

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

60586

**YUMUŞAK DOKU SARKOMLARINDA PROLİFERATİF
AKTİVİTENİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
YÖNTEMLE BELİRLENMESİ
PCNA (PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTİGEN)
VE Kİ-67 REAKTİVİTESİ**

TEZ YÖNETİCİSİ
DOÇ.DR.CANAN ERSÖZ

UZMANLIK TEZİ
DR.ÖZLEM AYDIN

ADANA 1997

**Bu alışma, Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
(TF.95.28 ve TF.95U.7)**

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. YUMUŞAK DOKU TANIMI, KAPSADIĞI DOKULAR VE EMBRİYOLOJİSİ	2
2.2. YUMUŞAK DOKU TÜMÖRLERİ (YDT)'NİN İNSİDANSI	2
2.3. YUMUŞAK DOKU SARKOMLARI (YDS)'NİN LOKALİZASYONU	4
2.4. YDS'NİN PATOGENEZİSİ	4
2.4.1. Çevresel Faktörler	5
2.4.1.a. Travma	5
2.4.1.b. Çevresel Karsinojenler	5
2.4.1.c. Onkojenik Virüsler	6
2.4.1.d. İmmunolojik Faktörler	6
2.4.1.e. Genetik Faktörler	6
2.5. YDT'NİN SINIFLANDIRILMASI	7
2.6. YDT'DE KLİNİK VE RADYOLOJİK BULGULAR	17
2.7. YARDIMCI TANI YÖNTEMLERİ	18
2.7.1. Histokimya	18
2.7.2. İmmunohistokimya	19
2.7.3. Elektron Mikroskobu	21
2.7.4. DNA Sitometri	23
2.7.5. Sitogenetik	23
2.7.6. Moleküler Genetik	24
2.8. YDS'DA GRADELENDİRME SİSTEMLERİ	25
2.8.1. Gradelendirmede Limitasyonlar ve Yanılıya Yol Açan Faktörler	27
2.9. YDS'DA EVRELENDİRME SİSTEMLERİ	27
2.9.1. Evrelendirme Sistemlerinin Avantaj ve Dezavantajları	30
2.10. YDS'DA MOLEKÜLER BİYOLOJİ	30
2.11. YDS'DA PROGNOZU ETKİLEYEN FAKTÖRLER	32
2.12. PROLİFERATİF AKTİVİTE VE YDS'DA PROGNOZA ETKİSİ	35
2.12.1. Hücre siklüsü	35
2.12.2. Hücresel Proliferasyonu Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler	36
2.12.2.a. Mitoz	36
2.12.2.b. DNA İçeriğinin Belirlenmesi	36
2.12.2.c. Nükleol Düzenleyici Bölgeler	37
2.12.2.d. İmmunohistokimyasal Yöntemler	38
2.12.3. YDS'da Proliferatif Aktivitenin Prognoza Etkisi	41

2.13. YDS'DA TEDAVİ	43
2.14. YDS HAKKINDA KISA BİLGİLER	44
2.14.1. Malign Fibröz Histiositoma	44
2.14.2. Liposarkoma	46
2.14.3. Fibrosarkoma	48
2.14.4. Rabdomyosarkoma	49
2.14.5. Leiomyosarkoma	51
2.14.6 Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümörleri	53
2.14.7. Sinovyal Sarkoma	54
2.14.8. Anjiosarkoma	55
2.15. İMMÜNPEROKSİDAZ YÖNTEMLER	56
2.15.1. Peroksidaz-Antiperoksidaz Yöntemi	57
2.15.2. Avidin-Biotin Kompleks Yöntemi	58
3. MATERYAL-METOD	59
3.1. MATERYAL	59
3.2. HİSTOTİP VE GRADE	59
3.3. İMMÜNOHİSTOKİMYA	60
3.4. PROLİFERATİF AKTİVİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ	63
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	63
4. BULGULAR	64
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇLAR	83
7. TÜRKÇE ÖZET	85
8. KAYNAKLAR	86

TABLO LİSTESİ

- Tablo I. Geniş serilere dayanan son çalışmalara göre yumuşak doku sarkomları (YDS)'nin anatomik lokalizasyonları
- Tablo II. YDS'da intrasellüler glikojen
- Tablo III. Yumuşak doku tümörleri (YDT)'de en önemli İHK belirleyiciler ve reaktivite özellikleri
- Tablo IV. YDT'nin en önemli ultrastrüktürel özellikleri
- Tablo V. Yumuşak doku sarkomlarında başlıca düzenli kromozomal değişiklikler
- Tablo VI. Gradelendirme sistemleri. Farklı gradelendirme sistemlerinde kullanılan histolojik parametreler
- Tablo VII. YDS'da "American Joint Commission on Cancer" (AJCC) YDS'nin GTNM sınıflandırması ve evre gruplandırması
- Tablo VIII. 185 YDS olgusunun histolojik tip ve subtiplere göre dağılımı
- Tablo IX. 185 YDS olgusunun tümörün yerleşim yerine göre dağılımı
- Tablo X. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun yaş, cinsiyet ve histopatolojik tanı dağılımı.
- Tablo XI. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun histolojik tip ve subtiplere göre dağılımı
- Tablo XII. 35 YDS olgusunun histolojik tip ve grade dağılımı
- Tablo XIII. PCNA ile boyanma saptanan 30 YDS olgusunun grade ve pozitivite dağılımı
- Tablo XIV. PCNA indeksi ile tümör grade'i arasındaki ilişki
- Tablo XV. Ki-67 ile boyanma saptanan 24 YDS olgusunun grade ve pozitivite dağılımı
- Tablo XVI. Ki-67 indeksi ile tümör grade'i arasındaki ilişki

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Farklı sarkom tiplerinin insidansı ile yaş arasındaki ilişki

Şekil 2. Hücre siklüsü. Normal ve neoplastik dokularda, hücre siklüs fazlarının süreleri dokular arasında değişkenlik gösterebilir.

Şekil 3. Peroksidaz-Antiperoksidaz yöntemin şematik görünümü

Şekil 4. Avidin-Biotin-Peroksidaz yönteminin şematik görünümü

Şekil 5. 185 Yumuşak doku sarkom (YDS) olgusunun histolojik tiplere göre dağılımı

Şekil 6. 185 YDS olgusunun tümörün yerleşim yerine göre dağılımı

Şekil 7. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun histolojik tiplere göre dağılımı

Şekil 8. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun tümörün yerleşim yerine göre dağılımı

SUMMARY

Determination of proliferative activity in soft tissue sarcomas with immunohistochemical methods. PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) and Ki-67 reactivity.

There is a high correlation between proliferative activity of tumors and tumor behavior. "Proliferating Cell Nuclear Antigen" (PCNA) and Ki-67 are the nuclear antigens which are expressed during the proliferative phase of cell cycle and can be determined immunohistochemically by means of monoclonal antibodies.

The aim of this study is to determine PCNA and Ki-67 expression of various soft tissue sarcomas (STS) immunohistochemically and to correlate with the histologic grade of these tumors. For this purpose, 185 cases of STS were re-examined retrospectively from the files of Pathology department of Çukurova University Faculty of Medicine. Grading was performed depending on criterias such as mitosis-necrosis-cellularity and pleomorphism in all cases. Of the 185 cases, 35 primary STS cases which were localized in the extremities and trunk wall were included in this study. 57.2% of the cases were male and 42.8% female with a median age of 44.7 years. Anti-PCNA and Anti-Ki-67 monoclonal antibodies were applied to the paraffin sections of tumor tissues immunohistochemically. A semiquantitative score was employed to assess the percentage of cells that were positively stained. The comparison of the positively stained tumor cell proportion and the histologic grade of the tumor was determined by using PCNA ($\leq 25\%$, $>25\%$) and Ki-67 ($\leq 10\%$, $> 10\%$) indices.

A positive correlation was found between increasing PCNA and Ki-67 expression of STS and histologic grade and metastasis.

Our results indicate that PCNA and Ki-67 can be used as a prognostic factor in STS

Key words: Soft tissue sarcomas, proliferation markers, PCNA , Ki-67, immunohistochemistry.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

YDS'nın biyolojik davranışı geniş bir spektrum içerisinde çeşitlilik göstermektedir. Bu çeşitlilik morfolojik olarak birbirine benzeyen tümörlerde prognozun belirlenmesini ve tedaviyi zorlaştırmaktadır. Yakın zamanlarda en güvenilir prognostik parametrenin "tümör grade" inin tayini olduğu kabul edilmektedir (1-6). Tümör grade'inin belirlenmesinde mitoz-nekroz-hücre zenginliği-pleomorfizm esas alınmaktadır (7). Ancak çeşitli teknik artefaktlar tümör grade'ini belirleyen bu kriterlerin doğru ve hassas bir şekilde tayinini kısıtlamaktadır.

Son yıllarda proliferen olan hücre proteinlerini immünohistokimyasal olarak belirlemede kullanılan çeşitli monoklonal antikolar (MoAb) geliştirilmiştir. "Proliferasyon markerları" genel- başlığı altında toplanan bu MoAb'lardan en iyi bilinenleri; "Proliferating Cell Nuclear Antigen" (PCNA) ve Ki-67'dir. PCNA 36 kD ağırlığında, non-histon bir nükleer polipeptid olup, düzeyi hücre siklusünün S-fazında maksimum konsantrasyona ulaşır, M-fazında ise en düşük seviyededir (8,9). Ki-67 ise, 395 kD ağırlığındaki bir gen ürünüdür ve bir non-histon proteindir (10). Proliferasyon siklusünün Go fazı hariç, tüm fazlarında bulunan hücrelerde mevcut olan bir nükleer antijendir (11).

Literatürde farklı malignansilerde PCNA ve Ki-67 reaktivitesi ile tümörün agresif biyolojik davranışı arasında ilişki olduğu (santral sinir sistemi tümörleri, meme kanserleri, lenfomalar, YDS) bildirilmiştir (12-14).

Yine de YDS'da PCNA ve Ki-67 salınımı ile ilgili çalışmalar az sayıdadır ve deneyimler henüz oldukça kısıtlıdır (15,16).

Bu çalışmanın amacı; farklı histolojik tipteki YDS'da PCNA ve Ki-67 reaktivitesinin dağılımını immünohistokimyasal yöntemle belirlemek ve tümörün histolojik grade'i ile ilişkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yumuşak Doku Tanımı, Kapsadığı Dokular ve Embriyolojisi

Yumuşak doku; vücudun hemopoietik sistem, glia ve internal organların destek dokuları dışında kalan iskelet dışı konnektif dokusu olarak tanımlanabilir. Konnektif doku; yağ dokusu, iskelet kası, kan ve lenf damarları ile periferik sinir sisteminden oluşur. Embriyolojik olarak yumuşak doku mezodermden, kısmen de nöroektodermden gelişir (7,17).

2.2. Yumuşak Doku Tümörlerinin İnsidansı

Benign yumuşak doku tümörleri (YDT) (lipoma, hemanjioma, vb.) insan vücudunda en sık görülen neoplazmlardır. Ancak bu lezyonların çoğunluğu biyopsi ve tedavi gerektirmediklerinden insidanslarını tam olarak saptamak zordur (17). Yumuşak doku sarkomları (YDS) ise nadir görülen tümörlerdir. 1992 yılında "American Cancer Society" tarafından yaklaşık 6000 yeni konnektif doku kanseri olgusu bildirilmiş ve bunların da 3300'ünün (%55) fatal olabileceği öne sürülmüştür (18). Gustafson, 1994'te yaptığı epidemiyolojik bir çalışmada YDS'nin bir yılda görülme sıklığının 18/milyon olduğu bildirilmiştir (19).

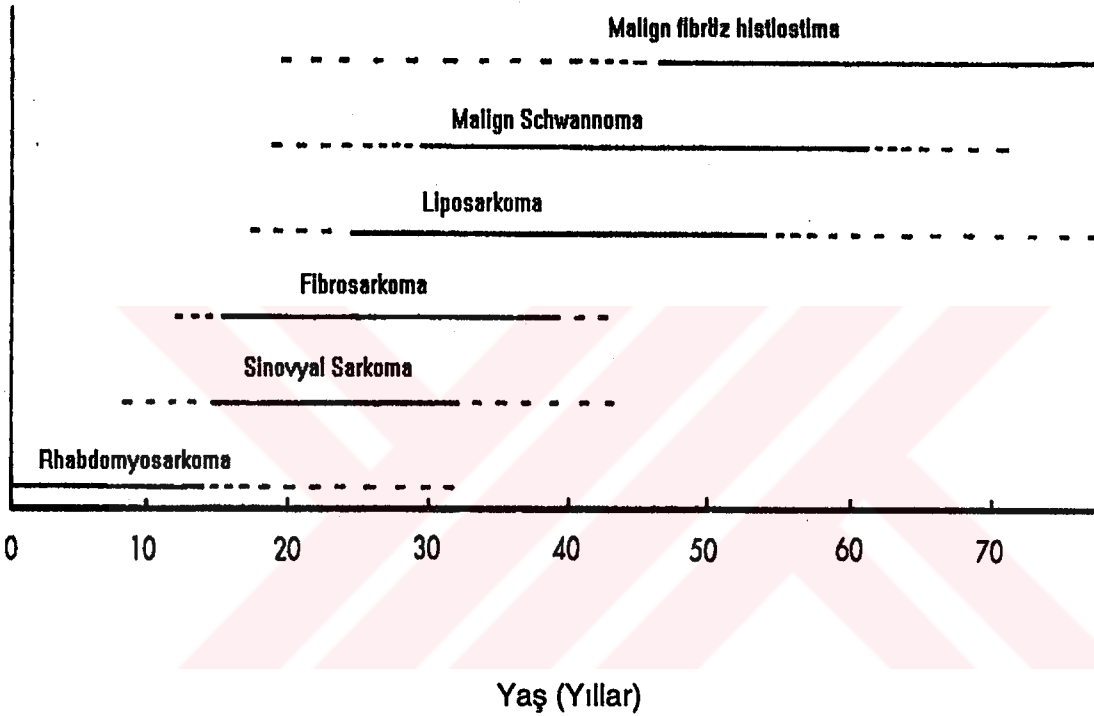
YDS, erişkinde tüm kanserlerin % 0,8-1'ini, kanserden ölümlerin ise % 2'sini oluşturmaktadır (20). Son zamanlarda batı ülkelerinde YDS'nin insidansındaki artış, kazanılmış immün yetmezlik sendromu (AIDS)'e eşlik eden Kaposi sarkomunun insidansındaki artış ile açıklanmıştır (21).

Erişkinde en sık görülen YDS; malign fibröz histiositoma (MFH) ve liposarkomadır. Bunlar tüm sarkomların % 35-45'ini oluştururlar (7). Değişik serilerde farklı insidanslar bildirilmiştir. Hashimoto ve arkadaşları 1116 YDS olgusunu içeren serilerinde MFH (%25.1) ve liposarkoma (% 11.6) nın en sık görülen histolojik tip olduğunu; bunları da sırasıyla rabdomyosarkoma (%9.7), leiomyosarkoma (% 9.1), sinovyal sarkoma (%6.5), malign schwannoma (% 5.9) ve fibrosarkomanın (% 5.2) takip ettiğini bildirmişlerdir (22).

Markhede ve arkadaşlarının serisinde ise MFH (% 28), fibrosarkoma (% 14) ve liposarkomanın (%9) en sık görülen sarkomlar olduğu bildirilmiştir (3).

Çocukluk çağında en sık görülen YDS'ları; rabdomyosarkoma, nöroblastoma, ve iskelet dışı Ewing sarkomadır (7).

YDS her yaşta görülebilir. Ancak insidans, yaşla birlikte artış gösterir. YDS olan hastaların % 15'i 15 yaşın altında, % 40'ı ise 55 yaş üstündeki hastalardır. Cinsiyet ve yaş insidansları farklı histolojik tiplerde değişkenlik gösterir(Şekil 1)(7).



Şekil 1. Farklı sarkom tiplerinin insidansı ile yaş arasındaki ilişki (7).

Devamlı çizgi tümörün insidans pikini, kesikli çizgiler ise tümörün azalan insidansını göstermektedir.

Sarkomun görülme yaşı ile tipi arasında kesin bir ilişki vardır. Örneğin; embriyonel rabdomyosarkoma tipik olarak infant ve çocukların tümörüdür, sinovyal sarkoma esas olarak adolosan ve genç erişkinlerde görülür, liposarkoma ve MFH ise genelde orta yaş ve yaşlılarda görülür. Pediatrik vakaların bazıları konjenital olmakla birlikte konjenital sarkomlar oldukça nadirdir (7, 23).

Çok sayıda sarkomalı hasta popülasyonunun incelendiği serilerde YDS'larının erkeklerde nispeten daha sık olduğu bildirilmiştir (17, 19).

2.3. Yumuşak Doku Sarkomlarının Lokalizasyonu

YDS'ları vücudun herhangi bir yerinde ortaya çıkabilirler. En sık; ekstremitelerin büyük kaslarında, göğüs duvarında, mediastende ve retroperitoneal bölgede yerleşirler (Tablo I). Gustafson'un 508 YDS olgusunu içeren serisinde, en sık lokalizasyonun uyluk olduğu bildirilmiştir (19). Sarkomların çoğu derin lokalizasyonludur.

Tablo I. Geniş serilere dayanan son çalışmalara göre YDS'nin anatomik lokalizasyonları (24)

Yazar	Lokalizasyon					TOPLAM
	Alt Ekst.	Üst Ekst.	Baş-Boyun	Gövde	Retroperitonium	
Abbas et al.	81	42	24	66	38	251
Potter et al.	52	59	12	48	36	307
Torosian et al.	208	81	21	92	90	492
Lawrence et al.	2110	594	406	872	568	4550
TOPLAM	2551	776	463	1078	732	5600
(%)	(%46)	(%14)	(%8)	(%19)	(%13)	(%100)

2.4. Yumuşak Doku Sarkomlarının Patogenezisi

YDS'nin çoğunun patogenezisi hala bilinmemektedir. Etkene maruz kalma ile sarkomun gelişimi arasında uzun bir latent period olduğundan etkeni kesin olarak saptamak sıklıkla çok zordur.

Benign YDT'den gelişen sarkomlar oldukça nadirdir. Bilinenlerden bir örnek ise, nörofibromalardan gelişen malign periferik sinir kılıfı tümörleridir (7, 25).

2.4-1. Çevresel Faktörler

2.4-1.a. Travma

Sarkomlu hastalarda sıklıkla travma öyküsü vardır, ancak çoğunlukla travma önceden var olan tümöre dikkat çeker. Nadiren ciddi travmayı takiben sarkom gelişebilir. Nadir olarak önceki cerrahi prosedürler, termal yada asit yanıkları, kırık bölgesi, kronik tropikal ülserler, plastik veya metal implantların çevresinde oluşan skar dokusundan yıllar sonra gelişen YDS bildirilmiştir (26-28).

2.4-1.b. Çevresel Karsinojenler

Sarkom gelişimi ile ilişkili bulunmakla birlikte rolleri tam olarak aydınlanmamıştır. Ancak bir kaç maddenin sarkom gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir.

Polisiklik hidrokarbonlar: Laboratuvar hayvanlarında subkutan enjeksiyonunu takiben değişik tipte sarkomların oluşturulabildiği bilinmektedir (7).

Asbestoz: En iyi bilinen önemli bir çevresel karsinojendir. Uzun süreli inhalasyonu sonucu yıllar sonra plevral ve peritoneal mezotelyomalar gelişebilmektedir (7).

Dioxin: Dioxin (2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin, veya TCDD) içeren herbisitlere maruz kalan ormancılık-tarım alanında çalışanlarda YDS gelişme riski yaklaşık 6 kez artmaktadır (29).

Vinyl Chlorid: Lastik fabrikalarında kullanılan bir kimyasal maddedir. Karaciğer anjiosarkomu ile birlikteliği gözlenmiş, ancak sarkom gelişimindeki rolü konusunda kesin kanıtlar ortaya konamamıştır (30).

Radyasyon: Yumuşak doku ve kemik sarkomlarında belki de bilinen en önemli eksternal etyolojik faktördür (17). Radyoterapi alan kanserli hastaların yaklaşık % 1-3 ünde 5-15 yıl sonra sarkom gelişmektedir. Histolojik olarak bu tümörlerden en

sık görülenleri ; MFH (%70), fibrosarkoma, iskelet dışı osteosarkomalar, malign periferik sinir kılıfı tümörleri, kondrosarkoma ve anjiosarkomalardır (7,31,32). Radyasyon sonrası gelişen sarkomların büyük çoğunluğu yüksek grade'li olup prognozları kötüdür (7).

2.4.1.c. Onkojenik Virüsler

YDS'nın gelişiminde onkojenik virüslerin rolü tam olarak anlaşılamamış, insanlarda sarkom yapan bir virüs tanımlanamamıştır. Son zamanlarda AIDS hastalarında görülen Kaposi sarkomunda herpes virüs benzeri peptid dizileri gösterilmiş ancak virüsün etyolojik rolü kanıtlanamamıştır (33).

2.4.1.d. İmmunolojik Faktörler

İmmun yetmezlik ve terapötik immunosupresyon da YDS'nın gelişiminde rol oynamaktadır. Organ transplantasyonu yapılan hastalarda (özellikle böbrek ve karaciğer transplantasyonu) uzun süreli Siklosporin ve diğer immunosupresif ilaçların kullanımına bağlı sarkomlar gelişebilmektedir (7).

Kronik lenfödem, anjiosarkoma veya lenfanjiosarkoma gelişimine neden olabilmektedir. Bunun en sık görülen örneği; meme kanseri nedeniyle yapılan radikal mastektomiye sekonder oluşan sarkomdur (Stewart-Treves sendromu)(17).

2.4.1.e. Genetik Faktörler

Genetik hastalığı olan birçok hastada beraberinde YDS görülmektedir. Bunun en klasik örnekleri, Nörofibromatozis Tip 1 (Von-Recklinghausen Hastalığı) ve Tip 2'li hastalarda görülen sarkomlardır. Nörofibromatozis Tip 1'li hastaların %1-5'inde nörofibromaların malign transformasyonları sonucu malign periferik sinir kılıfı tümörleri gelişmektedir (34).

Ailesel bir kanser sendromu olan Li-Fraumeni sendromunda YDS ve genelde de rabdomyosarkoması olan çocukların akrabalarında multipl kanser formları ile diğer malign tümörler görülmektedir. Bu hastalarda P53 geninde "germline" delesyon saptanmıştır (35).

Son zamanlarda retinoblastomanın kalıtsal yada bilateral formuna eşlik eden sarkomlar (genellikle de osteosarkoma) bildirilmiştir (7).

2.5. Yumuşak Doku Tümörlerinin Sınıflandırılması

YDT'nin kullanışlı ve geniş kapsamlı histolojik sınıflandırılmasının yapılması oldukça uzun bir zaman süreci gerektirmiştir. Eski sınıflamalarda tümörün morfolojik görünümü kriter olarak kabul edilmiş, tümörün hücre tipinden çok nükleer konfigürasyonları esas alınmıştır. Buna göre tümörler "yuvarlak hücreli sarkom", "iğsi hücreli sarkom" veya "pleomorfik sarkom" şeklinde sınıflandırılmıştır. Ancak bu sınıflama, tümörün natürü ve potansiyel davranışı hakkında yeterince aydınlatıcı olamamıştır. Örneğin; benign tümörler ile tümör benzeri reaktif gelişmelerin ayırımında yetersiz kaldığı düşünülmüştür. Daha sonraları yapılan ve bazı değişikliklerle günümüzde de yaygın olarak kullanılan sınıflandırmalar, tümörün varsayılan hücre orijinini, histogenezisini esas almaktadır.

Son 30-40 yılda yapılan sınıflandırmalar kapsamlı ve daha kullanışlıdır. Bunlardan biri "American Forces Institute of Pathology" (AFIP)'nin sınıflandırması olup Tümör-Patoloji Atlası'nın yumuşak doku fasikülünde yayınlanmıştır. Diğeri ise Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın sınıflandırması olup ilk kez 1969' da yayınlanmış ve 1993' te yeniden düzenlenmiştir (7).

YDS geleneksel olarak histogenetik yapılarına göre sınıflandırılırlar. (Örneğin; fibrosarkoma fibroblasttan; osteosarkoma osteoblasttan köken alır) (7).

Ancak geleneksel morfolojik kriterleri kullanarak tüm YDS'nı sınıflandırmak son derece zor ve hatta bazen olanaksızdır. Lack ve arkadaşları 300 ekstremitte sarkom olgusu içeren çalışmalarında olguların % 11'ini sınıflandıramamışlardır(6). Enzinger ve Weiss'in AFIP'te 15 yıllık bir periodda inceledikleri yaklaşık 35.000 YDS'nun % 10-20'si, materyalin kalitesi ve patoloğun bilgi ve deneyimi esas alınarak, histogenezisi bilinmeyen veya sınıflandırılmayan tümörler kategorisine konmuştur (6).

Yumuşak Doku Tümörlerinin Histolojik Sınıflandırması (7)

I. Fibröz Tümörler

A. Benign Tümörler

1. Nodüler fasiitis (intravasküler ve kranyal tipleri dahil)
2. Proliferatif fasiitis ve myozitis
3. Atipik dekübital fibrodisplazi (iskemik fasiitis)
4. Fibroma (dermal, tendon kılıfı, nukkal)
5. Keloid
6. Elastofibroma
7. "Calcifying" aponörotik fibroma
8. Çocukluk çağının fibröz hamartomu
9. Fibromatozis kolli
10. İnfantil digital fibromatozis
11. Myofibromatozis (soliter, multisentrik)
12. Hyalin fibromatozis
13. "Calcifying" fibröz pseudotümör

B. Fibromatozisler

1. Yüzeysel fibromatozisler
 - a. Palmar ve plantar fibromatozis
 - b. Penil (Peyronie's) fibromatozis
 - c. "Kunckle pads"
2. Derin fibromatozisler (desmoid tümör)
 - a. Abdominal fibromatozis (abdominal desmoid)
 - b. Ekstraabdominal fibromatozis (ekstraabdominal desmoid)
 - c. İntraabdominal fibromatozis (intraabdominal desmoid)
 - d. Mezenterik fibromatozis (Gardner sendromu dahil)
 - e. İnfantil (desmoid tip) fibromatozis

C. Malign Tümörler

1. Fibrosarkoma

- a. Erişkin fibrosarkoma
- b. Konjenital veya infantil fibrosarkoma
- c. İnflamatuar fibrosarkoma (inflamatuar myofibroblastik tümör)

II. Fibrohistiositik Tümörler

A. Benign Tümörler

1. Fibröz histiositoma

- a. Kutanöz fibröz histiositoma (dermatofibroma)
- b. Derin fibröz histiositoma

2. Juvenil ksantogranüloma

3. Retikülohistiositoma

4. Ksantoma

B. "İntermediet" Tümörler

1. Atipik fibroksantoma

2. Dermatofibrosarkoma protuberans (pigmente formu, Bednar tümörü dahil)

3. Dev hücreli fibroblastoma

4. Pleksiform fibrohistiositik tümör

5. Anjiomatoid fibröz histiositoma

C. Malign Tümörler

1. Malign fibröz histiositoma

- a. Storiform-pleomorfik fibröz histiositoma
- b. Miksoid fibröz histiositoma
- c. Dev hücreli fibröz histiositoma (yumuşak dokuların malign dev hücreli tümörü)
- d. Ksantomatoz (inflamatuar tip) fibröz histiositoma

III. Lipomatöz Tümörler

A. Benign Tümörler

1. Lipoma

a. Kutanöz lipoma

b. Derin lipoma

(i) İntramuskuler lipoma

(ii) Tendon kılıfının lipoması

(iii) Lumbosarkal lipoma

(iv) İntranöral ve perinöral fibrolipoma

c. Multipl lipomalar

2. Anjiolipoma

3. İğsi hücreli veya pleomorfik lipoma

4. Myolipoma

5. Anjiomyolipoma

6. Myelolipoma

7. Kondroid lipoma

8. Hibernoma

9. Lipoblastoma veya lipoblastomatozis

10. Lipomatozis

a. Diffüz lipomatozis

b. Servikal simetrik lipomatozis (Madelung hastalığı)

11. Atipik lipoma

B. Malign Tümörler

1. Liposarkoma

a. İyi differansiye liposarkoma

(i) Lipoma benzeri liposarkoma

(ii) "Sklerozing" liposarkoma

(iii) İnflamatuar liposarkoma

b. Miksoid liposarkoma

- c. Yuvarlak hücreli (az differansiye miksoid) liposarkoma
- d. Pleomorfik liposarkoma
- e. Dedifferansiye liposarkoma

IV. Düz Kas Tümörleri

A. Benign Tümörler

1. Leiomyoma (kutanöz, derin ve pleomorfik)
2. Anjiomyoma (vasküler leiomyoma)
3. Epitelioid leiomyoma
4. İntravenöz leiomyomatozis
5. "Leiomyomatosis peritonealis disseminata"

B. Malign tümörler

1. Leiomyosarkoma
2. Epitelioid leiomyosarkoma

V. İskelet Kası Tümörleri

A. Benign Tümörler

1. Erişkin rabdomyoma
2. Genital rabdomyoma
3. Fetal rabdomyoma
4. "İntermediet" (sellüler) rabdomyoma

B. Malign Tümörler

1. Rabdomyosarkoma
 - a. Embriyonel rabdomyosarkoma
 - b. Botrioid rabdomyosarkoma
 - c. İğsi hücreli rabdomyosarkoma
 - d. Alveoler rabdomyosarkoma
 - e. Pleomorfik rabdomyosarkoma

2. Ganglionik differansiasyon gösteren rabdomyosarkoma
(Ektomezenkimoma)

VI. Kan ve Lenf Damarlarının Tümörleri

A. Benign Tümörler

1. Papiller endotelyal hiperplazi
2. Hemanjioma
 - a. Kapiller (juvenil dahil) hemanjioma
 - b. Kavernöz hemanjioma
 - c. Venöz hemanjioma
 - d. Epitelioid hemanjioma(anjiolenfoid hiperplazi, histiositoid hemanjioma)
 - e. Granülasyon tipi hemanjioma (pyojenik granüloma)
 - f. "Tufted" hemanjioma
3. Derin hemanjioma (intramuskuler, sinovial, perinöral)
4. Lenfanjioma
5. Lenfanjiomyoma ve lenfanjiomyomatozis
6. Anjiomatozis
7. Lenfanjiomatozis

B. "İntermediet" Tümörler

1. Hemanjoendotelioma
 - a. Epitelioid hemanjoendotelioma
 - b. Endovasküler papiller anjoendotelioma (Dabska tümörü)
 - c. İğsi hücreli hemanjoendotelioma

C. Malign Tümörler

1. Anjiosarkoma ve lenfanjiosarkoma
2. Kaposi sarkoma

VII. Perivasküler Tümörler

A. Benign tümörler

1. Glomus tümörü
2. Glomanjiomyoma
3. Hemanjioperisitoma

B. Malign Tümörler

1. Malign glomus tümörü
2. Malign hemanjioperisitoma

VIII. Sinovyal Tümörler

A. Benign tümörler

1. Tenosinovyal dev hücreli tümör
 - a. Lokalize tenosinovyal dev hücreli tümör
 - b. Diffüz tenosinovyal dev hücreli tümör (Eklem dışı pigmente villonodüler sinovitis, "florid" tenosinovitis)

B. Malign tümörler

1. Sinovyal sarkoma
 - a. Bifazik (fibröz ve epitelyal) sinovyal sarkoma
 - b. Monofazik (fibröz veya epitelyal) sinovyal sarkoma
2. Tendon kılıfının malign dev hücreli tümörü

IX. Mezotelyal tümörler

A. Benign tümörler

1. Plevra ve peritonun soliter fibröz tümörü (lokalize fibröz mezotelyoma)
2. Multikistik mezotelyoma
3. Adenomatoid tümör
4. İyi differansiye papiller mezotelyoma

B. Malign tümörler

1. Plevra ve peritonun malign soliter fibröz tümörü
2. Diffüz mezotelyoma
 - a. Epitelyal diffüz mezotelyoma
 - b. Fibröz (işsi hücreli, sarkomatoid) diffüz mezotelyoma
 - c. Bifazik diffüz mezotelyoma

X. Nöral Tümörler

A. Benign tümörler

1. Travmatik nöroma
2. Morton nöroma
3. Multipl mukozal nöromalar
4. Nöromuskuler hamartoma (benign Triton tümörü)
5. Sinir kılıfı ganglionu
6. Schwannoma (nörlimmoma)
 - a. Sellüler schwannoma
 - b. Pleksiform schwannoma
 - c. Dejenere (eski) schwannoma
 - d. Schwannomatozis
7. Nörotekoma (sinir kılıfı miksoması)
8. Nörofibroma
 - a. Diffüz nörofibroma
 - b. Pleksiform nörofibroma
 - c. Pacinian nörofibroma
 - d. Epitelioid nörofibroma
9. Granüler hücreli tümör
10. Melanositik Schwannoma
11. Ektopik menenjioma
12. Ektopik ependimoma
13. Ganglionöroma
14. İnfantil çağın pigmente nöroektodermal tümörü (retinal köşe tümörü, melanotik progonoma)

B. Malign tümörler

1. Malign periferik sinir kılıfı tümörü (rabdomyosarkoma ile birlikte olan MPSKT) (malign schwannoma, nörofibrosarkoma)
 - a. Malign triton tümörü (MPSKT ile birlikte olan rabdomyosarkoma)
 - b. Glandüler MPSKT (malign glandüler schwannoma)
 - c. Epitelioid MPSKT (malign epitelioid schwannoma)
2. Malign granüler hücreli tümör
3. Şeffaf hücreli sarkoma (yumuşak dokuların malign melanoması)
4. Malign melanositik schwannoma
5. Gastrointestinal otonom sinir tümörü (pleksosarkoma)
6. Primitif nöroektodermal tümör
 - a. Nöroblastoma
 - b. Ganglionöroblastoma
 - c. Nöroepitelyoma (periferik nöroektodermal tümör)
 - d. İskelet dışı Ewing sarkoma

XI. Paraganglionik tümörler

A. Benign tümörler

1. Paraganglioma

B. Malign tümörler

1. Malign paraganglioma

XII. İskelet dışı kartilajinöz ve osseöz tümörler

A. Benign tümörler

1. Pannikülitis ossifikans ve myozitis ossifikans
2. Parmakların fibroosseöz pseudotümörü
3. Fibrodizplazi (myozitis) ossifikans progressiva
4. İskelet dışı kondroma veya osteokondroma
5. İskelet dışı osteoma

B. Malign tümörler

1. İskelet dışı kondrosarkoma
 - a. İyi differansiye kondrosarkoma
 - b. Miksoid kondrosarkoma
 - c. Mezenkimal kondrosarkoma
2. İskelet dışı osteosarkoma

XIII. Değişken potansiyelli mezenkimal tümörler

A. Benign tümörler

1. Mezenkimoma

B. Malign tümörler

1. Malign mezenkimoma

XIV. Çok yönlü tümörler

A. Benign tümörler

1. Konjenital granüler hücreli tümör
2. Tümöral kalsinozis
3. Miksoma
 - a. Kutanöz miksoma
 - b. İntramusküler miksoma
 - c. Eklem çevresi miksoması
4. Anjiomiksoma
5. Amiloid tümör
6. Parakordoma
7. "Ossifing" ve "nonossifing" fibromiksoid tümörler
8. Lenf nodunun palizatik myofibroblastoması

B. Malign tümörler

1. Alveoler soft part sarkoma
2. Epitelioid sarkoma

3. Malign ekstrarenal rabdoid tümör
4. Desmoplastik küçük hücreli tümör

XV. Sınıflandırılmayan tümörler

2.6. Yumuşak Doku Tümörlerinde Klinik ve Radyolojik Bulgular

YDT'nin klinik bulguları tipik olarak nonspesifiktir. Bir yumuşak doku kitlesi yavaş ya da hızlı büyüyebilir, beraberinde ağrı olabilir, ancak bunlar değişken bulgulardır. Bazen klinik bulgular tümörün spesifik doğası yönünden oldukça anlamlı olabilir. Örneğin; konjestif kalp yetmezliği ile gelen büyük bir arterio-venöz malformasyonu olan infant veya hiperpigmente kutanöz lezyonlarla gelen bir hastada subkutan yada derin yerleşimli nörofibromalar veya nadiren nörofibrosarkomalar.

Sarkomlar, benign YDT'ne oranla daha nadir görüldüklerinden hastalar ve klinisyenler büyüme gösteren bir yumuşak doku kitlesinin önemini sıklıkla değerlendiremezler ve dolayısıyla doku tanısı da sıklıkla geç dönemde konur (24). YDT'nin radyolojik görünümüleri de değişken ve sıklıkla nonspesifiktir. (yağ dokusu tümörleri ve hemanjiomatöz tümörler dışında)

YDT'lerinin değerlendirilmesinde kullanılan görüntüleme yöntemleri:

- Geleneksel radyografi
- Manyetik rezonans görüntüleme
- Bilgisayarlı tomografidir.

Daha az sıklıkla sonografi veya anjiyografi de kullanılmaktadır. Bu görüntüleme yöntemleri, tümörün saptanmasında, lokalizasyonunun ve yayılımının değerlendirilmesinde önemli rol oynar.

YDT genelde yuvarlak veya ovaldir. Farklı boyutlarda olabilirler. Ciltte, subkutan dokuda, kas dokusunda veya diğer derin lokalizasyonda olabilirler. Derinin yüzeysel lezyonları en iyi klinik inspeksiyon ve palpasyonla değerlendirilir. Ancak subkutan ve daha derin lokalizasyonlu kitlelerin değerlendirilmesi için radyolojik tetkikler gereklidir. Radyolojik tetkikte özellikle kitledeki kalsifikasyon, ossifikasyon yada radyolusensinin saptanmasında, kitlenin yayılımının, çevre dokularda

tutulunun varlığının değerlendirilmesinde önemlidir. Ancak, radyolojik bulgular benign ve malign YDT ayırımını sağlayamamaktadır (36).

2.7. Yardımcı Tanı Yöntemleri

YDT'nin tanısı ve ayırıcı tanısında sıklıkla büyük zorluklar yaşanır. Özellikle herhangi bir yönde differansiyasyon göstermeyen tümörlerde geleneksel ışık mikroskobu ile tanı koymak oldukça zordur. Histokimya, immunohistokimya, elektron mikroskopi gibi yardımcı tanı yöntemleri, doğru ve güvenilir tanı için sıklıkla vazgeçilmezdir.

2.7.1. Histokimya

YDS'da en sık kullanılan histokimyasal boyalar şunlardır;

Periodic acid-Schiff (PAS): En önemli rutin özel boyalardan biridir. Sitoplazmik glikojen içeriğini saptamak için kullanılır. Dolayısıyla YDS'nin ayırıcı tanısında yardımcıdır. (Tablo II)

Tablo II. YDS'da intrasellüler glikojen (37)

Şeffaf hücreli sarkoma	+
Epitelioid sarkoma	+
İskelet dışı Ewing sarkoma	+
Fibrosarkoma	-
Leiomyosarkoma	+
Mezotelyoma	+
Miksoid kondrosarkoma	+
Nöroblastoma	-
Nöroepitelyoma	-
Rabdomyosarkoma	+
Sinovyal sarkoma	-

+, Çoğu olguda intrasellüler glikojen varlığı

-, Çoğu olguda intrasellüler glikojen yokluğu

Masson's trichrome: Az diferansiye bir tümörde çizgili veya düz kas differansiasyonunu, myoblastları ayırt etmede yardımcıdır.

Retikülin: Özellikle Ewing sarkomayı lenfomadan, sinovial sarkomayı fibrosarkomadan, hemanjiyotelyomayı hemanjioperisitomadan ayırmada yardımcıdır.

Van-Gieson: Kollajeni düz kas dokusundan ayırtetmede kullanılır.

Phosphotungstic acid hematoxylin (PTAH): Kas dokusundan köken alan tümörlerde çizgilenmeyi göstermek için kullanılır.

Yağ boyaları: Tümördeki lipoblastik differansiasyonu göstermede yardımcıdır.

Fontana ve Warthin-Starry: Metastatik içsi hücreli malign melanomayı, bir primer sarkomdan ayırmada değerlidir.

2.7.2. İmmunohistokimya (IHK)

IHK'nın YDS'nin tanısında oldukça önemli bir rolü vardır. İHK'yi yararlı kılan nedenler şunlardır;

- a) Bazı yumuşak doku fenotipleri, saptanabilen belirleyici proteinlere sahiptir,
- b) Belirleyici proteinler, parafine gömülü dokularda sıklıkla korunurlar.
- c) Belirleyicilerin sensitivite ve spesiviteyi genelde oldukça iyidir. (bazı istisnalar dışında)
- d) Her geçen gün yeni belirleyiciler tanımlanmaktadır (25).

YDS'nin değerlendirilmesinde epitelyal, endotelyal, kas ve sinir hücreleri için az ya da çok spesifik olan antijenler, oldukça yardımcı belirleyicilerdir (Tablo III) (38). Kiel Üniversitesi pediatrik tümör kayıtlarında sınıflandırılmayan YDS'nin oranı 1982'de % 17 iken, İHK'nın uygulanmasıyla 1989'da % 4,5'a düşmüştür (39).

Tablo III. YDT'lerinde en önemli immunohistokimyasal belirleyiciler ve reaktivite özellikleri (7, 17).

Vimentin

Genel olarak mezankimal hücrelerin "intermediet"-filament proteinini YDT'de hemen daima pozitif

Desmin

Kas hücre tipinin "intermediet"-filament proteinini

İskelet kası kalp kası ve düz kas tümörlerinde pozitif

Anjiomatoid fibröz histiositoma, Ewing sarkoma, liposarkoma, malign fibröz histiositomada nadiren pozitif

Aktinler

Mikrofilament protein ailesi

Alfa-aktinler düz kas için spesifik

Sarkomerik aktin, çizgili kas ve rabdomyosarkomada

Düz kas, çizgili kas, leiomyosarkoma ve rabdomyosarkomada

Myofibroblastlar ve tümörlerinde

Kas aktin antikorları, alfa ve gamma aktinler ile reaksiyon verir (HHF-35)

Sitokeratinler

Tipik olarak epitelial hücrelerde bulunan ancak artık bazı mezankimal hücrelerde de bulunduğu bilinen "intermediet"-filament protein grubu

Sinovyal sarkoma (esas olarak epitel benzeri hücreler), epiteloid sarkoma, kordoma, rabdoid tümörde

Lelomyosarkomalarda pozitiflik değişken

Malign periferik sinir kılıfı tümörü, epiteloid anjiosarkoma ve MFH gibi diğer birçok tümörde pozitif hücreler olabilir.

Epitelial Membran Antijen

Farklı epitel tiplerinde, perinöral hücrelerde ve perinöral hücre tümörlerinde

Sinovyal sarkoma, epiteloid sarkomada pozitif

Lelomyosarkoma ve miksoid kondrosarkoma da seyrek pozitiflik olabilir.

S-100 Protein

Schwann hücreleri ve melanositler

Schwannoma, nörofibroma (fokal), granüler hücreli tümör

MPSKT (değişken pozitif), şeffaf hücreli sarkoma, malign melanoma

Liposarkoma (differansiye hücrelerde ve lipoblastlarda) rabdomyosarkomaların bazıları, YDT'nin kartilajinöz komponentleri, kordoma

Von Willebrand Faktör (Faktör VIII ile ilişkili antijen)

Endotelial hücreler

İyi differansiye endotelial hücre tümörleri

Anjiosarkomaların bazıları

CD31 (Platelet endotelial hücre adezyon molekülü)

Endotelial hücreler, hemanjiomalar, anjiosarkoma, kaposi sarkoma

CD34 (Myeloid öncül hücre antijeni)

Endotelial hücreleri, fibroblastların bazıları

Anjiosarkoma, kaposi sarkoma, epiteloid sarkoma

Dermatofibrosarkoma protuberans, soliter fibröz tümör, lelomyosarkomaların bazıları, gastrointestinal stromal tümör

CD 68 (KPI ve PG-MI antikorları)

Histiositler, myeloid hücreler

MFH ve melanomaların bazıları

Granüler hücreli tümör, anjiomatoid fibröz histiositoma

Nöron Spesifik Enolaz

Nöral hücreler, nöroblastik ve paraganglionik tümörler, bazı düz kas hücreleri ve tümörleri, şeffaf hücreli sarkoma, malign melanoma

Son zamanlarda kabul edilen en iyi yöntem, çok sayıda belirleyicinin bir panel şeklinde uygulanmasıdır. Bu uygulama ile tüm YDT'nin yaklaşık % 50-75'i kendi fenotip ve histogenezisleri ile uyumlu rölatif spesifik immunoreaktivite göstereceklerdir (25,40).

Yumuşak doku patolojisinde IHK'nın en önemli rolü oynadığı durumlar;

- Yuvarlak hücreli sarkoma
- Derinin pleomorfik tümörleri (melanoma, karsinoma, atipik fibroksantoma)
- İndiferansiye malign tümörler (melanoma, karsinoma, sarkoma, lenfoma) dir (7).

İmmünohistokimyasal yöntemlerde karşılaşılabilecek problemler şunlardır:

- Belirleyici negatifliği (çoğu çalışmanın sonucuna göre verilen tümör tiplerinin % 50-90'ı test edilen spesifik belirleyici için reaktivite gösterir)
- Nonspesifite (tek başına belirleyici pozitifliği, doğru tanı için yeterli değildir)
- Olağan dışı (aberran) immunoreaktivite (leiomyosarkomalar gibi nonepitelyal neoplazmlarda sitokeratin pozitifliği, rabdomyosarkomada "nörofilament" pozitifliği, vb.) (25).

2.7.3. Elektron Mikroskobu (EM)

Ultrastrüktürel incelemeler, YDS'nin değerlendirilmesinde IHK'dan daha az rol oynar. Bunun nedeni, örnekleme hatası yada çoğu patoloğun bu konuda deneyimsizliği olabilir (7).

EM, birçok tümörde, tümörün doğası hakkında bilgi verir. Özellikle bazı tümör tiplerinin (örneğin; küçük yuvarlak hücreli tümörler, kas tümörleri (rabdomyosarkoma ve leiomyosarkoma), schwann hücre tümörleri) ayırıcı tanısında çok yardımcıdır (Tablo IV) (17).

Tablo IV. YDT'nin en önemli ultrastrüktürel özellikleri (17)

Fibrohistiositik tümörler

Değişen sayıda fibroblastlar ve myofibroblastlar, multipl lizozomlu bazı hücreler

Histiositler (reaktif komponent)

Liposarkoma

Sitoplazmik lipit damlacıkları, değişken gelişim gösteren bazal membranlar, fibroblast benzeri özellikler

Endotelial neoplazmlar

Weibel-Palade cisimcikleri (az differansiye tümörlerde progressif kayıp), pinositik veziküller, abondan "intermediet" filament ve damar formasyonu

Lelomyosarkoma

Aktin filamentleri ve beraberinde dens cisimcikler, değişken gelişim gösteren bazal membranlar, pinositik veziküller, "intermediet" filamentler, glikojen

Rabdomyosarkoma

İnce ve kalın filamentlerin kombinasyonu, değişken gelişim gösteren sarkomerler, glikojen, bazal membranlar

Schwannoma

Sıklıkla reduplike bazal membranlar, fibroblast benzeri sitoplazmik özellikler gösteren hücreler

Şeffaf hücreli sarkoma

Melanozomlar (sıklıkla), bazen bazal membranlar

Kondrosarkoma

Belirgin kaba endoplazmik retikulum, sitoplazmik glikojen ve sitoplazmik sınırları düzensiz hücreler

Sinovial sarkoma

Bifazik : Bazal membranlar ile çevrili glandlar ve mikrovilluslar ile döşeli lümenler

Monofazik: Sık hücre bileşkeleri, primitif glandüler oluşumlar

Eptelloid sarkoma

Aşırı miktarda "intermediet" filamentler, keratin benzeri filament bantları, kompleks hücre taslakları.

Tanısal önemi olan yapılar; nöroendokrin granüller, bazal membran materyali, pinositik veziküller, aktin filamentleri, Z-bantları, glikojen birikimi, melanozomlar, Weibel-Palade cisimcikleri ve spesifik kristallerdir. Ne yazık ki, sellüler ve ekstrasellüler komponentlerin ancak bir kısmı hücre tipine spesifiktir, üstelik az differansiye tümörlerde de kaybolabilirler (17).

Ultrastrüktürel çalışmalar aynı zamanda ince iğne aspirasyonu ile elde edilen materyallere de uygulanabilmektedir (41).

2.7.4. DNA sitometri

Sitometri, tümör hücrelerinin membran antijenleri ve DNA içeriği gibi özellikleri hakkında kantitatif ölçüm sağlayan bir yöntemdir (42). Sitometride, solid doku veya parafine gömülü kalın doku kesitlerinin tek bir hücre yada nükleer süspansiyonlara ayrılması gerekmektedir (37).

Seksenli yıllarda tıpta kullanımı yoğunlaşmaya başlayan akım sitometrik DNA analizlerinin YDT' de uygulanımı, literatürde 1984 yılından itibaren görülmektedir (43). DNA ploidy'nin değerlendirilmesi, bazı YDS tiplerinde prognoz hakkında bilgi vermesi açısından uygulanmaktadır. Örneğin; aneuploidy sinovyal sarkomada ve bazı yüksek grade'li sarkomlarda kötü prognoz belirtisi iken, iyi differansiye tümör tiplerinin diploid DNA içeriğine sahip olduğu öne sürülmektedir (17).

Yine de YDS'da DNA içeriği ile ilgili veriler kısıtlıdır. DNA içeriğinin prognostik parametre olarak ve tedaviye cevabın değerlendirilmesinde kullanımı konusu ise, mevcut verilerle henüz açıklık kazanmamıştır (44, 45). Bazı araştırmacılar YDS' larında parafin bloğa gömülü dokuya uygulamada %14' lük hata oranı nedeni ile akım sitometrik analiz sonuçlarının tedavinin planlanmasında sınırlı bir kullanım oluşturduğunu belirtmektedir (43).

2.7.5. Sitogenetik

Son 10 yılda kromozomal kimliklendirme ve kısa süreli hücre kültür tekniklerinin gelişimi sayesinde YDT ile ilgili oldukça fazla sitogenetik veri elde edilmiştir (46). Birçok YDT'de tipik kromozomal translokasyonlar bulunmuştur (Tablo V). Bunlardan bazılarının ise belirli tümör antitelerini tanımlamak için yeterli olduğu düşünülmektedir. (örneğin; miksoid liposarkomada translokasyon t (12:16)) (17).

Tablo V. YDS'da başlıca düzenli kromozomal değişiklikler (23)

Tümör Tipi	Kromozomal değişiklik	Genler
Ewing sarkoma/PNET	t (11;22)(q24;q12)	FLI1, EWS
Şeffaf hücreli sarkoma	t (12;22)(q13;q12)	AFT1,EWS
İntra-abdominal desmoplastik hücreli tümör	t (11;22)(p13;q12)	WT1, EWS
Miksoid Liposarkoma	t (12,16)(q13;p11)	CHOP, TLS
Atipik Lipomatöz Tümör (İyi differansiye liposarkoma)	Marker ring ve dev kromozomlar	?
Alveoler rabdomyosarkoma	t (2;13)(q35;q14)	PAX3,FKHR
Sinovyal sarkoma	t (x;18)(p11;q11)	SSX, SYT
İskelet dışı miksoid kondrosarkoma	t (9;22)(q22;q12)	?

YDS'nın çoğu, tümör tipine spesifik olan klonal kromozom anomalisi içerir (46, 47). Karakteristik kromozom anomalilerinin saptanması, özellikle indifferansiye küçük yuvarlak hücreli veya iğsi hücreli YDT'nin tanısında yardımcıdır (46). Tanısal immünohistokimyasal veya ultrastrüktürel özelliklerini kaybetmiş tümörlerde spesifik kromozom anomalilerinin değerlendirilmesi, tanıda önemli rol oynamaktadır (7).

2.7.6. Moleküler Genetik

Spesifik genetik değişiklikler, bazı olgularda tümör dokusundan izole edilen DNA veya RNA kullanılarak analiz edilebilmektedir. Sarkomlardaki çoğu translokasyonlar, iki intakt gen arasında füzyon transkripti ve ayrıca patolojik füzyon proteini oluşumuna yol açar. Ewing sarkomodaki t(11;22) translokasyonundan EWS-FLI1 ve alveoler rabdomyosarkomadaki t(2;13) translokasyonundan PAX 3-FKHR oluşumu gibi çoğu füzyon transkripti, tanısal belirleyiciler olarak kullanılabilir ve tümör dokusundan saflaştırılarak elde edilen

RNA ile başlayan revers transkriptaz, "Polymerase Chain Reaction" (PCR) ile saptanabilir (Tablo V) (17).

2.8. Yumuşak Doku Sarkomlarında Gradelendirme Sistemleri

YDS'nın gradelendirilmesi, daima karmaşık ve zor olmuştur. Çok sayıda farklı sistemler uygulanmaktadır. Ancak patologlar arasında henüz bir fikir birliği sağlanamamıştır. Gradelendirme, fikirbirliğine varılmış standartların olmaması nedeniyle de subjektiftir.

YDS'da gradelendirmede esas alınan ve artık gelenekselleşmiş histolojik özellikler, 1939 yılında Broders ve arkadaşları tarafından önerilmiştir. Bu özellikler şunlardır;

- Hücre zenginliğinin derecesi (sellülarite)
- Hücresel plemorfizm veya anaplazi
- Mitotik aktivite (mitoz sıklığı ve atipisi)
- Nekroz varlığı ve yaygınlık derecesi
- Ekspansif-infiltratif-invaziv büyüme (7).

Farklı evrelendirme sistemlerinde değişik sayıda gradelendirmeler önerilmiştir; ikili (düşük grade/yüksek grade), üçlü, dörtlü gibi. Üçlü gradelendirme sistemleri farklı sağkalım şekillerine ve tedaviye cevaba en iyi uyarlılık gösteren sistemlerdir (7, 9, 48). İkili gradelendirme sistemleri, cerrahi tedavide pratik olsa da iyi diferansiye fibrosarkomalar gibi "intermediet" sarkomlarda uygulanması zordur (7). Dörtlü gradelendirme sistemlerinde ise, Grade 1 ve Grade 2 arasında histolojik ve prognostik yönden önemli farklılık genelde görülmemiştir (3, 7).

Gradelendirme sistemlerinden bazıları şunlardır;

- Markhede ve arkadaşlarının 1982 yılında yayınlanan gradelendirme sisteminde dört grade kullanılmıştır. Gradelendirmede hücre zenginliği, pleomorfizm ve mitotik aktivite esas alınmıştır. Grade 1 ve Grade 2 tümörler benzer klinik seyir göstermiş ve bu hastalarda tümör nedeniyle ölüm olmamıştır (3).
- Myhre Jensen ve arkadaşları 1983 yılında 261 YDS'nu gradelendirirken üçlü gradelendirme sistemi kullanmışlar ve mitotik aktiviteyi en önemli kriter olarak

kabul etmişlerdir. Yazarlar, yetersiz veya gecikmiş fiksasyonun, özellikle büyük tümörlerin santralinde mitozun yanıltıcı olarak düşük bulunmasına yol açtığını vurgulamışlardır (7).

- Costa ve arkadaşları da 1984 yılında 163 sarkomda kullandıkları üçlü gradelendirme sisteminde; histolojik tanı, hücre zenginliği, pleomorfizm, mitotik aktivite yanısıra nekrozu da esas almışlardır (7).

- Coindre ve Trojani, YDS'da hücresel differansiyasyon-mitoz-nekroz kombinasyonunu esas alarak üçlü gradelendirme sistemi kullanmışlardır. Bu parametrelerin herbirini sıfırdan üçe kadar skorlayarak, bu skorların toplamını kombine grade olarak kabul etmişlerdir. 15 patoloğ bu sistemle 155 YDS'nu değerlendirmişler; tümör nekrozunda % 81, tümör differansiyasyonunda % 74, histolojik tiplendirmede % 61, mitotik aktivitede % 73, genel değerlendirmede ise % 75 oranında fikir birliğine varmışlardır (Tablo VI) (5, 49).

Tablo VI. Gradelendirme sistemleri. Farklı gradelendirme sistemlerinde kullanılan histolojik parametreler

	Markhede	Myhre Jensen	Costa	Coindre
Hücre zenginliği	+	+	+	-
Differansiyasyon	-	-	-	+
Pleomorfizm	+	+	+	-
Mitoz oranı	+	+	+	+
Nekroz	-	+	+	+

Patoloğ ve klinisyenlerin büyük çoğunluğu YDS'da en az üçlü gradelendirme sistemi kullanmanın gerekliliği konusunda fikir birliğine varmışlardır (50).

YDS'da tümörün histolojik tipi ve subtipi gradelendirmede kestirme bir yol sağlayabilmektedir. Örneğin; alveoler ve embriyonel rabdomyosarkoma, nöroblastoma, iskelet dışı Ewing sarkoma, periferik nöroepitelyoma,

osteosarkoma, yuvarlak hücreli ve pleomorfik liposarkoma yüksek gradeli sarkomlardır. Miksoid liposarkoma, iyi differansiye liposarkoma ve dermatofibrosarkoma protuberans ise düşük gradeli sarkomlardır (7, 48).

2.8.1. Gradelendirmede Limitasyonlar ve Yanılıya Yol Açan Faktörler

- Değişik parametreler, farklı tümörlerde daha az veya daha fazla öneme sahip olabilirler. Örneğin; mitotik aktivite, malign schwannoma ve leiomyosarkomada önemli olmasına karşın MFH subtiplerinin gradelendirilmesinde daha az öneme sahiptir. Malign granüler hücreli tümör ve alveoler soft part sarkom hücreden orta derecede zengin olmalarına ve seyrek mitoz içermelerine rağmen agresif tümörlerdir. Infantil fibrosarkomalar ise, hücreden zengin ve yüksek mitotik aktivite göstermelerine karşın nispeten düşük gradeli tümörlerdir.
 - Bir tümörün farklı alanlarında morfolojik varyasyonlar olabilir. Bu durumda gradelendirme, en az differansiye alanlar esas alınarak yapılmalı, ancak bu alanların genişliği de gözönünde tutulmalıdır.
 - Gradelendirme, benign ve malign lezyonların ayırımında yardımcı değildir. Ayrıca histolojik tipi ve histogenezisi bilinmeyen tümör ve tümör benzeri lezyonlarda yanlış yönlendirmelere yol açabilir. Örneğin; nodüler ve proliferatif fasiitis, erken dönem myozitis ossifikans gibi.
- Gerçeğe en yakın gradelendirmeyi yapabilmek için tümörün iyi örneklenmesi, yeterli fiksasyon, kaliteli boyama ve ince kesit şarttır (7, 25).

2.9. Yumuşak Doku Sarkomlarında Evrelendirme Sistemleri

YDS'nin evrelendirilmesinde en sık kullanılan sistemler; "American Joint Committee" (AJC) sistemi ve Enneking sistemidir.

AJC sisteminde TNM evrelendirme sistemi esas alınır. Burada kriterler:

Primer tümörün boyutu ve yayılımı (T)

Lenf nodüllerinin tutulumu (N)

Metastaz varlığı (M)

Sarkomun tipi ve grade'i (G)'dir.

Tümörün histolojik tipine, hücre zenginliğine ve mitotik aktivitesine göre üç grade kullanılır; düşük-orta-yüksek grade (7).

Tablo VII. YDS'da "American Joint Commission on Cancer" (AJCC) YDS'nin GTNM sınıflandırması ve Evre Gruplandırması (24)

G: Tümör grade'i

G₁ : İyi differansiye

G₂ : Orta derecede iyi differansiye

G₃ : Az differansiye

T: Primer Tümör

T₁ Tümörü en büyük çapı ≤ 5 cm

T₂ Tümörün en büyük çapı > 5 cm.

N: Bölgesel lenf nodu tutulumu

N₀ Lenf nodüllerine bilinen metastaz yok

N₁ Lenf nodüllerine metastaz

M: Uzak metastaz

M₀ Bilinen uzak metastaz yok

M₁ Bilinen uzak metastaz

Evre Gruplandırılması

Evre IA	G ₁	T ₁	N ₀	M ₀
Evre IB	G ₁	T ₂	N ₀	M ₀
Evre IIA	G ₂	T ₁	N ₀	M ₀
Evre IIB	G ₂	T ₂	N ₀	M ₀
Evre IIIA	G ₃	T ₁	N ₀	M ₀
Evre IIIB	G ₃	T ₂	N ₀	M ₀
Evre IVA	Herhangi G	Herhangi T	N ₁	M ₀
Evre IVB	Herhangi G	Herhangi T	Herhangi N	M ₁

Enneking sistemi, YDS yanısıra kemik tümörlerinde de kullanılabilir. Bu sistemde iki anatomik konum belirlenmiştir;

T₁: Fonksiyonel kas grubu, eklemler ve subkutis gibi iyi tanımlanmış anatomik yapılar ile sınırlı intrakompartmantal tümörler

T₂: Anatomik bariyerlere sahip olmayan, ekstrasfasial boşluklar veya planlardan gelişen ya da sekonder olarak bu yapıları da tutan ekstrakompartmantal tümörler. Bu sistemde iki grade [düşük grade(G1)ve yüksek grade(G2)] ve üç evre vardır(7).

Yumuşak Doku Sarkomları İçin Enneking Evrelendirme Sistemi

Evre I:		
G ₁	Metastaz yok	T ₁
G ₁	Metastaz yok	T ₂
Evre II:		
G ₂	Metastaz yok	T ₁
G ₂	Metastaz yok	T ₂
Evre III:		
G ₁ veya G ₂	Metastaz var	T ₁
G ₁ veya G ₂	Metastaz var	T ₂

Diğer bir evrelendirme sistemi ise Hadju tarafından önerilmiştir. Bu sistemde histolojik grade'i (düşük grade, yüksek grade) belirlemek için; differansiyasyon, hücre zenginliği, stroma miktarı, vaskülarite, nekroz, mitotik aktivite, tümör derinliği (yüzeysel, derin) ve boyutu (küçük, büyük) değerlendirilerek elde edilen kombine skorlar kullanılmaktadır (7).

2.9.1. Evrelendirme Sistemlerinin Avantaj ve Dezavantajları

Hem AJC, hem de Enneking sistemi, YDS'da prognozun belirlenmesi ve tedavide yol göstermesi açısından oldukça yardımcıdır.

AJC sistemi, tüm anatomik bölgelere uygulanabilir niteliktedir. Ancak Enneking sistemi "kompartmantalizasyon" nedeniyle en iyi ekstremite yerleşimli sarkomlara uygulanabilmektedir.

Enneking sistemi tümör tipi, boyutu ve derinliğini ayrı parametreler olarak almaz, ikili gradelendirme sistemi ise YDS'nın geniş biyolojik davranış yelpazesi gözönünde tutulursa oldukça kısıtlıdır.

İki grade kullanılması; geniş ve radikal eksizyon kararını kolaylaştırması, "intermediet" sarkomlar ile yüksek grade sarkomların metastaz oranları arasındaki farkın çok iyi belirlenmemesi nedeniyle, Enneking sistemi cerrahi yönden daha kullanışlı görünmektedir (7).

AJC sistemi ise fazla karmaşıktır ve evreleme için gerekli olan sinir-damar-kemik invazyonu gibi kriterler preoperatif olarak belirlenemez (7).

YDS'nın evrelendirilmesi, iyi bir klinisyen-onkolog-patolog-radyolog işbirliği, yani multidisipliner yaklaşım gerektirir.

2.10. Yumuşak Doku Sarkomlarında Moleküler Biyoloji

Karsinogenezisin anlaşılmasında, modern sellüler ve moleküler biyolojinin önemli bir rolü vardır. Tümör oluşumuna katkıda bulunan genler (2.4.1.'de kısaca bahsedilmişti), 2 ana kategoriye ayrılır;

a- Hücre proliferasyonuna yol açan genler (onkogenler)

b- Hücre proliferasyonunu inhibe eden genler (tümör supressör genler) (51).

YDT'de tümör supressör genler

Tanımlanan tümör supressör genlerin tamamı diğer kanser türlerinde de orjinal olarak bulunmalarına rağmen, bu genlerden bazıları YDT için özellikle önemlidir. Li-Fraumeni sendromunda p53 mutasyonlarının gözlenmesi, herediter retinoblastomalı hastalarda sarkom oluşumu ve sarkomların bazı ailesel kanser

sendromlarıyla nadir görülen birlikteliği, bu genlerin YDT'nde araştırılmasını motive etmiştir (51).

p53 gen mutasyonları: Bazı YDT'nin gelişiminde p53 mutasyonunun rolü olduğu konusunda yeterli veri sağlanmıştır. Bu tümörlerde p53 geninin hem nokta mutasyonları ve hem de büyük defektleri gözlenmiştir (51).

MFH, leiomyosarkoma, liposarkoma ve rabdomyosarkomada olguların % 20-30'unda p53 geninde anormallik saptanmıştır. Yine Ewing sarkoma ve osteosarkomada da p53 mutasyon insidansı önemli düzeydedir Buna karşılık nöroblastomada p53 mutasyonunun önemi olmadığı anlaşılmıştır.(51-53).

Rb gen mutasyonları: Rb, herediter retinoblastoma genidir. Sarkomlarda, total veya parsiyel gen delesyonları, Rb inaktivasyonunun önemli mekanizmasıdır. Bu da özellikle osteosarkomalarda önemlidir (51). Bir seri YDS'da DNA ve RNA'da yapısal düzeyde Rb geni çalışmasında; beş MFH olgusunun ikisinde, dört liposarkoma olgusunun ikisinde, bir extraosseöz osteosarkoma ve bir mezenkimoma olgusunda Rb delesyonu saptanmış ancak leiomyosarkoma, hemanjioperisitoma ve extraosseöz kondrosarkomalarda gözlenmemiştir (54). Yine de YDS'da Rb gen mutasyonları hakkında çok az veri vardır.

NF1 gen mutasyonları: Nörofibromatozis tip 1'in (Von-Recklinghausen hastalığı) 17. kromozomun NF1 genindeki defekt nedeniyle oluştuğu artık bilinmektedir. NF1 hastalarında oluşan malign tümörlerde kromozom 17 allellerinin yokluğu gösterilmiş olup bu, Knudson hipotezi ile de uyumlu bulunmuştur. Bunun en iyi örneği yapılan bir çalışma ile ortaya konmuştur. Örneğin; nörofibrosarkoma gelişen NF1'li bir hastada NF1 bölgesinde heterozigosite kaybı ve kalan kopyada NF1 geni içinde tümörle ilişkili delesyon saptanmıştır (51).

Ras gen aktivasyonu: YDS'da ras gen mutasyonlarının varlığı bilinmekle birlikte bu konudaki çalışmalar henüz az sayıdadır. Bir çalışmada, H- ras mutasyonları (12. kodonda); altı MFH olgusundan ikisinde, üç embriyonel rabdomyosarkoma olgusundan birinde saptanmış ancak alveoler rabdomyosarkoma, pleomorfik

rabdomyosarkoma ve leiomyosarkomada gözlenmemiştir (55). Anjiosarkomada ise, K-ras mutasyonları (13. kodonda), altı olgudan beşinde saptanmıştır (51).

YDT'de gen amplifikasyonu

Gen amplifikasyonu, YDT'de en sık görülen moleküler değişikliklerden biridir. Onkogen amplifikasyonunun, ağır ağırsif klinik davranış ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan en yoğun çalışmalar ise, nöroblastomada N-myc onkogeninin amplifikasyonu ile ilgilidir. Kötü prognozlu ileri evre nöroblastomalı hastaların yaklaşık % 50'sinde N-myc amplifikasyonu saptanmıştır. Ayrıca myc ailesi onkogenlerinin seyrek amplifikasyon örnekleri MFH, kondrosarkom ve rabdomyosarkoma dahil çeşitli YDS'da tanımlanmıştır (51).

Moleküler genetik, kanserin temel biyolojik prensipleri ile ilgili çalışmalarda önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte, spesifik olgularda, DNA kökenli belirleyiciler ya da bunların immunohistokimyasal alternatiflerinin de belirgin tanı değeri olduğu ve prognostik korelasyonlarının değerli olduğu düşünülmektedir. Kanser genetiği ile ilgili bilgi artışı; kesin tanıya, yeni prognostik belirleyicilerin bulunmasına ve tedavi edici ajanların belirlenmesine katkıda bulunacaktır (51).

2.11. Yumuşak Doku Sarkomlarında Prognozu Etkileyen Faktörler

YDS'larında prognostik faktörlerin değerlendirilmesi önemli ancak oldukça karmaşıktır. Zira farklı prognostik faktör çalışmalarının sonuçları sıklıkla tutarsız veya çelişkilidir (56). Hashimoto ve arkadaşları farklı morfolojik parametrelerin, farklı sarkom tiplerinde farklı öneme sahip olduğunu ve prognoz açısından sarkomun her tipine uygulanabilecek evrensel bir parametrenin olmadığını öne sürmüşlerdir (2). Yine Gustafson ve arkadaşları 508 YDS olgusu içeren serilerinde belirli histolojik tiplere özgü prognostik faktörlerin saptanamadığını bildirmişlerdir. Yazarlar bağımsız prognostik faktörlerin gerekliliğini vurgulamışlardır (19). Mandard ve arkadaşları da 109 YDS olgusunu içeren çalışmalarında prognostik faktörlerin birbirine bağımlı olduğunu öne sürmüşlerdir (57).

Yapılan çok değişkenli analiz çalışmalarda; YDS'larında histolojik grade, nekroz, tümör boyutu, mitoz oranı, tümörün derinliği, cerrahi sınırların durumu ve tümör

differentiasyonunun en önemli prognostik faktörler olduğu belirlenmiştir (1, 2, 5, 6, 25, 57,58).

Bununla birlikte çalışmaların çoğunda en önemli ve bağımsız prognostik faktörün tümörün histolojik grade'i olduğu vurgulanmıştır (1-6).

1994 yılında Singer ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir çalışmanın sonuçlarına göre, sağkalımı en fazla etkileyen morfolojik özelliklerin; histolojik grade-tümör boyutu-mitotik aktivite ve tümörün histolojik tipi olduğu bildirilmiştir. Grade I tümörlerde 12 yıllık sağkalım % 98, Grade III tümörlerde % 52 bulunmuştur. Çapı 5 cm'den küçük tümörlerde 12 yıllık sağkalım % 83 iken, 10 cm'den büyük tümörlerde bu oranın % 52'ye düştüğü saptanmıştır. Bu çalışmada mitotik aktivitenin, tümör grade' inden bağımsız, tek başına prognostik faktör olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Mitoz sayısı arttıkça 12 yıllık sağkalım oranlarının düştüğü gözlenmiştir (59).

Nekroz varlığının, yüksek gradeli sarkomların tanısında en önemli kriter olarak kullanılabileceği ve nekroza eğilimin tümörün biyolojik agresivitesinin temel bir göstergesi olabileceği de öne sürülmüştür. Grade II ve III tümörlerde orta derecede ve yaygın nekroz varlığının, prognozda belirgin kötüleşme ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (48, 60).

YDS'lerinde histolojik prognostik parametrelere yönelik bir derleme çalışmasında Kulaçoğlu, literatürden 34 makaleyi gözden geçirmiş ve histolojik tiplendirmenin prognozu belirlemede esas olduğu kanaatine varmıştır (61).

Gustafson ve arkadaşlarının 1994 yılında yayınlanan, 508 YDS olgusunu içeren çalışmasında metastazların, sıklık sırasına göre; akciğer, yumuşak doku, lenf nodülü ve kemiklere olduğu bildirilmiştir. Özellikle MFH, leiomyosarkoma, sinovyal sarkoma, sinir kökenli tümörler ve sınıflandırılmayan YDS'lerinde en sık metastazın akciğere olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada lokal rekürrensi olan olgularda metastaz insidansının daha yüksek olduğu da vurgulanmıştır (19).

YDS'lerinde histolojik grade, tek başına metastaz için iyi bir risk belirleyicisi ise de, Donah ve arkadaşları düşük gradeli YDS olan hastaların % 14'ünde metastaz geliştiğini bildirmişlerdir (6).

Markhede ve arkadaşlarının bir çalışmasında rekürrens ve metastazı en fazla etkileyen faktörün yapılan cerrahi işlemin yeterliliği olduğu öne sürülmüştür. Lokal

radikal cerrahi öncesi herhangi bir biyopsi girişiminin yapılmaması, rekürrens olasılığını belirgin olarak azaltmaktadır (3).

Yine Sağlıcan ve arkadaşları 58 YDS olgusu içeren çalışmalarında lokal cerrahi işlemin yeterliliğinin rekürrens riski üzerinde en önemli etken olduğunu vurgulamışlardır. 50 yaşın altında, üst ekstremitede lokalize, grade III ve amputasyon yapılan olgularda metastaz oranı daha yüksek bulunmuştur. Nekroz, yüksek mitotik aktivite, hasta yaşının 50'nin altında olmasını sağkalım oranlarını olumsuz etkilediği gözlenmiştir (20).

Literatürde bazı çalışmalarda cinsiyetin de prognoza etkili bir risk faktörü olduğu ve erkeklerde prognozun daha kötü olduğu bildirilmiştir (60).

YDS'nin prognozunda onkogenlerin rolü ile ilgili çalışmalar ümit vericidir. Drobnjek ve arkadaşları 1994 yılında yayınlanan çalışmalarında 174 YDS olgusunu incelemişler ve p53 aşırı ekspresyonu ile tümör grade'i ve tümör boyutu arasında önemli bir ilişki saptamışlardır. P53 pozitif fenotip gösteren hastalarda sağ kalım oranları önemli ölçüde düşük bulunmuştur (62).

Son yıllarda, YDS olan premenapozal kadınlarda östrojenin prognoza olumlu etkisi olduğu düşünülmektedir (19). Steroid reseptörlerinin YDS'deki klinik önemi tam olarak bilinmemektedir. "Enzyme linked immünoabsorbant assay" yöntemi ile YDS da düşük seviyelerde östrojen reseptörü varlığı saptanmış, ancak proteinin varlığı immünohistokimyasal olarak henüz gösterilememiştir (7). Sarkom tiplerinin farklı hormon reseptörlerinden bir çeşidini içerebildikleri ve bazılarının da antihormonal tedaviye yanıt verdiği bildirilmektedir (25).

YDS'nin prognozunu belirlemede immün efektör hücreler ile sarkom hücreleri arasındaki lokal etkileşimlere yönelik çalışmalar da yapılmaktadır. Örneğin, MFH olgularında, tümör hücreleri HLA-Dr (+) ve HSP-27 (heat shock protein) (+) olan hastalarda prognozun daha iyi olduğu bildirilmektedir. Ayrıca nöral hücre adezyon molekülleri ile YDS'nin biyolojik davranışı arasındaki ilişki yeni araştırmalar için ilginç bir konu olacaktır (9).

2.12. Proliferatif Aktivite ve Yumuşak Doku Sarkomlarında Prognosa Etkisi

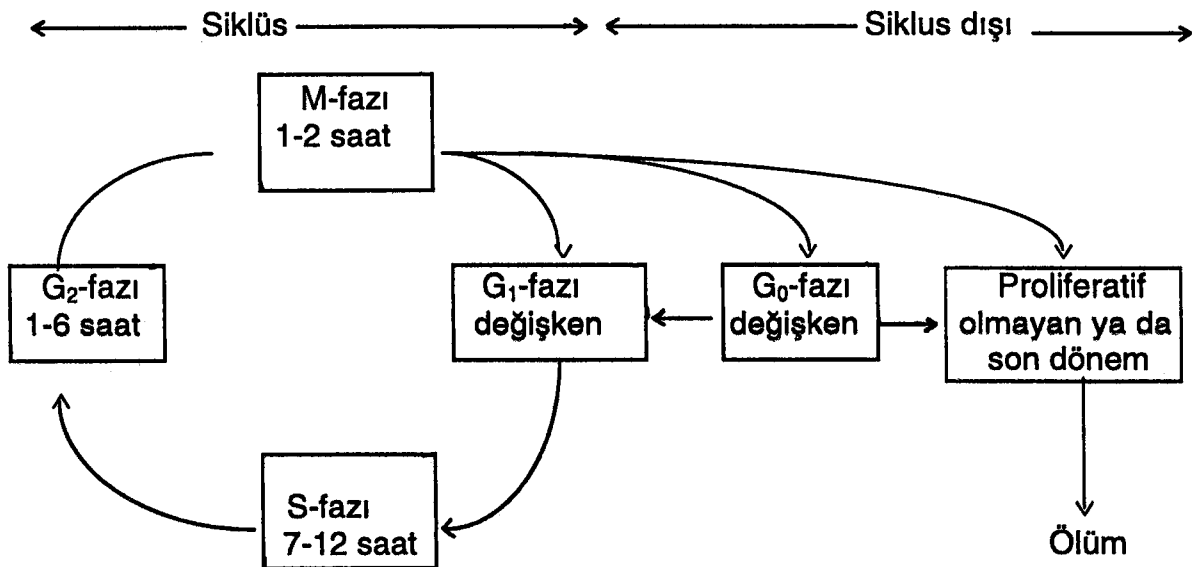
2.12.1. Hücre siklüsü

Hücre siklüsü, iki ardışık hücre bölünmesi arasındaki süreçtir, ve esas olarak iki faza ayrılır;

a- Interfaz

b- Mitotik period (M fazı)

DNA sentezi ve genomun iki katına çıkması sentetik faz (S-fazı) da gerçekleşir. S-fazını, önceki mitoz fazından (M-fazı) ayıran period, süresi değişkenlik gösteren G_1 (Gap 1) fazıdır. S-fazından sonra G_2 (Gap 2) fazı gelir ki, bu period inaktivasyon evresidir ve bir sonraki mitozdan önce gelir. Interfaz (G_1 , S, G_2) hücre siklüsünün % 90'ını oluşturur. Lajtha, başka bir faz daha olduğunu (G_0 -fazı) ve bu fazda bulunan hücrelerin siklüse dahil olmadığını, ancak uygun uyarı varlığında siklüse katılabileceğini öne sürmüştür. Ancak G_0 -fazının doğası konusunda fikir birliğine varılamamıştır (63, 64). Tekrarlayan hücre siklüslerinde daima S-fazı ardından M-fazı ve M-fazı ardından S-fazı gelir (Şekil 2) (65).



Şekil 2. Hücre siklüsü. Normal ve neoplastik dokularda, hücre siklüs fazlarının süreleri dokular arasında değişkenlik gösterebilir (63).

2.12.2. Hücresel Proliferasyonu Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler

2.12.2.a. Mitoz

Hücre siklüsünün, basit morfolojik inceleme ile belirlenebilen tek bölümü, mitotik fazdır. Mitoz sayımının özellikle bazı tümörlerde (lenfomalar, melanomalar, YDS ve özellikle düz kas tümörleri) proliferasyonu değerlendirmede yardımcı olduğu düşünülmektedir. Ancak mitozun, proliferasyonun bir belirleyicisi olarak kullanımında bazı potansiyel problemler de söz konusudur. Mitozun saptanması oldukça zor olabilir. Bu yüzden son derece dikkatli bir mikroskopik inceleme gerektirir. Piknotik nükleuslar ve şüpheli hücreler sayım dışı bırakılmalıdır. Her büyük büyütme alanındaki mitoz sayısı belirtilmeli, tercihan her 1000 hücre için mitoz sayısı kaydedilmelidir. Fiksasyonun yetersizliği gerçek mitoz sayısının belirlenmesinde yanlışlıklara neden olabilir (63).

Ayrıca mitoz sayımının tam olarak güvenilir bir yöntem olmadığını, zira siklüsün sadece bir bölümünü yansıttığını öne süren araştırmacılar da vardır (13,66).

2.12.2.b. DNA İçeriğinin Belirlenmesi

Normal bir somatik hücre diploid genoma sahiptir. S-fazı sırasında oluşan DNA sentezi, genetik bilginin iki katına çıkması ve hücrenin tetraploid hale gelmesi ile sonuçlanır (63). Bu yapılanmanın ölçümünde kullanılan bazı yöntemler şunlardır:

Timidin ile İşaretleme:

Yöntem, 1950'li yıllarda yüksek rezolüsyon otoradyografi tekniğinin geliştirilmesi ile birlikte hücre kinetik çalışmalarında "altın standart" olmuştur. Yöntemde işaretli timidinin *invivo* olarak DNA içine verilmesi ya da alternatif olarak biyopsi ve diğer spesmenlerde fiksasyon öncesi *invitro* inkübasyonu gereklidir. Timidin ile işaretleme yöntemi bazı merkezlerde, özellikle lenfomalar ve meme kansinomlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak uygulamadaki kısıtlamalar nedeniyle, patologlar için rutin uygulamada kullanışlı değildir (63).

Bromodeoxyuridine Inkorporasyon:

DNA sentezi aynı zamanda bromodeoxyuridine gibi timidin analoglarının inkorporasyonunun ölçümü ile de değerlendirilebilir. Bu molekül, ya doku kesitlerinde ya da akım sitometrisi (flow cytometry) ile spesifik antikolar yoluyla saptanabilir ve timidin inkorporasyonuna benzer şekilde detaylı hücre siklus analizi için kullanılır.

Yöntemin dezavantajları, timidin ile işaretleme yöntemindekilere benzer. Özellikle *invivo* verilmeyi veya *invitro* inkübasyonu gerektirmesi önemli dezavantajlardır(63)

Akım Sitometrisi (Flow cytometry):

Akım sitometrisi analizi; normal, reaktif ve neoplastik dokuların hücre biyolojisi hakkında detaylı bilgi sağlar. Membran antijenleri ve tümör hücrelerinin DNA içeriği gibi bazı konularda, hücre karakteristiği hakkında hızlı ve kantitatif bir ölçüm sağlar (42). Uygulama için, solid doku veya parafine gömülü kalın doku kesitlerinin, tek bir hücre veya nükleer süspansiyonlara ayrılması gereklidir (37). Yöntemin, objektif oluşu ve çok sayıda hücrenin değerlendirilmesine olarak sağlaması yanısıra bazı dezavantajları da vardır. En önemli dezavantajları; gerekli aygıtın pahalı oluşu, dokuların parçalanmasını gerektirmesi buna bağlı olarak hücre subpopülasyonlarının uzaysal ilişkisinin kaybı ve neoplastik olmayan hücrelerin örneklerle olası karışımıdır (63).

Timidin ile işaretleme, bromodeoxyuridine inkorporasyon ve sitometri zor, pahalı ve zaman alıcı yöntemler olduğundan cerrahi patolojide benimsenmemiştir (66).

2.12.2.c. Nükleol Düzenleyici Bölgeler

Nükleol düzenleyici bölgeleri, ribozomal RNA genleri ve bunlarla birleşik proteinleri içeren DNA ilmeklerini göstermektedir. Ancak bu nükleik asit protein komplekslerinin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Histopatolojik materyalde gümüşle boyalı nükleol düzenleyici bölgelerinin değeri, Crocker tarafından ortaya konmuştur. Basit gümüş boyama yöntemleri, geleneksel histolojik kesitlerde interfaz kromozomlarındaki nükleol düzenleyici bölgeleri ile birleşik proteinlerin

varlığının gösterilmesinde ve sayımlarının yapılmasında kullanılabilir. Nükleol düzenleyici bölgelerinin akrosentrik kromozomlarla birleşik olmaları nedeniyle, önceleri bunlarla ilgili verilerin ploidy'i geniş anlamda gösterdiği sanılmaktaydı. Ancak geleneksel histolojik değişkenlerle, Ki-67 immunoreaktivitesi ve sitometri ile korelasyonları sonucu AgNOR (Argirofil nükleoler organizasyon bölgesi) 'un ploidy den çok, hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Interfaz nükleolarıyla ilgili morfolojik incelemeler ve hücre kinetik yöntemleri ile yapılan son çalışmalarda, var olan interfaz nükleol düzenleyici bölgelerinin sayısının, hücre proliferasyonu ile çok sıkı ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Nükleol düzenleyici bölgesinin boyanmasının çocukluk çağı tümörleri, YDT, melanositik ve diğer kutanöz lezyonlar ve meme, akciğer, tükrük bezi, serviks, karaciğer, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem tümörlerinde tanı değeri olduğu kanıtlanmıştır (63).

2.12.2.d. Immunohistokimyasal (IHK) Yöntemler

Hücre proliferasyonu ile ilişkili antijenlerin IHK olarak saptanması her geçen gün daha fazla önem kazanmaktadır. IHK yöntemlerin sitometri gibi diğer destrüktif tekniklere oranla önemli bazı yapısal avantajları vardır; en önemlileri de doku yapısının ve hücreler arası ilişkilerin korunmasıdır. Ayrıca IHK yöntemler kolaydır ve hızlıdır; radyoaktivite kullanılmaz ve hücre proliferasyonunun uzaysal konumu ile ilgili bilgi verir. Bu nedenlerden dolayı yöntem birçok patoloj tarafından uygulanmaktadır (65-69). En yaygın olarak kullanılan antikolar şunlardır;

Ki - 67

Ki -67, 10. kromozomda bulunan tek bir genin kodladığı, 395 kD ağırlığındaki bir gen ürünüdür ve bir non-histon proteindir (10). Hücre siklusunun G₀ dışında kalan tüm fazlarında açığa çıkan nükleer bir antijenle reaksiyon verir. Antijen G₁ fazının ortasında (mid G₁) ortaya çıkmaya başlar, daha sonra düzeyi S, G₂ ve M fazında artarak pik yapar. M-fazının sonunda da hızla katabolize edilir (11).

Ki-67'nin fonksiyonu tam olarak açıklık kazanmamıştır ancak mitozun önemli aşamaları sırasında DNA'nın morfolojik bütünlüğünü sağlayan yapısal bir protein olabileceği öne sürülmüştür (65).

"Confocal" mikroskopi dahil çeşitli teknikler kullanılarak yapılan son araştırmalar, bu antijenin nükleer matriksin bir komponenti olduğunu düşündürmektedir (63,69). Ki - 67 antikoru tümörlerin büyüme fraksiyonunu belirlemede de kullanılabilir (70). Yapılan çok sayıda çalışmanın sonuçlarına göre; Ki-67 immunoreaktivitesi ile timidin işaretleme, bromodeoxyuridine inkorporasyon ve akım sitometrisi gibi hücresel proliferasyonun diğer değişkenleri arasında korelasyon vardır (63).

YDT dışında diğer birçok kanser tipinde de Ki-67 immun boyaması uygulanmış (Non-Hodgkin lenfoma, Hodgkin hastalığı, plazma hücreli tümör, meme kanseri, beyin ve karaciğer tümörleri, akciğer, serviks ve kolorektal karsinomalar) ve tümörün proliferatif aktivitesi ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (63).

Son zamanlarda Ki-67 ile ilgili olarak oldukça geniş literatür mevcuttur ve potansiyel prognostik değeri hakkında birçok iddia gündeme gelmiştir. Bu iddialar doğru ise, Ki-67 yakında anahtar rolü oynayacaktır (66).

Son yıllarda Ki-67 antijeninin rekombine kısımlarına karşı MIB1-3 adı verilen monoklonal antikolar geliştirilmiştir. Bu antikoların, Ki-67 antijeninin gerçek eşdeğerleri olduğu, önceleri Ki-67 ile saptanan antijenin artık formalinde fikse parafine gömülü dokularda da mikrodalga ile rutin olarak MIB 1 ve MIB 3 antikoları kullanılarak saptanmasının mümkün olduğu bildirilmiştir (71).

PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen)

PCNA 36 kD ağırlığında, asidik, non-histon bir nükleer polipeptid olup hücre proliferasyonuna eşlik eder. Bu protein ilk olarak sistemik lupus eritematozus (SLE)'lu hastaların serumunda saptanmıştır. İstirahatteki hücreler ile immunreaksiyon göstermediği ancak normal insan dokularında proliferatif hücre nükleusları ile (germinal merkez hücreleri, kortikal timositler, testisin spermatogoniaları) olduğu kadar mitojenik olarak uyarılmış periferik kan lenfositleri ile de reaksiyona girdiği gözlenmiştir. Miyachi ve arkadaşları bu proteini "proliferating cell nuclear antigen (PCNA)" olarak isimlendirmişlerdir. Bravo ve arkadaşları ise, hücre siklus fazlarına spesifik proteinleri araştırırken, 36

kD ağırlığında bir asidik nükleer protein tanımlamışlar ve "Cyclin" olarak adlandırmışlardır. 1984 yılında Mathews ve arkadaşları da PCNA ve Cyclin'in aynı olduğunu öne sürmüşlerdir (8, 72). Ancak son zamanlarda "Cyclin" terimi PCNA için kullanılmamaktadır ve tamamen farklı bir protein grubu olduğu bilinmektedir (65). PCNA; DNA sentezinde, DNA polimerase γ 'nın bir ko-faktörü olarak fonksiyon görmektedir ve DNA replikasyonu için gereklidir (65,68,69,73,74). PCNA'nın varlığı ve sentezlenen miktarı, hücre proliferasyonu ve DNA sentezi ile doğru orantılıdır. PCNA düzeyi geç G₁-fazında DNA sentezi başlamadan hemen önce yükselir ve S-fazında maksimum konsantrasyona ulaşır, G₂-fazında düzeyi düşer. M-fazında ise en düşük seviyededir (8, 9). Her ne kadar PCNA/Cyclin bazı araştırmacılar tarafından S-fazı ile ilişkili bir protein olarak tanımlanmışsa da, aslında siklüsteki hücrelerin tümünde saptanabilecek düzeyde bulunmaktadır (8). Siklüs dışındaki hücrelerde de çok düşük seviyelerde bulunabileceği gösterilmiştir. PCNA, fiksasyona dirençli bir antijendir (65).

C₅F₁₀

Mitozdaki hücreleri saptamada kullanılacak bir antikor olarak tanımlanmış, ancak diğer birçok hücre komponentleriyle çapraz reaksiyon verdiği saptanmıştır (63,69).

CD71 (transferrin reseptörü)

Bazı araştırmacılar CD71'in IHK olarak gösterilmesinin hücresel proliferasyonu değerlendirme amacı ile kullanılabilmesini öne sürmüşlerdir. Ancak CD71 sadece proliferatif dokularda değil, aynı zamanda metabolik olarak aktif nonproliferatif dokularda da açığa çıktığından proliferasyon indeksi olarak güvenilir değildir (63,69).

Diğer proliferasyon belirleyicileri

Literatürde tanımlanan diğer bazı proliferasyon belirleyicileri ise şunlardır: anti-DNA polymerase α , anti-PAA, anti-ribonucleotide reductase, p105, anti-M faz-spesifik monoklonal antikor. Ancak bu belirleyicilerin, diğerleri kadar faydalı olmadığı bildirilmiştir (66, 67).

2.12.3. Yumuşak Doku Sarkomlarında Proliferatif Aktivitenin Prognoza Etkisi

Bir dokunun veya tümörün proliferatif aktivitesi; büyüme fraksiyonu (örneğin; hücre siklusündeki hücrelerin sayısı) ile ve hücre siklusünü tamamlaması için geçen süre ile belirlidir.

YDS'da histolojik grade gibi önemli prognostik faktörler konusunda tam bir fikirbirliği sağlanamadığından sonuçta prognoz ile bağlantı kurulabilecek yeni faktörlere gereksinim duyulmuş, proliferasyon belirleyicileri de bu konuda yardımcı olmuştur (75).

Son yayınlar histolojik materyallerde Ki-67'nin, proliferasyonun mükemmel bir belirleyicisi olduğunu ve tümör davranışı ile ilgili çalışmalarda kullanılabileceğini bildirmektedir (69, 71).

Farklı retrospektif çalışmaların sonuçlarına göre büyüme fraksiyonunun Ki-67 ile saptanması yeni bağımsız bir prognostik belirleyicidir (10). Choong ve arkadaşlarının 182 YDS olgusunda yaptıkları bir çalışmada Ki-67'nin diğer prognostik faktörler ve sağkalım oranları ile güçlü bir bağlantı gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada Ki-67 skoru yüksek olan sarkomların sıklıkla büyük çaplı, yüksek grade'li, nekrotik ve noneuploid olduğu gözlenmiş, bu hastalarda 3 yıllık metastazsız sağkalım oranı %56, Ki-67 indeksi düşük olanlarda ise %76 bulunmuştur (16). Kroese ve arkadaşları, 54 YDT olgusu içeren çalışmalarında; düşük Ki-67 skoru olan tümörlerin çoğunun (%83) diploid olduğunu, Grade III tümörlerin çoğunun (%86) ise aneuploid ve yüksek Ki-67 skoruna sahip olduğunu bildirmişlerdir (76).

Ueda ve arkadaşlarının YDS'da Ki-67 reaktivitesinin prognostik önemini belirlemeye yönelik yaptıkları ve 34 olguyu içeren çalışmalarında Ki-67 indeksi ile

tümörün histolojik grade'i, hücre zenginliği ve mitoz sayısı arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiş, buna karşın tümör nekrozunun yaygınlığı ve hücresel pleomorfizm ile bir ilişki saptanmamıştır. Yazarlar, Ki-67 indeksi düşük grubun prognozunun daha iyi olduğunu ve bu hastalarda tümör grade'i yüksek bile olsa 5 yıllık sağkalım oranının daha yüksek olduğunu belirtmektedirler. Sonuç olarak, YDS' da prognozu belirlemek için mitoz saymaktansa, IHK olarak Ki-67 boyamak daha kullanışlı ve kolay bir yöntem gibi görünmektedir (77).

Ki-67 skoru, tümör grade'i ile ilişkilidir. Benign ve Grade I tümörler düşük Ki-67 skoru gösterirken, Grade II ve III tümörler yüksek Ki-67 skoruna sahiptir. Düşük Ki-67 skoru; diploid DNA içeriği, düşük mitoz sayısı ve yüksek G1PF ile bağlantılı görünmektedir. (78, 79).

108 YDS olgusunda 70 aylık takip sonrasında sağkalım, Ki-67 indeksi yüksek tümörlerde % 39, düşük tümörlerde ise % 47 bulunmuştur (62). Ki-67 indeksinin proliferatif aktiviteyi yansıttığı anlaşıldığından beri, yüksek Ki-67 indeksine sahip tümörlerin kemoterapiye daha iyi cevap verebileceği düşünülmektedir (13).

Robbins ve arkadaşları, YDS da içeren solid tümörlerde yaptıkları bir çalışmada PCNA pozitivitesinin mitotik aktivite ve tümör grade'i ile korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (80). Ayrıca PCNA pozitif hücrelerin oranının bazı tümörlerde (gastrik karsinom, gastrointestinal lenfomalar) bağımsız bir prognostik faktör olarak kullanılabileceği ve bu tümörlerin metastatik davranışı hakkında bilgi verebileceği de öne sürülmüştür (75).

Solid malign tümörlerde genel anlamda PCNA pozitifliği ile tümör grade'i ve mitotik aktivitenin ilişkili olduğu bilinmekte ise de, YDS' da PCNA salınımının araştırıldığı geniş olgu serilerini içeren çalışmalar henüz oldukça az sayıdadır (15,25,80).

Choong ve arkadaşlarının 185 YDS olgusu içeren çalışmasında yüksek PCNA ve Ki-67 indeksinin kötü sağkalım ile, yüksek PCNA ve daha düşük Ki-67 indeksinin (ya da tersinin) "intermediet" sağkalım ile, düşük PCNA ve Ki-67 indeksinin de en iyi sağkalım oranları ile korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (15).

Birçok çalışmada farklı tümörlerde PCNA ile Ki-67 skorları, sitometrik veriler, timidin ile işaretleme ve mitoz sayısı arasında ilişki saptanmıştır (75).

1980'li yıllarda DNA analizlerinin YDS'da güvenilir bir prognostik gösterge olduğu, dolayısıyla hastaların takibinde ve tedavinin etkilerinin belirlenmesinde

kullanılabileceği öne sürülmekte, buna karşılık yöntemin benign ve malign lezyonların ayırımını sağlamadığı vurgulanmaktaydı (9).

Son yıllarda YDS da yapılan ploidy çalışmaları sonucunda; düşük grade'li tümörlerin genelde diploid, yüksek grade'li tümörlerin çoğunluğunun da nondiploid olduğu, ancak histolojik grade-DNA içeriği arasında uyumsuzluk izlenen olguların (nondiploid düşük grade'li tümörler ve diploid yüksek grade'li tümörler) da olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda YDS da lokal rekurrens ve metastaz gelişim riski ile DNA içeriğinin de ilişkili olduğu öne sürülmüştür (44, 45, 76).

YDS da ploidy-prognoz ilişkisi ile ilgili yakın zamanda yapılan çalışmalarda çocukluk çağı tümörlerinden nöroblastomada ve bazı rabdomyosarkoma olgularında aneuploidy'nin olumlu bir prognostik gösterge olduğu, erişkin sarkomalarında ise aneuploidy'nin genel anlamda olumsuz bir prognostik gösterge olduğu bildirilmiştir. Özellikle sinovyal sarkoma, epitelioid sarkoma, şeffaf hücreli sarkoma ve muhtemelen MFH da aneuploidy'nin kötü prognoza eşlik ettiği gösterilmiştir (17, 25).

Yine de YDS da DNA içeriği ile ilgili veriler henüz kısıtlıdır ve tek başına prognostik belirleyici olarak kullanımı konusunda fikir birliği sağlanamamıştır (9,44,45,81).

AgNOR yönteminin prognostik önemi konusunda çocukluk çağı tümörleri ve nöroblastoma ile ilgili çalışmalar dışında çok az bilgi mevcuttur (63).

2.13. Yumuşak Doku Sarkomlarında Tedavi

Fibrosarkoma, miksoid liposarkoma ve leiomyosarkoma gibi bir çok YDS makroskopik olarak kapsüllüdür ancak mikroskopik incelemede sıklıkla kapsül dışında tümör hücreleri saptanır. Dolayısıyla enükleasyon genellikle yetersiz kalır. Çocukluk çağında gelişimi tamamlanmış YDS'nin tedavisinde çoğunlukla cerrahi +radyoterapi+kemoterapi (kombine) uygulanmaktadır.

Erişkinde yüksek grade'li YDS'lerinin tedavisi önceleri oldukça radikal idi. Uzun yıllar ekstremitte sarkomlarında en iyi seçimin amputasyon veya dezartikülasyon olduğu kabul edildi. Ancak son 20 yıldır yapılan çalışmalar sonucunda bazı YDS'da geniş lokal eksizyon ve ilave tedavi yöntemleri ile amputasyona oranla

daha yüksek oranda sağkalım sağlanabildiği anlaşılmıştır. Cerrahi + radikal dozda radyoterapi kombinasyonu ile çok iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Adjuvan preoperatif veya postoperatif kemoterapinin yararları konusunda da çelişkili fikirler öne sürülmüştür. Ancak A.B.D.'de "National Cancer Institute" te yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, kemoterapinin tümör rekurrens riskini azalttığı anlaşılmıştır (23).

2.14. Yumuşak Doku Sarkomları Hakkında Kısa Bilgiler

2.14.1. Malign Fibröz Histiyositoma (MFH)

Önceleri MFH'nın histiyositik kökenli olduğuna inanılırdı. Ancak İHK incelemeler, tümör hücrelerinin daha çok fibroblastik veya primitif mezenkimal hücre differansiyasyonu gösterdiğini ortaya koymuştur. CD14 gibi çoğu histiyositik belirleyiciler MFH hücrelerinde negatiftir (17).

İnsidans: Erişkinde en sık görülen YDS'dur. Sıklıkla 50-70 yaşta, erkekte ve beyazlarda görülür.

Lokalizasyon: En sık görülen yerleşim yeri alt ekstremitte (özellikle uyluk) dir, bunu üst ekstremitte ve retroperitoneal bölge izler. Olguların % 10'unda sekonder bir neoplazm mevcuttur (7).

Makroskopik bulgular: Genelde 5-10 cm çaplı (retroperitoneal olanlar daha büyük çaplı), soliter, multilobüle bir kitle şeklindedir. Kesit yüzü çoğunlukla gri-beyaz renkte, etsi görünümündedir. Hemoraji-nekroz sıktır. Miksoid tipi, mukoid görünümde olup makroskopik olarak diğer miksoid sarkomlardan ayırt edilemez. İnflamatuvar tip sarımsı renktedir (7).

Histolojik Subtipleri:

A) Storiform pleomorfik tip MFH: En sık görülen tiptir. Klasik olarak yarı benzeri vasküler yapılar çevresinde storiform patern sergileyen, kısa fasiküller oluşturan iri içsi yada poligonal hücrelerden meydana gelir. İçsi hücreler iyi differansiye

olup fibroblastlara benzer. Çoğunlukla storiform ve pleomorfik alanlar biraradadır. Hücreler tipik olarak pleomorfik görünümündedirler ve sık mitotik aktivite içerirler. Stromada kollajen oranı değişkenlik gösterir. Tümörde lenfosit ve histiosit infiltrasyonu sıklıkla izlenir. Fokal miksoid değişiklikler sıktır (7, 17).

Ayırıcı tanıda; pleomorfik liposarkoma, dedifferansiye alanlar içeren sarkomlar, pleomorfik rhabdomyosarkoma, pleomorfik karsinomalar, Hodgkin hastalığı yer alır. Yüksek grade'li bir sarkomdur. Yetersiz eksizyon sonrası rekürrens oranı % 50-84, metastaz oranı % 34 olup 5 yıllık sağkalım % 36'dır (7).

B) Miksoid tip MFH (Miksofibrosarkoma): İkinci sıklıkta görülür. Histolojik görünüm benign veya reaktif lezyonları taklit eden düşük grade'li tümörlerden, oldukça hücreli sarkomatöz tümörlere dek farklılıklar gösterebilir. Hücreden zengin alanlar yanısıra miksoid alanlar içerir ve çoğunda belirgin vasküler yapılar izlenir. Ayırıcı tanıda; benign miksoid lezyonlar (nodüler fasiitis, miksoma), liposarkomalar önemlidir.

Miksoid tip MFH grade II olarak kaydedilir.

Prognozu storiform-pleomorfik tipe göre daha iyidir. Olguların 2/3 ünde rekürrens, 1/4 ünde de metastaz görülür (7).

C) Dev hücreli tip MFH (Yumuşak dokuların malign dev hücreli tümörü): Histiyosit, fibroblast ve osteoklast tipi dev hücrelerden oluşan multinodüler bir tümördür. Tümör nodülleri fibrovasküler septalarla ayrılmıştır, sekonder hemoraji-nekroz sıktır. Hücreler pleomorfizm ve sık mitoz sergilerler. Belirleyici özelliği, dev hücrelerdir. Olguların % 50' sinde fokal osteoid veya matür kemik izlenir.

Derin lokalizasyonlu ise ayırıcı tanıda, yumuşak dokuyu invaze etmiş dev hücreli kemik tümörü düşünülmelidir.

Takipleri sınırlı olmakla birlikte düşük grade'li olduğu düşünülmektedir (7).

D) İnflamatuar tip MFH (Ksantosarkoma, Malign Ksantogranüloma): Nadirdir. Daha çok erişkin çağda görülür ve retroperitoneal bölgede lokalizedir. Klasik MFH benzeri alanlar yanısıra yoğun ksantoma hücreleri ve granülosit infiltrasyonu içeren gevşek alanlar izlenir. Karakteristik olarak inflammatuar komponent belirgindir.

Ayırıcı tanıda; noneoplastik ksantomatoz olaylar ve lenfoma önemlidir.
Agressif bir tümördür.

Metastaz oranı storiform-pleomorfik tipe göre daha düşüktür (7, 17).

2.14.2. Liposarkoma (LS)

Yağ dokusu hücrelerini farklı oranlarda anımsatan hücrelerden meydana gelir.
Primitif mezenkimal hücrelerden köken alır (7, 17)

İnsidans: Erişkinde en sık görülen YDS'ndan biridir. En fazla 40-60 yaşları arasında görülür. İnfantlarda ve küçük çocuklarda hemen hiç görülmez. Erkeklerde daha sıktır (7, 17).

Lokalizasyon: Hemen daima derin lokalizasyonludur. En sık ekstremiteler (özellikle uyluk) ve retroperitoneal bölgede (% 15-20) yerleşir (7).

Makroskopik bulgular: Çoğunluğu 5-10 cm çaplı olup retroperitoneal olanlar 10 cm den büyük çaplı olabilirler. İyi sınırlı ve kapsüllü olma eğilimindedirler. Lobüler büyüme modeli sergilerler. Nadir olmayarak esas tümör kitlesinden ayrı küçük lobüller ve satelit nodüller izlenir. Kesit yüzü tümörün histolojik subtipine göre değişir. Çoğunlukla miksoid veya jelatinöz görünüm vardır; hemoraji sıktır (7).

Histolojik Sınıflandırma

A. Miksoid LS: Olguların % 50'sini oluşturur. Miksoid matriks, uniform küçük tümör hücreleri ve yoğun dallanmalar gösteren ince kapiller vasküler yapılar tipiktir. Tümör hücreleri çevresinde mukoid materyal gölcükleri izlenebilir. Farklı oranlarda lipoblast içerir. İnterstisyel hemoraji sıktır. Mitoz nadirdir veya yoktur. Tipik olarak lokal rekurrens yapar, ancak uzak metastaz seyrek görülür (7, 17).

B. Yuvarlak hücreli LS (az differansiyel miksoid LS): Veziküle nükleuslu, küçük uniform yuvarlak hücrelerden meydana gelir. İnteraleller lipid varlığı nadirdir. Vasküler yapılar, miksoid LS'daki kadar belirgin değildir. Arada dağınık olarak

vakuolize lipoblastlar izlenir. Mitoz nadirdir. Ayırıcı tanıda, malign hibermoma düşünölmelidir. Miksoid LS'dan daha agressiftir ve metastaza eğilimlidir (7, 17).

C. İyi differansiye LS: Düşük grade'li tümörlerdir. Subkutan veya muskuler yerleşimli ise "Atipik lipoma" veya "atipik intramuskuler lipoma" da denir. En sık ekstremitte ve retroperitoneal bölgede izlenir. Ekstremitte tümörlerinin yaklaşık % 50'sinde rekurrens görülür (7, 17). Histolojik olarak 3 subtipi vardır:

- Lipoma benzeri iyi differansiye LS; en sık görölen subtipidir. Dağınık lipoblastlar dışında lipoma çok benzer. Lipoblastlar atipik, irregöler ve hiperkromatik nükleuslu olup, sitoplazmalarında bir veya daha fazla lipid damlacıkları içerirler(7).

- İnflamatuar tip LS; sıklıkla retroperitoneal yerleşimlidir. Zeminde matür görünömlü yağ hücrelerinin eşlik ettiği lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan iltihabi hücre infiltrasyonu ve dağınık lipoblast ya da az sayıdaki hiperkromatik nükleuslu hücrelerden oluşur. Lipogranöloma ile kolaylıkla karışır (7).

- "Sclerosing" tip LS; kasık bölgesinde ve retroperitoneal bölgede sıktır. Değişik dansitelerde ince eozinofilik kollajen ağından oluşan dens fibrozis alanları lipomatö dokudan zengin matrikste az sayıda lipoblastlar, dağınık hiperkromatik nükleuslu atipik hücrelerden meydana gelir. Nadiren metastaz yapar. Rekurrens görölebilir (7).

D. Dedifferansiye LS: En sık retroperitoneal bölgede, kasıkta görülür. İyi differansiye LS alanları yanısıra yüksek grade'li dedifferansiye alanlar içerir. Olguların 2/3'ünde dedifferansiye alanlar MFH'a benzer. Klinik olarak agressif tümörlerdir (7, 17).

E. Pleomorfik LS: Sık görölen tümörler değildirler. Yaşlılarda ekstremitelerde ve retroperitoneal bölgelerde görülürler. Çoğunluğu lipid vakuollerini içeren oldukça atipik, multinökleer dev hücrelerden meydana gelir. Tümör MFH'ya benzer. Tanı için lipoblastik differansiyasyonun gösterilmesi gereklidir. Agressif şekilde büyüme sergilerler ve metastatik potansiyele sahiptirler (17).

LS'da sağkalımı etkileyen en önemli faktör, histolojik tiptir. Miksoid ve iyi differansiye LS'da yaşam süresi daha uzundur (7).

2.14.3. Fibrosarkoma (FS)

Fibroblastlardan köken alan YDS olup başka hücrel differansiyasyon göstermez.

İnsidans: Nadirdir. Tüm sarkomların % 10'undan azını oluşturur (17). Radyoterapi sonrası, özellikle de malign lenfoma veya meme kanseri nedeniyle uygulanan radyoterapi sonrası sık görülür ve bu tümörler tipik olarak radyoterapiden 5-15 yıl sonra ortaya çıkarlar, genelde yüksek grade'lidirler (17).

En sık 30-55 yaşlarında izlenir (7).

Lokalizasyon: Sırasıyla en sık uyluk ve diz bölgesi, gövde, ekstremitte distallerinde lokalizedirler. Öncelikle derin yapıları tutar (7).

Makroskopik bulgular: Genelde soliter, yuvarlak veya lobüle kitle şeklinde olup kesit yüzü etsi görünümde ve gri-sarı renktedir. Nadiren 10 cm'den büyük çaplı olurlar. Küçük tümörler daha iyi sınırlı olma eğilimi gösterirken, büyük tümörler sıklıkla çevre dokulara invazyon gösterirler (7).

Mikroskopik bulgular: Minimal şekil ve boyut farklılığı gösteren, sınırları iyi seçilemeyen dar sitoplazmaya sahip, birbirine paralel içiçe geçmiş kollajen fibriller ile birbirinden ayrılan, fibroblastlara benzeyen işsi hücrelerden oluşur. Tümör hücreleri birbirini çaprazlayan uzun fasiküller oluştururlar. ("Herringbone" paterni). Mitotik aktivite değişkendir. Multinükleer dev hücre nadirdir. Gradelendirmede hücre zenginliği, hücrel matürasyon, mitoz, kollajen miktarı ve nekroz kriter olarak kullanılır (7).

Miksoid stromaya sahip düşük grade'li FS'lar "düşük grade'li fibromiksoid sarkoma" olarak da adlandırılırlar (17).

Ayırıcı Tanı: Diğer işsi hücrel tümörlerden ayırımı zordur. Kötü differansiye FS ile kötü differansiye sinovyal sarkoma veya MPSKT çok karışır. Ayırıcı tanıda yer alan diğer lezyonlar; nodüler fasiitis, dermatofibroma, desmoid tümör, dermatofibrosarkoma protuberans, MFH'dır (7).

Prognoz: 5 yıllık sağkalım %40-50'dir (17). Tümörün histolojik grade'i sağkalım ile yakından ilişkilidir (7).

İnfanıl FS: Nadir tümörlerdir. Olguların % 50'si konjenitaldir, diğer yarısı ise yaşamın ilk yılında görülür (17). Esas olarak ekstremitelerde lokalizedirler. Genellikle iyi sınırlı değildirler. Histolojik olarak fibromatozisleri anımsatan düşük grade'li lezyonlardan, çok sayıda mitoz içeren hücreden oldukça zengin yüksek grade'li formlara dek değişkenlik gösterir. Klinik gidiş erişkin FS'sına göre daha iyidir. Metastaz çok nadirdir (7, 17).

İnflamatuar FS (İnflamatuar myofibroblastik tümör): Sıklıkla çocukluk çağında, mezenter ve retroperitoneal bölgede görülür. Genelde 2-15 cm çaplı olup ateş, kilo kaybı, anemi gibi sistemik bulgular eşlik eder. Mikroskopik olarak inflamatuvar hücrelerden zengin bir stromaya sahip, bazen arada ganglion hücresi veya myofibroblasta benzeyen, genişce histiyositoid hücreler içerebilen, esas olarak fibroblast ve myofibroblastlardan oluşan işi hücreler izlenir. Rekurrens siktir, ancak genellikle metastaz yapmazlar (7, 17).

2.14.4. Rabdomyosarkoma (RMS)

Çizgili kas benzeri differansiyasyon gösteren malign tümörlerdir (17).

İnsidans: 15 yaşın altında en sık görülen YDS'dur. Adolosan ve genç erişkinlerde siktir. 45 yaşın üzerinde nadirdir. YDS'nın % 11-20'sini oluşturur (7).

Sınıflandırma: 4 farklı tipi vardır:

A. Embriyonel RMS: RMS' ların % 50-60' ını oluşturur. En sık 0-15 yaşta görülür. Genelde orbita dahil baş-boyun bölgesinde, genitoüriner sistemde ve retroperitoneal bölgede yerleşir. Makroskopik olarak miksoid, gri-beyaz kitle şeklindedir. Mikroskopik olarak indifferansiye yuvarlak hücreler ve geniş eozinofilik sitoplazmalı immatür çizgili kas benzeri hücrelerden (rabdomyoblast) oluşur. Multinükleer dev hücre nadirdir (7). Rabdomyoblastların oranı değişkendir. Rabdomyoblastik differansiyasyon derecesi prognoz ile pozitif ilişki gösterir.

Yüksek grade'li malign tümörlerdir ancak kemoterapiye iyi cevap verdikleri için prognozları kötü değildir (17).

B. Botrioid RMS: Embriyonel RMS'nin bir başka tipi olarak da kabul edilir (7). Esas olarak infantlarda görülür ancak, erişkinde de rapor edilen olgular vardır (17). Genellikle ürogenital sistemde, vajen, serviks ve mesanede; polipoid, miksoid, lümene doğru büyüyen, üzüm salkımına benzeyen bir kitle şeklinde izlenir (7, 17). Mikroskopik olarak, geniş mukoid stromaya sahiptir ve nispeten hücreden fakirdir. Çoğunlukla submukozadan köken alır ve yüzeyi epitel ile örtülüdür. Sıklıkla hücreden zengin submukozal bir sınır ("Cambium" tabakası) içerir. Rabdomyoblastlar görülür (7).

C. Alveoler RMS: İkinci sıklıkta görülen tiptir. En fazla 10-25 yaşlarında görülür (7). Çoğunlukla ekstremitelerin distal bölümleri ve baş-boyun bölgesinde yerleşir (17). Fibrovasküler septalar ile birbirlerinden ayrılan yuvarlak-oval, az differansiye neoplastik hücre topluluklarından oluşur. Hücreler alveoler boşluklar oluşturacak tarzda dizilim gösterirler. Bazen alveoler yapılanmanın izlenmediği solid tipleri de olabilir. Mitoz sıklığı (10 büyük büyütme alanında (HPF) 5-30 mitoz). Neoplastik rabdomyoblastlar embriyonel RMS'a göre daha az sıklıkta izlenir. Multinükleer dev hücreler çok sayıdadır. Embriyonel ve alveoler özellikler taşıyan karma tipler alveoler RMS olarak değerlendirilmelidir (7). Diğer bir çok sarkomun aksine bölgesel lenf nodüllerine metastaz yapmaya eğilimlidirler (17). Prognoz embriyonel RMS'dan daha kötüdür (7).

D. Pleomorfik RMS: Her yaşta görülebilir, ancak 40 yaşın üzerinde daha sıklıkla görülür. Sıklıkla ekstremitelerin büyük kaslarında ve özellikle uylukta yerleşir (7). Dağınık ve gevşekçe dizilim gösteren iri, yuvarlak veya pleomorfik, hiperkrom nükleuslu, geniş eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden meydana gelir. Diğer pleomorfik sarkomlardan ayırımı güçtür. Kesin tanı için genellikle ultrastrüktürel ve İHK yöntemler gereklidir (7, 17).

Ayırıcı Tanı: Heterolog rabdomyoblastik komponent içeren tümörler (nefroblastoma, malign veya immatür teratoma, nöroektodermal tümörler, karsinosarkoma, malign mikst mezodermal tümör, vb) ayırıcı tanıda önemlidir. Malign rabdoid tümör, alveoler soft part sarkoma, nöroblastoma, Ewing sarkoma, sinovyal sarkom, malign melanoma, küçük hücreli karsinomalar da ayırıcı tanıda yer almalıdır (7).

Prognoz: Tanı konulduğunda % 20 olguda metastaz da saptanır. Kemik iliğine metastaz yapma eğilimi gösterirler. Lokal rekürrens ve uzak metastaz varsa prognoz kötüdür. Erişkinde, 5 cm'den büyük tümörlerde, alveoler ve pleomorfik RMS da prognoz daha kötüdür (7).

2.14.5. Leiomyosarkoma (LMS)

Düz kas hücre differansiyasyonu gösteren malign tümörlerdir.

İnsidans: YDS'nin % 5-10'unu oluştururlar. Prensip olarak erişkin yaştan tümördür. Kadında daha siktir (7).

Lokalizasyon: Klinik ve biyolojik davranış farklılıkları nedeniyle 3 anatomik gruba ayrılır;

A. Derin yumuşak dokuların LMS'ları: Genellikle retroperitoneal bölge ve abdominal kavitede lokalizedirler. En sık görülen tiptir (% 50).

B. Kutanöz ve subkutanöz dokuların LMS'ları: Yüzeysel olmaları nedeniyle iyi prognozludurlar.

C. Vasküler kökenli LMS'lar: Daha nadirdirler. Genelde orta ve geniş çaplı venlerden köken alırlar (7).

Makroskopik bulgular: Retroperitoneal LMS'lar sıklıkla büyüktürler ve rezeksiyonları olanaksızdır. (ortalama 16 cm çaplı, 1600 gr. ağırlığında). Genellikle böbrek, pankreas ve vertebraya direk invazyon yaparlar. Kesit yüzleri gri-beyaz renkte, etsi görünümündedir; hemoraji-nekroz odakları içerebilir ve kistik dejenerasyon gösterebilirler. Ekstremitelerin derin yerleşimli LMS'ları daha küçüktür (ortalama 8 cm). Kutanöz olanlar çoğunlukla 2 cm den küçük çaplıdırlar. Vasküler LMS'lar daima polipoid veya nodüler kitle şeklinde izlenirler (7).

Mikroskopik bulgular: Birbirleriyle dik açıyla keşişen fasiküller oluşturan işsi hücrelerden meydana gelir. Hücreler künt uçlu, sigara şeklinde, değişen oranda pleomorfizm gösteren nükleuslara ve eozinofilik sitoplazmaya sahiptir. Bazen sitoplazma vakuolize veya şeffaf olabilir. Differansiye hücrelerde longitudinal çizgilenme seçilebilir. Büyük tümörlerde nekroz sıktır. Mitoz oranı değişkendir. LMS'da en önemli malignite kriteri mitozdur. Tümör boyutu, hücresel atipi ve nekroz, mitoz kadar önemli değildirler. Tümörde 5-9 mitoz/10 HPF varlığı hemen daima metastaz riskini belirler. Retroperitoneal LMS'ların % 80'inde 10 büyük büyütme alanında beş veya daha fazla mitoz vardır (7). Bazen benign-malign ayrımı yapmak çok zor olabilir.

Ayırıcı Tanı: Fasiküler ve orta derecede differansiye işsi hücreli diğer sarkomlar (fibrosarkoma, malign schwannoma) ayırıcı tanıda önemlidir (7).

Prognoz: Retroperitoneal LMS'lar çok ağırsıftırlar, lokal ekstansiyon ve uzak metastaz nedeniyle ölüme neden olabilirler.

Derin yerleşimli diğer LMS'ların davranışı, retroperitoneal olanlardan daha iyidir. Tümör nekrozu ve DNA aneuploidy kötü prognostik faktörlerdir (7).

Epiteloid LMS (Leiomyoblastoma): Nadirdir. Gastrointestinal traktusta sıktır. Hücreler klasik LMS hücrelerine göre daha yuvarlak-poligonal, sıklıkla vakuoler veya şeffaf sitoplazmalıdır. Taşlı yüzük benzeri hücreler izlenebilir (7).

2.14.6. Malign Periferik Sinir Kılıfı Tümörleri (MPSKT) **(Malign schwannoma, nörofibrosarkoma)**

Sinirden veya nörofibromdan köken olan veya schwann hücre differansiyasyonu gösteren tümörlerdir.

İnsidans: Tüm sarkomların % 10'undan daha azını oluşturur. Olguların % 50'si Nörofibromatozis tip 1'li hastalarda görülür. Çoğunlukla erişkinde, en sık 20-50 yaşlar arasında görülür (7, 17).

Lokalizasyon: Sıklıkla üst ve alt ekstremitelerin proksimallerinde ve gövdede yerleşirler (7).

Makroskopik bulgular: Geniş çaplı bir sinirde, büyük-iğsi şekilli ya da egzantrik kitle şeklinde izlenir. Genelde 5 cm'den daha büyük çaplıdır. Makroskopik olarak diğer YDS'na benzer (7).

Mikroskopik bulgular: Tümör geniş alanlarda fibrosarkoma benzer, ancak hücreler daha düzensiz kenarlı ve, nükleuslar dalgalı veya kama şeklinde, asimetric yerleşimli, oval şekillidir. Sitoplazma sınırları genelde belirsizdir. Hücreler fasiküller oluşturur. Dens, hücreden zengin fasiküller arasında miksoid hücreden fakir alanlar sıktır. Her zaman olmasa da nükleer palizatlar olabilir. % 10-15 olguda heterotopik elemanlar bulunabilir. Bazı tümörler oldukça pleomorfik olabilirler (7, 17).

Ayırıcı Tanı: Fibrosarkoma, monofozik sinovyal sarkoma, leiomyosarkoma ayırıcı tanıda önemlidir. Benign periferik sinir kılıfı tümörlerinden ayırimda en önemli kriter mitozdur (7).

Prognoz: Çoğunluğu yüksek grade'lidir. Lokal rekürrens ve metastaz riski yüksektir. Metastazlar en sık akciğer, kemik, plevraya olur. Nörofibromatozis tip 1 ile birlikte ise prognoz daha kötüdür (7). Beş yıllık sağkalım yaklaşık % 40'tır (17).

Malign Triton Tümörü: (Rabdomyoplastik differansiyasyon gösteren MPSKT) "kompozit" neoplazmlardır. Olguların 2/3'ü Von-Recklinghausen'li hastalardır. Ortalama 35 yaşta görülür. En sık baş-boyun ve gövdede izlenir. MPSKT den ayırt edilemeyen bir stromada dağınık rabdomyoplastların varlığı ile karakterizedir (7).

Glandüler Malign Schwannoma: Oldukça nadir tümörlerdir. Hemen dalma Von-Recklinghausen'li hastalarda görülür. Çoğunlukla büyük bir sınırdan köken alır. Küboidal veya bazen de goblet hücreleri içeren epitel ile döşeli glandlar içeren yüksek grade'li sarkomlardır. Nadiren bu glandlar malign görünümlü olabilir, bifazik sinovyal sarkoma ile karışabilir (7).

Epiteloid Malign Schwannoma: Nadirdir. Nörofibromatozis tip 1 ile beraberliği daha azdır. Karsinom veya melanomaya benzer (7).

2.14.7. Sinovyal Sarkoma(SS)

Hem epitelyal ve hem de içsi hücrell mezenkimal differansiyasyon gösteren YDS'udur. Önceleri inanıldığıının aksine sinovyum ile histolojik veya histogenetik olarak ilişkisi yoktur (17).

İnsidans: Esas olarak genç erişkinde (ortalama 25-35 yaş) ve sıklıkla erkeklerde görülür. Tüm YDS'larının yaklaşık % 10'unu oluşturur (17).

Lokalizasyon: En sık popliteal bölge, diz, uyluk, ayak, eller ve omuzun derin yumuşak dokularına yerleşir (17). Eklem boşluğunda son derecede nadirdir (7).

Makroskopik bulgular: Tümörün yerleşim yerine ve büyüme hızına bağlıdır. Yavaş büyüyen lezyonlar iyi sınırlı, yuvarlak veya multilobüler olup yalancı kapsüle sahiptir. Tümörde kistik oluşumlar belirgin olabilir. Kesit yüzü gri-beyaz sarımsı renktedir. 15 cm veya daha büyük çapa ulaşabilirler (7).

Mikroskopik bulgular: Tipik bir bifazik SS iki farklı hücre tipi içerir;

- Epitelyal hücreler

- Stromayı oluşturan uniform, iğsi hücreler

Komponentler farklı tümörlerde değişik oranda olabilirler. İğsi hücreli komponent genellikle daha belirgindir. Epitelyal hücreler solid kordonlar, adalar ya da pseudoglandüler yapılar oluşturabilir. Kalsifikasyon ve hyalinizasyon sıktır. Tümör sadece iğsi hücreli komponentten oluşuyorsa " monofazik (fibröz tip) SS" denir. Sadece epitelyal hücreler içeriyorsa " monofazik (epitelyal tip) SS" olarak adlandırılır. Bu tip nadir görülür ve karsinomdan ayırımı zordur.

Kötü differansiye SS da ise solid gelişim gösteren küçük, oval veya iğsi hücreler izlenir. Küçük hücreli karsinoma veya anjiosarkomaya benzer görünümde dir(7,17).

Ayırıcı Tanı: Genellikle zordur. Epitelioid sarkoma, şeffaf hücreli sarkoma, MPSKT, fibrosarkoma, adneksiyal veya metastatik karsinoma (epitelyal tip) ile karışır (7).

Prognoz: Prognozu iyi yönde etkileyen faktörler; küçük yaş (15 yaşından küçük), 5 cm'den küçük tümör boyutu, distal yerleşim, bifazik histolojik patern, belirgin kalsifikasyon ve ossifikasyon ve euploidy'dir. Kötü differansiye SS'da prognoz daha kötüdür (7). SS'lu hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık % 50'dir (17).

2.14.8. Anjiosarkoma (AS)

Endotelyal hücre differansiyasyonu gösteren heterojen bir YDS grubudur (17).

İnsidans: Nadir görülen YDS'larından biridir (7). Erkeklerde daha sıktır (25). İleri yaşta görülür.

AS'lar beş gruba ayrılır;

1. Lenfödemin eşlik etmediği kutanöz AS
2. Lenfödemin eşlik ettiği kutanöz AS (lenfanjiosarkoma)
3. Memenin AS'sı
4. Radyasyona ikincil AS
5. Derin yumuşak dokuların AS'sı

Lokalizasyon: Tüm AS olgularının 1/3-1/2 si deride, özellikle de baş-boyun bölgesinde yerleşim gösterirler (25).

Mikroskopik bulgular: Çoğunluğu içerdığı vasküler kanallar ile kolayca tanınabilir. Benign tümörlerin aksine bu kanallar anastomozlaşırlar, dallanırlar ve çok sayıda belirgin iri, hiperkromatik nükleuslu hücreler ile döşelidirler. Intraluminal papiller proliferasyonlar izlenebilir. Kutanöz tümörler bazen epitelioid görünümde olabilir (25).

Ayırıcı tanı: Az differansiye tümörler, karsinoma veya lenfomayı anımsatabilir.

Prognoz: AS'lar oldukça ağırsif tümörlerdir. Differansiyasyon derecesi ve grade, sağkalımı etkilemez (memedeki hariç). Kutanöz AS'ların prognozu kötüdür. 72 olguda oluşan bir seride hastaların sadece % 12'sinin 5 yıl ya da daha uzun yaşadıkları, % 50'sinin ise tanı konduktan sonra 15 ay içinde exitus oldukları bildirilmiştir. Çapı 5 cm'den küçük olan tümörlerde prognoz daha iyidir. Metastazlar sıklıkla servikal lenf nodülleri, akciğer, karaciğer, dalağa olmaktadır(7)

2.15. İmmünperoksidaz Yöntemler

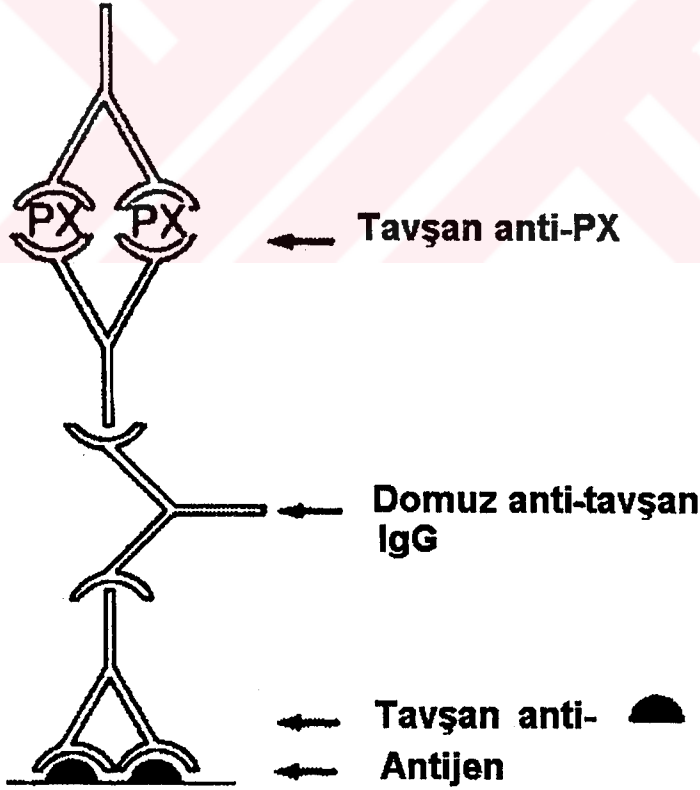
İmmunohistokimya, adından da anlaşılacağı gibi immunoloji ve histolojinin birlikteliğidir. İmmunohistokimyasal teknik yalnızca bir dokudan açığa çıkan (ya da çıkmayan) özel bir antijeni saptamak amacıyla değil, aynı zamanda dokudaki belli hücrelerin antijenik durumunu ve antijenin hücredeki mikroanatomik lokalizasyonunu belirlemek için de kullanılır (82). İmmünohistokimyanın bir parçası olan immünperoksidaz yöntemde esas; doku ya da hücredeki bir yapıyı (antijen), görülebilir bir işaretleyici ile yüklü spesifik bir antikorun yardımı ile, uygun antijenin lokalizasyonunda hem immün, hemde kimyasal bir reaksiyonla ortaya çıkartmak ve antijen-antikor kompleksini rutin ışık mikroskopunda gösterebilmektir.

İmmünperoksidaz yöntemler, kabaca konjuge ve non-konjuge yöntemler olarak ikiye ayrılır. Konjuge yöntemlerde antikor ve aktif enzim kimyasal bir yolla bağlanır. Non-konjuge yöntemlerde ise, immünolojik bir bağlanma söz konusudur.

Non-konjuge yöntemlerden "Peroksidaz-Antiperoksidaz" (PAP) ve "Avidin-Biotin Complex" (ABC) teknikleri günümüzde en sık kullanılan yöntemlerdir (83).

2.15.1. Peroksidaz-Antiperoksidaz Yöntemi

Bu yöntemde primer antikor olarak, örneğin tavşan antikor; sekonder antikor olarak anti-tavşan (domuz) antikor kullanılmaktadır. Daha sonra ortama PAP kompleksi eklenmektedir. PAP kompleksi iki adet antiperoksidaz antikorun üç adet peroksidaz molekülü ile stabil siklik bir kompleks oluşturmuş halidir. Burada gözönünde tutulması gereken en önemli nokta, peroksidaza karşı geliştirilmiş antikorlar ve esas antijene karşı geliştirilmiş primer antikorların aynı canlıya ait olmasıdır (Şekil 3) (83,84).

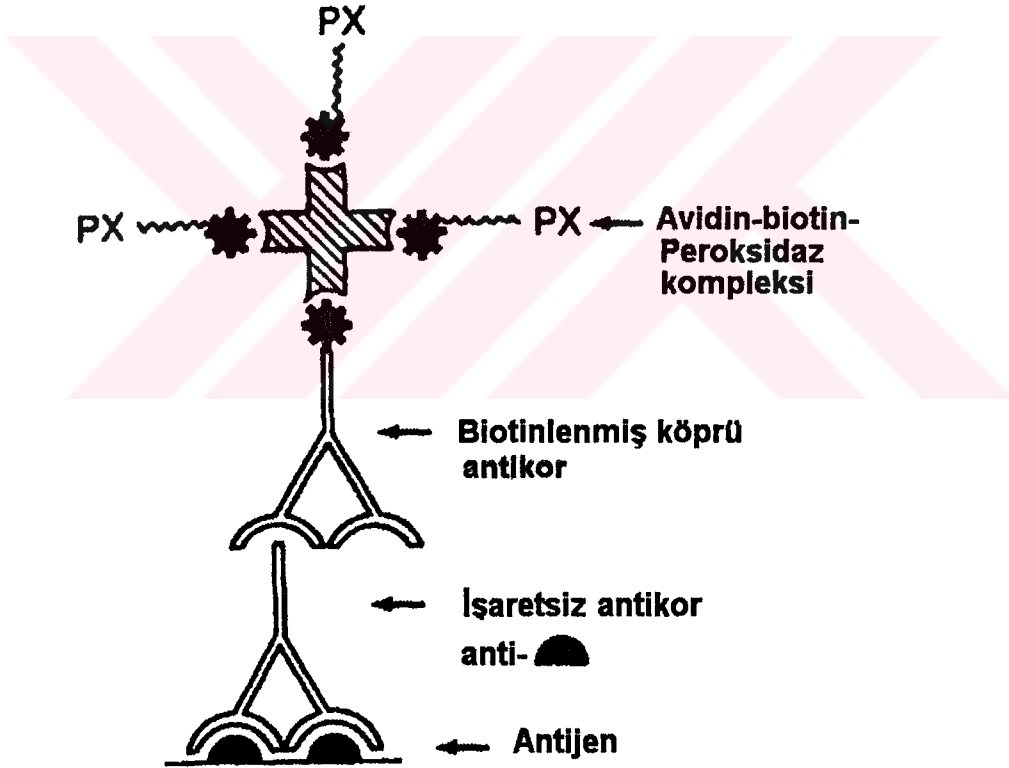


Şekil 3. Peroksidaz-Antiperoksidaz yöntemin şematik görünümü (83).

2.15.2. Avidin-Biotin Kompleks Yöntemi

1980'li yılların başında bir glikoprotein olan ve yumurta akında bulunan avidin ve bir vitamin olan biotinin aktif madde olarak kullanılmaya başlanması ile immunohistokimya da yeni bir çığır açılmıştır.

Bu yöntemde tavşan primer antikor dokuya uygulanır, ikinci adım olarak biotinleştirilmiş anti-tavşan immünglobülini (örneğin keçi) uygulanır. Bu kompleks oluşturulurken daha önce birleştirilen peroksidaz ve biotin molekül kombinasyonu belli oranda avidinle karıştırılır ve avidin üzerinde bir biotin bağlanacak yer boş kalır. Bu kısma da biotinle bağlı sekonder antikor bağlanacaktır (Şekil 4) (83-85).



Şekil 4. Avidin-Biotin-Peroksidaz yönteminin şematik görünümü (83).

3. MATERYAL-METOD

3.1. Materyal

Bu çalışma için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 1988-1995 yılları arasında tanı almış toplam 185 YDS olgusu retrospektif olarak yeniden incelenmiş ve çalışma grubu olarak 35 primer YDS belirlenmiştir. Olguların seçiminde farklı histolojik tipte olmasına, ekstremiteler ve gövde duvarı yerleşimli olmasına, klinik takiplerinin olmasına ve doku kalitesinin uygunluğuna dikkat edilmiştir. Ortalama yaş 44,7 (7-73)'dir (Bir hastanın yaşı bilinmemektedir). Olguların 20'si (%57.2) erkek, 15'i (%42.8) kadındır. Ortalama tümör boyutu 14,6 cm'dir (7 olguda tümör boyutu bilinmemektedir). Objektif sağlıklı bilgimiz olmadığından tümörlerde yüzeysel-derin yerleşim ayırımı yapılmamıştır. 23 tümör alt ekstremiteler, 4 tümör üst ekstremiteler, 8 tümör ise gövde duvarı yerleşimlidir.

3.2. Histotip ve Grade

Histolojik tiplendirme ve gradelendirme için olgulara ait, tümör içeren H-E boyalı kesitlerin tümü yeniden gözden geçirilmiştir. Olgular, Enzinger & Weiss'a göre sınıflandırılmıştır (7):

- 8 (%22.8) Malign fibröz histiositoma (MFH)
- 8 (%22.8) Liposarkoma (LS)
- 7 (%20.0) Rabdomyosarkoma (RMS)
- 2 (%5.8) Sinovyal sarkoma (SS)
- 3 (%8.5) Leiomyosarkoma (LMS)
- 1 (%2.8) Anjiosarkoma (AS)
- 4 (%11.5) Malign periferik sinir kılıfı tümörü (MPSKT)
- 2 (%5.8) Fibrosarkoma (FS)

Histolojik gradelendirmede de yine de Enzinger & Weiss'in kriterleri esas alınmıştır (7). Mitoz sayısını belirlemek için farklı on büyük büyütme alanındaki (HPF) mitoz sayısı (Büyütme 40x10) iki farklı gözlemci tarafından değerlendirilmiştir. Mitoz sayımı için tümörde en sık mitotik aktivite içeren alanlar seçilmiş, piknotik nükleuslar ve şüpheli olanlar değerlendirme dışı bırakılmıştır. Nekroz; tümör içeren tüm preparatlarda nekrozun < %50 veya > %50 olması gözönünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

3.3. İmmunohistokimya

Çalışma grubuna alınan olgulara ait Hematoksilen-Eozin boyalı preparatlar incelenerek immunohistokimyasal boyama için blok seçilmiştir. Her tümörden seçilen blokların: tümörü en iyi şekilde temsil etmesine ve en fazla sayıda tümör hücresi içermesine özen gösterilmiştir.

Parafin bloklardan yapılan 4-5 mikron kalınlığındaki kesitlere Strept Avidin-Biotin boyama yöntemi ile Anti-PCNA ve Anti-Ki67 uygulanmış, ışık mikroskopunda (Nikon, Optiphot-2) değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak lenfoid hiperplazi gösteren tonsil dokusu kullanılmıştır. Negatif kontrolde primer antikor yerine PCNA için normal mause serum, Ki-67 için ise normal rabbit serum damlatılmıştır.

Strept Avidin-Biotin Boyama Yöntemi

Hazırlık

1. %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiş dokulara ait parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler yapıldı.
2. Kesitler deparafinizasyon amacı ile 55-60°C de bir saat etüvde bekletildi.
3. Daha sonra iki kez beşer dakika ksilolde bekletildi.
4. Absolü etil alkol içine konuldu.
5. Kesitler % 95'lik etil alkol içine alındı.
6. Kesitler rehidrate edildikten sonra fosfat tamponlu tuzlu suda (Phosphate Buffer Saline (PBS), pH 7.2) yıkandı. Her kesitin çevresi dikkatlice kurularak nemli ortama yerleştirildi.

PCNA için boyama yöntemi

7. Her kesitin üzerine kaplayacak şekilde 2-3 damla "Peroxidase Blocking Reagent" (%3 hidrojen peroksit solüsyonu) damlatılarak nemli ortamda oda sıcaklığında 5-15 dakika bekletildi. Amaç, ortamda bulunan endojen peroksitleri yok ederek nonspesifik zemin boyanmasını azaltmaktır.
8. Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dikkatlice dökülüp önceden hazırlanmış PBS solüsyonunda beş dakika süreyle yıkandı.
9. Kesitlerin etrafı dikkatlice kurulandı ve her kesitin üzerini kaplayacak şekilde 1-2 damla "Nonspecific Blocking Reagent" (normal serum) damlatıldı. 20 dakika inkübe edildi. Bunun amacı, antikorların kollajen veya retikülin liflerindeki protein moleküllerine nonspesifik bağlanmasından sonuçlanabilecek zemin boyanmasını azaltmaktır. Daha sonra lam üzerindeki fazla serum dikkatlice döküldü, ancak yıkama yapılmadı.
10. Kesitlerden birine 1:25 oranında sulandırılmış primer antikor [monoklonal anti-PCNA antikor PC-10 (BioGenex)] damlatıldı. Oda ısısında nemli ortamda 120 dakika bekletildi.
11. Kesitler beşer dakika PBS solüsyonunda yıkandı ve sonra dikkatlice kurulandı.
12. Kesitlerin üzerine multilink biotinylated sekonder antikor (Lipshaw, Immunon, kod no: 485.000) damlatılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi.
13. Tamponlanmış yıkama solüsyonunda 5-10 dakika yıkanarak solüsyonun fazlası kesitlerin üzerinden alındı.
14. Kesitler üzerine "Strept Avidin Peroxidase Reagent" (Lipshaw, Immunon, kod no: 485.000) damlatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
15. PBS ile yıkama işleminden sonra, kesitlerin üzerine AEC (3 amino 9 ethyl carbozole) kromojen solüsyonu (Lipshaw, Immunon kod no: 484700) damlatıldı. 5-20 dakika bekletildi. Çeşme suyunda yıkandı.
16. Mayer Hematoksilin ile 30-60 saniye zemin boyaması yapıldı, yıkanarak % 0,25'lik amonyaklı su ile mavileştirildi ve tekrar distile su ile yıkandı.
17. Kesitler gliserin jel ile kapatılarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi.

Ki-67 için Boyama Yöntemi

1. Rehidrate edilen kesitler Tris buffer (pH 7.6) solüsyonunda 5 dakika bekletilerek yıkandı
2. Kesitlerin etrafı iyice kurulandı ve hidrojen peroksit solüsyonunda (%0,5'lik metanol) nemli ortamda oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Amaç, ortamda bulunan endojen peroksitleri yok ederek nonspesifik zemin boyanmasını azaltmaktır.
3. Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dikkatlice dökülüp Tris buffer solüsyonunda 2-3 dakika yıkandı ve kurulandı.
4. % 0,1'lik Tripsin damlatılarak 30 dakika bekletildi. Çeşme suyunda geçirilerek Tris buffer solüsyonunda 2-3 dakika yıkandı.
5. Kesitler 10 mmol sitrat buffer (pH 6,0) solüsyonu içine yerleştirildi. 700 watt'lık mikrodalga fırında 2 kez 7'şer dakika bekletildi.
6. Sitrat buffer solüsyonunda oda ısısına gelinceye dek bekletildi. Tris buffer solüsyonunda 2-3 dakika yıkanan kesitler dikkatlice kurulandı.
7. Kesitlerin üzerine % 0,1'lik Tripsin damlatılarak 30 dakika bekletildi. Çeşme suyundan geçirilerek 2-3 dakika süre ile Tris buffer solüsyonunda yıkandı.
8. Kesitlerin çevresi dikkatlice kurulandıktan sonra % 3'lük hidrojen peroksit (% 0,5'lik metanol) damlatılarak 20 dakika bekletildi. Tris buffer solüsyonunda 2-3 dakika yıkanan kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon alındı.
9. Her kesitin üzerini kaplayacak şekilde 1:80 oranında sulandırılmış primer antikor (Rabbit Anti-Human Ki-67 Antigen, DAKO, kod no A0047) damlatıldı, oda ısısında nemli ortamda 3 saat bekletildi.
10. Tris buffer solüsyonunda 2-3 dakika yıkanan kesitler dikkatlice kurulandı. Daha sonra PCNA için uygulanan boyama prosedüründeki son 6 aşama aynen uygulandı.

Not: Her çalışma grubu için pozitif ve negatif kontrol slayt kullanılarak normal boyama süreci izlendi.

3.4. Proliferatif Aktivitenin Değerlendirilmesi

PCNA ve Ki-67 ile pozitif boyanma gösteren hücrelerin yüzdesini belirlemede semikantitatif skorlama uygulandı. (15, 16). Slaytların tümü numaralandırıldı ve 15 gün ara ile iki kez değerlendirildi. Öncelikle küçük büyütmede boyanmanın en yoğun olduğu ve hücreden en zengin alanlar saptandı.

Her slaytta iki ayrı büyük büyütme alanında (x400) 200 hücre sayılarak pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi belirlendi. Aynı tümörde alandan alana farklılıklar saptanan olgularda üçüncü bir büyük büyütme alanı da sayılarak pozitif boyanan hücrelerin ortalama yüzdesi bulundu. Buna göre; $\leq\%10$, $\%11-25$, $\%26-50$, $>\%50$, şeklinde sınıflandırıldı.

Değerlendirmede boyanma yoğunluğu ne olursa olsun boyanma saptanan hücrelerin tümü pozitif kabul edildi. Tümör dışı hücresel elemanlar değerlendirilmedi.

3.5. İstatistiksel Analiz

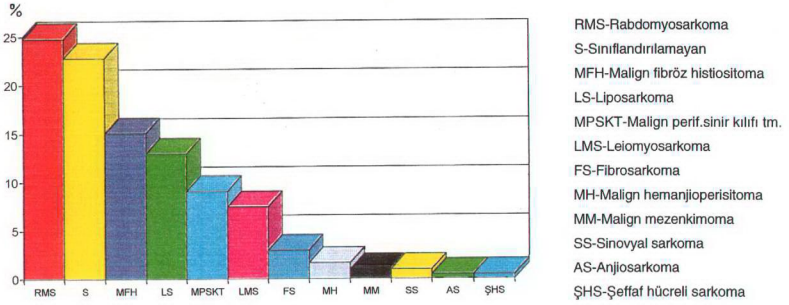
İstatistiklerin analizinde Epi 6 paket programı kullanılmıştır. Grupların karşılaştırılmasında Ki-kare testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışma için 1988-1995 yılları arasında tanı almış 185 YDS olgusuna ait H-E boyalı preparatlar retrospektif olarak yeniden değerlendirilmiştir. 110 olgu (%59.5) erkek, 75 olgu (%40.5) kadındır. En genç hasta 3 ay/12, en yaşlı hasta 85 yaşında olup, yaş ortalaması 40.2'dir. (12 olguda yaş bilinmemektedir.) 185 olgunun histolojik tip ve subtiplere göre dağılımı Tablo VIII ve Şekil 5'de gösterilmiştir.

Tablo VIII. 185 YDS olgusunun histolojik tip ve subtiplere göre dağılımı

Histolojik Tip ve Subtip	Olgu Sayısı (n)	%
Malign fibröz histiositoma	28	15.1
- Storiform-pleomorfik	21	
- İnflamatuar	4	
- Dev hücreli	2	
- Miksoid	1	
Rabdomyosarkoma	46	24.8
- Alveoler	14	
- Embriyonel	19	
- Pleomorfik	6	
- Botrioid	5	
- Tiplendirilemeyen	2	
Liposarkoma	24	13.0
- Miksoid	11	
- Yuvarlak hücreli	2	
- Pleomorfik	2	
- Dedifferansiye	1	
- İyi differansiye (Lipoma benzeri)	1	
- Mikst	7	
Malign periferik sınırlı kılıfı tümörü	17	9.1
Leiomyosarkoma	14	7.5
Sinovyal sarkoma	2	1.0
Fibrosarkoma	5	3.0
Malign mezenkimoma (MM)	2	1.0
Malign hemanjioperisitoma (MH)	3	1.7
Anjiosarkoma	1	0.5
Şeffaf hücreli sarkoma (ŞHS)	1	0.5
Sınıflandırılmayan (S)	42	22.8
TOPLAM	185	100

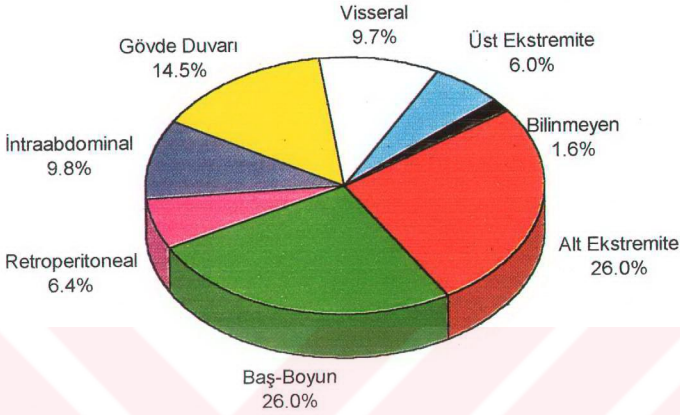


Şekil 5. 185 YDS olgusunun histolojik tiplere göre dağılımı

Olgularda tümörün en sık yerleşim yeri alt ekstremité (%26.0) ve baş-boyun bölgesi (%26.0) olup yerleşim yerlerine göre olguların dağılımı Tablo IX ve Şekil 6'da gösterilmiştir.

Tablo IX. 185 YDS olgusunun tümörün yerleşim yerine göre dağılımı.

Tümörün yerleşim yeri	Olgu Sayısı (n)	%
Alt ekstremité	48	26.0
Üst ekstremité	11	6.0
Gövde duvarı	27	14.5
Visseral	18	9.7
Retroperitoneal bölge	12	6.4
Baş-boyun	48	26.0
İntraabdominal	18	9.8
Bilinmeyen	3	1.6
TOPLAM	185	100



Şekil 6. 185 YDS olgusunun tümörün yerleşim yerine göre dağılımı

Çalışma grubu için toplam 185 olgudan 35 primer YDS olgusu materyal-metod bölümünde belirtilen kriterlere göre seçilmiştir. Bu olguların yaş, cinsiyet ve histopatolojik tanıları Tablo X'da özetlenmiştir.

Tablo X. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun yaş, cinsiyet ve histopatolojik tanı dağılımı.

Patoloji Prot.No.	Hasta	Cins	Yaş	Histopatolojik Tanı
1. 14039/94	T.Ş.	K	43	Malign fibröz histiositoma
2. 7253/95	M.Ç.	E	30	Malign fibröz histiositoma
3. 10180/91	M.S.	E	36	Malign fibröz histiositoma
4. 12815/93	A.B.	E	63	Malign fibröz histiositoma
5. 6516/94	S.S.	K	55	Malign fibröz histiositoma
6. 11965/93	K.K.	E	65	Malign fibröz histiositoma
7. 600/94	N.G.	K	60	Malign fibröz histiositoma
8. 7039/90	M.G.	E	?	Malign fibröz histiositoma
9. 3313/89	M.K.	E	57	Rabdomyosarkoma
10. 12191/94	D.K.	K	15	Rabdomyosarkoma
11. 12296/92	E.Ö.	E	19	Rabdomyosarkoma
12. 12222/94	B.Z.	E	72	Rabdomyosarkoma
13. 7752/89	M.Ş.	E	7	Rabdomyosarkoma
14. 3931/93	H.T.	K	29	Rabdomyosarkoma
15. 5405/94	Ş.Ö.	K	60	Rabdomyosarkoma
16. 3695/92	A.Y.	K	65	Liposarkoma
17. 1160/95	R.G.	E	39	Liposarkoma
18. 521/93	F.A.	K	38	Liposarkoma
19. 7159/92	M.B.	E	52	Liposarkoma
20. 9653/89	S.A.	K	37	Liposarkoma
21. 5017/91	C.Ç.	E	38	Liposarkoma
22. 7026/92	O.İ.	E	50	Liposarkoma
23. 15872/95	K.T.	E	37	Liposarkoma
24. 13706/95	N.Ö.	E	57	Leiomyosarkoma
25. 1435/95	Y.Ç.	E	42	Leiomyosarkoma
26. 8326/95	N.D.	K	44	Leiomyosarkoma
27. 5095/91	N.D.	K	55	Sinovyal sarkoma
28. 6901/93	H.Ç.	K	27	Sinovyal sarkoma
29. 14044/95	M.B.	E	37	Fibrosarkoma
30. 14463/94	F.E.	K	45	Fibrosarkoma
31. 6547/91	M.Y.	K	55	Malign periferik sinir kılıfı tümörü
32. 1233/91	Ö.S.	E	73	Malign periferik sinir kılıfı tümörü
33. 10392/92	Z.B.	K	33	Malign periferik sinir kılıfı tümörü
34. 68753/91	M.M.	E	65	Malign periferik sinir kılıfı tümörü
35. 881/94	H.B.	E	20	Anjiosarkoma

35 olgunun yaş ortalaması 44.7 (7-73) olup bir hastanın yaşı bilinmemektedir. 20 olgu (%57.2) erkek, 15 olgu (%42.8) kadındır.

8 olgu (%22.8) MFH [6 storiform-pleomorfik (Resim 1A), 1 inflamatuvar (Resim 2A) 1 dev hücreli]

8 olgu (%22.8) LS [3 miksoid, 1 pleomorfik, 1 yuvarlak hücreli, 3 mikst]

7 olgu (%20.0) RMS [3 alveoler, 1 embriyonel, 3 pleomorfik (Resim 3A)]

4 olgu (%11.5) MPSKT (Resim 4A)

3 olgu (%8.5) LMS

2 olgu (%5.8) FS

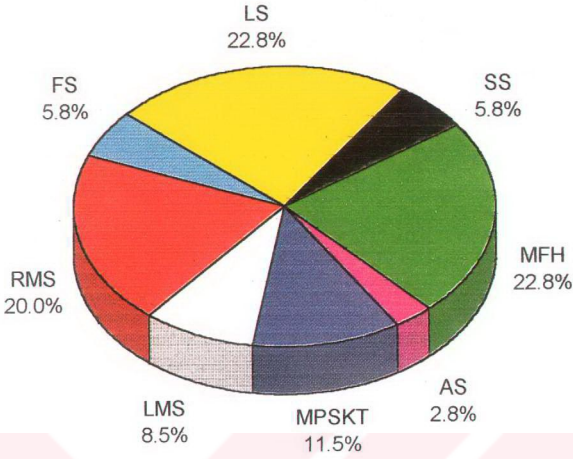
2 olgu (%5.8) SS

1 olgu (%2.8) AS (Resim 5A)'dır.

Olguların histolojik tiplere ve subtiplere göre dağılımı Tablo XI ve Şekil 7'de belirtilmiştir.

Tablo XI. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun histolojik tip ve subtiplere göre dağılımı.

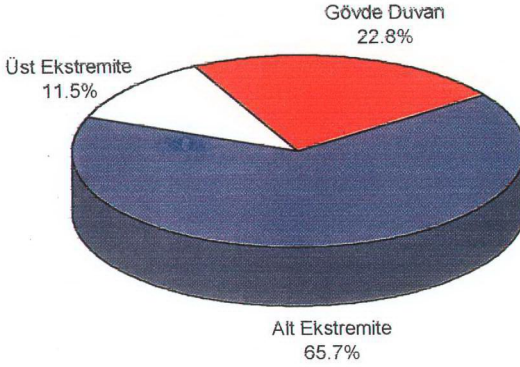
Histolojik Tip ve Subtip	Olgu Sayısı (n)	%
Malign fibröz histiositoma	8	22.8
- Storiform-pleomorfik	6	
- İnflamatuvar	1	
- Dev hücreli	1	
Liposarkoma	8	22.8
- Miksoid	3	
- Pleomorfik	1	
- Yuvarlak hücreli	1	
- Mikst	3	
Rabdomyosarkoma	7	20.0
- Alveoler	3	
- Embriyonel	1	
- Pleomorfik	3	
Malign periferik sinir kılıfı tümörü	4	11.5
Leiomyosarkoma	3	8.5
Fibrosarkoma	2	5.8
Sinovyal sarkoma	2	5.8
Anjiosarkoma	1	2.8
TOPLAM	35	100



LS-Liposarkoma
 SS-Sinovyal sarkoma
 MFH-Malign fibröz histiositoma
 AS-Anjiosarkoma
 MPSKT-Malign periferik sinir kılıfı tümörü
 LMS-Leiomyosarkoma
 RMS-Rabdomyosarkoma
 FS-Fibrosarkoma

Şekil 7. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun histolojik tiplere göre dağılımı.

Tümör 23 olguda (%65.7) alt ekstremitte, 8 olguda (%22.8) gövde duvarı, 4 olguda ise (%11.5) üst ekstremitte yerleşimlidir (Şekil 8).



Şekil 8. Çalışma grubunu oluşturan 35 YDS olgusunun tümörün yerleşim yerine göre dağılımı

35 olguda ortalama tümör boyutu 14.6 cm (5-30) dir. Yedi olguda tümör boyutu bilinmemektedir. Materyallerin cinsi; 15 (%48.5) eksizyon, 7 (%22.5) amputasyon materyali, 7 (%22.5) insizyonel biyopsi, 2 (%6.5) iğne biyopsisi şeklinde olup 4 olgu başka sağlık merkezlerinden bölümümüze hazır parafin blok şeklinde gelmiştir.

Olgulara ait H.E. boyalı preparatlar, mitoz-nekroz-hücre zenginliği-pleomorfizm yönünden incelenmiş ve bu kriterlere göre gradelendirilmiştir.

Çalışma grubundaki tümörlerde mitoz sayısı her 10 HPF için 2-40 arasında değişmektedir. Nekroz 12 olguda (%34.3) izlenmemiş, 14 olguda (%40.0) < %50.0, 9 olguda ise (%25.7) >%50.0 olarak değerlendirilmiştir.

Subjektif olarak, hücre zenginliği 23 olguda (%65.8) belirgin., 7 olguda (%20.0) orta, 5 olguda (%14.2) ise hafif derecededir.

Bu kriterlere göre 7 olgu (%20.0) Grade I, 12 olgu (%34.3) Grade II, 16 olgu (%45.7) ise Grade III olarak değerlendirilmiştir (Tablo XII).

Olguların klinik takip süreleri sınırlı olup 12 olguda ortalama takip süresi 2,4 yıldır (1-8) 6 olguda metastaz (5 olguda akciğere, 1 olguda humerusa), 3 olguda ise nüks saptanmıştır. Ortalama 4 yıl klinik takipte 3 olguda metastaz veya nüks saptanmamıştır. Metastaz saptanan 1 olgu Grade II, 5 olgu Grade III'tür. Nüks izlenen 3 olgu ise Grade I,II,III tümörlerdir.

Tablo XII. 35 YDS olgusunun histolojik tip ve grade dağılımı.

Histolojik Tip	Grade			Toplam	
	I	II	III	Olgu Sayısı (n)	%
Malign fibröz histiositoma	1	3	4	8	22.8
Rabdomyosarkoma	-	2	5	7	20.0
Liposarkoma	4	1	3	8	22.8
Fibrosarkoma	-	1	1	2	5.8
Malign periferik sinir kılıfı tümörü	1	1	2	4	11.4
Lelomyosarkoma	1	1	1	3	8.5
Sinovyal sarkoma	-	2	-	2	5.8
Anjiosarkoma	-	1	-	1	2.9
TOPLAM	7	12	16	35	100
	(%20.0)	(%34.3)	(%45.7)		

Değerlendirilen olgularda PCNA ve Ki-67 için immünoreaktif nükleuslarda heterojen dağılım dikkati çekmiştir. Boyanma heterojenitesi nedeniyle değerlendirme hatasından kaçınmak amacıyla sistematik olarak slaytların her alanı incelenmiştir. Boyanmanın, PCNA ile genelde granüler, Ki-67 ile ise çoğunlukla diffüz-homojen olduğu gözlenmiştir. Mitotik hücrelerin bir kısımda özellikle PCNA ile negatif sonuç alınmıştır. Tümör hücrelerinde Ki-67 ile yer yer sitoplazmik boyanma da dikkati çekmiştir.

PCNA ile 3 olguda (%10.0) \leq %10.0, 6 olguda (%20.0) %11-25, 15 olguda (%50.0) %26-50 (Resim 2B ve Resim 5B) ve 6 olguda (%20.0) $>$ %50.0 pozitiflik (Resim 1B-C, Resim 3B) saptanmıştır. Olguların beşinde boyanma izlenmemiştir. PCNA için negatif olan olguların dördü Grade I, biri ise Grade II dir. Grade I tümörlerde ortalama % 11.9 oranında pozitiflik saptanırken, Grade II ve III

tümörlerde pozitiflik % 32.0 ve %39.6 bulunmuştur (Tablo XIII). Grade II ve III tümörlerdeki PCNA pozitiflik oranları arasında belirgin bir farklılık saptanmamıştır. PCNA ile nüks izlenen olgulardan birinde ise % 50.5 oranında pozitiflik gözlenmiştir.

Tablo XIII. PCNA ile boyanma saptanan 30 YDS olgusunun grade ve pozitivite dağılımı.

	PCNA pozitif hücreler (%)			
	0-10	11-25	26-50	>50
Olgu sayısı	3(%10.0)	6(%20.0)	15(%50.0)	6(%20.0)
Tümör grade				
I	1	2	-	-
II	1	3	5	2
III	1	1	10	4

PCNA yönteminde "cut off" değeri %25 olarak alındığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (P=0.008) Bu fark Grade III tümörlerden kaynaklanmaktadır (Tablo XIV).

Tablo XIV. PCNA indeksi ile tümör grade'i arasındaki ilişki.

	PCNA indeksi (%)		P değeri
	≤ 25	>25	
Olgu sayısı (n)	9	21	0.008
Tümör grade'i			
I	3	0	
II	4	7	
III	2	14	

Ki-67 ile 4 olguda (%16.6) \leq %10, 5 olguda (%20.8) $>$ %11-25, 12 olguda (%50.0) $>$ %26-50 (Resim 2C, Resim 4B, Resim 5C) 3 olguda (%12.6) $>$ %50.0 pozitiflik (Resim 1D, Resim 3C) izlenmiştir. 11 olguda boyanma saptanmamıştır. Ki-67 için negatif sonuç veren beş olgu Grade I, bir olgu Grade II, beş olgu ise Grade III'tür. Grade I olgularda ortalama % 7.2, Grade II olgularda %22.5, Grade III olgularda ise %39.2 oranında pozitiflik saptanmıştır (Tablo XV).

Tablo XV. Ki-67 ile boyanma saptanan 24 YDS olgusunun grade ve pozitifite dağılımı.

	Ki-67 pozitif hücreler (%)			
	0-10	11-25	26-50	>50
Olgu sayısı (n)	4(%16.6)	5(%20.8)	12(%50.0)	3(%12.6)
Tümör grade'i				
I	2	-	-	-
II	2	4	5	-
III	-	1	7	3

Ki-67 ile boyanmada Grade II ve III tümörler arasında belirgin bir farklılık saptanmazken, Grade I tümörler ile Grade II ve III tümörler arasındaki immunoreaktivite belirgin olarak farklı bulunmuştur.

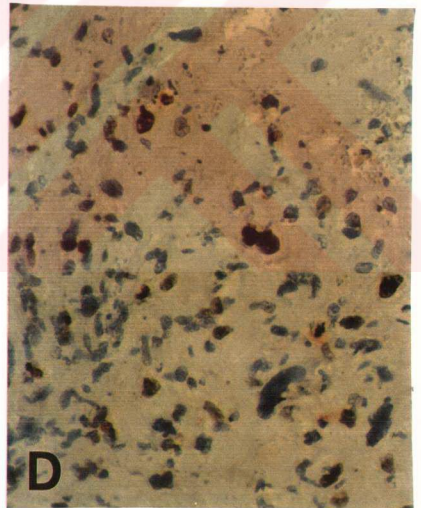
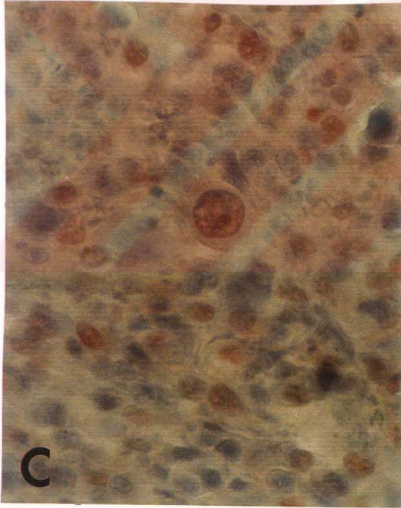
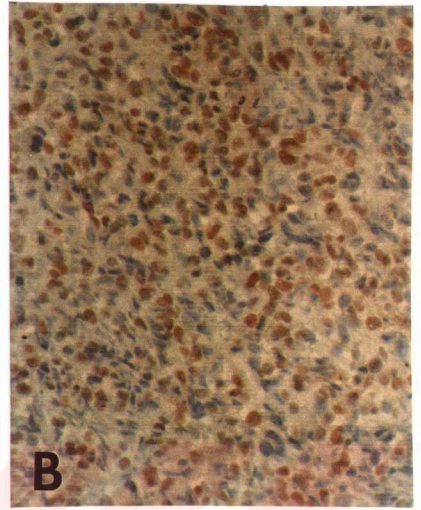
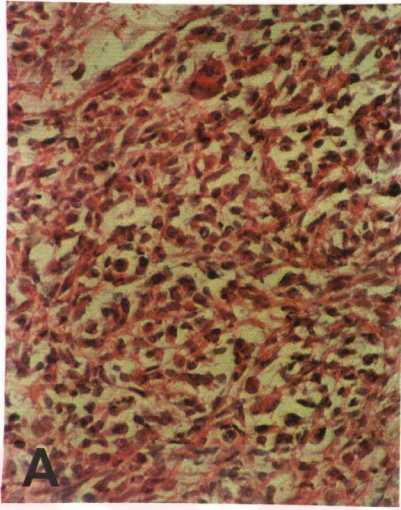
Ki-67, nüks izlenen olgulardan birinde %23.7 oranında pozitif sonuç vermiştir.

Ki-67 yönteminde "cut off" değeri; daha önce yayınlanmış çalışmalara (15,16) dayanarak ve tümör grade'inin Ki-67 indeksine göre dağılımı göz önünde tutularak %10.0 kabul edildiğinde gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir. (P=0.002) Buradaki fark da yine Grade III tümörlerden kaynaklanmıştır (Tablo XVI).

Tablo XVI. Ki-67 indeksi ile tümör grade'i arasındaki ilişki.

	Ki-67 indeksi (%)		P değeri
	≤ 10	>10	
Olgu sayısı (n)	4	20	0.002
Tümör grade'i			
I	2	0	
II	2	9	
III	0	11	

Ki-67 ile metastaz saptanan 6 olguda (%100), metastazsız olguların ise 14'ünde (%77.7) >%10 pozitiflik izlenmiştir. PCNA ile metastaz saptanan olguların 5'inde (%83.3), metastazsız olguların ise 16'sında (%66.6) >%25 pozitif boyanma izlenmiştir. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

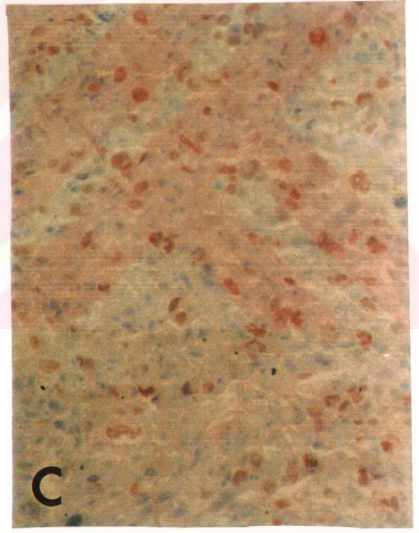
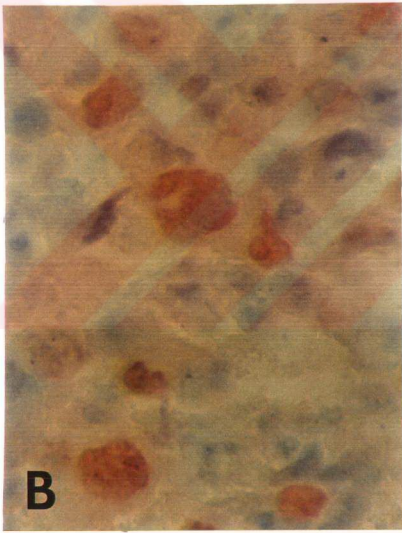
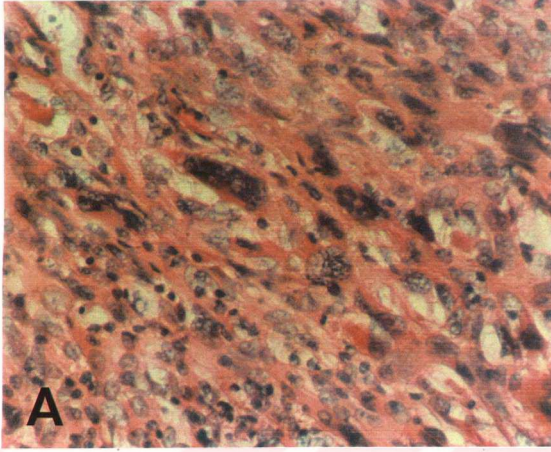


Resim 1. Malign fibröz histiositoma, storiform-pleomorfik tip (Grade III)

1A. HEx100

1B-C. PCNA ile %65.0 pozitif boyanma (x100-x400)

1D. Ki-67 ile %54.5 pozitif boyanma (x100)

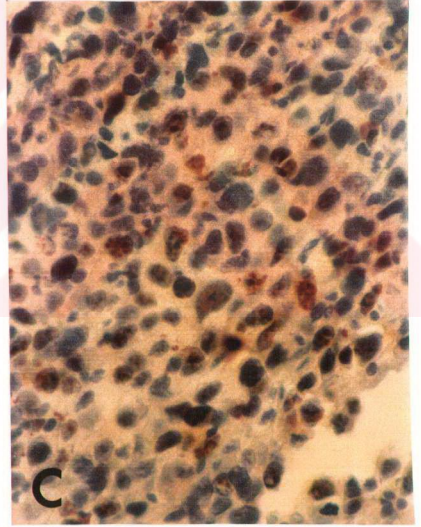
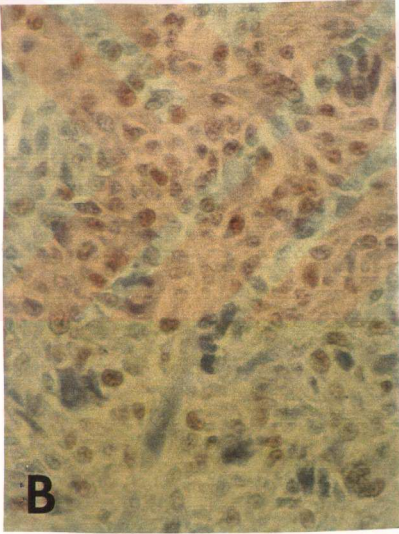
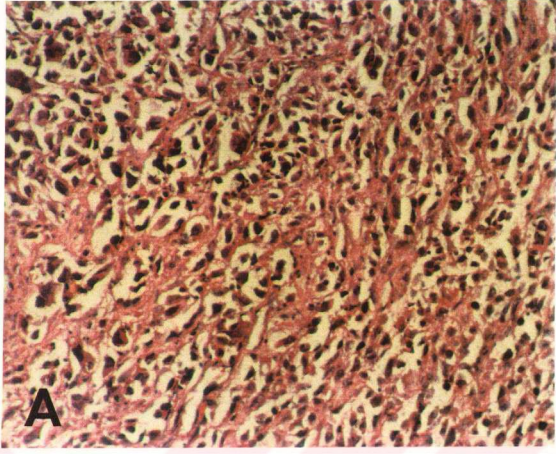


Resim 2. Malign fibröz histiositoma, inflamatuvar tip (Grade II)

2A. HE x 200

2B. PCNA ile %42.0 pozitif boyanma (x400)

2C. Ki-67 ile %37.0 pozitif boyanma (x100)

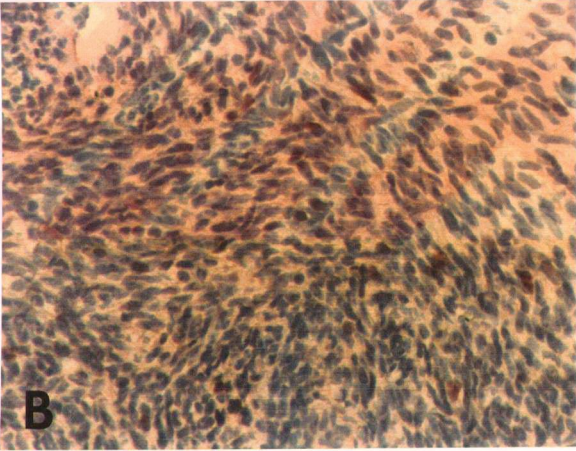
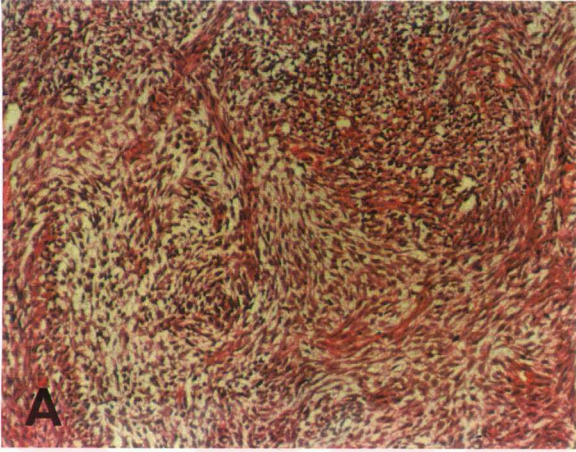


Resim 3. Rabdomyosarkoma, pleomorfik tip (Grade III)

3A. HE x 100

3B. PCNA ile %60.0 pozitif boyanma (x200)

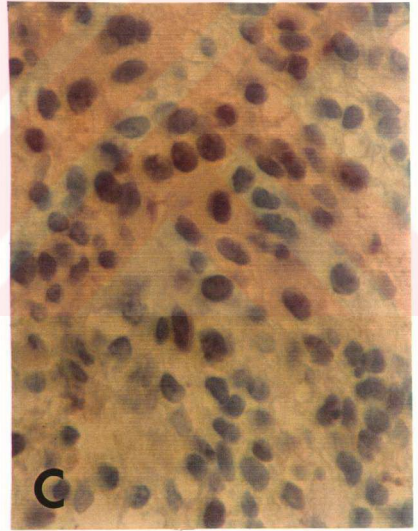
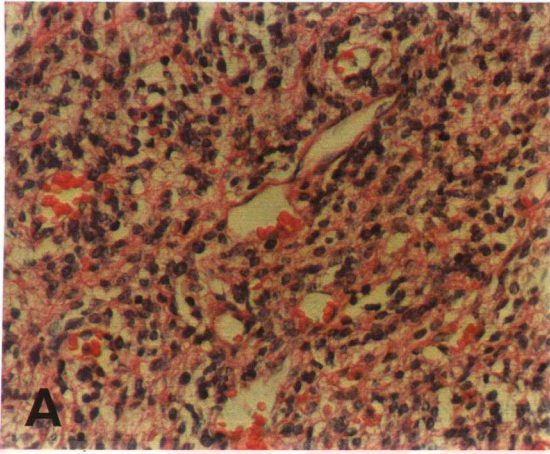
3C. Ki-67 ile %58.2 pozitif boyanma (x200)



Resim 4. Malign periferik sinir kılıfı tümörü (Grade III)

4A. HE x100

4B. Ki-67 ile %36.6 pozitif boyanma (x200)



Resim 5. Anjiosarkoma (Grade II)

5A. HE x200

5B. PCNA ile %34.5 pozitif boyanma (x1000)

5C. Ki-67 ile %31.8 pozitif boyanma (x400)

5. TARTIŞMA

Proliferasyon ve hücrel differansiyasyon birbirleriyle ters ilişkili süreçlerdir (16). Tümörlerin proliferatif aktivitesi ile klinik gidişi arasında güçlü bir ilişki vardır (66,75). Tubiana ve Courdi'ye göre, yüksek proliferasyon oranı ile tümörün agresiflik derecesi arasındaki bağlantı, solid tümörlerin genel özelliğidir (66).

Birçok çalışmada mitoz sıklığının prognostik önemini saptanması, YDS'lu hastalarda hücre proliferasyonunun daha ileri incelenmesini gerektirmiştir (58).

Ayrıca bazı araştırmacılar proliferatif aktivitenin değerlendirilmesinde mitoz sayımının tam olarak güvenilir olmadığını, çünkü hücre siklusünün yalnızca bir bölümünü (mitotik faz veya M fazı) yansıttığını öne sürmüşlerdir. Örnek olarak da bazal hücreli karsinomada mitoz sayısının yüksek olabileceğini ancak bunun nedeninin hücre siklusünün M fazının uzaması olduğunu; lezyonun proliferasyon oranının yüksek olduğu anlamına gelmediğini belirtmişlerdir (66).

Ki-67 ve PCNA hücre siklusünün proliferatif fazında açığa çıkan nükleer proteinlerdir ve dokularda monoklonal antikolar kullanılarak belirlenebilmektedirler. Bu antikoların arşiv materyellerine yönelik retrospektif çalışmalarda da kullanılabilmesi değerlerini arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda Ki-67 ve PCNA'nın histolojik materyallerde proliferasyonun belirleyicisi olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (13,15,16,75).

Literatürde farklı tümörlerde PCNA ve Ki-67 reaktivitesi ile prognoz arasında ilişki olduğu (santral sinir sistemi tümörleri, meme kanseri, lenfomalar, sarkomalar) saptanmıştır (12-14).

YDS'da Ki-67 reaktivitesinin prognostik önemini ilk kez 1989 yılında Ueda ve arkadaşları bildirmiştir. Tümörlerde Ki-67 antijeninin aktivitesindeki artışın; mitoz sayısı, hücre zenginliği ve histolojik grade ile pozitif korelasyon gösterdiğini ve düşük sağkalıma eşlik ettiğini bildirmişlerdir (77).

Farklı retrospektif çalışmaların sonuçlarına göre YDS'larında Ki-67 ve PCNA ile tümör grade'i arasında korelasyon saptanmıştır. (16,76,79,80).

Bir çalışmada Ki-67 skorunun benign ve Grade I tümörlerde düşük, Grade II ve III tümörlerde ise yüksek olduğu bildirilmiştir (78).

Bizim çalışmamızda da Ki-67 ve PCNA indeksleri ile histolojik grade arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Grade I tümörlerin tümünde (%100) PCNA indeksi \leq %25, Ki-67 indeksi \leq %10 bulunmuştur. Grade III tümörlerde ise olguların %87.5'inde PCNA $>$ %25, %100'ünde Ki-67 indeksi $>$ %10'dur.

Bazı tümörlerde (5 olgu) PCNA ile Ki-67 indeksi arasında uyumsuzluklar dikkati çekmiştir. Bu tümörlerin dördünde yüksek PCNA, düşük Ki-67 indeksi saptanmıştır. Literatürde bazı çalışmalarda PCNA ile Ki-67 salınımı arasındaki korelasyonun zayıf olabileceği bildirilmiştir. PCNA'nın yarılanma süresinin uzun olması, metodolojik zorluklar, histotip spesifitesi, tümörler arası ve tümör içi heterojenite varlığının da bu uyumsuzluğun nedenleri olabileceği öne sürülmüştür (15). Grade III MFH olgularından birinde ise PCNA indeksi düşük, Ki-67 indeksi yüksek bulunmuştur. Choong ve Akerman da 185 YDS olgusu içeren çalışmalarında beklenmedik bir şekilde PCNA salınımı ile tümör grade'i arasında korelasyon eksikliği saptamışlardır. Yine bir çalışmada grade IV metastazlı MFH olgularının bazılarında PCNA indeksi düşük bulunmuştur (15,75). Hall ve arkadaşları ise PCNA salınımının bazı tümörlerde düzensiz olabileceğini belirtmişlerdir. Choong ve Akerman YDS'da proliferasyon belirleyicisi olarak PCNA ve Ki-67'nin kombine kullanılmasının tek başlarına kullanılmasından daha uygun olacağını vurgulamışlardır (15).

Olguların bazılarında PCNA ve/veya Ki-67 ile boyanma elde edilememiştir. PCNA (-) tümörlerin %80.0'i, Ki-67 (-) tümörlerin de %45.4'ü Grade I tümörlerdir. Yine yüksek grade'li (Grade III) tümörlerin %45.4'ünde Ki-67 ile boyanma izlenmemiştir. Bu olguların ikisi insizyonel biyopsi materyali olup doku örneği küçüktür. Brown; küçük biyopsi örneklerindeki Ki-67 boyanmasının gerçek proliferasyon oranını yansıtmayabileceğini, çoğu tümörün heterojen hücre popülasyonundan oluştuğunu ki bunların proliferasyon oranlarının farklılıklar gösterebileceğini, bu yüzden de aynı tümörde farklı alanlarda farklı pozitiflik oranları saptanabileceğini belirtmiştir (66). Ueda ve arkadaşları da 34 olgu içeren çalışmalarında sarkom olgularının sadece %59.0'da Ki-67 ile boyanma elde etmişler, diğer olgularda neden reaktivite gözlenmediğini açıklayamamışlardır (77). Ayrıca Ki-67 antijeninin kimyasal denatürasyona çok duyarlı olması, zayıf formalin solüsyonlarında bile denatüre olabilmesi de bazı olgulardaki negatifliğin uzun süreli fiksasyona sekonder olabileceğini düşündürmektir (66). Yine Swanson ve arkadaşlarının

yaptığı bir çalışmada bazı olgularda (SS, LMS, MFH) Ki-67 skoru ile histolojik grade arasında uyumsuzluklar saptanmış ve benzer uyumsuzlukların literatürde de bildirildiği belirtilmiştir (86). Bizim Grade II SS olgularımızdan birinde Ki-67 indeksi %8 bulunurken, diğerinde boyanma gözlenmemiştir.

Özellikle PCNA ile mitotik hücrelerin bir kısmında boyanma saptanmamıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada da benzer şekilde mitotik hücrelerde açıklanamayan negatiflik gözlenmiş ve bunun doku fiksasyon veya takip artefaktına bağlı olabileceği düşünülmüştür (68).

Bazı olgularda tümör hücrelerinde Ki-67 ile sitoplazmik boyanma dikkati çekmiştir. Farklı doku tiplerinde (serviks kanseri, akciğer kanseri) de Ki-67 ile sitoplazmik boyanma bildirilmiştir. Ancak nedeni belli değildir, bazı sitoplazmik epitoplara ile çapraz reaksiyon sonucu olabileceği düşünülmüştür (66). YDS'nin gradelendirme sistemlerinde belirtildiği gibi tümörün histolojik tipi ve subtipi gradelendirilmede kestirme bir yol sağlayabilmektedir. Bazı histolojik tipler ve subtiplerin doğrudan yüksek grade'li, bazılarının ise düşük grade'li olduğu kabul edilmektedir (7,48). Literatürde histolojik subtiplerde proliferatif aktivitenin değerlendirilmesine yönelik çalışmalar da vardır (75). Ancak, bizim olgu sayımız istatistiksel olarak anlamlı sonuç verecek kadar yeterli olmadığından tümörlerin subtipleri ile PCNA ve Ki-67 reaktivitesinin kıyaslaması yapılmamıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre metastazlı olgularda PCNA ve Ki-67 indeksleri de yüksek bulunmuştur, proliferasyon indeksleri ile metastaz arasında korelasyon saptanmıştır. Metastaz saptanan olguların % 83.3'ünde PCNA >%25, %100'ünde Ki-67 >%10 bulunmuştur. Choong ve arkadaşları da 48 MFH olgusunda PCNA ve Ki-67 indeksini değerlendirmişler, metastazlı tümörlerde daha yüksek bulmuşlardır (15,16).

Çalışma grubundaki 35 olgudan yalnızca 12'sinde sağlıklı klinik takip mevcuttur. Klinik takibi yapılan geniş olgu serilerinde PCNA ve Ki-67 değerlerinin tümörün biyolojik davranışı ile birlikte değerlendirilmesi halinde verilerin daha da somut bir zemine oturacağı kanısındayız.

Son zamanlarda çeşitli malignansilerde Ki-67 ve PCNA ile ilgili oldukça geniş literatür mevcuttur ve potansiyel prognostik değerleri gündeme gelmiştir (16,66). Ancak YDS'lerinde PCNA ve Ki-67 salınımı ile ilgili deneyimler henüz oldukça kısıtlıdır ve daha geniş serileri içeren çalışmalara gerek vardır (15,16).

6. SONUÇLAR

1. 35 primer YDS olgusunun yaş ortalaması 44.7 olup; en genç hasta 7, en yaşlı hasta 73 yaşındadır.
2. Tümör 23 olguda (%65.7) alt ekstremitte, 8 olguda (%22.8) gövde duvarı, 4 olguda (%11.5) ise üst ekstremitte yerleşimlidir.
3. Olguların %22.8'i MFH, %22.8'i LS, %20.0'i RMS, %11.5'i MPSKT, %8.5'i LMS, %5.8'i FS, %5.8'i SS, %2.8'i AS'dır.
4. Ortalama tümör boyutu 14.6 cm.dir. En küçük tümör 5 cm, en büyük tümör 30 cm çaplıdır.
5. Olgulara ait materyallerin %48.5'i eksizyon, %22.5'i amputasyon, %22.5'i insizyonel biyopsi, %6.5'i iğne biyopsisi şeklinde olup 4 olguya ait materyal başka sağlık merkezlerinden bölümümüze hazır parafin blok şeklinde gelmiştir.
6. Çalışma grubundaki tümörlerde mitoz sayısı 2-40 arasında değişmektedir.
7. Nekroz, olguların %40.0'nda <%50.0, %25.7'sinde ise >%50.0 olarak değerlendirilmiştir. %34.3 olguda ise nekroz izlenmemiştir.
8. Hücre zenginliği, olguların %65.8'inde belirgin, %20.0'ında orta derecede, %14.2'sinde ise hafif derecededir.
9. Mitoz-nekroz-hücre zenginliği-pleomorfizm kriterlerine göre 7 olgu (%20.0) Grade I 12 olgu (%34.3) Grade II, 16 olgu (%45.7) ise Grade III olarak değerlendirilmiştir.

10. Hastaların 12'sinde ortalama klinik takip süresi 2.4 yıldır. 6 olguda metastaz (beş olguda akciğere, bir olguda humerusa), 3 olguda ise nüks saptanmıştır. Metastaz saptanan olguların % 83.3'ü Grade III tümördür.

11. Boyanma elde edilen 30 olguda PCNA indeksi; Grade I tümörlerin %100'ünde \leq %25, Grade II tümörlerin %63.6'sında $>$ %25, Grade III tümörlerin de %87.5'inde $>$ %25 bulunmuştur.

12. Boyanma elde edilen 24 olguda Ki-67 indeksi; Grade I tümörlerin %100'ünde \leq %10, Grade II tümörlerin %81.8'inde $>$ %10, Grade III tümörlerin de %100'ünde $>$ %10 bulunmuştur.

13. Metastaz saptanan olguların %100'ünde Ki-67 indeksi $>$ %10, %83.3'ünde PCNA indeksi $>$ %25 bulunmuştur.

14. Bazı olgularda PCNA ile Ki-67 salınımı arasında uyumsuzluk dikkati çekmiştir.

15. Çalışmamızın sonuçları; YDS'larında Ki-67 ve PCNA salınımı ile tümörün grade'i ve biyolojik agresivitesi arasında pozitif korelasyonun varlığını göstermektedir. Ancak tümör proliferasyonunun değerlendirilmesinde her iki antijen salınımının bir arada değerlendirilmesinin daha değerli olacağı kanısına varılmıştır.

7. ÖZET

Tümörlerin proliferatif aktivitesi ile klinik gidişi arasında güçlü bir ilişki vardır. "Proliferating Cell Nuclear Antigen" (PCNA) ve Ki-67, hücre siklusunun proliferatif evresinde salınan nükleer antijenler olup dokuda monoklonal antikolar aracılığı ile IHK yöntemle saptanabilmektedirler.

Bu çalışmanın amacı; farklı histolojik tipteki YDS'da PCNA ve Ki-67 reaktivitesinin dağılımını IHK yöntemle belirlemek ve tümörün histolojik grade'i ile ilişkisini araştırmaktır. Bu amaçla Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 1988-1995 yılları arasında tanı almış 185 YDS olgusu retrospektif olarak yeniden değerlendirilmiştir. Mitoz-nekroz-hücre zenginliği-pleomorfizm kriterleri göz önünde tutularak tüm olgular gradelendirilmiştir. Çalışma grubu olarak bu olgular arasından ekstremiteler ve gövde duvarı yerleşimli 35 primer YDS belirlenmiştir. Olguların %57.2'si erkek, %42.8'i kadın olup yaş ortalaması 44.7'dir.

Olgulara ait parafin bloklardan elde edilen tümör doku kesitlerine immunperoksidaz yöntemle Anti-PCNA ve Anti-Ki-67 monoklonal antikoları uygulanmıştır. PCNA ve Ki-67 ile pozitif boyanan hücrelerin oranını belirlemede semikantitatif skorlama kullanılmıştır. PCNA (\leq %25; $>$ %25) ve Ki-67 (\leq %10; $>$ %10) indeksleri kullanılarak tümörlerdeki pozitiflik oranları histolojik grade ile karşılaştırılmıştır.

Tümörde PCNA ve Ki-67 salınımindaki artışın, histolojik grade ve metastaz ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır.

YDS'larında PCNA ve Ki-67'nin prognostik faktör olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yumuşak doku sarkomları, proliferasyon belirleyicileri, PCNA, Ki-67, immunohistokimya

KAYNAKLAR

1. Tomita Y, Kuratsu S, Naka N, et al: A staging system for soft-tissue sarcoma and its evaluation in relation to treatment. *Int. J. Cancer* 1994; 58: 168-173.
2. Hashimoto H, Daimaru Y, Takeshita S, et al: Prognostic significance of histologic parameters of soft tissue sarcomas. *Cancer* 1992; 70: 2816-2822.
3. Markhede G, Angervall L, Stener B: A multivariate analysis of the prognosis after surgical treatment of malignant soft-tissue tumors. *Cancer* 1982; 49: 1721-1733.
4. Alvegard TA, Berg NO, Ranstam J, et al: Prognosis in high-grade soft tissue sarcomas. The Scandinavian Sarcoma Group experience in a randomized adjuvant chemotherapy trial. *Acta Orthop Scand* 1989; 60(5): 517-21.
5. Trojani M, Contesso G, Coindre JM, et al: Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. *Int. J. Cancer* 1984; 33: 37-42.
6. Lack EE, Steinberg SM, White DE, et al: Extremity soft tissue sarcomas: Analysis of prognostic variables in 300 cases and evaluation of tumor necrosis as a factor in stratifying higher-grade sarcomas. *J. Surg. Oncol.* 1989; 41: 263-273.
7. Enzinger FM, Weiss SW: *Soft Tissue Tumors*. 3th ed. St. Louis: Mosby, 1995; 1-16, 131-138, 139-164, 269-292, 351-380, 431-466, 491-510, 539-578, 641-678, 757-786, 889-928.

8. Kamel OW, LeBrun DP, Davis RE, et al: Growth fraction estimation of malignant lymphomas in formalin-fixed paraffin-embedded tissue using Anti-PCNA/Cyclin 19A2. Correlation with Ki-67 labeling. *Am J Pathol* 1991; 138: 1471-1477.
9. Ersöz C: Yumuşak doku sarkomlarında patolojinin belirleyebileceği prognostik faktörler. *Arşiv* 1995; 4: 383.
10. Gerdes J, Li L, Schlueter C, et al: Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* 1991; 138: 867-873.
11. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al: Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133: 1710-1715.
12. Ooe M, Nogita T, Kawashima M: Comparative study of Ki-67 immunostaining and nuclear DNA content in histiofibrous tumors. *J Dermatol* 1992; 19: 12-18.
13. Zehr RJ, Bauer TW, Marks KE, et al: Ki-67 and grading of malignant fibrous histiocytomas. *Cancer* 1990; 66: 1984-1990.
14. Wintzer HO, Zipfel I, Mönting JS, et al: Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. *Cancer* 1991; 67: 421-428.
15. Choong PFM, Akerman M, Willen H, et al: Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in soft tissue sarcoma. Is prognostic significance histotype-specific? *APMIS* 1995; 103: 797-805.
16. Choong PFM, Akerman M, Willen H, et al: Prognostic value of Ki-67 expression in 182 soft tissue sarcomas. Proliferation- a marker of metastasis? *APMIS* 1994; 102: 915-924.

17. Miettinen M, Weiss SW: Soft-Tissue Tumors. In: Damjanow I, Linder J Eds. Anderson's Pathology. 10th ed. St Louis: Mosby, 1996; 2480-2531.
18. Cancer facts and figures 1992, Atlanta, 1992, American Cancer Society.
19. Gustafson P: Soft tissue sarcoma. Epidemiology and prognosis in 508 patients. Acta Orthop Scand (Supplement No. 259) 1994; 65: 1-31.
20. Sağlıcan Y, Koçak G, Aktepe F, et al: Yumuşak doku sarkomlarında prognostik faktörler. Ankara Patoloji Bülteni 1994; 11(2): 8-12.
21. Ross JA, Severson RK, Davis S, et al: Trends in the incidence of soft tissue sarcomas in the United States from 1973 through 1987. Cancer 1993; 72: 486.
22. Hashimoto H, Daimaru Y, Takeshita S, et al: Prognostic significance of histologic parameters of soft tissue sarcomas. Cancer 1992; 70: 2816.
23. Rosai J: Soft tissues. In Ackerman's Surgical Pathology. 8th ed. St Louis: Mosby, 1996; 2021-2135.
24. Chang AE, Sondak VK: Clinical evaluation and treatment of soft tissue tumors. In: Enzinger FM, Weiss SW, Eds. Soft Tissue Tumors. 3th ed. St. Louis: Mosby, 1995; 17-39.
25. Brooks JJ. Disorders of Soft Tissue. In: Sternberg SS Eds. Diagnostic Surgical Pathology. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994; 141-201.
26. Burns WA, Kanhauwand S, Tillman L, et al: Fibrosarcoma occurring at the site of a plastic vascular graft. Cancer 1972; 29: 66.
27. Ott G: Fremdkörpersarkome. Exp Med Pathol Klin 1970; 32: 1.

28. Fletcher CD: Soft tissue sarcomas apparently arising in chronic tropical ulcers. *Histopathol* 1987; 11: 501.
29. Hardell L, Sandstrom A: Case-control study: soft tissue sarcoma and exposure to phenoxyacetic acids or chlorophenols. *Br J Cancer* 1979; 39: 711.
30. Evans DM, Williams WJ, Jung IT: Angiosarcoma and hepatocellular carcinoma in vinyl chloride workers. *Histopathol* 1983; 7: 377.
31. Laskin WB, Silverman TA, Enzinger FM: Postirradiation soft tissue sarcomas: an analysis of 53 cases. *Cancer* 1991; 68: 524.
32. Wiklund TA, Blomqvist CP, Raty J, et al: Postirradiation sarcoma: analysis of a nationwide cancer registry material. *Cancer* 1991; 68: 524.
33. Chang Y, Cesarman E, Pessin M, et al: Identification of herpesvirus-like DNA-sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994; 266: 1865.
34. O'Connell P, Cawthon R, Xy GH, et al: The neurofibromatosis type I (NFI) gene: identification and partial characterization of a putative tumor suppressor gene. *J Dermatol* 1992; 19: 881.
35. Strong LC, Williams WR, Tainsky MA: The Li-Fraumeni syndrome: from clinical epidemiology to molecular genetics. *Am J Epidermal* 1992; 135: 190.
36. Moser RP, Madewell JE: Radiologic evaluation of soft tissue tumors. In: Enzinger FM, Weiss SW, Eds. *Soft Tissue Tumors*. 3th ed. St. Louis: Mosby, 1995; 39-89.
37. Zarbo RJ: DNA analysis of soft tissue tumors. In: Enzinger FM, Weiss SW, Eds. *Soft Tissue Tumors*. 3th ed. St. Louis: Mosby, 1995; 119-131.

38. Miettinen M: Immunohistochemistry of soft tissue tumors: possibilities and limitations in surgical pathology. *Pathol Annu* 1990; 23(part 1): 1.
39. Schmidt D, Harms D: The applicability of immunohistochemistry in the diagnosis and differential diagnosis of malignant soft tissue tumors. A reevaluation based on the material of the Kiel Pediatric Tumor Registry. *Klin Padiatr* 1990; 202: 224-229.
40. Miettinen M: Immunohistochemistry of solid tumors. Brief review of selected problems. *APMIS* 1990; 98: 191-199.
41. Kindblom L-G, Walaas L, Widehn S: Ultrastructural studies in the preoperative cytologic diagnosis of soft tissue tumors. *Semin Diagn Pathol* 1986; 3: 317-344.
42. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Neoplasia. In: *Pathologic Basis of Disease*. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders: 1994; 241-305.
43. Dervişoğlu S: Yumuşak doku tümörlerinde DNA analizi ve proliferasyon indeksinin tanıdaki yeri ve prognostik önemi. *Türk Patoloji Dergisi* 1996;2-1:66-67.
44. Zalupski MM, Ryan JR, Ensley JF, et al: Development and optimization of tissue preparative methodology for DNA content analysis of soft tissue neoplasms. *Cytometry* 1993; 14: 922-930.
45. Bauer HCF, Kreicbergs A, Tribukait B: DNA content prognostic in soft tissue sarcoma. 102 patients followed for 1-10 years. *Acta Orthop Scand* 1991; 62(3): 187-194.
46. Fletcher JA, Kozakewich HP, Hoffer FA, et al: Diagnostic relevance of clonal cytogenetic aberrations in malignant soft tissue tumors. *N Engl J Med* 1991; 324: 436.

47. Sandberg AA, Turc-Carel C, Gemmill RM: Chromosomes in solid tumors and beyond. *Cancer Res* 1988; 48: 1049.
48. Costa J, Wesley RA, Glatstein E, et al: The grading of soft tissue sarcomas. Results of a clinicohistopathologic correlation in a series of 163 cases. *Cancer* 1984; 53: 530-541.
49. Coindre JM, Trojani M, Contesso G, et al: Reproducibility of a histopathologic grading system for adult soft tissue sarcoma. *Cancer* 1986; 58: 306-309.
50. Leyvraz S, Costa J: Issues in the pathology of sarcomas of the soft tissue and bone. *Semin in Oncology* 1989; 16(4): 273-280.
51. Meltzer PS: Molecular Biology of soft tissue tumors. In: Enzinger FM, Weiss SW, Eds. *Soft Tissue Tumors*. 3th ed. St. Louis: Mosby, 1995; 89-105.
52. Andreassen A, Oyjord T, Hovig E, et al: p53 abnormalities in different subtypes of human sarcomas. *Cancer Res* 1993; 53: 468.
53. Soini Y, Vahakangas K, Nuorva K, et al: p53 immunohistochemistry in malignant fibrous histiocytomas and other mesenchymal tumours. *J Pathol* 1992; 168: 29.
54. Wunder JS, Czitrom AA, Kandel R, et al: Analysis of alterations in the retinoblastoma gene and tumor grade in bone and soft-tissue sarcomas. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 194.
55. Wilke W, Maillet M, Robinson R: H-ras-1 point mutations in soft tissue sarcomas. *Mod Pathol* 1993; 6: 129.
56. Simon R, Altman DG: Statistical aspects of prognostic factor studies in oncology. *Br J Cancer* 1994; 69: 979-985.

57. Mandard AM, Petiot JF, Marnay J, et al: Prognostic factors in soft tissue sarcomas. A multivariate analysis of 109 cases. *Cancer* 1989; 63: 1437-1451.

58. Tsujimoto M, Aozasa K, Ueda T, et al: Multivariate analysis for histologic prognostic factors in soft tissue sarcomas. *Cancer* 1988; 62: 994-998.

59. Singer S, Corson JM, Gonin R, et al: Prognostic factors predictive of survival and local recurrence for extremity soft tissue sarcoma. *Ann Surg* 1994; 219(2): 165-173.

60. Rööser B, Attewell R, Berg NO, et al: Prognostication in soft tissue sarcoma. A model with four risk factors. *Cancer* 1988; 61: 817-823.

61. Kulaçoğlu S: Yumuşak doku tümörlerinde histolojik tiplendirme ve histopatolojik prognostik parametreler. *Ankara Patoloji Bülteni* 1994; 11(2): 39-42.

62. Drobnjak M, Latres E, Pollack D, et al: Prognostic implications of p53 nuclear overexpression and high proliferation index of Ki-67 in adult soft-tissue sarcomas. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 549-554.

63. Hall PA, Levison DA: Review: Assessment of cell proliferation in histological material. *J Clin Pathol* 1990; 43: 184-192.

64. Amenta PS, Hernandez AM, Trelstad RL: Repair and regeneration. In: Damjanov I, Linder J, Eds. *Anderson's Pathology*. 10th ed. St. Louis: Mosby, 1996; 416-448.

65. DAKO A/S. Assessment of cell proliferation markers with particular emphasis on Ki-67 and PCNA. London, 1993.

66. Brown DC, Gatter KC: Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathol* 1990; 17: 489-503.

67. Garcia RL, Coltrera MD, Gown AM: Analysis of proliferative grade using Anti-PCNA/Cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. Comparison with flow cytometric analysis. *Am J Pathol* 1989; 134: 733-739.

68. Hall PA, Levison DA, Woods AL, et al: Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J. Pathol.* 1990; 162: 285-294.

69. Hall PA, Woods AL: Immunohistochemical markers of cellular proliferation: achievements, problems and prospects. *Cell Tissue Kinet* 1990; 23: 505-522.

70. McCormick D, Chong H, Hobbs C, et al: Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB1. *Histopathol* 1993; 22: 355-360.

71. Cattoretti G, Becker MHG, Key G, et al: Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB1 and MIB3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992; 168: 357-363.

72. Celis JE, Madsen P, Nielsen S, et al: Nuclear patterns of cyclin (PCNA) antigen distribution subdivide S-Phase in cultured cells- Some applications of PCNA antibodies. *Leukemia Research* 1986; 10(3): 237-249.

73. Bravo R, Frank R, Blundell PA, et al: Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase- δ . *Nature* 1987; 326: 515-520.

74. Prelich G, Tan CK, Kostura M, et al: Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase- δ auxiliary protein. *Nature* 1987; 326: 517-520.

75. Dreinhöfer KE, Akerman M, Willen H, et al: Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in high-grade malignant fibrous histiocytoma: prognostic value in 48 patients. *Int J Cancer* 1994; 59: 379-382.

76. Kroese MCS, Rutgers DH, Wils IS, et al: The relevance of the DNA index and proliferation rate in the grading of benign and malignant soft tissue tumors. *Cancer* 1990; 65: 1782-1990.

77. Ueda T, Aozasa K, Tsujimoto M, et al: Prognostic significance of Ki-67 reactivity in soft tissue sarcomas. *Cancer* 1989; 63: 1607-1611.

78. Sahin AA, Ro JY, El-Naggar AK, et al: Tumor proliferative fraction in solid malignant neoplasms. A comparative study of Ki-67 immunostaining and flow cytometric determinations. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 512-519.

79. Kroese MCS, Rutgers DH, Wils IS, et al: The relevance of the DNA index and proliferation rate in the grading of benign and malignant soft tissue tumors. *Cancer* 1990; 65: 1782-1788.

80. Robbins BA, de la Vega D, Ogata K, et al: Immunohistochemical detection of Proliferating Cell Nuclear Antigen in solid human malignancies. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 841-845.

81. Alvegard TA, Berg NO, Baldetorp B, et al: Cellular DNA content and prognosis of high-grade soft tissue sarcoma: the Scandinavian Sarcoma Group experience. *J Clin Oncol* 1990; 8: 538.

82. Cote RJ, Taylor CR: Immunohistochemistry and related marking techniques. In: Damjanov I, Linder J, Eds. *Anderson's Pathology*. 10th ed. St. Louis: Mosby, 1996; 136-176.

83. Rosai J: Special techniques in surgical pathology. In: *Ackerman's Surgical Pathology*. 8th ed. St Louis, Mosby, 1996; 29-63.

84. Swanson PE: Foundations of immunohistochemistry. A practical review. Am J Clin Pathol 1988; 90: 333-339.

85. Swanson PE, Hagen KA, Wick MR: Avidin- Biotin- Peroxidase- Antiperoxidase (ABPAP) complex. Am J Clin Pathol 1987; 88: 162-176.

86. Swanson SA, Brooks JJ: Proliferation markers Ki-67 and p105 in soft-tissue lesions. Correlation with DNA flow cytometric characteristics. Am J Pathol 1990; 137: 1491-1500.

