p53'ün posttranslasyonel modifikasyonlarını etkilemediği ve p53 ile ilişkisi hala araştırılması gereken bir konudur(128). P29ING4 ve daha az ölçüde p28ING5 proteinleri de p53'ün Lys-382'de asetilasyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir(131). Birlikte değerlendirildiğinde P53 ile ING birliği ve p53'ün ING aracılı asetilasyonu iki farklı mekanizma ile ING proteinlerinin p53 stabilize edebileceği ve p53'ün hücrel genotoksik stresi ve apoptotik yanıtı artırabileceği düşünülmektedir(105).

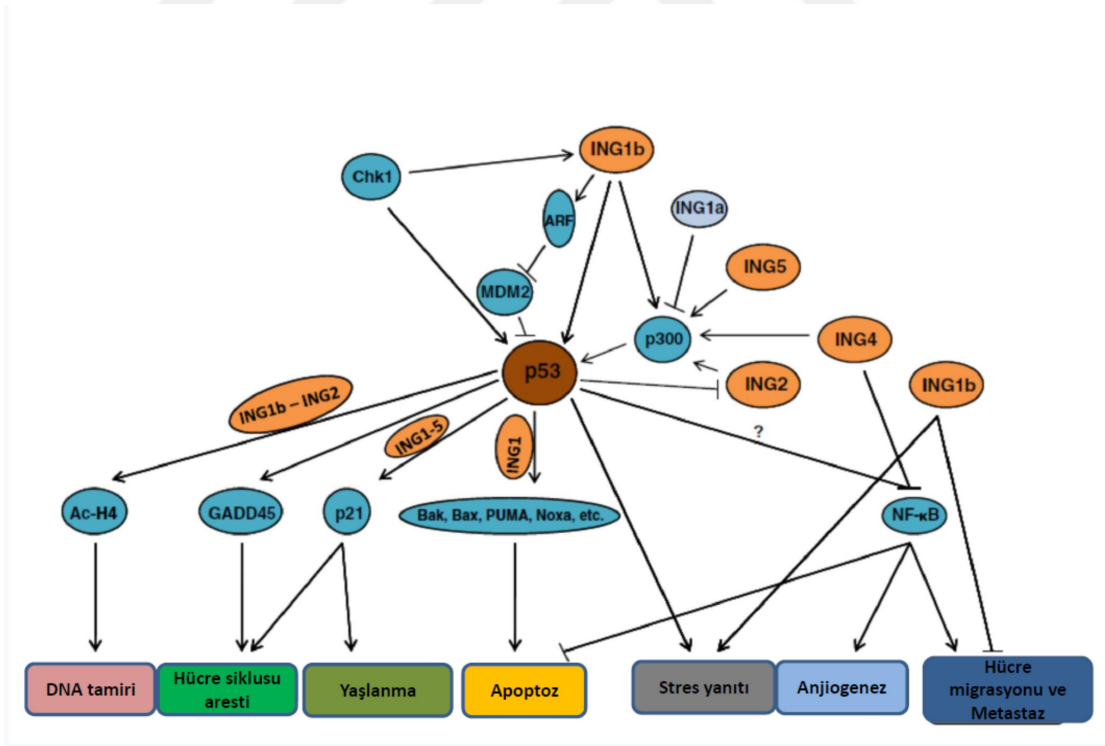
### **ING1'in P53'ten Bağımsız Fonksiyonları**

ING proteinlerinin P53'ten bağımsız büyüme üzerinde düzenleyici etkilerinin olduğu bilinmektedir. Birçok çalışmada p33ING1b'nin p53 eksik hücre hatlarındaki transfeksiyon çalışmalarında p53'ten bağımsız büyüme düzenleme ve hücre döngüsünde durdurmadaki rolü araştırılmıştır. H1299 akciğer karsinomu hücrelerinde p33ING1b aşırı ekspresyonu hücre sayısının iki katına çıkma süresini yaklaşık % 10'u oranında uzattığı ve doksorubisine bağlı G2 / M kontrol noktasında DNA hasarını arttırdığı bulunmuştur(112). Ek olarak, ING1'in siRNA'sı eksik olan LN229 glioblastoma hücrelerinde p53-eksik hücrelerin sisplatin tedavisine daha duyarlı olduğu ve hücre döngüsünün G1 fazından daha hızlı geçiş yaptığı izlenmiştir.

Bu bulgular ile ING1'in p53'ten bağımsız hücre büyümesini veya ölümü inhibe etme fonksiyonuna sahip olduğunu öne sürülmüştür(132). Coles ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada p53 yokluğunda p37ING1'in DNA hasarı olan hücrelerde apoptozu başlattığını görmüştür(97).

### ING1 ve NF-κB Yolağı

NF-κB apoptoz, anjiyogenez, metastaz, proliferasyon ve tümör büyümesi gibi birçok genin ekspresyonunu kontrol ettiğinden NF-κB sinyalinin bozulmasının tümöregenezde önemli rolü olduğu ileri sürülmüştür(133). Bununla birlikte, tümörlerde NF-κB'nin kendisinin mutasyonu nadiren gözlenir. Mikrodizi veri analizleri ısı şoku proteini 70 (HSP70) ekspresyonunun p33ING1b ekspresyonu ile arttığı gösterilmiştir(134). HSP70 IκB yıkımını engelleyerek NF-κB yolunu suprese ettiğinden dolayı, P33ING1b'in dolaylı olarak NF-κB sinyalini azaltarak düzenleyebildiği düşünülmüştür(135–137).



Şekil 11. Multipl tümör baskılayıcı fonksiyonların regülasyonunda ING-p53 ağı. ING1a ve ING3 istisna olmakla tüm ING proteinleri fiziksel olarak p53 ile etkileşime girer ve p300'ü aracılı p53 asetilasyonu ve aktivitesini artırır. Ayrıca, bazı ING üyeleri p53'ten bağımsız olarak biyolojik fonksiyonlar düzenler. Jafarnejad SM, Li G. Regulation of p53 by ING family members in suppression of tumor initiation and progression yayınından alınmıştır(96).

### 2.3.1.2 ING2 ve Fonksiyonları

ING2'nin ING1b ile hücre büyümesi, apoptoz ve DNA onarımı gibi ortak fonksiyonel özellikleri mevcuttur. Nagashima ve ark. ING2 transkriptini insan plasenta cDNA'sından klonlamış ve etoposid ve neokarzinostatin gibi genotoksik ajanlara maruziyetinde ekspresyon seviyesinin yükseldiğini izlemiştir. Yine aynı çalışmada, ING2'nin p53 pozitif hücrelerde hücre büyümesini ve sağ kalımı negatif olarak regüle ettiği, ancak p53 negatif hücrelerde bu etkiyi göstermemesi bu süreçlerin p53 bağımlı olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca ING2'nin p53 transkripsiyonel transaktivasyonunu anlamlı derecede ING1b'den daha fazla artırdığı gözlemlenmiştir. ING2 p53 stabilitesini Lys-382 bölgesi asetilasyonunu yaparak artırmaktadır. Bununla birlikte, koimmünopresipitasyon metodu ile ING2 ve p53 arasındaki fiziksel bir bağlanma olmaması ING2'nin p53 asetilasyonunu, dengesini ve işlevini indirekt yollarla sağladığı düşündürmüştür(14).

Gozani ve ark bir çalışmada p53 ekspresyonu olmayan HT1080 hücrelerinde ING2 aşırı ekspresyonu P21 protein ekspresyonunu ve apoptozu başlatamadığı görülmüş olup, bu ING2 aracılı apoptozun p53 bağımlı olduğunu göstermektedir(138).

Ek olarak ING2'nin nükleotid eksizyon onarımı (NER) ilk aşamalarında kromatin gevşemesinde ve DNA'daki fotolezyonlara XPA'nın temininde yer aldığı gösterilmiştir. Özellikle, ING2'nin NER'i başlatması için LZL bölgesine ihtiyaç duyması NER işleminde ING2 p53 stabilizasyonunun önemini göstermektedir. ING2'nin p53 ile bağlanması ve p53 p300 arasındaki etkileşimi sağlanması için LZL bölgesi gerekmektedir. Yalnız ING2 ve p300 etkileşimi için LZL bölgesine ihtiyaç duyulmamaktadır(17).

ING2'nin P53'ün regülasyonunda kritik rolü olsa da, ING2' nin aynı zamanda ING1b benzeri p53'ten bağımsız fonksiyonları da mevcuttur. Larrieu ve ark. son çalışmalarında ING2 ekspresyonunun azalması sonucu hücrelerin G1'den S evresine geçişinin hızlandığı ve p21 ekspresyonun azaldığı gösterilmiştir. Bu p21 ekspresyonundaki düşüş p53-bağımsız olduğu ortaya konulmuştur(139).

ING2'nin hücre büyümesinde de rol aldığı düşünülmektedir. ING2'nin ektopik ekspresyonu RKO hücrelerinde koloni formasyonunu durdurduğu ve hücre döngüsünü G1 fazında tuttuğu gösterilmiştir(14). ING2'nin aşırı ekspresyonu replikatif yaşlanmayı indüklediği, RNAi aracılı ING2'nin aşağı regulasyonu replikatif yaşlanmanın uzamasına neden olmaktadır(140). Bununla birlikte, yakın



zamanda yapılan bir çalışmada, hTERT-ölümsüzleştirilmiş insan fibroblastlarında ING2 RNAi azaldığı durumda p53-bağımsız yaşlanmanın indüklendiği ve ING2'nin aşırı ekspresyonunda p53 bağımlı yaşlanmanın uyarıldığı bulunmuştur(141). Bu çalışmalar ING2'nin yaşlanmanın düzenlenmesinde rol oynadığı, bununla birlikte mekanizmanın daha iyi anlaşılması için daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

ING2'nin hücre proliferasyonunda görev aldığı bilinmektedir. ING2'nin SnoN ve Smad2 ile etkileşime girerek TGFβ'ye bağımlı gen ekspresyonunu teşvik ederek hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur(142).ING2'yi aşırı eksprese eden MMRU melanom hücresi UVB maruziyetinden sonra BCL-2 protein düzeyini artırdığı ve BAX'in mitokondriye taşınmasını ve sonucunda mitokondriyal membran potansiyelinin değiştiği bulunmuştur. Ek olarak, ING2'nin Fas ekspresyonunu düzenlediği bulunmuş olup, ING2'nin mitokondrial/intrensik ve ölüm reseptörü/ekstensik apoptotik yolları ile ilişkisi kanıtlanmıştır(143).

Son çalışmalarda ING2'nin yeni bir izoformu olan ING2b bulunmuş olup orjinal ING2'ye ING2a denilmiştir. ING2b promotörü, ING2a'nın aksine p53 ile bağlama bölgesine sahip değildir. Bu nedenle p53 aktivasyonu sadece ING2a'yı baskılamaktadır. ING2b'nin yokluğu hücre büyümesi regulasyonunda her hangi bir katkı sağlamamıştır. ING2a eksikliğinde p53 mevcudiyetinde hücre büyümesini engellenirken; ING2b hücre büyümesinde görevi olmayıp, her ikisinin eksikliği p53'ten bağımsız hücre siklusunda duraklamaya ve apoptozise neden olmaktadır. Nutlin-3a ve adriamisin ile indüklenen p53 salınımında ING2a ekspresyonu azalırken, ING2b'nin değişmediği gösterilmiştir(144).

### **Kanser Hücrelerinde ING2'nin Rolü:**

ING1 ile homoloji özellikleri nedeniyle ING2'nin de tümör supresörü olduğu düşünülmekteydi(145). Bununla birlikte, son veriler ING2'nin bir onkogen olarak da işlev görebileceği gösterilmiştir. İki farklı çalışmada, kolorektal kanserinde ING2 ekspresyonunun arttığı görülmüştür(146). Kumamoto ve ark. tarafından yapılan çalışmada, ING2 mRNA ekspresyonu artmış kolon kanserinde Matrix Metallo Proteinaz 13 ekspresyonunun arttığı, bunun da tümör invazyonunu ve metastaz oranını yükselttiği bulunmuştur. ING2a mRNA düzeyinin artmasındaki mekanizma NF-κB aktivasyonu ile olabileceği düşünülmüştür. Ancak, kesin olarak kolon kanserinde ING2'nin neden arttığı hala belirsizliğini korumaktadır(146). Benzer

şekilde Burkitt lenfoma ve servikal karsinomlarda da ING2'nin aşırı eksprese olduğu izlenmiştir. Ancak, başka çalışmalarda ING2 ekspresyonunun kutanöz melanom, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom ve akciğer kanseri dahil bir çok kanser türlerinde azaldığını gösterilmiştir(16,147,148). ING2 heterozigosite kaybı, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarda ilerlemiş tümör evresi ile ilişkili bulunmuştur(147).ING 2 fonksiyonlarının kanser tipine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği düşünülmüştür.

Başka bir kafa karıştırıcı çalışma Hepatoselüler karsinomlarda(HCC) bakılmış ING2 ekspresyon düzeyi ile ilgilidir. HCC'de ING2 ekspresyonunun mRNA seviyesinde azaldığı, ancak protein seviyesinde değişmediği görülmüştür(149). İnsan tümörlerinde ING2 mutasyonunun varlığı gösterilmemiştir, ancak birçok çalışmada ING2'nin RNA seviyesinde azaldığı bildirilmiştir. Gerçekten de, ING2 RNA ekspresyonunun meme ve yumurtalık kanserleri, hepatoselüler karsinom ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında azaldığı görülmüştür(148–151).

Genel olarak birçok kanser türünde ING protein düzeyinin azaldığı izlenmiştir. Ancak, bazı aşırı ekspresyon durumlarında karsinogenez ve tümör agresifliği ile ilişkilendirilmiştir. Bütün ING proteinleri HAT ve HDAC kompleks bileşimi üyeleri olduğundan, artan veya azalan seviyeleri kanser hücrelerinin epigenomunu değiştirmesi olasıdır(152).

### **2.3.1.3 ING3 ve Fonksiyonları**

ING 3'ün kromozomal konumu (telomerik değil, merkezi yerleşim) diğer ING ailesi üyelerine göre farklıdır. Ancak hücre döngüsü regülasyonu, yaşlanma ve apoptoz gibi tümör süpresör rolü diğer üyeler ile benzerlik göstermektedir(153). ING1'e benzer şekilde, RKO hücrelerinde ING3'ün ektopik ekspresyonu S fazındaki hücre sayısını azaltarak koloni oluşumunu azalttığı bulunmuştur(128). ING 3 aşırı ekspresyonu ayrıca Fas ekspresyonunu indüklediği, Bid, caspases-8, -9 ve -3'te bölünmeyi arttırdığı ve UV ile muamele edilmiş hücrelerde apoptozu teşvik ettiği bulunmuştur(115). ING2'ye benzer şekilde, ING3'ün ölüm reseptörü/ ekstrensik yolakta görevi olabileceği düşünülmektedir. Ancak, diğer ING proteininin aksine, ING 3'ün nükleotid eksizyon onarımında ve replikatif yaşlanmada rol oynamadığı, p53 ile etkileşime girmediği ve iyonize radyasyon kaynaklı hücre ölümüne dahil olmadığı görülmüştür(128).

Nükleer ING3 ekspresyon düzeyi Malign melanomlarda displastik nevüse göre anlamlı şekilde azaldığı ve ayrıca, azalmış nükleer ING3 ekspresyonu 5 yıllık sağ kalımı anlamlı şekilde azalttığı izlenmiştir(154). ING3'ün aşırı ekspresyonunu hepatositlerin göçünü ve çoğalmasını inhibe ettiği ve kolorektal kanser ve baş boyun skuamöz hücreli karsinomunda ING3 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir(153). Düşük ING3 mRNA düzeyi agresif baş ve boyun kanserinin işareti olabilmektedir(155).

Her ne kadar ING3'ün kanserojenezdeki etkisi tam araştırılmamış olsa da, birkaç çalışmada artmış ING3 ekspresyonu prostat kanserinde androjen regüle eden genlerin ekspresyonunu artırarak onkojen olarak davrandığı ve ERG negatif prostatta kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir(153).

#### **2.3.1.4 ING4 ve Fonksiyonları**

ING1 dışında, ING4 ING protein ailesi içinde en fazla incelenmiş üyedir. Kromozom 12q13.3 bölgesinde yerleşmekte olup alternatif uçbirleştirme ile 8 farklı varyantı mevcuttur(13). ING4 p53 bağımlı veya bağımsız şekildi hücre döngüsünü durdurma ve apoptozis indüksiyonu ile tümör hücresi büyümesini inhibe eder. ING4 ayrıca toksik otofaj ile tümör büyümesinin baskılanması indükler. ING4 liprin  $\alpha 1$  ile etkileşime girerek ve MMP-2, MMP-9 ve EMT-TF Snail1'i baskılayarak tümör hücresi yayılımını, hücre göçünü ve invazyonu süprese eder. Ayrıca, ING4 NF- $\kappa$ B ve HIF-1 $\alpha$  yolları üzerinden IL-6 ve IL-8 gibi proanjyogenik faktörleri azaltarak tümörün anjiyojenezini baskılar. Böylece, ING4 tümör baskılayıcı aktivitesini birçok farklı yollarla sergilemektedir(156).

Garkavtsev ve ark. tarafından ING4 ekspresyonunun beyin tümörlerinde anlamlı derecede azaldığı ve bu azalma tümör evresi ile doğrudan ilişkili olduğu bulunmuştur. Dahası, fonksiyonel veriler ING4'ün beyin tümörü anjiyojenezini, NF- $\kappa$ B ile fiziksel etkileşime girerek ve transkripsiyonu engelleyerek, baskıladığı gösterilmiştir(108). Baş boyun SCC, hepatoselüler karsinom, mide adenokarsinomu, astrositom, akciğer kanseri ve HER2 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2) - pozitif meme kanserlerinde ING4'ün silindiği veya aşağı regüle olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(152). Ayrıca, multipl miyelomlarda azalmış ING4 ekspresyonu yüksek tümör evresi ve artmış tümör anjiyojenezini ile ilişkilendirilmiştir. Yine aynı çalışmada İnterlökin-8 ve osteopontin ekspresyonunda artışın nedeni ING4 ekspresyonundaki azalmaya bağlanmıştır(157). Malign melanomda yapılan çalışmada

ise, ING4 ekspresyonunun displastik neviye nazaran azaldığı ve bunun kötü prognostik bir faktör olduğu bildirilmiştir(158).

### **2.3.1.5 ING5 ve Fonksiyonları**

ING5 sekiz ekzondan oluşan ve 240 amino asit uzunluğunda, 28 kDa boyutunda proteini kodlamaktadır. ING5'in hücre büyümesi, apoptoz, yaşlanma ve p300 ve p53 ile etkileşime girerek DNA onarımı gibi bir çok biyolojik süreçte rol aldığı bilinmektedir. DNA hasarından sonra, ING5 p53 asetilasyonunu artırarak p53 stabilitesini arttırdığı ve böylece p53 hedef genlerini aktive ederek hücre apoptozisini tetiklediği gösterilmiştir. Ek olarak, ING5'in meme kanserinde PI3K / Akt yolunu kullanarak epitelial-mezenkimali geçişi inhibe ettiği bildirilmiştir(159). Ayrıca ING5 minikromozom bakım (MCM) proteinleri ile ilişkilidir. Bunlar DNA replikasyonunun temelini oluşturmaktadırlar. ING5'in azalması DNA sentezini tamamen inhibe etmektedir.

Baş-boyun SCC'de ING5'in sitoplazmik mislokizasyonu bildirilmiştir. ING5 lokusunun silinmesi ilk olarak oral skuamöz hücreli karsinomda bildirilmiştir. Ayrıca, oral skuamöz hücreli karsinomunda önemli derecede ING5 mRNA düzeyinin azaldığı, LZL (leucine zipper-like region), NCR (novel conserved region) ve LID (lamin interacting domain) bölgesinde yanlış anlam mutasyonları bildirilmiştir(152). Akciğer, pankreas ve yumurtalık kanseri hücre dizisi ve ayrıca akut miyeloid lösemi (AML) tanılı büyük bir hasta kohordundan alınan kemik iliği örneklerinde ING5 düzeyinin düşük izlenmesi bu malignitelerdeki tümör supresif rolünü göstermektedir. Mide kanseri örneklerinin çoğunda ING5'in RNA düzeyinde azaldığı ama protein düzeyinde arttığı izlenmiştir(160).

### 3 AMAÇ

Yapılan birçok çalışmada İNG gen ailesi üyelerinin kanser patogenezindeki rolleri ortaya konulmuştur. İNG gen ailesi üyelerinin meme, akciğer, kolon kanseri ve malign melanom gibi birçok kanserlerle ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde bazal hücreli karsinomlu (BCC) hastalarda yapılan çalışmada ING2 ekspresyon kaybı ile BCC oluşumu arasında korrelasyon olduğu görülmüş ama tümörün evresi ve prognozunun ING2 gen ekspresyonu ile ilişkili olmadığı görülmüştür(91). Kliniğimizde yapılan bir çalışmada SCC hastalarında ING2 ekspresyon düzeyinin SCC oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür(161). Kliniğimizde yapılan bir başka çalışmada ise, malign melanomlu hastalarda ING2 ekspresyon düzeyinin tümör hücrelerinde baskılandığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(162). Daha önce sarkom ailesinden osteosarkomlarda ING-2 gen ekspresyonunda anlamlı azalma olduğu gösterilmiş olsa da, sarkom ailesinin bir diğer üyesi olan malign periferik sinir kılıfı tümörlerinde ING 2 gen ekspresyonu çalışılmamıştır(163). Biz bu çalışmamızda ING2 gen ekspresyonunun malign periferik sinir kılıfı tümörleri gelişimindeki rolünü araştırmak için sağlam ve tümörlü dokuda İNG2 ekspresyon düzeylerini inceledik ve ING2 ekspresyonu ile klinikopatolojik değişkenler arasındaki korrelasyonu değerlendirdik.

## 4 GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı(Sayı :83045809-604.01.02- Tarih:07/08/2019-121637). Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'ne başvuran ve Patoloji Anabilim Dalı'nda çıkarılan piyesler incelenmiş ve Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörü tanısı konulmuş hastalar seçilmiştir. Çalışmaya 40 hasta dahil edildi. Uygun hastalar seçilerek, hastalara ait biyopsi materyalleri arşivden çıkarılıp hazır lamlar tekrar gözden geçirilerek uygun tümörlü ve sağlam doku bulunan lam ve blokların Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda genetik incelemesi yapıldı.

### 4.1 Hasta Seçimi

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesine başvuran ve Patoloji Anabilim dalı tarafından Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörü tanısı konulmuş hastalar dahil edildi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi taranarak 2000-2019 yılında Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörü tanısı alan hasta dosyaları tarandı. Ameliyat öncesinde radyoterapi ve kemoterapi almayan uygun 40 hasta seçildi. Seçilen hastaların piyesleri Patoloji Anabilim Dalı arşivinden çıkartılarak yeniden incelendi. Çalışma için gerekli olan primer tümör, sağlam sinir dokusu yeterli örneği olan 40 hastanın lam ve blokları seçildi. Gerekli doku örnekleri olmayan veya yetersiz olan, aynı zamanda primer tümör dokusu ileriye yönelik moleküler çalışmalar için yetersiz olan hastalar çalışmadan çıkarıldı. Ölüm Bildirim Sisteminden hayatta olmayan hastaların listesi hazırlandı. Sistemde bulunmayan hastalarla veya yakınlarıyla telefon vasıtasıyla iletişime geçilerek hayatta olup olmadıkları teyit edildi. Hayatta olan hastalardan onam alındı. Hasta epikrizleri taranarak hastaların yaşı, cinsiyeti, ek hastalıkları, radyoterapi veya kemoterapi hikayesi araştırılarak dikkate alındı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların özellikleri:

1. Genetik çalışma için yeterli doku parçası olan hastalar.
2. Biyopsi sonucu Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörü tanısı alan hastalar.
3. Nörofibromatozis 1 kaynaklı ve sporadik Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörü gelişen hastalar
4. FNCLCC derecesi belli olan veya yeniden hesaplanabilecek hastalar.
5. Daha sonraki çalışmalarda da kullanılmak üzere yeterli doku örneği olan hastalar.

Çalışmaya dahil edilmeyen hastaların özellikleri:

1. İlerde yapılacak patolojik veya genetik çalışmalar için yeterli doku parçası olmayan hastalar.
2. Biyopsi öncesinde radyoterapi veya kemoterapi alan hastalar.
3. Genetik çalışmaya rızası olmayan hastalar.
4. Primer tümöründen doku örneği olmayan metastatik vakalar.

#### **4.2 Örneklerin Seçilmesi**

Çalışma için uygun hastalara ait lamlar ve uygun parafin bloklar arşivden temin edildi. Her hasta için primer tümör, sağlam dokuya ait iki örnek incelendi. Mikroskop altında doku örneklerini incelenerek sınırları renkli kalemle işaretlendi. Primer tümör dokusu sınırları çizilerek lam üzerine 'TM', sağlam doku örneği sınırları lam üzerinde sınırları çizilerek 'SAĞLAM' olarak silinmeyen renkli kalemle yazıldı. Tek lam üzerinde her iki örneği bulunan 5 hastanın lamları farklı renklerle çizilerek uygun sınırın kenarına TM veya SAĞLAM yazısı ile belirtildi. 40 hastaya ait 75 adet parafin blok ve haritalanmış lamları Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı'na götürüldü.

#### **4.3 Genetik - Moleküler İncelemeler**

Lam ve bloklar karşılaştırılarak işaretlenmiş alanlara uygun gelen alandan doku örnekleri alındı. Her bir doku örneği ayrı ayrı Eppendorf tüpüne yerleştirilerek RNA izolasyonu yapılması için hazırlandı.

## **Total RNA İzolasyonu**

Her bir örnekten ~25mg'lık kesit kullanıldı. “Quick RNA FFPE kit” aracılığı ile total RNA izolasyonu protokolü uygulandı. Dokular steril ortamda bistüri yardımıyla parçalanarak deney tüplerine aktarıldı. İlk aşama deparafinizasyon işlemi için protokole uygun 400 µl deparafinizasyon solüsyonu her bir tüpe eklenerek +55oC'de 1 dakika bekletildi ve sonra vorteks işlemi uygulandı. Vorteks işlemi sonrası tüplerin içindeki solüsyon atıldı. Parafinden arındırılmış dokular 2. aşama olan doku parçalanması işlemine alındı. Her tüpe DNase/RNase-Free Water 95 µl, 2X Digestion Buffer 95 µl ve Proteinase K 10 µl karışımı hazırlanarak eklendi. Dokular 2 saat +55oC'de inkübe edildi. Dokular parçalandıktan sonra +65oC'de 15 dakika daha bekletildikten sonra 3. aşama olan RNA izolasyonu protokolüne geçildi. Her tüpe 600 µl RNA Lysis Buffer eklenerek maksimum hızda 1 dakika santrifüj işlemi uygulandı. İşlem sonrası erimeyen kalıntılardan kurtulmak için üstte kalan sıvı RNase free tüplere aktarıldı. Her tüpe 1 volüm %96 etanol eklendi. Daha sonra karışım toplama tüpü içine yerleştirilen Zymo-spin II CR Column tüplerine aktarıldı ve 12000g'de 30 saniye santrifüj yapıldı. Toplama kabındaki sıvı atıldı. DNase protokolüne uygun tüplere 400 µl RNA Wash Buffer eklenerek 12000g'de 30 saniye santrifüj yapıldı. Toplama kabındaki sıvı atıldı. 5 µl DNase I (1 U/ µl) ve 75 µl DNA Digestion Buffer karışımı hazırlanarak her tüpe eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. İşlem sonrası tüplere 400 µl RNA Prep Buffer eklenerek 12000g'de 30 saniye santrifüj yapıldı. Toplama kabına geçen sıvı atıldı. 700 µl RNA Wash Buffer eklenerek 12000g'de 30 saniye santrifüj yapıldı. Toplama kabına geçen sıvı atıldı. Yine 400 µl RNA Wash Buffer eklenerek 12000g'de 2 dakika santrifüj yapılarak sıvının tamamı toplama kabına geçtiğinden emin olundu. Toplama kabına geçen sıvı atıldı. Zymo-spin II CR Column tüpleri RNase Free tüplere aktarılarak 50 µl DNase/RNase-Free Water eklenerek 12000g'de 30 saniye santrifüj işlemi yapıldı. Elde edilen 50 µl RNA çözeltisi cDNA sentezi için -70 oC'de saklandı.

## **SensiFAST cDNA Synthesis Kit**

Elde edilen total RNA'lar nanodrop ile ölçüldü. Total hacmin 20 µl'de eşit miktarda total RNA olacak şekilde cDNA sentezi için SensiFAST cDNA Synthesis kiti kullanıldı. Her bir örnek için Tablo 7'de belirtilen sıra ve miktarlarda karışım hazırlandı. Total RNA miktarı 300 ng olarak hesaplandı. Karışıma Total RNA en



son eklenerek qPCR cihazında 25°C'de 10 dakika, 42°C'de 15 dakika ve Reverse transkriptaz enzim inhibisyonu için 85°C de 5 dakika bekletilerek cDNA sentezi yapıldı. Tüpler buz üzerinde soğutulduktan sonra elde edilen cDNA'lar - 20°C'de saklandı.

**Tablo 7. Reverse-transkripsiyon karışımı.**

Bileşen	Hacim
Total RNA veya mRNA	(300 ng) n µl
5x TransAmp Buffer	4 µl
Reverse Transcriptase	1 µl
RNase-free water	15-n µl
Total Hacim	20 µl

### Real-Time PCR Uygulama ve Analizi

cDNA sentezinden sonra SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit'i ile Real - Time PCR analizi yapıldı. Her bir örnek PCR uygulaması için 45 ng/reaksiyon olacak şekilde sulandırılarak sürece uygun hale getirildi.

Primerler sulandırılarak 10 µM olacak şekilde hazırlandı(Tablo 8). B-Aktin (kontrol gen), ING2 primerleri için ayrı ayrı Tablo 9'de belirtilen miktarlarda karışım hazırlandı ve kalıp RNA'lar eklenmeden her bir primer karışımı 96'lık plakalara her bir örnek için ikişer ölçüm yapılacak şekilde dağıtıldı.

**Tablo 8. ING2 ve B-aktin geninin qRT- PCR'da kullanılan primer dizisi. F: Düz primer, R: Ters primer.**

	Primer Dizisi
ING2-F	5'-ATC GGG CAA GAC AAA TGG AGT-3'
ING2-R	5'- AAT CAC GGC TTT CAC TGG TC-3'
ACTB-F	5'- GCC ATC TCT TGC TCG AAG TC -3'
ACTB-R	5'-GGG ACC TGA CTG ACT ACC TC -3'

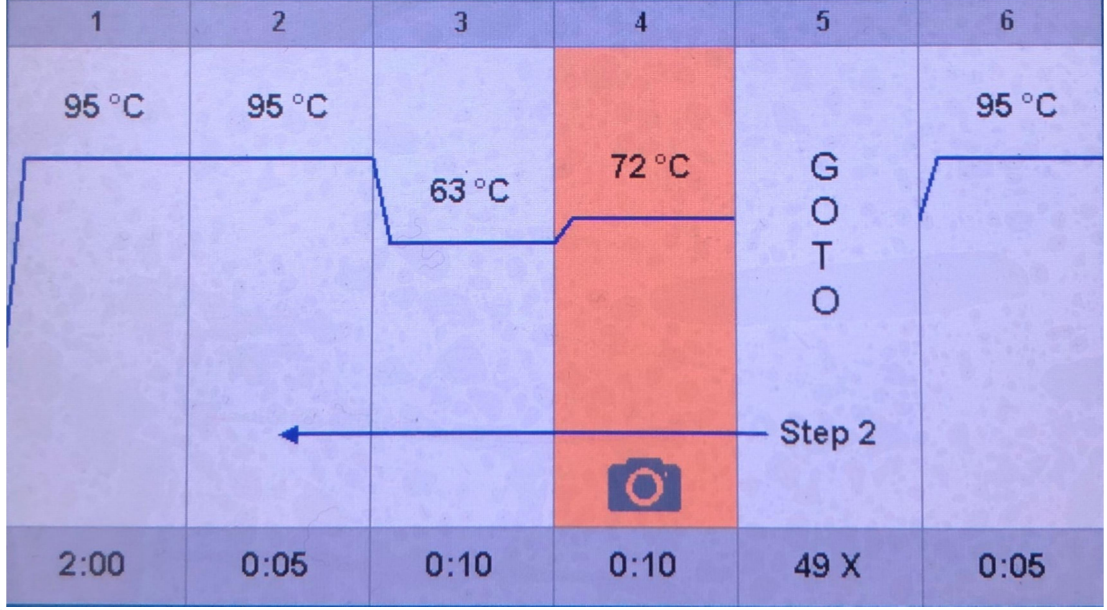
**Tablo 91** reaksiyon için gereken SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit karışımı

Bileşen	Hacim
2x SensiFAST SYBR® No-ROX Mix	10 µl
10 µM forward primer	0.8 µl
10 µM reverse primer	0.8 µl
Templat (cDNA)	3 µl
RNase-free water	5.4 µl
<b>Total Hacim</b>	<b>20 µl</b>

Hazırlanan karışımlar BIO-RAD CFX Connect Real-Time System cihazı kullanılarak aşağıda Tablo 10 ve Şekil 12’de verilen kondisyonlara göre qRT-PCR işlemi uygulandı.

**Tablo 10.** qRT- PCR kondüsyonları.

Program	Sıcaklık	Süre	Siklus
<b>Preinkübasyon</b>	95 °C	2 dakika	1
<b>Amplifikasyon</b>	95 °C	5 saniye	50
	63 °C	10 saniye	
	72 °C	10 saniye	
<b>Sybr green ayrılması (MELTING)</b>	95 °C		1



Şekil 12: qRT- PCR çalışma protokolü.

Her bir örnek için gerçek zamanlı PCR işlemi yapılarak ortalama Ct değerleri hesaplandı. Rölatif kantitasyon analizi delta-delta-Ct metodu kullanılarak tanımlandı.

#### 4.4 Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmada kriterlere uygun olan hastalara ait parafin bloklardan alınan örnekler iki grupta değerlendirildi.

1. Tümör içeren dokularda ING-2 bakılan grup.
2. Tümör içermeyen dokularında ING-2 bakılan grup.

##### 4.4.1 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen 40 hastadan alınan 80 örnekte mRNA ekspresyon değerleri ölçüldü. 12 hastada ING2 mRNA düzeyi ölçülemediğinden istatistiksel değerlendirme 28 hasta üzerinden yapıldı. Tümörlü ve sağlam dokulardan izole edilen ING2 mRNA değerleri ve bunların delta Ct değerleri, Delta-Delta Ct değerleri karşılaştırıldı. Ayrıca tümör ve tümör içermeyen dokularda delta Ct değerleri ile histolojik derece ve sağkalım arasında korrelasyon olup olmadığı incelendi.

##### İstatistiksel İncelemeler

Tanımlayıcı istatistikler, sürekli veriler için ortalama, standart sapma, ortanca, minimum-maksimum değerleri ile birlikte sunulmuştur.

Sürekli verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilmiştir. Parametrik özellik göstermeyen bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, bağımlı iki grubun karşılaştırılmasında Wilcoxon İşaretli Sıralar testi, parametrik özellik göstermeyen ikiden fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında Spearman korelasyon analizi yapılmıştır. Ölçümle belirtilen değişken ile ordinal değişken arasındaki ilişkide ise Kendall Tau korelasyon testi kullanılmıştır.

İstatistiksel anlamlılık için %95 Güven Aralığında, 0,05'in altında bulunan p değerleri anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler için IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) programının 21.0 versiyonu kullanılmıştır.

## 5 BULGULAR

### 5.1 Klinik Bulgular

Çalışmaya 40 hasta, her hastadan alınan 1 primer tümör, 1 sağlam doku örneği olmak üzere toplam 80 örnek dahil edildi. Hastalardan 16(%40)'sı kadın, 24(%60)'ü erkek hasta idi. En genç tanı alan hasta 20 aylıkken, en yaşlı hasta 89 yaşındaydı. Çalışmaya dahil edilen örneklerin 25'i hayatta olmayan ve 15'i hayatta olan hastalara aitti. Hayatta olmayan hastaların primer tümör tanı anından itibaren sağkalım süresi en kısa 4 ay, en uzun ise 55 ay olarak görülmüştür. Hastaların tümör lokalizasyonları aşağıdaki gibidir.

1. Baş-boyun yerleşimli: 7 hasta
  - a. Boyun: 3 hasta
  - b. Burun: 1 hasta
  - c. Oksipital bölge: 1 hasta
  - d. Maksiller bölge: 1 hasta
  - e. Beyin: 1 hasta
2. Gövde yerleşimli: 15 hasta,
  - a. Skapular bölge: 2 hasta
  - b. Toraks arka yüz: 1 hasta
  - c. Aksiller bölge: 1 hasta
  - d. Pektoral bölge: 2 hasta
  - e. Mediasten yerleşimli: 1 hasta
  - f. Lomber bölge: 4 hasta
  - g. İntraabdominal: 3 hasta
  - h. Anal kanal: 1 hasta
3. Üst ekstemite yerleşimli: 6 hasta,
  - a. Omuz yerleşimli: 2 hasta
  - b. Kol yerleşimli: 2 hasta
  - c. Önkol yerleşimli: 1 hasta
  - d. El yerleşimli: 1 hasta

4. Alt ekstremite yerleşimli: 11 hasta,
  - a. Gluteus yerleşimli: 3 hasta
  - b. İnguinal bölge: 1 hasta
  - c. Uyluk yerleşimli: 4 hasta
  - d. Diz yerleşimli: 1 hasta
  - e. Kruris yerleşimli: 2 hasta

## 5.2 Histopatolojik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hastaların İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde raporlanmış patoloji sonuçları incelendi. Biyopsinin yapıldığı tarih, tanı yaşı, biyopsi bölgesi, etiyoloji ve tümör FNCLLC derecesi not edildi. FNCLLC derecesi yazılmamış eski patoloji raporlarında yeniden derece hesaplandı.(Tablo 11.)

**Tablo 11. Hastaların cinsiyeti, biyopsi alınma yılı, tanı aldıklarındaki yaşı, tümör bölgesi, etiyoloji ve FNCLLC grade'i.**

Hasta	Cinsiyet	Biyopsi yılı	Tanı yaşı	Tümör bölgesi	Etiyoloji	FNCLLC
1	E	2019	57	SAĞ BOYUN	SPORADİK	GRADE 3
2	E	2018	23	TORAKOLOMBER	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
3	K	2017	65	LOMBER	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 1
4	K	2016	57	L5 VERTEBRA	SPORADİK	GRADE 1
5	E	2016	35	SOL EL	SPORADİK	GRADE 2
6	E	2016	58	SAĞ GLUTEUS	SPORADİK	GRADE 3
7	E	2015	58	BATIN	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
8	K	2015	13	SOL PEKTORAL	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
9	K	2014	52	BATIN	BİLGİ YOK	GRADE 3
10	K	2014	50	SAĞ GLUTEUS	SPORADİK	GRADE 3
11	K	2014	49	SAĞ İNGUINAL	SPORADİK	GRADE 2
12	K	2013	88	BURUN	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
13	K	2013	63	ANAL KANAL	SPORADİK	GRADE 3
14	K	2013	23	UYLUK	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
15	E	2011	20 ay	SOL UYLUK	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
16	E	2011	66	SAĞ PEKTORAL	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 1
17	E	2011	23	SOL BOYUN	BİLGİ YOK	GRADE 3
18	E	2010	65	SOL UYLUK	BİLGİ YOK	GRADE 2
19	E	2010	54	SAĞ SKAPULA	BİLGİ YOK	GRADE 3

20	K	2010	55	MEDİASTEN	BİLGİ YOK	GRADE 3
21	K	2010	59	LOMBER	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 1
22	E	2009	10	İNTRAABDOMİNAL	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
23	K	2009	44	SOL GLUTEUS	BİLGİ YOK	GRADE 2
24	E	2009	56	BİLDİRİLMEMİŞ	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
25	E	2008	69	SOL SKAPULA	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 2
26	K	2008	44	SOL DİZ	SPORADİK	GRADE 1
27	E	2007	78	SOL ÖN KOL	BİLGİ YOK	GRADE 3
28	K	2007	8	SOL OMUZ	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 2
29	E	2006	28	SOL AKSİLLA	BİLGİ YOK	GRADE 3
30	E	2006	56	BEYİN	BİLGİ YOK	GRADE 2
31	E	2005	16	SOL KRURİS	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
32	E	2005	45	SOL OMUZ	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 1
33	E	2005	34	SOL KRURİS	BİLGİ YOK	GRADE 3
34	E	2004	75	SAĞ LATİSSİMUS	BİLGİ YOK	GRADE 3
35	K	2004	18	SERVİKAL	BİLGİ YOK	GRADE 3
36	E	2003	34	MAKSİLLA	BİLGİ YOK	GRADE 3
37	E	2003	24	SOL UYLUK	NF1 İLİŞKİLİ	GRADE 3
38	E	2003	74	SAĞ KOL	BİLGİ YOK	GRADE 3
39	E	2002	43	SOL KOL	BİLGİ YOK	GRADE 3
40	K	2000	69	OKSİPİTAL	BİLGİ YOK	GRADE 3

MPSKT'li hastaların 8 tanesinin etiyojisi sporadik, 16 tanesinin NF1 ilişkili olduğu görülmüştür. Geri kalan 16 hastanın etiyojisi öğrenilememiştir. FNCLLC grade değerlendirildiğinde 6 hasta grade 1, 7 hasta grade 2, 27 hasta grade 3 olarak izlenmiştir.

### 5.3 Genetik - Moleküler Bulgular

40 hastadan alınan tümörlü (T) ve tümör içermeyen(N) sinir dokusundan toplam 80 örnek hazırlanarak  $\beta$  aktin (house-keeping gen) ve ING2 ekspresyon düzeyleri ölçülerek her bir örnek için iki grup şeklinde karşılaştırıldı. Delta Ct değerleri her bir örnek için elde edilen ortalama gen ekspresyonları farkını, Delta-Delta Ct değerleri ise ortalama normal delta Ct değerinden farkı göstermektedir.(Tablo 12). ING2 ve Beta-aktin amplifikasyon ve erime eğrisi Şekil 12 ve 13'te gösterilmiştir.

**Tablo 12. Sağlam ve tümörlü dokulardan qRT-PCR ile elde edilen Ct değerleri ve hesaplanan Delta Ct ve Delta delta Ct değerleri. T: tümörlü doku, N: sağlam doku**

Örnek	Ct(ING-2)	Ct(Beta aktin)	Delta Ct	Delta delta Ct
N01	32,40	28,44	3,96	1,82
N02	38,26	38,41	-0,15	-2,29
N03	35,32	29,20	6,12	3,98
N04	38,47	32,28	6,19	4,05
N05	37,74	33,12	4,62	2,49
N06	35,03	32,94	2,09	-0,05
N08	33,49	25,92	7,57	5,43
N10	36,78	35,27	1,51	-0,63
N11	37,33	36,05	1,28	-0,86
N12	38,95	36,85	2,11	-0,03
N15	37,55	38,09	-0,54	-2,68
N19	38,79	37,22	1,57	-0,57
N20	35,93	33,33	2,60	0,47
N22	39,46	36,92	2,54	0,40
N23	40,41	37,52	2,89	0,75
N24	38,26	36,57	1,69	-0,45
N25	35,76	33,27	2,50	0,36
N27	33,75	37,41	-3,67	-5,80
N28	37,17	36,31	0,86	-1,28
N32	39,35	34,29	5,06	2,92
N33	36,77	34,30	2,47	0,33
N34	38,84	36,54	2,30	0,16
N35	38,89	37,60	1,29	-0,85
N36	37,96	36,90	1,06	-1,08
N37	38,41	42,09	-3,68	-5,82
N38	35,56	29,77	5,79	3,65
N39	37,26	36,44	0,82	-1,32
N40	33,84	34,83	-0,99	-3,13
T01	29,51	25,11	4,40	2,26
T02	30,80	23,60	7,20	5,07
T03	34,81	26,54	8,27	6,14



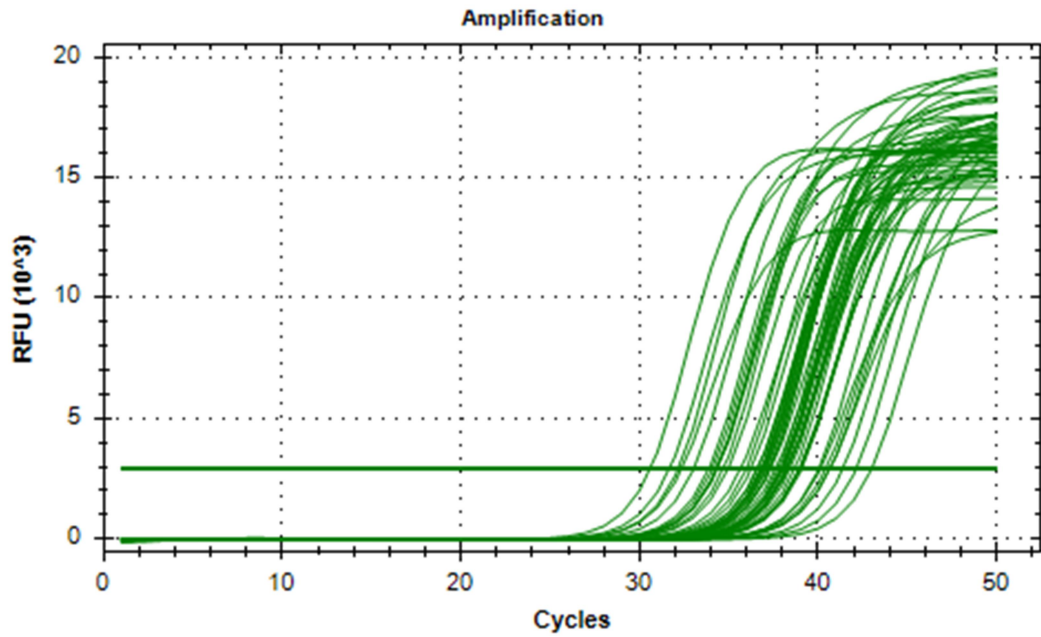
T04	40,65	34,15	6,50	4,36
T05	37,88	33,48	4,40	2,26
T06	37,04	31,22	5,82	3,68
T08	43,01	34,80	8,21	6,07
T10	38,80	36,15	2,65	0,51
T11	42,33	38,20	4,13	1,99
T12	36,60	32,79	3,81	1,67
T15	38,96	36,22	2,73	0,59
T19	38,26	34,92	3,34	1,20
T20	39,70	36,24	3,46	1,32
T22	38,67	35,21	3,46	1,32
T23	38,37	37,28	1,09	-1,05
T24	39,02	36,69	2,33	0,19
T25	32,13	29,09	3,04	0,90
T27	38,17	36,57	1,61	-0,53
T28	36,76	35,64	1,12	-1,02
T32	31,88	31,94	-0,06	-2,20
T33	34,92	32,47	2,45	0,31
T34	37,56	30,80	6,76	4,62
T35	32,93	30,36	2,57	0,43
T36	38,03	37,59	0,44	-1,70
T37	38,94	37,73	1,21	-0,93
T38	35,45	38,31	-2,86	-5,00
T39	37,47	37,13	0,34	-1,80
T40	27,51	25,01	2,50	0,36

Çalışmada 2 hastanın parafin blokundan yeterli total mRNA izolasyonu yapılamadığı için ve 10 vakada en az 2 defa qRT-PCR ile beta-aktin ölçülmüş olmasına rağmen ING2 mRNA tespit edilemediğinden istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır(Tablo 13).

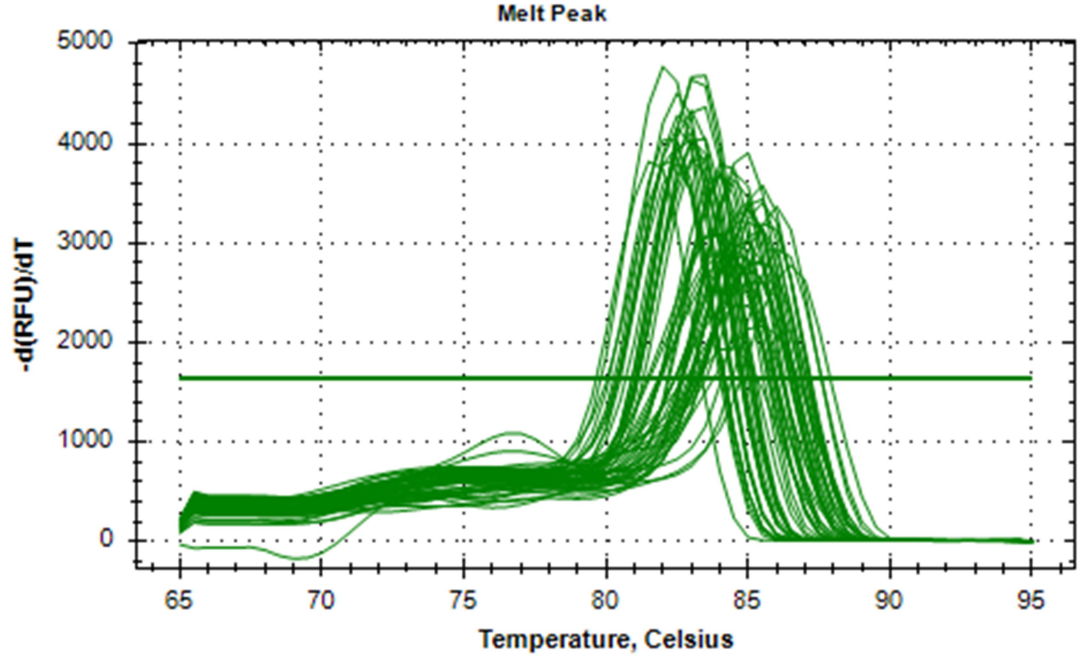
**Tablo 13. ING 2 tespit edilemeyen vakalar.**

Örnek No	Ct(ING-2)	Ct(beta aktin)
N07	0	41,38
T07	0	34,4

N09	0	37,03
N09	0	37,9
N13	0	38,26
T13	0	32,35
N14	0	0
T14	0	0
N16	0	38,6
T16	0	35,89
N17	0	39,85
T17	0	37,26
N18	0	37,41
T18	0	38,4
N21	0	0
T21	0	35,92
N26	0	37,18
T26	0	39,1
N29	0	38,22
T29	0	37,2
N30	0	36,92
T30	0	35,3
N31	0	36,06
T31	0	38,17



Şekil 12. ING2 ve Beta aktin amplifikasyon sonuçları.



Şekil 13. ING2 ve Beta aktin erime eğrisi (Melting Curve).

#### 5.4 İstatistiksel Bulgular

İstatistiksel değerlendirmeye alınan 28 kişinin 17'si erkek (%60,7), 11'i kadın (%39,3), olup tanı yaşı ortalama  $45,95 \pm 23,18$  (ortanca: 49,5; maksimum: 88, minimum: 20 ay) idi (Tablo 14,15).

Tablo 14. Cinsiyet dağılımı.

	sayı	%
<b>Erkek</b>	17	60,7
<b>Kadın</b>	11	39,3
<b>Toplam</b>	28	100,0

Çalışmaya dahil edilen örneklerin 11'i hayatta olmayan hastalara (%39,3) ve 11'i de hayatta olan hastalara (%39,3) aitti. 6 hastanın ise bilgisi mevcut değildi (%21,4). Hayatta olmayan hastaların primer tümör tanı anından ölene kadar olan ortalama sağkalım süreleri  $23,55 \pm 20,12$  ay idi (Ortanca 17 ay, minimum 4 ay, maksimum 72 ay) (Tablo 15).

**Tablo 15. Tanı yaşı ve sağkalım özellikleri.**

	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Maksimum	Minimum
Tanı yaşı	45,95	23,18	49,5	88	1,66 (20 ay)
Sağkalım	23,55	20,12	17	72	4

**Tablo 16. Tümörlerin klinik ve histolojik özellikleri.**  
**FNCLLC GRADE**

	sayı	%
Grade 1	3	10,7
Grade 2	5	17,9
Grade 3	20	71,4
Toplam	28	100,0

**Etiyoloji**

Sporadik	6	35,3
NF1 ilişkili	11	64,7
Toplam	17	100

1. grup, normal doku örneklerinde Delta Ct ölçümleri, -3,68 ile 7,57 arasında değişmekte olup, ortalama  $2,14 \pm 2,66$ ; 2. grup tümörlü doku örneklerinde ise Delta Ct ölçümleri -2,86 ile 8,27 arasında değişmekte olup, ortalama  $3,25 \pm 2,60$  olarak bulundu. Normal dokudan ve tümör dokusundan alınan biyopsi örneklerinin Delta Ct ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Tümörlü dokunun Delta Ct ortalaması daha yüksekti ( $p=0,008$ ) (Tablo 17).

1. grup, normal doku örneklerinde Delta delta Ct ölçümleri, -5,82 ile 5,43 arasında değişmekte olup, ortalama  $0,00 \pm 2,66$ ; 2. grup tümörlü doku örneklerinde ise Delta delta Ct ölçümleri -5,00 ile 6,14 arasında değişmekte olup, ortalama  $1,11 \pm 2,60$  olarak bulundu. Normal dokudan ve tümör dokusundan alınan biyopsi örneklerinin Delta delta Ct ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Tümörlü dokunun Delta delta Ct ortalaması daha yüksekti ( $p=0,008$ ) (Tablo 17).

1. grup, normal doku örneklerinde Fold change ölçümleri, 0,02 ile 56,46 arasında değişmekte olup, ortalama  $5,53 \pm 2,14,44$ ; 2. grup tümörlü doku örneklerinde ise Fold change ölçümleri 0,01 ile 31,99 arasında değişmekte olup, ortalama  $2,08 \pm 5,98$  olarak bulundu. Normal dokudan ve tümör dokusundan alınan biyopsi

örneklerinin fold change ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Normal dokunun fold change ortalaması daha yüksekti( $p=0,032$ )(Tablo 17).

**Tablo 17. Normal ve tümörlü dokuların delta ct, delta delta ct ve kat değişimi verileri.**  
Normal doku bx Tümürlü doku bx

	Ort ala ma	Std. Sapma	Orta nca	Maksi mum	Mini mum	Ort ala ma	Std. Sapma	Orta nca	Maksi mum	Mini mum	p
Delta Ct	2,14	2,66	2,10	7,57	-3,68	3,25	2,60	2,89	8,27	-2,86	,008
Delta delta Ct	0,00	2,66	-0,04	5,43	-5,82	1,11	2,60	0,75	6,14	-5,00	,008
Fold change	5,53	14,44	1,03	56,46	0,02	2,08	5,98	0,60	31,99	0,01	,032

Wilcoxon İşaretili Sıralar testi kullanıldı

Sporadik ve NF1 ilişkili grupların ekspresyon farkı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı( $p=0,615$ ).

**Tablo 18. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve etiyojideki ilişki.**

**Ekspresyon farkı**

	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Maksimum	Minimum	p
Sporadik (N=6)	1,38	1,57	0,79	3,73	-0,22	0,615
NF1 ilişkili (N=11)	1,57	3,12	0,92	7,35	-5,12	

Mann Whitney-U testi kullanıldı

Kadın ve erkek hastaların ekspresyon farkı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,925$ )(Tablo 19).

**Tablo 19. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve cinsiyet arasındaki ilişki.**  
Ekspresyon farkı

		Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Maksimum	Minimum	p
Cinsiyet	Erkek	1,07	3,85	0,64	7,35	-8,65	0,925
	Kadın	1,17	1,42	1,14	3,49	-1,80	

Mann Whitney-U testi kullanıldı.

Grade 1,2 ve 3 gruplarının ekspresyon farkı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,186$ )(Tablo 20).

**Tablo 20. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve FNCLLC grade'i arasındaki ilişki.**

		Ekspresyon farkı					P
		Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Maksimum	Minimum	
FNCLLC	Grade 1	-,88	3,78	0,31	2,16	-5,12	<b>0,186</b>
	Grade 2	0,33	1,68	0,26	2,85	-1,80	
	Grade 3	1,60	3,23	1,21	7,35	-8,65	

Kruskal Wallis testi kullanıldı.

Ekspresyon farkı ve tanı aldıktan sonraki ölüm süresi arasında negatif yönlü, orta düzeyde korrelasyon saptandı. Ancak bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi( $r=-0,461$ ,  $p=0,153$ )(Tablo 21).

**Tablo 21 Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve sağkalım arasındaki ilişki.**

		Ekspresyon farkı	Sağkalım
Ekspresyon farkı	r	1,000	-0,461
	p		<b>0,153</b>
	N	28	11

Spearman sıra korelasyonu analizi yapılmıştır

r: Korelasyon katsayısı

N: Hasta sayısı

Grade ekspresyon farkı arasında olumlu, orta düzeyde korrelasyon saptandı. Ancak bu korrelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi( $r=0,284$ ,  $p=0,067$ )(Tablo 22).

**Tablo 22. Sağlam ve primer tümör hücrelerinde ekspresyon farkı ve grade arasındaki korrelasyon.**

		Ekspresyon farkı	Grade
Ekspresyon farkı	r	1,000	0,284
	p		<b>0,067</b>
	N	28	28

Kendall sıra korelasyonu analizi yapılmıştır.

r: Korelasyon katsayısı

N: Hasta sayısı

## 6 TARTIŞMA

Malign periferik sinir kılıfı tümörü (MPSKT) periferik sinir sisteminden kaynaklanan veya sinir kılıfı diferansiyasyonu gösteren nadir, agresif ve heterojen grup tümörlerinden olup, etkili tedavisi zor olan sarkom türüdür. Nörofibromatozis tip 1 (NF1) ilişkili veya sporadik olarak görülen ve genel popülasyonda insidans oranı 100.000’de 1 olan tüm yumuşak doku sarkomlarının yaklaşık % 5-10 unu oluşturmaktadır(6)(20). MPSKT’lerinin yaklaşık %50’si nörofibromatozis tip 1 (NF1) kaynaklı gelişmekte olup altta yatan nedenin heterozigot NF1 gen mutasyonu olduğu bilinmektedir. Buna rağmen bazı NF1 hastalarında MPSKT gelişiminin olmaması veya gecikmesi ek gen mutasyonlarının gerekli olduğu düşünülmektedir(40).

Tümör baskılayıcı fonksiyon, DNA onarımı ve apoptozis gibi kritik yollardaki bozukluk kanser gelişimine sebep olabilmektedir. Tümör supresör genler kontrolsüz hücre bölünmesini önleyerek hücre siklusunu durdurur ve DNA hasarı varsa hasarlı bölgenin onarılması sağlar. Eğer hasar onarılamıyorsa apoptozu başlatarak kontrolsüz çoğalmayı engeller. NF1, PTEN, TP53 ve başka birçok gendeki mutasyonlar tümör baskılayıcı fonksiyonu azaltarak veya onkojenik fonksiyonu artırarak MPSKT’lerinin gelişmesine neden olduğu bilinmektedir(41). Bu yüzden son yıllarda daha fazla moleküler çalışmalar yapılarak kanser türlerinde kanser gelişimini etkileyen yeni mekanizmalar araştırılmaktadır.

ING2 büyüme inhibitörü gen (ING) ailesinin 5 bilinen üyesinden 2. olarak bulunan bir tümör baskılayıcı gendir. ING proteinlerinin apoptozu başlatma, hasarlı DNA onarımı, hücre yaşlanmayı kontrol etme, hücre proliferasyonunu durdurma, kromatinin yeniden düzenleme, hormonal yanıtın kontrolü, NF-kB ve hipoksi ilişkili neoplazi yollarında görev aldıkları bilinmektedir. ING ailesinin tüm izoformları p53 aktivasyonu yapmaktadır. Aktivasyon hem direkt yolla, hem de indirekt olarak p53 yolağındaki MDM2, ARF, p300 ve p21 yolu üzerinden de olabilmektedir. ING protein ekspresyonu ile birçok farklı yollarla tümör baskılanması sağlanmaktadır(96).

ING proteinlerin C-terminal ucunda Plant Homedomain (PHD) ve Nuclear Localization Signal (NLS) yerleşmektedir. PHD parmakları kromatin düzenlemede rol alan nükleer proteinlerde bulunma eğiliminde olmasından dolayı PHD alanlarının kromatin yeniden biçimlenmesinde yer aldığı düşünülmüştür(100). NLS ING proteinlerinin nükleer lokalizasyonunda işlevleri için kritik öneme sahip olup bazı kanserlerde ING1'in nükleer boyanmasında eksiklik izlenmiştir. Ayrıca ING4'de NLS'sin silinmesi ortak birleşme deneylerinde proteinin artık p53'e bağlanamadığı gözlemlenmiştir(103,104). ING proteinlerinin N-terminalleri daha değişkendir. Bu terminalde bir LZL alanı ve bir NCR mevcuttur. Wang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ING2'nin LZL motifinin nükleotid eksizyon onarımı ve apoptozis indüksiyonu için gerekli olduğunu gösterilmiştir(17).

Yapılan çalışmalar ING proteinlerinin hücre döngüsü kontrol noktalarında yer alarak hücre döngüsünün ilerlemesini etkileyebildikleri gösterilmiştir(105). Bu çalışmaların çoğunda ING1 proteini kullanılmış ama ING2-5'i kullanılan daha az çalışmada da ING proteinlerin benzer şekilde fonksiyon gösterdiği görülmüştür(98).

Yapılan birçok çalışmalarla birlikte ING2'nin kolorektal karsinomlarda p53 ile işbirliği yaparak hücre döngüsünü G1-fazında tutarak apoptozu artırdığı gösterilmiştir. ING2'nin p53 pozitif hücrelerde hücre büyümesini ve sağ kalımı negatif olarak regüle ettiği, ancak p53 negatif hücrelerde bu etkiyi göstermemesi bu süreçlerin p53 bağımlı olduğunu düşündürmüştür. ING2 p53 stabilitesini Lys-382 bölgesi asetilasyonunu yaparak artırmaktadır. Bununla birlikte ING2 ve p53 arasındaki fiziksel bir bağlanma olmaması ING2'in p53 asetilasyonunu, dengesini ve işlevini indirekt yollarla sağladığı düşündürmüştür(14). Gozani ve ark bir çalışmada p53 ekspresyonu olmayan HT1080 hücrelerinde ING2 aşırı ekspresyonu P21 protein ekspresyonunu ve apoptozu başlatamadığı görülmüş olup, bu ING2 aracılı apoptozun p53 bağımlı olduğunu göstermektedir(138). ING2'nin P53'ün regülasyonunda kritik rolü olsa da, ING2' nin aynı zamanda ING1b benzeri p53'ten bağımsız fonksiyonları da mevcuttur. Larrieu ve ark. son çalışmalarında ING2 ekspresyonunun azalması sonucu hücrelerin G1'den S evresine geçişinin hızlandığı ve p21 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Bu p21 ekspresyonundaki düşüş p53-bağımsız olduğu ortaya konulmuştur(139). ING2'nin hücre proliferasyonunda görev aldığı bilinmektedir. ING2'nin SnoN ve Smad2 ile etkileşime girerek TGFβ'ye bağımlı gen ekspresyonunu teşvik ederek hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur(142). Ek olarak, ING2'nin Fas



ekspresyonunu düzenlediği bulunmuş olup, ING2'nin mitokondrial/intrensik ve ölüm reseptörü/ekstensik apoptotik yolları ile ilişkisi kanıtlanmıştır(143).

Kutanöz melanom, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinom ve akciğer kanseri dahil birçok kanser türlerinde ING2 ekspresyonunun azaldığı bilinmektedir(16,147,148). ING2 heterozigosite kaybı, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarda ilerlemiş tümör evresi ile ilişkili olduğu bulunmuştur(147). HCC'de ING2 ekspresyonunun mRNA seviyesinde azaldığı, ancak protein seviyesinde değişmediği görülmüştür(149). ING2 RNA ekspresyonunun meme ve yumurtalık kanserleri, hepatosellüler karsinom ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında da azaldığı gösterilmiştir(148–151). Bununla birlikte, son veriler ING2'nin bir onkogen olarak da işlev görebileceği gösterilmiştir. İki farklı çalışmada, kolorektal kanserinde ING2 ekspresyonunun arttığı görülmüştür(146). Kumamoto ve ark. tarafından yapılan çalışmada, ING2 mRNA ekspresyonu artmış kolon kanserinde Matrix Metallo Proteinaz 13 ekspresyonunun arttığı, bunun da tümör invazyonunu ve metastaz oranını yükselttiği bulunmuştur. ING2a mRNA düzeyinin artmasındaki mekanizma NF-κB aktivasyonu ile olabileceği düşünülmüştür. Ancak, kesin olarak kolon kanserinde ING2'nin neden arttığı hala belirsizliğini korumaktadır(146). Benzer şekilde Burkitt lenfoma ve servikal karsinomlarda da ING2'nin aşırı eksprese olduğu izlenmiştir.

Çalışmamızın temel amacı tümör baskılayıcı ING2 geninin Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörlü hastalarda sağlam ve primer tümör dokusunda ekspresyon düzeylerinde farklılık olup-olmadığını araştırmaktır. İkinci amaç sağlam ve tümörlü doku arasında ING2 ekspresyonunda fark var ise bunun cinsiyet, tümör grade'i, sağkalım ve etiyoloji ile arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır. Daha önce Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörlerinde ING2 gen ekspresyonu araştırılmamış olsa da, Xiao-rui Han ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada sarkom türlerinden biri olan osteosarkomlarda ING2 mRNA ve nükleer ekspresyon düzeylerinin normal dokuya göre azaldığı ortaya konulmuştur ( $P<0.05$ ). Aynı çalışmada sitoplasmik ING2 düzeyinde normal dokuya göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır(163). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar primer tümör Delta Ct, Delta Delta Ct ortalamaları sağlam doku Delta Ct, Delta Delta Ct ortalamasından istatistiksel anlamlı bir fark bulundu. ( $p=0,032$ ). Delta Delta Ct değerinin artmış olması ING2 ekspresyon düzeyinin tümörlü hücrelerinde baskılandığı anlamına gelmektedir. Bu sonuçlar daha

önce yapılan çalışmalarla benzerdir göstermekte olup, ING2'nin bir tümör süpresor gen olduğunu desteklemektedir.

Xiao-rui Han ve ark. tarafından yapılan yine aynı çalışmada, osteosarkomlu hastalarda negatif ING2 nükleer ekspresyon düzeyi ile kötü prognoz arasında korrelasyon bulunmuştur. ( $P<0.05$ )(163). Bir başka çalışmada primer ve metastatik melanomlarda ING2 nükleer ekspresyonunun hem 5 yıllık genel, hem de hastalığa özgü sağkalımı etkilemediği görülmüştür( $P>0.05$ )(16). Benzer bir çalışmada ING2 ekspresyon düzeyinin küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu, adenokarsinom ve SCC de sağkalım üzerinde etkisi olmadığı izlenmiştir(151). Çalışmamızda ekspresyon farkı ve tanı aldıktan sonraki ölüm süresi arasında negatif yönlü, orta düzeyde korelasyon saptanmıştır. Ancak bu korrelasyonun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür( $p=0,153$ ).

Yapılan bir çalışmada patolojik evre 1 adenokarsinom (56%, 18/32) ve SCC (57%, 8/14)' de örneklerin çoğunda ING2 ekspresyon kaybı izlenmiş olsa da istatistiksel olarak patolojik evre 1,2,3 ve 4 ile ING2 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır(151). Bizim çalışmamızda da Grade 1,2 ve 3 gruplarının ekspresyon farkı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,186$ ). Ancak grade ve ekspresyon farkı arasında olumlu, orta düzeyde korrelasyon saptanmıştır. Ancak bu korrelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,067$ ). Aynı zamanda çalışmamızda cinsiyet ve tümör etiyojisi ile ekspresyon düzeyi arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Çalışmamızda 12 hastanın 2 sinde yeterli total RNA elde edilememiş, 10 hastada beta- aktin mRNA ölçülmesine rağmen ING2 mRNA düzeyleri ölçülememiştir. Parafinde fikse doku örneklerinin uygun ortamda saklanmaması, parafinizasyon öncesi dokuların uzun süre formalinde tutulması mRNA zincirinin parçalanmasına sebep olduğundan ING2 mRNA düzeyleri ölçülememiş olabilir(164). Aynı zamanda ING2 primer bağlanma bölgesinde mutasyon veya kırılma aynı sebepten amplifikasyonu bozmuş olabilir. Diğer taraftan Beta aktin düzeyleri ölçülerek ING2 düzeylerinin ölçülememesi akla mutasyonların olabileceğini getirmektedir. Daha önceki çalışmalarda ING2 geninde delesyon olduğu raporlanmamış olsa da ING2 geninin intron 1 ve ekson 1'de tek nükleotid polimorfizmi, ayrıca başka bir çalışmada 39.nükleotid üzerinde sessiz tek nükleotid polimorfizmi tespit edilmiştir(148,151).

Çalışmamızdaki ING2 tespitini yapamadığımız hastaların daha ileriki çalışmalarda mutasyondan dolayı mı, yoksa mRNA parçalanmasından dolayı mı olduğunu ileriki araştırmalarla tespit yapılması uygun olacaktır.



## 7 SONUÇ

Çalışmamızda Malign Periferik Sinir kılıfı Tümörlerinde ING2 gen ekspresyon düzeyi araştırılmış ve bu düzeyin azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçlarımız ING2 geninin tümör supresör gen olması konusunda diğer çalışmaları desteklediği görülmüştür. Buna rağmen cinsiyet, etiyoloji, FNCLLC grade ve sağkalım ile ekspresyon düzeyi arasında herhangi bir istatistiksel anlamlı fark veya korrelasyonun bulunmamıştır.

Daha önce literatürde Malign Periferik Sinir Kılıfı tümörlü hastalarda ING2 gen ekspresyon düzeyi araştırılmadığından çalışmamız ile MPSKT patogenezinin daha iyi anlaşılmasında yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Aynı zamanda plastik cerrahide takip ettiğimiz NF1 hastalarında gen taramaları ile malign transformasyonun erken teşhisinde yardımcı bir araç olacağını öngörmekteyiz.

ING2'in MPSKT hastalarının tanı ve tedavisinde kullanılma potansiyeli olduğunu düşünmekteyiz. Geleneksel kemoterapiye duyarsız olan hastalığın ileriki çalışmalarla deneysel gen terapisi için aday olacağını öngörmekteyiz. ING2'nin MPSKT karsinogenezindeki rolünü daha iyi anlamamız için birçok fonksiyonlarını moleküler düzeyde nasıl gerçekleştiğini daha fazla moleküler genetik çalışmalarla öğrenebiliriz.

Hasta sayısının az olması, gruplar arasında hasta sayısının homojen dağılmaması klinik parametrelerde anlamlı sonuç almamıza engel teşkil etmiştir. ING2 mRNA ekspresyon düzeyleri araştırılmış olmasına rağmen son ürünü olan ING2 protein düzeylerinin ölçülmemesi, heterozigotizm kaybı ve mutasyon varlığının araştırılmaması çalışmamızın eksik kalan yönleri olarak değerlendirilmiştir. İlerde yapılacak olan çalışmalarda bu kriterlerin değerlendirilmesi hastalığın moleküler düzeyde nasıl geliştiği ile ilgili bilgi sahibi olmamıza yardımcı olacağı düşüncesi oluşmuştur.

## 8 KAYNAKLAR

1. Zhixun Yang\*, Rongshou Zheng\*, Siwei Zhang, Hongmei Zeng, He Li WC. Incidence, distribution of histological subtypes and primary sites of soft tissue sarcoma in China. *Cancer Biol Med.* 2019;Aug;16(3):565–74.
2. Zou C, Smith KD, Liu J, Lahat G, Myers S, Wang WL, et al. Clinical, pathological, and molecular variables predictive of malignant peripheral nerve sheath tumor outcome. *Ann Surg.* 2009 Jun;249(6):1014-22
3. Ferner RE, Gutmann DH. International consensus statement on malignant peripheral nerve sheath tumors in neurofibromatosis. *Cancer Res.* 2002 Mar 1;62(5):1573-7.
4. Tucker T, Wolkenstein P, Revuz J, Zeller J, Friedman JM. Association between benign and malignant peripheral nerve sheath tumors in NF1. *Neurology.* 2005 Jul 26;65(2):205-11
5. Bradtmöller M, Hartmann C, Zietsch J, Jäschke S, Mautner VF, Kurtz A, et al. Impaired Pten expression in human malignant peripheral nerve sheath tumours. 2012;7(11):e47595.
6. Ducatman BS, Scheithauer BW, Piegras DG, Reiman HM, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumors. A clinicopathologic study of 120 cases. *Cancer.* 1986 May 15;57(10):2006-21.
7. Ducatman BS, Scheithauer BW. Postirradiation neurofibrosarcoma. *Cancer.* 1983 Mar 15;51(6):1028-33.
8. Shurell E, Tran LM, Nakashima J, Smith KB, Tam BM, Li Y, et al. Gender dimorphism and age of onset in malignant peripheral nerve sheath tumor preclinical models and human patients. *BMC Cancer.* 2014; Nov 15;14:827.
9. Angelov L, Davis A, O’Sullivan B, Bell R, Guha A. Neurogenic sarcomas: Experience at the University of Toronto. *Neurosurgery.* 1998; Jul;43(1):56-64
10. Santoro A, Tursz T, Mouridsen H, Verweij J, Steward W, Somers R, et al. Doxorubicin versus CYVADIC versus doxorubicin plus ifosfamide in first-line treatment of advanced soft tissue sarcomas: A randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *J Clin Oncol.* 1995; Jul;13(7):1537-45.
11. James AW, Shurell E, Singh A, Dry SM, Eilber FC. Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor. *Surg Oncol Clin N Am.* 2016;25(4):789–802.
12. Piche B, Li G. Inhibitor of growth tumor suppressors in cancer progression. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2010. Jun;67(12):1987-99.
13. Ythier D, Larrieu D, Brambilla C, Brambilla E, Pedoux R. The new tumor suppressor genes ING: Genomic structure and status in cancer. *International Journal of Cancer.* 2008. Oct 1;123(7):1483-90.

14. Nagashima M, Shiseki M, Miura K, Hagiwara K, Linke SP, Pedoux R, et al. DNA damage-inducible gene p33ING2 negatively regulates cell proliferation through acetylation of p53. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; Aug 14;98(17):9671-6.
15. Unoki M, Kumamoto K, Harris C. ING Proteins as Potential Anticancer Drug Targets. *Curr Drug Targets*. 2009; May;10(5):442-54.
16. Lu F, Dai DL, Martinka M, Ho V, Li G. Nuclear ING2 expression is reduced in human cutaneous melanomas. *Br J Cancer*. 2006; Jul 3;95(1):80-6.
17. Wang Y, Wang J, Li G. Leucine zipper-like domain is required for tumor suppressor ING2-mediated nucleotide excision repair and apoptosis. *FEBS Lett*. 2006; Jul 10;580(16):3787-93.
18. Perrin RG GA. Malignant peripheral nerve sheath tumors. *Neurosurg Clin N Am*. 2004;15:Neurosurg Clin N Am. 2004;15:203–216.
19. Farid M1, Demicco EG, Garcia R, Ahn L, Merola PR, Cioffi A MR. Malignant peripheral nerve sheath tumors. *Oncologist* [Internet]. 2014;Feb;19(2):193-201.  
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=farid+m+malignant+peripheric+berve>
20. Vauthey JN, Woodruff JM BM. Extremity malignant peripheral nerve sheath tumors (neurogenic sarcomas): a 10-year experience. *Ann Surg Oncol*. 1995;Mar;2(2):126–131.
21. Hruban RH, Shiu MH, Senie RT, Woodruff JM. Malignant peripheral nerve sheath tumors of the buttock and lower extremity. A study of 43 cases. *Cancer*. 1990; Sep 15;66(6):1253-65.
22. Ramanathan RC, Thomas JM. Malignant peripheral nerve sheath tumours associated with von Recklinghausen's neurofibromatosis. *Eur J Surg Oncol*. 1999; 1999 Apr;25(2):190-3.
23. McCarville MB. What MRI can tell us about neurogenic tumors and rhabdomyosarcoma. *Pediatric Radiology*. 2016. May;46(6):881-90.
24. Tora MS, Xenos D, Texakalidis P BN. Treatment of neurofibromatosis 1-associated malignant peripheral nerve sheath tumors: a systematic review. *Neurosurg Rev*. 2019;Jun 17:1–8.
25. Anghileri M, Miceli R, Fiore M, Mariani L, Ferrari A, Mussi C, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumors: Prognostic factors and survival in a series of patients treated at a single institution. *Cancer*. 2006.Sep 1;107(5):1065-74.
26. Kolberg M, Høland M, Agesen TH, Brekke HR, Liestøl K, Hall KS, et al. Survival meta-analyses for >1800 malignant peripheral nerve sheath tumor patients with and without neurofibromatosis type 1. *Neuro-Oncology*. 2013. Feb;15(2):135-47.
27. VasconcelosRAT, Coscarelli PG, Alvarenga RP A. Malignant peripheral nerve sheath tumor with and without neurofibromatosis type 1. *Arq Neuropsiquiatr*. 2017;75(6):366–371.
28. Gottfried ON, Viskochil DH, Couldwell WT. Neurofibromatosis Type 1 and tumorigenesis: Molecular mechanisms and therapeutic implications.

- Neurosurgical Focus. 2010. Jan;28(1):E8.
29. Jacks T, Shih TS, Schmitt EM, Bronson RT, Bernards A, Weinberg RA. Tumour predisposition in mice heterozygous for a targeted mutation in Nf1. *Nat Genet.* 1994; Jul;7(3):353-61.
  30. Brannan CI, Perkins AS, Vogel KS, Ratner N, Nordlund ML, Reid SW, et al. Targeted disruption of the neurofibromatosis type-1 gene leads to developmental abnormalities in heart and various neural crest-derived tissues. *Genes Dev.* 1994; May 1;8(9):1019-29.
  31. Serra E, Ars E, Ravella A, Sánchez A, Puig S, Rosenbaum T, et al. Somatic NF1 mutational spectrum in benign neurofibromas: MRNA splice defects are common among point mutations. *Hum Genet.* 2001;
  32. Messiaen LM, Callens T, Mortier G, Beysen D, Vandenbroucke I, Van Roy N, et al. Exhaustive mutation analysis of the NF1 gene allows identification of 95% of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects. *Hum Mutat.* 2000; May;108(5):416-29.
  33. Fahsold R, Hoffmeyer S, Mischung C, Gille C, Ehlers C, Kückceylan N, et al. Minor lesion mutational spectrum of the entire NF1 gene does not explain its high mutability but points to a functional domain upstream of the GAP-related domain. *Am J Hum Genet.* 2000; Mar;66(3):790-818.
  34. Alkindy A, Chuzhanova N, Kini U, Cooper DN, Upadhyaya M. Genotype-phenotype associations in neurofibromatosis type 1 (NF1): An increased risk of tumor complications in patients with NF1 splice-site mutations? *Hum Genomics.* 2012; Aug 13;6:12.
  35. Messiaen LM, Wimmer K. NF1 mutational spectrum. *Monogr Hum Genet.* 2008; vol 16,63-77.
  36. Arun D, Gutmann DH. Recent advances in neurofibromatosis type 1. *Current Opinion in Neurology.* 2004; Apr;17(2):101-5.
  37. GUTMANN JLAADH. Neurofibromatosis type 1. In: *Handbook of Clinical Neurology, Vol 132 (3rd series) Neurocutaneous Syndromes.* 2015. p. 75–86.
  38. Hirbe AC, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1: A multidisciplinary approach to care. *The Lancet Neurology.* 2014. Aug;13(8):834-43.
  39. Malbari F, Spira M, Knight PB, Zhu C, Roth M, Gill J, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumors in neurofibromatosis: Impact of family history. In: *Journal of Pediatric Hematology/Oncology.* 2018. Aug;40(6):e359-e363.
  40. Ki DH, He S, Rodig S, Look AT. Overexpression of PDGFRA cooperates with loss of NF1 and p53 to accelerate the molecular pathogenesis of malignant peripheral nerve sheath tumors. *Oncogene.* 2017;
  41. Holtkamp N, Mautner VF, Friedrich RE, Harder A, Hartmann C, Theallier-Janko A, et al. Differentially expressed genes in neurofibromatosis 1-associated neurofibromas and malignant peripheral nerve sheath tumors. *Acta Neuropathol.* 2004; Feb 23;36(8):1058-1068.
  42. Weiss SW, Goldblum JR, Folpe AL. Enzinger and Weiss's *SOFT TISSUE TUMORS SIXTH EDITION* Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors chapter 28. 2014. 855–879 p.
  43. Carroll SL. Molecular mechanisms promoting the pathogenesis of Schwann

- cell neoplasms. *Acta Neuropathologica*. 2012. Mar;123(3):321-48.
44. Daimaru Y, Hashimoto H, Enjoji M. Malignant peripheral nerve sheath tumors (malignant schwannomas): An immunohistochemical study of 29 cases. *Am J Surg Pathol*. 1985; Jun;9(6):434-44.
  45. D'Agostino AN, Soule EH, Miller RH. Primary malignant neoplasms of nerves (Malignant neurilemmomas) in patients without manifestations of multiple neurofibromatosis (von Recklinghausen's disease). *Cancer*. 1963;
  46. D'Agostino AN, Soule EH, Miller RH. Sarcomas of the peripheral nerves and somatic soft tissues associated with multiple neurofibromatosis (von Recklinghausen's disease). *Cancer*. 1963; Aug;16: 1003-14.
  47. Bojsen-Moller M, Myhre-Jensen O. A consecutive series of 30 malignant schwannomas. Survival in relation to clinico-pathological parameters and treatment. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand - Sect A Pathol*. 1984;
  48. Guccion JG EF. Malignant Schwannoma associated with von Recklinghausen's neurofibromatosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 383(1):43-57.
  49. Sorensen SA, Mulvihill JJ, Nielsen A. Long-term follow-up of von Recklinghausen neurofibromatosis: survival and malignant neoplasms. *N Engl J Med*. 1986; Apr 17;314(16):1010-5.
  50. Kamran SC, Shinagare AB, Howard SA, Hornick JL, Ramaiya NH. A-Z of malignant peripheral nerve sheath tumors. *Cancer Imaging*. 2012. Oct 26;12:475-83.
  51. Simon C. Kao. Overview of the clinical and imaging features of the most common non-rhabdomyosarcoma soft-tissue sarcomas. *Pediatr Radiol*. Volume 49(Issue 11):1524–1533.
  52. Murphey MD, Smith WS, Smith SE, Kransdorf MJ, Temple HT. From the archives of the AFIP: Imaging of musculoskeletal neurogenic tumors: Radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 1999; Sep-Oct;19(5):1253-80.
  53. Rafailidis V, Kaziani T, Theocharides C, Papanikolaou A, Rafailidis D. Imaging of the malignant peripheral nerve sheath tumour with emphasis on ultrasonography: Correlation with MRI. *J Ultrasound*. 2014; May 21;17(3):219-23.
  54. Levy AD, Patel N, Dow N, Abbott RM, Miettinen M, Sobin LH. Abdominal neoplasms in patients with neurofibromatosis type 1: Radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 2005; Mar-Apr;25(2):455-80.
  55. Van Herendael BH, Heyman SRG, Vanhoenacker FM, De Temmerman G, Bloem JL, Parizel PM, et al. The value of magnetic resonance imaging in the differentiation between malignant peripheral nerve-sheath tumors and non-neurogenic malignant soft-tissue tumors. *Skeletal Radiology*. 2006.
  56. Mautner VF, Friedrich RE, von Deimling A, Hagel C, Korf B, Knöfel MT, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumours in neurofibromatosis type 1: MRI supports the diagnosis of malignant plexiform neurofibroma. *Neuroradiology*. 2003; Oct;35(10):745-53.
  57. Wasa J, Nishida Y, Tsukushi S, Shido Y, Sugiura H, Nakashima H, et al. MRI



- features in the differentiation of malignant peripheral nerve sheath tumors and neurofibromas. *Am J Roentgenol.* 2010; Jun;194(6):1568-74.
58. Li CS, Huang GS, Wu H Da, Chen WT, Shih LS, Lii JM, et al. Differentiation of soft tissue benign and malignant peripheral nerve sheath tumors with magnetic resonance imaging. *Clin Imaging.* 2008; Mar-Apr;32(2):121-7.
  59. Matsumine A, Kusuzaki K, Nakamura T, Nakazora S, Niimi R, Matsubara T, et al. Differentiation between neurofibromas and malignant peripheral nerve sheath tumors in neurofibromatosis 1 evaluated by MRI. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009; Jul;135(7):891-900.
  60. Derlin T, Tornquist K, Münster S, Apostolova I, Hagel C, Friedrich RE, Wedegärtner U, Mautner VF. et al. Comparative effectiveness of F-18 FDG-PET/CT versus whole-body mri for the detection of malignant peripheral nerve sheath tumors in patients with neurofibromatosis type 1. *NuklearMedizin.* 2013 Jan;38(1):e19-25.
  61. Demehri S, Belzberg A, Blakeley J, Fayad LM. Conventional and functional MR imaging of peripheral nerve sheath tumors: Initial experience. *Am J Neuroradiol.* 2014; Aug;35(8):1615-20.
  62. Raad R, Lala S, Allen J, Babb J, Mitchell C, Franceschi A, et al. Comparison of hybrid 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/magnetic resonance imaging and positron emission tomography/computed tomography for evaluation of peripheral nerve sheath tumors in patients with neurofibromatosis type 1. *World J Nucl Med.* 2018; Oct-Dec;17(4):241-248.
  63. Warbey VS, Ferner RE, Dunn JT, Calonje E, O'Doherty MJ. FDG PET/CT in the diagnosis of malignant peripheral nerve sheath tumours in neurofibromatosis type-1. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009; May;36(5):751-7.
  64. Sharif S, Ferner R, Birch JM, Gillespie JE, Gattamaneni HR, Baser ME, et al. Second primary tumors in neurofibromatosis 1 patients treated for optic glioma: Substantial risks after radiotherapy. *Journal of Clinical Oncology.* 2006. Jun 1;24(16):2570-5.
  65. Madden JR, Rush SZ, Stence N, Foreman NK, Liu AK. Radiation-induced gliomas in 2 pediatric patients with neurofibromatosis type 1: Case study and summary of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2014; Mar;36(2):e105-8.
  66. Graham DS, Russell TA, Eckardt MA, Motamedi K, Seeger LL, Singh AS, et al. Oncologic Accuracy of Image-guided Percutaneous Core-Needle Biopsy of Peripheral Nerve Sheath Tumors at a High-volume Sarcoma Center. *Am J Clin Oncol.* 2019; Oct;42(10):739-743.
  67. Gachiani J, Kim D, Nelson A, Kline D. Surgical management of malignant peripheral nerve sheath tumors. *Neurosurg Focus.* 2007; Jun 15;22(6):E13.
  68. Skovronsky DM, Oberholtzer JC. Pathologic classification of peripheral nerve tumors. *Neurosurgery Clinics of North America.* 2004. Apr;15(2):157-66.
  69. Cotran R, Kumar V RS. Cotran R, Kumar V, Robbins S. Robbins' pathologic basis of disease. Philadelphia: Saunders; 1994.
  70. Trojanowski JQ, Kleinman GM PK. Malignant tumors of nerve sheath origin. *Cancer.* 1980; Sep 1;46(5):1202-12.

71. Wilson AN, Davis A, Bell RS, O'Sullivan B, Catton C, Madadi F, et al. Local control of soft tissue sarcoma of the extremity: The experience of a multidisciplinary sarcoma group with definitive surgery and radiotherapy. *Eur J Cancer*. 1994; 30A(6):746-51.
72. King R, Busam K, Rosai J. Metastatic malignant melanoma resembling malignant peripheral nerve sheath tumor: Report of 16 cases. *Am J Surg Pathol*. 1999; Dec;23(12):1499-505.
73. Bilge B, Ates LE, Demiryont M et al. Malignant peripheral nerve sheath tumors associated with neurofibromatosis Type 1. *Pathol Oncol Res*. 2000;9:201-5.
74. Nambisan RN, Rao U, Moore R et al. Malignant soft tissue tumors of nerve sheath origin. *J Surg Oncol*. 1984;25(4):268-72.
75. Gupta G, Mammis A MA. Malignant peripheral nerve sheath tumors. *Neurosurg Clin N Am*. 2008;Oct;19(4):533-43.
76. Cormier JN PR. Soft tissue sarcomas. *CA Cancer J Clin*. 2004;Mar-Apr;54:94-109.
77. Cates JMM. The AJCC 8th edition staging system for soft tissue sarcoma of the extremities or trunk: A Cohort study of the SEER database. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw*. 2018; Feb;16(2):144-152.
78. Tanaka K, Ozaki T. New TNM classification (AJCC eighth edition) of bone and soft tissue sarcomas: JCOG Bone and Soft Tissue Tumor Study Group. *Japanese Journal of Clinical Oncology*. 2019. Feb 1;49(2):103-107.
79. Steffner RJ, Jang ES. Staging of Bone and Soft-Tissue Sarcomas. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2018. Jul 1;26(13):e269-e278.
80. Sbaraglia M, Dei Tos AP. The pathology of soft tissue sarcomas. *Radiologia Medica*. 2019. Apr;124(4):266-281.
81. Amin M, Edge SB, Greene FL, Byrd D, Brookland R, Washington M, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th edition. Springer. 2017. Mar;67(2):93-99.
82. Feng CJ, Ma H, Liao WC. Superficial or cutaneous malignant peripheral nerve sheath: Tumor - Clinical experience at Taipei Veterans General Hospital. *Ann Plast Surg*. 2015; May;74 Suppl 2:S85-8.
83. Baehring JM, Betensky RA, Batchelor TT. Malignant peripheral nerve sheath tumor: The clinical spectrum and outcome of treatment. *Neurology*. 2003; May;74 Suppl 2:S85-8.
84. Bramwell V, Rouesse J, Steward W, Santoro A, Schraffordt-Koops H, Buesa J, et al. Adjuvant CYVADIC chemotherapy for adult soft tissue sarcoma - Reduced local recurrence but no improvement in survival: A study of the European Organization for research and treatment of cancer soft tissue and bone sarcoma group. *J Clin Oncol*. 1994; Jun;12(6):1137-49.
85. Stucky CCH, Johnson KN, Gray RJ, Pockaj BA, Ocal IT, Rose PS, et al. Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors (MPNST): The Mayo Clinic experience. *Ann Surg Oncol*. 2012; Mar;19(3):878-85.
86. Bredella MA, Torriani M, Hornicek F, Ouellette HA, Palmer WE, Williams Z, et al. Value of PET in the assessment of patients with neurofibromatosis type

- I. Am J Roentgenol. 2007; Oct;189(4):928-35.
87. Kattan MW, Leung DHY, Brennan MF. Postoperative nomogram for 12-year sarcoma-specific death. *J Clin Oncol.* 2002; Feb 1;20(3):791-6.
  88. Meany H, Widemann BC, Ratner N. Malignant peripheral nerve sheath tumors: Prognostic and diagnostic markers and therapeutic targets. In: *Neurofibromatosis Type 1: Molecular and Cellular Biology.* 2012. Nov:445-467
  89. Kourea HP, Orlow I, Scheithauer BW, Cordon-Cardo C, Woodruff JM. Deletions of the INK4A gene occur in malignant peripheral nerve sheath tumors but not in neurofibromas. *Am J Pathol.* 1999; Dec;155(6):1855-60.
  90. Wong WW, Hirose T, Scheithauer BW, Schild SE, Gunderson LL. Malignant peripheral nerve sheath tumor: Analysis of treatment outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1998; Sep 1;42(2):351-60.
  91. Temel M, Turkmen A, Dokuyucu R, Cevik C, Oztuzcu S, Cengiz B MM. A novel tumor suppressor gene in basal cell carcinoma: inhibition of growth factor-2. *Tumour Biol.* 2015;Jun;36(6):4611-6.
  92. Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. The cell cycle: A review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Proliferation.* 2003. Jun;36(3):131-49.
  93. Cabadak H. Hücre siklusu ve kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Derg.* 2008;9(3):51-61.
  94. Guérillon C, Larrieu D, Pedoux R. ING1 and ING2: Multifaceted tumor suppressor genes. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2013. Oct;70(20):3753-72.
  95. Unoki M, Kumamoto K, Takenoshita S, Harris CC. Reviewing the current classification of inhibitor of growth family proteins. *Cancer Science.* 2009.
  96. Jafarnejad SM, Li G. Regulation of p53 by ING family members in suppression of tumor initiation and progression. *Cancer metastasis reviews.* 2012. Jul;100(7):1173-9.
  97. Coles AH, Jones SN. The ING gene family in the regulation of cell growth and tumorigenesis. *Journal of Cellular Physiology.* 2009. Jan;218(1):45-57.
  98. Garkavtsev I, Kazarov A, Gudkov A, Riabowol K. Suppression of the novel growth inhibitor p33(ING1) promotes neoplastic transformation. *Nat Genet.* 1996; Dec;14(4):415-20.
  99. Aasland R, Gibson TJ, Stewart AF. The PHD finger: Implications for chromatin-mediated transcriptional regulation. *Trends Biochem Sci.* 1995; Feb;20(2):56-9.
  100. Bienz M. The PHD finger, a nuclear protein-interaction domain. *Trends in Biochemical Sciences.* 2006. Jan;31(1):35-40.
  101. Ha S, Park S, Yun CH, Choi Y. Characterization of nuclear localization signal in mouse ING1 homolog protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; Apr 26;293(1):163-6.
  102. Scott M. UV induces nucleolar translocation of ING1 through two distinct nucleolar targeting sequences. *Nucleic Acids Res.* 2001; May 15;29(10):2052-8.

103. Gong W, Suzuki K, Russell M, Riabowol K. Function of the ING family of PHD proteins in cancer. Vol. 37, International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 2005. p. 1054–65.
104. Zhang X, Wang KS, Wang ZQ, Xu LS, Wang QW, Chen F, et al. Nuclear localization signal of ING4 plays a key role in its binding to p53. Biochem Biophys Res Commun. 2005; 331(4):1032-1038
105. Campos EI, Chin MY, Kuo WH, Li G. Biological functions of the ING family tumor suppressors. Cellular and Molecular Life Sciences. 2004.
106. Aguisa-Touré AH, Wong RPC, Li G. The ING family tumor suppressors: From structure to function. Cellular and Molecular Life Sciences. 2011. Oct;61(19-20):2597-613.
107. Soliman MA, Riabowol K. After a decade of study-ING, a PHD for a versatile family of proteins. Trends in Biochemical Sciences. 2007. Nov;32(11):509-19. Epub 2007 Oct 18.
108. Garkavtsev I, Kozin S V., Chernova O, Xu L, Winkler F, Brown E, et al. The candidate tumour suppressor protein ING4 regulates brain tumour growth and angiogenesis. Nature. 2004; Mar 18;428(6980):328-32.
109. Doyon Y, Cayrou C, Ullah M, Landry AJ, Côté V, Selleck W, et al. ING tumor suppressor proteins are critical regulators of chromatin acetylation required for genome expression and perpetuation. Mol Cell. 2006; Jan 6;21(1):51-64.
110. Ohgi T, Masaki T, Nakai S, Morishita A, Yukimasa S, Nagai M, et al. Expression of p33ING1 in hepatocellular carcinoma: Relationships to tumour differentiation and cyclin E kinase activity. Scand J Gastroenterol. 2002; Dec;37(12):1440-8.
111. Garkavtsev I, Riabowol K. Extension of the replicative life span of human diploid fibroblasts by inhibition of the p33ING1 candidate tumor suppressor. Mol Cell Biol. 1997; Apr;17(4):2014-9.
112. Tsang FC, Po LS, Leung KM, Lau A, Siu WY, Poon RYC. ING1b decreases cell proliferation through p53-dependent and -independent mechanisms. FEBS Lett. 2003; Oct 23;553(3):277-85.
113. Helbing GC, Veillette C, Riabowol K, Johnston RN, Garkavtsev I. A novel candidate tumor suppressor, ING1, is involved in the regulation of apoptosis. Cancer Res. 1997; Apr 1;57(7):1255-8.
114. Cheung KJ, Li G. p33ING1 enhances UVB-induced apoptosis in melanoma cells. Exp Cell Res. 2002; Oct 1;279(2):291-8.
115. Wang Y, Li G. ING3 promotes UV-induced apoptosis via Fas/caspase-8 pathway in melanoma cells. J Biol Chem. 2006; Apr 28;281(17):11887-93.
116. Li Z, Xie Y, Sheng W, Miao J, Xiang J, Yang J. Tumor-suppressive effect of adenovirus-mediated inhibitor of growth 4 gene transfer in breast carcinoma cells in vitro and in vivo. Cancer Biother Radiopharm. 2010; Aug;25(4):427-37.
117. Xie Y, Sheng W, Miao J, Xiang J, Yang J. Enhanced antitumor activity by combining an adenovirus harboring ING4 with cisplatin for hepatocarcinoma cells. Cancer Gene Ther. 2011; Mar;18(3):176-88.

118. Kichina J V., Zeremski M, Aris L, Gurova K V., Walker E, Franks R, et al. Targeted disruption of the mouse *ing1* locus results in reduced body size, hypersensitivity to radiation and elevated incidence of lymphomas. *Oncogene*. 2006; Feb 9;25(6):857-66.
119. Allard S, Masson JY, Côté J. Chromatin remodeling and the maintenance of genome integrity. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Structure and Expression*. 2004. 1677(1-3):158-164
120. Wang J, Chin MY, Li G. The novel tumor suppressor p33ING2 enhances nucleotide excision repair via inducement of histone H4 acetylation and chromatin relaxation. *Cancer Res*. 2006; Feb 15;66(4):1906-11.
121. Kuo WHW, Wang Y, Wong RPC, Campos EI, Li G. The ING1b tumor suppressor facilitates nucleotide excision repair by promoting chromatin accessibility to XPA. *Exp Cell Res*. 2007; May 1;313(8):1628-38. Epub 2007 Feb 22.
122. Garkavtsev I, Grigorian IA, Ossovskaya VS, Chernov M V., Chumakov PM, Gudkov A V. The candidate tumour suppressor p33(ING1) cooperates with p53 in cell growth control. *Nature*. 1998; Jan 15;391(6664):295-8.
123. Shinoura N, Muramatsu Y, Nishimura M, Yoshida Y, Saito A, Yokoyama T, et al. Adenovirus-mediated transfer of p33(ING1) with p53 drastically augments apoptosis in gliomas. *Cancer Res*. 1999; Nov 1;59(21):5521-8.
124. Shimada H, Liu TL, Ochiai T, Shimizu T, Haupt Y, Hamada H, et al. Facilitation of adenoviral wild-type p53-induced apoptotic cell death by overexpression of p33ING1 in T.Tn human esophageal carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; Feb 14;21(8):1208-16.
125. Cheung JJJ, Bush JA, Jia W, Li G. Expression of the novel tumour suppressor p33(ING1) is independent of p53. *Br J Cancer*. 2000; Dec;83(11):1468-72.
126. Doyon Y, Selleck W, Lane WS, Tan S, Cote J. Structural and Functional Conservation of the NuA4 Histone Acetyltransferase Complex from Yeast to Humans. *Mol Cell Biol*. 2004; Mar;24(5):1884-96.
127. Leung KM, Po LS, Tsang FC, Siu WY, Lau A, Ho HTB, et al. The candidate tumor suppressor ING1b can stabilize p53 by disrupting the regulation of p53 by MDM2. *Cancer Res*. 2002; Sep 1;62(17):4890-3.
128. Nagashima M, Shiseki M, Pedoux RM, Okamura S, Kitahama-Shiseki M, Miura K, et al. A novel PHD-finger motif protein, p47ING3, modulates p53-mediated transcription, cell cycle control, and apoptosis. *Oncogene*. 2003; Jan 23;22(3):343-50.
129. Sakaguchi K, Herrera JE, Saito S, Miki T, Bustin M, Vassilev A, et al. DNA damage activates p53 through a phosphorylation-acetylation cascade. *Genes Dev*. 1998; Sep 15;12(18):2831-41.
130. Gu W, Roeder RG. Activation of p53 sequence-specific DNA binding by acetylation of the p53 C-terminal domain. *Cell*. 1997; Aug 22;90(4):595-606.
131. Shiseki M, Nagashima M, Pedoux RM, Kitahama-Shiseki M, Miura K, Okamura S, et al. p29ING4 and p28ING5 bind to p53 and p300, and enhance p53 activity. *Cancer Res*. 2003; May 15;63(10):2373-8.
132. Tallen UG, Truss M, Kunitz F, Wellmann S, Unryn B, Sinn B, et al. Down-

- regulation of the inhibitor of growth 1 (ING1) tumor suppressor sensitizes p53-deficient glioblastoma cells to cisplatin-induced cell death. *J Neurooncol.* 2008; Jan;86(1):23-30. Epub 2007 Sep 1.
133. Perkins ND. NF- $\kappa$ B: Tumor promoter or suppressor? *Trends Cell Biol.* 2004; Feb;14(2):64-9.
  134. Feng X, Bonni S, Riabowol K. HSP70 Induction by ING Proteins Sensitizes Cells to Tumor Necrosis Factor Alpha Receptor-Mediated Apoptosis. *Mol Cell Biol.* 2006; Dec;26(24):9244-55. Epub 2006 Oct 9.
  135. Malhotra V, Wong HR. Interactions between the heat shock response and the nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway. In: *Critical Care Medicine.* 2002. Jan;30(1 Suppl):S89-95.
  136. Ran R, Lu A, Zhang, Tang Y, Zhu H, Xu H, et al. Hsp70 promotes TNF-mediated apoptosis by binding IKK $\gamma$  and impairing NF- $\kappa$ B survival signaling. *Genes Dev.* 2004; Jun 15;18(12):1466-81.
  137. Shi Y, Tu Z, Tang D, Zhang H, Liu M, Wang K, et al. The inhibition of LPS-induced production of inflammatory cytokines by HSP70 involves inactivation of the NF- $\kappa$ B pathway but not the MAPK pathways. *Shock.* 2006; Sep;26(3):277-84.
  138. Gozani O, Karuman P, Jones DR, Ivanov D, Cha J, Lugovskoy AA, et al. The PHD finger of the chromatin-associated protein ING2 functions as a nuclear phosphoinositide receptor. *Cell.* 2003; Jul 11;114(1):99-111.
  139. Smith KT, Martin-Brown SA, Florens L, Washburn MP, Workman JL. Deacetylase Inhibitors Dissociate the Histone-Targeting ING2 Subunit from the Sin3 Complex. *Chem Biol.* 2010; Jan 29;17(1):65-74.
  140. Pedeux R, Sengupta S, Shen JC, Demidov ON, Saito S, Onogi H, et al. ING2 Regulates the Onset of Replicative Senescence by Induction of p300-Dependent p53 Acetylation. *Mol Cell Biol.* 2005; Aug;25(15):6639-48.
  141. Kumamoto K, Spillare EA, Fujita K, Horikawa I, Yamashita T, Appella E, et al. Nutlin-3a activates p53 to both down-regulate inhibitor of growth 2 and up-regulate mir-34a, mir-34b, and mir-34c expression, and induce senescence. *Cancer Res.* 2008; May 1;68(9):3193-203.
  142. Sarker KP, Kataoka H, Chan A, Netherton SJ, Pot I, Huynh MA, et al. ING2 as a novel mediator of transforming growth factor- $\beta$ -dependent responses in epithelial cells. *J Biol Chem.* 2008; May 9;283(19):13269-79.
  143. Chin MY, Ng KCP, Li G. The novel tumor suppressor p33ING2 enhances UVB-induced apoptosis in human melanoma cells. *Exp Cell Res.* 2005;
  144. Unoki M, Kumamoto K, Robles AI, Shen JC, Zheng ZM, Harris CC. A novel ING2 isoform, ING2b, synergizes with ING2a to prevent cell cycle arrest and apoptosis. *FEBS Lett.* 2008; Apr 1;304(2):531-43. Epub 2004 Dec 19.
  145. Shimada Y, Saito A, Suzuki M, Takahashi E, Horie M. Cloning of a novel gene (ING1L) homologous to ING1, a candidate tumor suppressor. *Cytogenet Cell Genet.* 1998; 83(3-4):232-5.
  146. Kumamoto K, Fujita K, Kurotani R, Saito M, Unoki M, Hagiwara N, et al. ING2 is upregulated in colon cancer and increases invasion by enhanced MMP13 expression. *Int J Cancer.* 2009; Sep 15;125(6):1306-15.

147. Borkosky SS, Gunduz M, Nagatsuka H, Beder LB, Gunduz E, Al Sheikh Ali M, et al. Frequent deletion of ING2 locus at 4q35.1 associates with advanced tumor stage in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009; May;135(5):703-13.
148. Okano T, Gemma A, Hosoya Y, Hosomi Y, Nara M, Kokubo Y, et al. Alterations in novel candidate tumor suppressor genes, ING1 and ING2 in human lung cancer. *Oncol Rep.* 2006; Mar;15(3):545-9.
149. Zhang H kun, Pan K, Wang H, Weng D sheng, Song H feng, Zhou J, et al. Decreased expression of ING2 gene and its clinicopathological significance in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett.* 2008; Mar 18;261(2):183-92. Epub 2007 Dec 21.
150. Walzak AA, Veldhoen N, Feng X, Riabowol K, Helbing CC. Expression profiles of mRNA transcript variants encoding the human inhibitor of growth tumor suppressor gene family in normal and neoplastic tissues. *Exp Cell Res.* 2008; Jan 15;314(2):273-85. Epub 2007 Aug 2.
151. Ythier D, Brambilla E, Binet R, Nissou D, Vesin A, de Fraipont F, et al. Expression of candidate tumor suppressor gene ING2 is lost in non-small cell lung carcinoma. *Lung Cancer.* 2010; Aug;69(2):180-6.
152. Satpathy S, Nabbi A, Riabowol K. RegulatING chromatin regulators: Post-translational modification of the ING family of epigenetic regulators. *Biochemical Journal.* 2013. Mar 15;450(3):433-42.
153. Gournay M, Paineau M, Archambeau J, Pedoux R. Regulat-INGs in tumors and diseases: Focus on ncRNAs. *Cancer Letters.* 2019. Apr 10;447:66-74.
154. Wang Y, Dai DL, Martinka M, Li G. Prognostic significance of nuclear ING3 expression in human cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res.* 2007; Jul 15;13(14):4111-6.
155. Gunduz M, Beder LB, Gunduz E, Nagatsuka H, Fukushima K, Pehlivan D, et al. Downregulation of ING3 mRNA expression predicts poor prognosis in head and neck cancer. *Cancer Sci.* 2008; Mar;99(3):531-8. Epub 2007 Dec 15.
156. Qian F, Hu Q, Tian Y, Wu J, Li D, Tao M, et al. ING4 suppresses hepatocellular carcinoma via a NF- $\kappa$ B/miR-155/FOXO3a signaling axis. *Int J Biol Sci.* 2019; 15(2):369-385.
157. Colla S, Tagliaferri S, Morandi F, Lunghi P, Donofrio G, Martorana D, et al. The new tumor-suppressor gene inhibitor of growth family member 4 (ING4) regulates the production of proangiogenic molecules by myeloma cells and suppresses hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) activity: Involvement in myeloma-induced angiogenesis. *Blood.* 2007; Dec 15;110(13):4464-75. Epub 2007 Sep 11.
158. Li J, Martinka M, Li G. Role of ING4 in human melanoma cell migration, invasion and patient survival. *Carcinogenesis.* 2008; Jul;29(7):1373-9.
159. Barlak N, Capik O, Sanli F, Kilic A, Aytatli A, Yazici A, et al. ING5 inhibits cancer aggressiveness by inhibiting Akt and activating p53 in prostate cancer. *Cell Biol Int.* 2019; 44 (1), 242-252
160. Tallen G, Riabowol K. Keep-ING balance: Tumor suppression by epigenetic

- regulation. FEBS Letters. 2014. Aug 19;588(16):2728-42.
161. Türkmen A KM. Skuamöz hücreli karsinomda ING-2 gen fonksiyonlarının çalışılması.. (Yayınlanmamış Tez). İstanbul Üniversitesi, Türkiye. 2016.
  162. Türkmen A K. MALIGN MELANOMDA ING-2 GEN FONKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI.(Yayınlanmamış Tez). İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Türkiye. 2018;
  163. Han XR, Bai XZ, Sun Y, Yang Y. Nuclear ING2 expression is reduced in osteosarcoma. Oncol Rep. 2014; Nov;32(5):1967-72.
  164. Lehmann U, Kreipe H. Real-time PCR analysis of DNA and RNA extracted from formalin-fixed and paraffin-embedded biopsies. Methods. 2001; Dec;25(4):409-18.





## 9 ÖZGEÇMİŞ

Adı soyadı: Şamil SÜLEYMANOV

Doğum tarihi:19.11.1986

Yabancı dil bilgisi: İngilizce, Rusça

Görev yeri: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Plastik,Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi

E-posta adresi:samul1986@hotmail.com

Telefon:+90 506 616 79 95

# MALİGN PERİFERİK SİNİR KILIFI TÜMÖRÜNDE ING-2 GEN FONKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI

## ORIJINALLIK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET  
KAYNAKLARI

%4

YAYINLAR

%6

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

## BIRINCIL KAYNAKLAR

1

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%1

2

www.db-thueringen.de

İnternet Kaynağı

%1

3

academic.oup.com

İnternet Kaynağı

<%1

4

documents.tips

İnternet Kaynağı

<%1

5

Submitted to Fatih University

Öğrenci Ödevi

<%1

6

acikerisim.deu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

7

link.springer.com

İnternet Kaynağı

<%1

8

Submitted to Mansoura University

Öğrenci Ödevi

<%1