





T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ TIBBİ PATOLOJİ  
ANABİLİM DALI

**UTERUS VE UTERUS DIŞI LEİOMYOSARKOMLARIN  
AYIRICI TANISINDA İMMÜNİSTOKİMYASAL  
BELİRLEYİCİLERİN YERİ**

Dr. Deniz BAYÇELEBİ  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman  
Prof. Dr. Mehmet KEFELİ

SAMSUN-2019

## TEŞEKKÜR

Bugüne kadar eğitim ve öğrenim hayatımın ışığı olan, desteklerini hiç eksik etmeyen aileme, tez çalışmam ve asistanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm hocalarıma, arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarımıza teşekkürlerimi sunarım.



OCAK, 2019

Dr. Deniz BAYÇELEBİ

## ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı Soyadı</b>	Deniz BAYÇELEBİ
<b>Doğum Tarihi ve Yeri:</b>	01.08.1988, TRABZON
<b>Öğrenim Durumu</b>	Doktora

<b>Derece</b>	<b>Okul</b>	<b>Yıl</b>
İlk/Orta	Cudibey ilköğretim okulu (TRABZON)	1994-2001
Lise	Trabzon Fatih Sultan Mehmet Anadolu Lisesi	2001-2005
Lisans/Yüksek lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi	2006-2013
<b>Görevler:</b>		
<b>Görev Unvanı</b>	<b>Görev Yeri</b>	<b>Yıl</b>
Pratisyen hekim	Trabzon Araklı Bayram Halil Devlet Hastanesi	2013-2014
Araştırma Görevlisi	Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Araştırma görevlisi	2014-2016
Araştırma Görevlisi	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Araştırma görevlisi	2016-halen

## **BEYAN**

‘Uterus ve uterus dışı leiomyosarkomların ayırıcı tanısında immünohistokimyasal belirleyicilerin yeri’ başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlük makamından maddi destek aldığımı, başka bir çalışmadan kopya edilmediğini, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

## ÖZET

**Amaç:** Leiomyosarkomlar, uterus ve uterus dışı bölgelerde farklı davranışa sahip olabilirler. Yerleşim yerlerine göre tanı ölçütleri ve tedavi şekilleri farklılık gösterir. Bu nedenle LMS'lerin primer alanını belirlemek oldukça önemlidir. Çalışmamızda bir dizi antikor paneli kullanılarak uterus ve uterus dışı yerleşimli leiomyosarkomların kökenini belirlemek hedeflenmiştir.

**Gereç ve yöntem:** 2006-2018 yılları arasında uterus ve uterus dışı yerleşimli leiomyosarkom tanısı almış, tüm olgular çalışmaya dahil edildi. Tümörü en iyi temsil eden dokulardan alınan örneklerden 'doku mikroarray yöntemi' ile hazırlanan bloklara östrojen ve progesteron reseptörü, WT-1, p16, p53, PAX8, CD117, PTEN, fascin, EMMPRIN, kalponin, c-erb-B2, c-myc, MDM2, FOXM1, siklin D1, CDK4, bcl-2, SMA, desmin, kaldesmon ile bölümümüzde immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Yirmi bir adet immünohistokimyasal belirteç ile uterus ve uterus dışı LMS'lerdeki boyanma sonuçları arasındaki farkların anlamlılığı, ki-kare testi ile karşılaştırıldı.  $P < 0,05$  değeri anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Uterus ve uterus dışındaki leiomyosarkom olgularının östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, desmin, EMMPRIN, kaldesmon, c-myc, siklin D1, PTEN ile boyanmasında izlenen fark anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ). Benzer kıyaslama kalponin, SMA, fascin, FOXM1, CD117, bcl-2, p16, p53, WT-1, CDK4, c-erb-B2, PAX8, MDM2 ile yapıldığında boyanma farkı anlamlı bulunmadı.

**Tartışma ve Sonuç:** Leiomyosarkom olgularında tümörün primer odağı araştırılırken östrojen ve progesteron reseptörü, desmin, EMMPRIN, kaldesmon, c-myc, siklin D1, PTEN antikorlarının yardımcı olabileceği sonucuna varıldı.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER:** Leiomyosarkom, uterus, uterus dışı, immünohistokimya

## İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

**Objective:** Leiomyosarcoma may have different behavior in the uterus and extrauterine regions. Diagnostic criteria and treatment patterns differ according to the settlements. Therefore, it is very important to determine the primer of leiomyosarcoma. In our study, we aimed to determine the origin of the uterus and non-uterine leiomyosarcomas using a series of antibody panels.

**Materials and methods:** All the uterine and extrauterin leiomyosarcoma cases which were diagnosed between 2006-2018 were included in this study. Specimens taken from tissues that represent the best tumor tissue prepared by the microarray method of estrogen and progesterone receptor, WT-1, p16, p53, PAX8, CD117, PTEN, fascin, EMMPRIN, calponin, c-erb-B2, c-myc, MDM2 , FOXM1, cyclin D1, CDK4, bcl-2, SMA, desmin, kaldesmon immunohistochemical study was performed in our department. The staining of twenty-one immunohistochemical markers in uterine and extrauterine leiomyosarcoma were compared with the chi-square test.  $P < 0,05$  was considered significant.

**Results:** The difference observed in the staining of uterine and extrauterin leiomyosarcoma with estrogen receptor, progesterone receptor, desmin, EMMPRIN, kaldesmon, c-myc, siklin D1 and PTEN was significant ( $p < 0,05$ ). Similar comparison was found to be not significant when staining with calponin, SMA, fascin, FOXM1, CD117, bcl-2, p16, p53, WT-1, CDK4, c-erb-B2, PAX8, MDM2.

**Conclusions:** It was concluded that estrogen receptor, progesterone receptor, desmin, EMMPRIN, kaldesmon, c-myc, cyclin D1 and PTEN antibodies may be helpful to research the primer focus of tumour.

**KEYWORD:** Leiomyosarcoma, uterine, extrauterine, immunohistochemistry

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
ÖZGEÇMİŞ.....	ii
BEYAN.....	iii
ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vii
TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Embriyoloji .....	2
2.2. Histoloji .....	2
2.3. Düz Kas Tümörleri .....	3
2.3.1. Leiomyom .....	4
2.3.2. Malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (STUMP) .....	8
2.3.3. Leiomyosarkom.....	9
2.3.4. Yumuşak dokularda LMS ve leiomyom .....	16
2.3.5. Araştırmada kullanılan belirleyiciler ile ilgili genel bilgiler.....	18
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
3.1.Araştırma Olgularının Belirlenmesi ve Hazırlanması .....	25
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem .....	25
3.3. İstatistiksel Yöntem .....	26
4. BULGULAR .....	34
5. TARTIŞMA .....	45
6. SONUÇLAR .....	54
7. KAYNAKLAR .....	56



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BT	: Bilgisayarlı tomografi
CDK4	: Siklin bağımlı kinaz-4
EMA	: Epitelyal membran antijen
EMMPRIN	: Extracellular matrix metalloproteinase inducer
FOXM1	: Forkhead box protein M1
LMS	: Leiomyosarkom
MDM2	: Murine double minute 2
MR	: Manyetik rezonans
ORR	: Objektif cevap oranı (objective response ratio)
SMA	: Smooth muscle actin
STUMP	: Malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (uterine smooth muscle tumors of uncertain malignant potential)
UD-LMS	: Uterus dışı leiomyosarkom
U-LMS	: Uterin leiomyosarkom
18-FDG-PET	: 18F-florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi

## TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ

### TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Uterusun düz kas tümörlerinin sınıflaması (WHO 2014) .....	4
<b>Tablo 2.</b> Tipik iğsi hücreli düz kas tümörlerinin histolojik özelliklerine göre sınıflandırılması .....	12
<b>Tablo 3.</b> Malign ve benign düz kas tümörlerinde nekroz görünümünün karşılaştırılması .....	14
<b>Tablo 4.</b> FNCLCC derecelendirme sistemindeki histolojik parametreler .....	17
<b>Tablo 5.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının ÖR ile boyanma durumu .....	34
<b>Tablo 6.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının ÖR ile boyanma durumu .....	34
<b>Tablo 7.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının PR ile boyanma durumu.....	35
<b>Tablo 8.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının PR ile boyanma durumu .....	35
<b>Tablo 9.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının WT-1 ile boyanma durumu .....	36
<b>Tablo 10.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının EMMPRIN ile boyanma durumu.....	36
<b>Tablo 11.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının EMMPRIN ile boyanma durumu.....	36
<b>Tablo 12.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının kaldesmon ile boyanma durumu .....	37
<b>Tablo 13.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının kaldesmon ile boyanma durumu.....	37
<b>Tablo 14.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının SMA ile boyanma durumu.....	38
<b>Tablo 15.</b> U-LMS, ve UD-LMS olgularının desmin ile boyanma durumu .....	38
<b>Tablo 16.</b> U-LMS , kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının desmin ile boyanma durumu .....	38
<b>Tablo 17.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının kalponin ile boyanma durumu .....	39
<b>Tablo 18.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının c-myc ile boyanma durumu.....	39
<b>Tablo 19.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının c-myc ile boyanma durumu .....	40
<b>Tablo 20.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının PTEN ile boyanma durumu .....	40
<b>Tablo 21.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının PTEN ile boyanma durumu .....	41
<b>Tablo 22.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının bcl-2 ile boyanma durumu .....	41
<b>Tablo 23.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının p53 ile boyanma durumu .....	41
<b>Tablo 24.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının p16 ile boyanma durumu .....	42
<b>Tablo 25.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının FOXM1 ile boyanma durumu .....	42
<b>Tablo 26.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının siklin D1 ile boyanma durumu.....	43
<b>Tablo 27.</b> U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının siklin D1 ile boyanma durumu .....	43
<b>Tablo 28.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının CDK4 ile boyanma durumu .....	43
<b>Tablo 29.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının CD117 ile boyanma durumu .....	44
<b>Tablo 30.</b> U-LMS ve UD-LMS olgularının fascin ile boyanma durumu .....	44

## **ŞEKİLLER LİSTESİ**

<b>Şekil 1.</b> Nekroz içeren U-LMS ve UD-LMS olguları (H&E, x400).....	27
<b>Şekil 2.</b> U-LMS olgusunda ÖR ile fokal, PR ile diffüz boyanma (DAB, x400) .....	27
<b>Şekil 3.</b> UD-LMS olgusunda negatif WT1 ve U-LMS olgusunda nükleer/sitoplazmik pozitif WT1 boyanması (DAB, x400).....	28
<b>Şekil 4.</b> UD-LMS olgusunda kaldesmon ile diffüz boyanma (DAB, x400).....	28
<b>Şekil 5.</b> U-LMS olgusunda EMMPRIN ile diffüz boyanma (DAB, x400) .....	29
<b>Şekil 6.</b> UD-LMS olgusunda desmin ile diffüz boyanma (DAB, x400).....	29
<b>Şekil 7.</b> UD-LMS olgusunda siklin D1 ile diffüz boyanma (DAB, x400) .....	30
<b>Şekil 8.</b> U-LMS olgusunda bcl-2 ile diffüz boyanma (DAB, x400).....	30
<b>Şekil 9.</b> UD-LMS olgusunda SMA ile diffüz boyanma (DAB, x400).....	31
<b>Şekil 10.</b> UD-LMS olgusunda PTEN ile diffüz boyanma (DAB, x400).....	31
<b>Şekil 11.</b> UD-LMS olgusunda p53 ile mutant boyanma (DAB, x400).....	32
<b>Şekil 12.</b> U-LMS olgusunda tümörde negatif, mast hücrelerinde pozitif CD117 boyanması (DAB, x400) .....	32
<b>Şekil 13.</b> U-LMS olgusunda CDK4 boyanması (DAB, x400).....	33
<b>Şekil 14.</b> U-LMS olgusunda c-myc boyanması (DAB, x400).....	33

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Leiomyosarkom(LMS)'ler tüm sarkomların % 25'ini temsil etmektedir (1, 2). Uterus sarkomlarının ise en sık görülenidir (3).

LMS'nin önemli bir kısmı uterustan kaynaklanır. Bunun dışında sıklıkla büyük kan damarlarında, karın ve retroperitoneal yumuşak doku alanlarında veya visseral bölgelerde oluşabilir. Uterin ve uterus dışı bölgelerde LMS'ler farklı davranışa sahip olabilirler. Retroperitonda ve derin yumuşak doku yerleşimli tümörler semptom vermeden büyük boyutlara ulaşabilirler. Cilt altı yerleşimli olanlar erken tanı alır ve neredeyse hiç metastaz yapmazken, vasküler yapılardan köken alanlar genellikle agresif davranışa sahiptir (4).

LMS'ler uterus ve uterus dışı bölgelerden kaynaklanıp kaynaklanmadıklarına bağlı olarak farklı tanı ölçütlerine sahiptir ve farklı şekillerde tedavi edilir. Bu nedenle düz kas tümörlerinin primer bölgesini belirlemek oldukça önemlidir (5).

LMS'nin oldukça heterojen genomik altyapısında TP53, RB, ATRX, PTEN ve MED12'de mutasyonlar ve silinmeler bildirilmiştir (6). Henüz bu tümörlerin kaynağını belirleyecek moleküler alt tiplendirme netleştirilememiştir ve ayırım kısmen klinik uzlaşmaya dayanmaktadır (1).

Geleneksel kemoterapi ve radyasyon tedavisi sadece sınırlı etkilere sahiptir ve cerrahi rezeksiyon tedavi için en iyi seçenek olmaya devam etmektedir (1).

Bu çalışmada, LMS'lerin kökenini belirlemek için yardımcı olabilecek belirteçleri değerlendirmek amacıyla östrojen reseptörü (ÖR), progesteron reseptörü (PR), WT-1, p16, p53, PAX8, c-kit (CD117), PTEN, fascin, EMMPRIN, kalponin, c-erbB2, c-myc, MDM2, FOXM1, siklin D1, CDK4, bcl-2, SMA, desmin, kaldesmon içeren bir dizi antikor paneli kullandık.

## 2. GENEL BİLGİLER

Yumuşak doku sarkomları tüm malignensilerin %1'ini oluşturan mezenkimal orjinli tümörlerdendir. Düz kas farklılaşması gösteren sarkomlar tüm yumuşak doku sarkomlarının %25'ini oluşturmaktadır (7).

Düz kas tümörleri, uterusun en sık görülen mezenkimal tümörleridir. Uterin düz kas tümörlerinin çoğunluğu, makroskopik ve mikroskopik görünümüne göre iyi huylu veya kötü huylu olarak kolayca sınıflandırılabilir (3).

Cilt, subkutan doku, derin yumuşak dokular yanısıra pelvis, retroperiton, ekstremiteler, erkek ve kadın genital sistemi ve diğer iç organlarda oluşabilir. Davranış ve malignite kriterleri primer yerleşim yeri ile ilişkilidir (8).

Sıradışı özellikleri olan bazı leiomyom varyantlarında LMS ile ayırıcı tanı yapmak zor olabilir. Uterus içinde yerleşen, düz kas kökenli olmayan uterus tümörleri, histolojik ve hatta immünohistokimyasal özellikleri bakımından uterus düz kas tümörleri ile, daha yaygın olarak da iğsi ve epitelooid varyant uterus düz kas tümörleri ile örtüşerek, doğru sınıflandırılmalarını komplike hale getirebilirler. Malign uterin düz kas tümörlerinin tanısı, önemli prognostik ve terapötik etkiye sahiptir (3).

### 2.1. Embriyoloji

Uterus, yaklaşık 40. günde paramezonefrik kanalların (mülleriyan kanallar) kaudalde birleşmesiyle oluşan uterovajinal primordiumdan gelişir. Mezonefrik kanalların sefalik ucunda orta mezodermin lateral kenarındaki çölemik epitelde invaginasyonlar meydana gelir. Kanallar başlangıçta hücre kortları halindedir ve kaudale doğru mezonefrik kanallarla birlikte uzanırlar. İki mülleriyan kanalın kaynaşma yerindeki septum zamanla kaybolur ve tek lümen haline döner. Ürorektal septumla kaudalde birleşirler. Uterin korpus; seroza, myometrium ve endometrium tabakalarından oluşur. Gebeliğin 10. haftasında endometriumda bezler meydana gelmeye başlar. Myometrium çevre mezenkimden gelişmeye başlar (9).

### 2.2. Histoloji

Korpus uteri histolojik olarak içten dışa endometrium, myometrium, seroza tabakaları olmak üzere üç tabakadan oluşur. Endometrium, stratum bazale ve stratum fonksiyonale tabakalarından oluşur. Stratum bazaledeki glandüler hücreler progesteron etkisine yanıt vermez ve sürekli proliferatif karakterdedir. Stratum

fonksiyonaledeki glandüler hücreler hem östrojen hem de progesterona iyi yanıt verir (34).

Myometrium, düz kas liflerinden, kan ve lenf damarlarından oluşur. Myometriumun 1/3 iç tabakası olan subendometrial tabaka, endometriyumun stratum bazale tabakasına paralel yerleşimli yoğun düz kas liflerinden oluşurken, kan ve lenf damarlarından zengin orta tabakanın dışında ise rastgele yerleşmiş daha gevşek düz kas lifleri içeren dış tabaka yer almaktadır (10, 11) .

### **2.3. Düz Kas Tümörleri**

Düz kas tümörleri mikroskopik olarak eozinofilik, ince fibriler sitoplazma ve künt uçlu nükleusları ve bazen paranükleer vakuolleri olan, paralel dizilimli işçi hücreler ile karakterlidir. Paranükleer vakuoller işçi hücrelerin transvers kesitlerinde daha belirgindir. Hücreler tipik olarak birbirine dik açılı yerleşen demetler halinde düzenlenmiştir, nükleer palizatlanma görülebilir. Miksoid değişiklik, fibrozis ve osteoklast benzeri dev hücre içeren stromaya sahip olabilirler. Genişleme, düzensiz şekil ve tek düze hiperkromazi ile karakterize ‘dejeneratif’ nükleer değişiklikler düz kas tümörlerinin göreceli olarak yaygın bir özelliğidir. Bu özellik mitotik aktivite olmadan görülebileceği gibi, düşük dereceli LMS’lerde düşük düzeyde mitotik aktivite ile birlikte görülebilir. Daha yüksek dereceli LMS’lerde, nükleolusu belirgin nükleuslar, daha sık ve anormal mitozlar yanısıra nekroz daha belirgindir (8).

Düz kas tümörleri genellikle SMA (smooth muscle actin), kalponin için diffüz; desmin ve kaldesmon için en azından fokal pozitifdir. Bazı düz kas tümörleri ek olarak epitelyal belirteçler (sitokeratini sıklıkla nokta benzeri paternde ve EMA) ve S100 proteini ekspresse ederler. LMS’ler nadiren CD34 pozitifdir, ancak CD117 ve DOG1 negatifdir. Bu özellikle gastrointestinal stromal tümörlerden ayrılır. Birçok düz kas tümörü özellikle kadınlarda östrojen ve progesteron reseptörü için pozitiflik gösterir. Kadın genital sistemindeki bir alt grup, özellikle de epiteloïd morfolojide olanlar HMB45 ekspresse ederler (8).

**Tablo 1.** Uterusun düz kas tümörlerinin sınıflaması (WHO 2014)

<u>Leiomyom</u> <i>Leiomyom Varyantları:</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Sellüler</li><li>• Mitotik aktif</li><li>• Epiteloid</li><li>• Miksoid</li><li>• Bizar (Simplastik, Pleomorfik)</li><li>• Lipoleiomyom</li><li>• Apopleptik</li><li>• Hidropik</li><li>• Kotiledonoid</li><li>• İntravenöz Leiomyomatozis</li><li>• Diffuz Leiomyomatozis</li><li>• Benign Metastaz Yapan Leiomyom</li></ul>	<u>Malignite Potansiyeli Belirsiz</u> <u>Düz Kas Tümörü (STUMP)</u>
	<u>Leiomyosarkom</u> <ul style="list-style-type: none"><li>• İğsi</li><li>• Epiteloid</li><li>• Miksoid</li></ul>

### 2.3.1. Leiomyom

#### 2.3.1.1. Epidemiyoloji

Genellikle 40-50 yaş arasındaki kadınları etkileyen, değişken morfolojilerde iyi huylu bir düz kas tümörü olup, en sık gözlenen uterin tümördür. Ailesel leiomyomatozis ve renal kanser sendromu olan olgularda daha genç yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Metastaz yapan leiomyomlar genellikle daha önce myom nedeniyle histerektomi yapılan hastalarda görülmektedir (12).

#### 2.3.1.2. Klinik

Çoğu hasta asemptomatiktir. Hastaların 1/3'ü menoraji ve pelvik ağrı şikâyeti ile başvururlar. Abdominal semptomlar (hemoraji vb.) genellikle progesteron tedavisi alanlarda veya hamilelerde görülür. Semptomlar tümörün sayısı, boyutu ve yerleşimi ile ilişkilidir. Nadiren intravenöz leiomyomlar kardiyovasküler problemler ortaya çıkarabilir. Benign metastaz yapan leiomyom histerektomi sonrası ortalama 15 yıl içerisinde ortaya çıkar. Akciğerler en sık görülen uterus dışı yerleşim

bölgesidir. Asit, eritrositozis, leiomyomatozisle birlikte peritoneal yayılım diğer nadir bulguları arasındadır (12).

#### 2.3.1.3. Makroskopi

Leiomyomlar tipik olarak çoklu görülmekle birlikte, iyi sınırlı, kapsülsüz, kesit yüzü ten rengi-beyaz renkte, girdapımsı görünümündedir. İntramural, submukozal, subserozal gelişim gösterebilirler. İntramural leiomyomlar en yaygın olanlardır. Submukozal ve subserozal olanlar polipoid veya pedinküle gelişip torsiyone olur ya da pedinkül nekrozu ile leiomyom myometrium ile ilişkisini kaybederek, servikse doğup parazitik leiomyom oluşturabilir (12).

Bazı tümörler yüksek sellülaritede, epiteloid ve yumuşaktırlar. Bir kısım sellüler tümörler yağ dokusu içerebilir (lipoleiomyom) ve bu alanlar sarı renkte izlenir. Özellikle miksoid, ödemli ve büyük boyuttaki tümörlerde infarkt, hemoraji ve kistik değişiklikler sıktır. Gebelerde kırmızı dejenerasyon görülebilir. Progesteron tedavisi hemorajik infarkt alanlarını indükleyebilir. Hidropik değişiklikler içeren serozada bül benzeri çıkıntı oluşturabilir. İntravenöz leiomyomatozis myometriyal ve broad ligament venlerinden solucan benzeri uzanımlar gösteren şekildedir (12).

#### 2.3.1.4. Histopatoloji

Leiomyomların çoğu iyi sınırlı, çaprazlaşan fasiküller içinde düzenlenmiş işçi hücrelerden oluşmaktadır. Hücreler belirsiz sınırlı, sigara benzeri nükleuslu, küçük nükleollü, eozinofilik fibriler sitoplazmalıdır. Nadiren nükleer palizatlanma ve kalsifikasyon görülebilir. Kollajen depozisyonu belirgin hyalinizasyon ile sonuçlanabilir. İnfarkt tipi nekroz; canlı ve cansız tümör arasındaki, hemoraji veya fibrozis ile ilişkili olan veya olmayan, granülasyon dokusu içeren bir bandın varlığı olarak tanımlanmıştır. Nonvital alanlar mum benzeri görünüme sahiptir. İnfarktın erken evrelerinde piknotik nükleus ve eozinofilik sitoplazmaya sahip tek veya grup halinde apoptotik hücreler gözlenir.

Bir leiomyomun görünümü genellikle dejeneratif değişikliklerle şekillenir. Submukozal leiomyomlar sıklıkla ülser ve hemorajiktir. Hasarlı düz kas, sonunda beyaz veya saydam kollajen doku ile değiştirilir. Kistik dejenerasyon da meydana gelebilir.

##### 2.3.1.4.1. Sellüler leiomyom

Myometriumla kıyaslandığında belirgin hücre artışının izlenmesi,



endometrial stromal tümörü taklit edebilir. Çevresi düzensiz ve çevredeki myometriyumla birleşen görünümündedir. Hücreler genellikle merkezde diffüz, periferde fasiküler tarzda düzenlenir. Kalın damarlı duvarlar ve yarık benzeri boşluklar sıklıkla gözlenir. Nükleer atipi yoktur ve mitoz nadirdir (12).

#### 2.3.1.4.2. Bizar nükleuslu leiomyom

Daha önce atipik leiomyom olarak nitelendirilen bu tümör diffüz, fokal veya multifokal olarak dağılmış bizar hücreler içerir. Bizar hücreler multilobe veya çok sayıda hiperkromatik nükleus içerir, intranükleer sitoplazmik psödoinklüzyonlar görülebilir. Mitotik aktivite tipik olarak düşüktür ama atipik mitotik figürlere benzeyen karyorektik nükleuslar görülebilir. Tümör hücre nekrozu yoktur, ancak infarkt tipi nekroz görülebilir (12, 13) .

#### 2.3.1.4.3. Mitotik aktif leiomyom

Tümör hücre nekrozu ve sitolojik atipi içermeden 10 büyük büyütme alanında 10'un üzerinde mitoz içerir. Bu tümör genellikle reproduktif yaş grubunda, bazen hormonoterapi ile ilişkili ve sıklıkla submukozal görülmektedir. Hipersellülarite ve fokal bizar nükleer değişiklikler görülebilir, bu nedenle LMS'den ayrılmalıdır (12).

#### 2.3.1.4.4. Hidropik leiomyom

Bu varyant belirgin zonal ve ödematöz görünümle karakterlidir. Ödem ve hyalinizasyon, ince kordlar şeklinde büyüyen tümör hücreleri ile sonuçlanabilir. Sıklıkla vasküler olup, hidropik değişiklikler belirginse, karakteristik nodülerite görülebilir (12).

#### 2.3.1.4.5. Apoplektik değişiklikler içeren leiomyom

Progestasyonel terapi tipik olarak 'apoplektik' değişikliklerle karakterizedir. Artmış mitotik aktivite ve bazen mikroid değişiklikler ile ilişkili hipersellüler alanlarla çevrili, hemorajik infarkt alanları ile karakterize değişiklikler olarak tanımlanır (12).

#### 2.3.1.4.6. Lipoleiomyom

Tek tek veya grup halinde adipozitlerle karışık halde düz kas komponenti ile karakterlidir. Tümörlerin bir kısmı kondroid görünümündedir ve hibernoma benzerler. Kemik, kırık, iskelet kası, hematopoetik veya lenfoid hücreler gibi heterolog elementler nadiren leiomyomlarda bulunabilir (12).

#### 2.3.1.4.7. Epiteloid leiomyom

Epitel benzeri yuvarlak veya poligonal hücrelerden oluşmaktadır. Kordonlar, tabakalar, trabeküller ve gruplar şeklinde düzenlenmiş, şeffaf veya eozinofilik sitoplazmalı hücreler içermektedir. Ağ benzeri gelişim gösteren ve boyutu 1cm'nin altındaki tümörler 'pleksiform tumourlet' olarak adlandırılabilir (12).

#### 2.3.1.4.8. Miksoid leiomyom

Miksoid stroma ile ayrılmış, atipi içermeyen hiposellüler tümörlerdir. Mitoz yok ya da nadir görülmekle birlikte infiltratif görünüm sergilemezler (12).

#### 2.3.1.4.9. Kotiledonoid leiomyom

Düzensiz olarak birbirinden ayrılan düz kas hücre demetlerinden oluşur. Uterus dışına uzanım gösterebilir ve belirgin hidropik değişiklik içerebilir. Hücreler oldukça sakin olup, nadir mitoz içerirler (12).

#### 2.3.1.4.10. İntravenöz leiomyomatozis

Bir leiomyomun, sınırları dışındaki damar boşlukları içinde veya damar duvarına yapışık lümen içinde, serbest yüzen benign düz kas varlığı ile tanımlanır. Tümör oldukça vaskularize ve genellikle hidropiktir ancak nadiren diğer leiomyom varyantlarına benzer görünüme de sahip olabilir. Çok az bir kısmı, kan dolu kistik boşluklar ve küçük bir bileşen halinde endometrial glandlar içerebilir (12, 14).

#### 2.3.1.4.11. Diffüz leiomyomatozis

Birbiriyle ve myometrial düz kas lifleriyle belirsiz sınırlı birleşme eğiliminde çok sayıda hipersellüler tümör nodülleri halindedir. Tümör hücreleri atipi içermezler (12).

#### 2.3.1.4.12. Metastaz yapan leiomyom

Uterin leiomyom öyküsü olan kadınlarda, akciğer, lenf nodu veya nadiren diğer bölgelerde tipik leiomyomun görüldüğü durumlardır. Akciğerdeki lezyon içerisinde tuzaklanmış bronşioalveoler epitel görülür. Ovaryan hormonların, özellikle östrojenin, durması ile birlikte, leiomyomların genellikle gelişmesini durdurduğu ortaya konmuştur (12, 14).

#### 2.3.1.4.13. Leiomyomatozis ve renal kanser sendromu

Fumarat hidrataz genindeki germline mutasyon ile ilişkili otozomal dominant bir bozukluktur. Sıklıkla hemanjioperisitoma benzeri damarlar içeren, artmış sellülaritede, belirgin nükleol içeren atipik ve multinükleer nükleuslu, şeffaf halo ile çevrili düz kas hücrelerinden oluşan çoklu leiomyomlardır (12).

#### 2.3.1.5. İmmünohistokimya

Desmin, kalsesmon, SMA, ER, PR, WT-1 ve oksitosin reseptörü immünreaktifler. Sellüler leiomyomların %40'ında CD10 ekspresyonu gözlenir. Bizar nükleuslu leiomyomlarda genellikle p53 ve p16 pozitifliği görülür ancak bu belirteçler LMS'den ayırırda yardımcı değildir (12).

#### 2.3.1.6. Genetik

Leiomyomların yaklaşık %40'ı kromozom 6'nın kısa kolunda ve kromozom 7'nin uzun kolunda kromozomal sapmalar içerir. Ayrıca bizar nükleuslu leiomyomda nadir olmak üzere leiomyomların bir kısmında MED12 mutasyonları sıklıkla görülür (12).

#### 2.3.1.7. Prognoz ve prediktif faktörler

Bazı varyantlarında sınırlı tercübeye sahip olunmasına karşın konvansiyonel leiomyom ve varyantları benign seyre sahiptir. İntravenöz leiomyomların %5'den azı histerektomi sonrası 15 yıla kadar nüks edebilir. Metastaz yapan leiomyomlu hastalar sakın bir kliniğe sahipken, tümör sinsice büyüyebilir ve akciğerde solunum yetmezliği gibi sonuçlar doğurabilir. Epiteloid leiomyomlar benign seyir gösterirken, düşük mitotik aktivite ve atipi ile lokal rekürrens gösterebilirler (12).

### 2.3.2. Malignite potansiyeli belirsiz düz kas tümörü (STUMP)

LMS'nin kesin tanı kriterlerini taşımayan, ancak leiomyom ya da varyantlarının kriterlerini de karşılayamayan ve neoplazmın malign bir şekilde davranabileceği endişesini artıran özelliklere sahip bir tümördür. Kesin olarak benign veya malign olarak tanı verilememesinin nedeni, tümörün özelliklerinin kombinasyonu ile ilgilidir. Örneğin, mitotik indeks her zamanki leiomyomdan daha yüksek, ancak LMS'lerin çoğundan daha düşük olduğunda veya nekroz tipi kesin olarak belirlenemediğinde veya epiteloid, miksoid değişim gibi başka sorunlu bulgular olduğunda kesin tanı verilemeyebilir. İmmünohistokimyasal çalışmalar bu ayrımı yapmak için yararsızdır. Bu tür tümörlerin nüks etme sıklığı, gösterilen çeşitli histolojik özelliklere dayanarak nispeten düşüktür. Bu tümörlerin büyük çoğunluğu tekrarlamadığı için, bazı patologlar tanıdaki malignite terimini kullanmak

istememektedir (12). STUMP'ların çoğu benign seyre sahiptir. Ancak bir kısmında nüks olabilmesi nedeniyle yakın takibi gereklidir (15).

### **2.3.3. Leiomyosarkom**

#### **2.3.3.1. Tanımlama ve prognostik faktörler:**

Uterin LMS'ler, uterus malignensilerinin %1-2'sini oluşturan, uterus sarkomlarının en sık görülen alt tipidir (3, 12, 16). Bu hastalık leiomyomlardan daha geç yaşta, genellikle menapoz sonrası ve 50 yaş üzeri kadınlarda yaygındır (2). Meme kanseri nedeniyle tamoksifen kullanımı olan kadınlarda insidansı artmıştır (16). Herediter retinoblastom ve pelvik radyasyon öyküsü, uzun dönem sağkalımda risk faktörü olarak kabul edilmiştir (17-19). Uterin düz kas hücrelerinin LMS'ye dönüşmesini etkileyen faktörler bilinmemekle birlikte, ovaryan steroidlerin bu süreç üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür (20). Oral kontraseptif kullanımı gibi hormonal durum değişiklikleri, LMS gelişimi ile ilişkilendirilmemiştir (17). Aslında benign myomlarla sarkomların birbirlerinden bağımsız geliştiği düşünülmele beraber uterin leiomyomların %0,13-0,83'ünde sarkomatöz değişim olduğu belirtilmektedir (18, 19). Menopoz durumunun prognoza anlamlı etkisi olduğu ve premenopozlu hastalarda prognozun daha iyi olduğu saptanmıştır (16). Birçok çalışmada düşük mitoz sayısının iyi prognostik faktör olduğu tespit edilmiştir. Kempson ve Bari'nin ve Dinh'in çalışmalarında 5'ten fazla mitoz varlığında metastatik yayılım olduğu, prognozun kötü etkilendiği belirtilmiştir (21, 22). Tanı anındaki evrenin prognozu etkilediği bilinmektedir. Erken evre olgularda sağkalım oranı daha iyidir.

#### **2.3.3.2. Klinik:**

En yaygın semptom anormal vajinal kanama (%56), ele gelen kitle (%54) ve pelvik ağrıdır (12). Nadiren, tümörün rüptürü, uterus dışına genişlemesi veya metastazlara bağlı hemoperitoneum şeklinde ortaya çıkabilir (3). Semptomlar ve bulgular leiomyomda görülenlerle büyük ölçüde örtüşürken, hormonal replasman tedavisi almayan menopozal kadınlarda tümör büyümesi tespit edildiğinde malignite şüphesi olmalıdır (12). Lokal ve bölgesel yayılım yanısıra hematojen yayılım en sık akciğerlere görülmüştür (12).

#### **2.3.3.3. Görüntüleme özellikleri:**

T1 ağırlıklı görüntülerde orta derecede sinyal yoğunluğuna ve T2 ağırlıklı

görüntülerde hiperintens sinyal yoğunluğuna sahip heterojen lobüle kitleler olarak görüldükleri için Manyetik rezonans (MR) görüntüleme, potansiyel tanısal anlamlıdır. Dağınık odaklar halinde hemoraji veya nekroz saptanması, LMS'de tanısal olmasına karşın, bu patern aynı zamanda dejeneratif leiomyomda da görülebilmektedir. Bilgisayarlı tomografi (BT) ve 18F-florodeoksiglukoz (FDG) pozitron emisyon tomografisi (PET) ek görüntüleme yöntemleridir. 18FDG-PET/ BT ve MR görüntüleme, tedavi sonrası hastalarda rekürrens saptanması için doğru, duyarlı ve spesifik yöntemlerdir (17) .

#### 2.3.3.4. Tanı:

Tümörlerin 2/3'ü intramural, 1/5'i submukozal, 1/10'u subserozal ve sadece %5'i ise serviks yerleşimlidir (12). Kesit yüzü yumuşak, kanamalı, düzensiz, gri sarı veya pembe renkte ve nekrotik görünümündedir. Bazı miksoid tümörler aldatıcı bir şekilde düzgün sınırlı olabilirler (12). İğsi, epiteloid ve miksoid görünümde olabilir (12).

İğsi hücreli LMS hücresel olarak yüksek dereceli ve eozinofilik sitoplazmalı iğsi veya pleomorfik hücrelerin fasiküler tarzda yerleşiminden oluşmaktadır. Kabul edilmiş belli bir derecelendirme olmamakla birlikte, faydası da tartışmalıdır. Multinükleer hücreler olguların %50'sinde görülebilirken, osteoklast benzeri hücreler nadirdir. Mitotik indeks yüksektir. Atipi ve mitoz LMS tanısı için şarttır. Vasküler invazyon %10-20 arasında görülmektedir ve bu olgularda infiltratif zon mevcuttur (12).

Epiteloid LMS eozinofilik, yuvarlak, poligonal şekilli olup, nadiren şeffaf sitoplazmalı olabilir. Mitotik indeks genellikle 10 büyük büyütme alanında 3'den büyüktür (12) . Bu LMS tipinde nekroz ve atipi olsun ya da olmasın 5'in üzerinde mitoz malignite tanısı koydurur (2).

Miksoid LMS miksoid bir stromada düzensiz myometrial ve vasküler invazyon gösterebilir (12) . LMS'lerde bulunan miksoid alanları, dejenere olan leiomyomlarda görülen hidropik değişikliklerden ayırmak önemlidir (12). Nekroz ve atipi olsun ya da olmasın 10 büyük büyütme alanında 2'nin üzerinde mitoz malignite tanısı koydurur. Diğer bir önemli tanı koydurucu bulgu ise myometriyal infiltrasyondur (2).

LMS'lerin histolojik tanıları oldukça tartışmalıdır. Özellikle 'sellüler

leiomyom' olmak üzere benign leiomyomların alt tiplerinden ayrımı oldukça zor olmaktadır. Çoğunlukla mitoz sayısı temel alınarak bu ayrım yapılabilmektedir. Genellikle her 10 büyük büyütme alanında 5'den az mitoz varlığı benign olarak kabul edilmektedir. 5-10 arasında mitoz varlığında ise sitolojik atipi ve tümör hücre nekroz varlığına bakılmaktadır. Taylor ve Norris, mitoz sayısı 5-9 olan 73 hastayı takip ettikleri çalışmalarında bunların çoğunluğunun sadece myomektomi ile tedavi olduklarını ve metastatik potansiyelleri çok az olduğundan, sarkom olarak kabul etmenin yanlış olacağını belirtmişlerdir. Bu bulgulara dayanarak 1-4 arası mitoz varsa, atipi bile olsa tanının benign olması gerektiğini ve 10'dan fazla olduğunda ise sarkom tanısı verilmesi gerektiğini önermişlerdir. Mitoz sayısı 5-9 arasında olan grupta ise atipi az ise benign (grade 1), fakat atipi fazla ise sarkom (grade 2-3) olarak nitelendirilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir (23). Kempson ve Bari ise, kendi hastaları arasında atipiden bağımsız olarak 5'ten fazla mitoz varlığında metastatik yayılımın olduğu ve bu nedenle bu hastaların da sarkom olarak tanı alması gerektiğini savunmuşlardır (21).

LMS tanısı, 3 ana histolojik özelliğin değerlendirilmesine dayanır.

- Mitotik aktivite
- Nükleer atipi
- Tümör hücresi nekrozu

**Tablo 2.** Tipik işsi hücreli düz kas tümörlerinin histolojik özelliklerine göre sınıflandırılması

Tanı	Tümör nekrozu	Mitoz	Atipi
<i>LMS</i>	Var	Değişken	Orta şiddetli
	Var	$\geq 10$	Var / yok
	Yok	$\geq 10$	Diffüz, multifokal; Orta, şiddetli
<i>STUMP</i>	Kuşkulu / Var	Değişken	Var/yok
	Yok	$> 15$	Hiç yok
	Yok	$< 10$	Diffüz, multifokal; Orta, şiddetli
<i>Atipik leiomyom</i>	Yok	$\leq 10$	Diffüz, multifokal; Orta, şiddetli
<i>Mitotik aktif leiomyom</i>	Yok	$\leq 15$	Yok

#### 2.3.3.4.1. Mitotik aktivite

Geçmişte, 10 büyük büyütme alanı başına 10 veya daha fazla mitoz varlığı, LMS tanısı koymak için anahtar olarak kabul edilirdi. Ancak zaman içerisinde mitotik indeksin malignitenin değerlendirilmesinde önemli bir özellik olmasına rağmen, uterus düz kas tümörlerinin geniş serilerine dayanan birçok çalışmada, bu tümörlerde tek başına mitotik aktivitenin kötü sonuçları öngörmediğini göstermiştir (3).

Bell ve ark.'ları tarafından önerilen uterin düz kas tümörlerinin sınıflandırılması, malign olarak nitelendirilen tümörlerde, mitotik oranın tanı koymadaki önemini azaltarak, iyi seyirli LMS tanısı alan olgu sayısını azaltma avantajına sahiptir (3).

Düz kas tümörlerinde mitotik aktivitenin değerlendirilmesi tartışmalara konu olmuştur. Apoptotik hücreler, piknotik nükleuslar, lenfositler, mast hücreleri, çökemiş hematoksilen veya hücre yıkım ürünleri, mitotik figürler ile karıştırılabilir.

Bazı yazarlar mitotik figürleri tanımlamak için katı kriterlerin kullanılmasını önermektedir ve immünohistokimya kullanımını da dahil olmak üzere mitotik aktiviteyi ölçmek ve standartlaştırmak için farklı yöntemler önerilmiştir (3) .

Hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde mitoz kriterleri, belirgin sitoplazma ve nükleer membran yokluğu ve merkezi yoğun bir kromozom kümelenmesidir (metafazda tek ya da telofazda ayrılmış). Tipik mitozların yokluğunda atipik “mitoz benzeri” figürlerin varlığında, apoptotik hücrelerle karşı karşıya olma olasılığına karşı uyanık olunmalıdır. Son olarak, uterin düz kas tümörlerinde mitotik aktivitenin, genel olarak yumuşak dokulardaki mitotik aktivitenin tersine, aynı prognostik etkilere sahip olmadığını akılda tutmak önemlidir. Herhangi bir mitotik aktivitenin malignite için yüksek şüphe uyandırdığı diğer yumuşak doku ve organların düz kas tümörlerinin aksine benign uterin düz kas tümörlerinde yüksek mitoz sayısı kabul edilebilir bir bulgudur (3) .

#### 2.3.3.4.2. Atipi

Nükleer pleomorfizm, hiperkromatizm, nükleer membranlardaki düzensizlik, nükleer boyut büyüklüğü ve belirgin nükleoller gibi sitolojik özelliklerin bir araya gelmesi, anlamlı atipinin göstergesidir. Osteosarkomatöz, rabdomyosarkomatöz ve kondrosarkomatöz odaklar, LMS içinde farklı diferansiyasyon paternleri olarak izlenebilir (2). Ancak sitolojik atipi, düz kas tümörleri ve genel olarak herhangi bir tümörde büyük büyütmede çalışırken hatalı malignite tanısı koymamıza neden olabilir. Nükleer atipi, mümkünse komşu myometriyumun nükleer özellikleri ile karşılaştırılarak küçük büyütme ile tanınmalı ve karşılaştırma yapılmalıdır (3) .

#### 2.3.3.4.3. Nekroz

Tümör hücresi nekrozu sadece LMS'lerde görülür. Bu tip nekroz, nekroz ve nekrotik olmayan tümör arasında granülasyon dokusu veya fibröz doku olmaksızın ani bir geçişin bulunmasıyla tanımlanır. Belirgin pleomorfizm ve hiperkromazisi olan nükleuslar ve genellikle inflamasyon içermeyen nükleer enkazlar nekrotik bölgelerde sıklıkla görülür. Canlı tümör sıklıkla perivasküler bir büyüme gösterir. Sitolojik atipi ve belirgin mitotik aktivitenin olmadığı bir LMS'de tümör hücresi nekrozu bulmak son derece nadirdir. Yakın zamandaki bir seride, 44 iğsi, 22 epitelooid, 6 miksooid ve 5 mikst iğsi ve epitelooid LMS olgusu içeren 77 LMS'nin



hepsinin, hücre nekroz varlığı ile birlikte nükleer pleomorfizm ve 10 büyük büyütme başına 10 mitoz içerdiği gösterilmiştir (3) .

Tümör hücresi nekrozunun aksine, iskemiye sekonder infarkt tipi nekroz, benign veya malign uterin düz kas tümörlerinde ortaya çıkabilir. Nekrotik ve nonnekrotik alanlar arasında sıklıkla yakın zamanlı hemoraji ile ilişkili granülasyon dokusu veya hyalinizasyon bulunur. Nekrotik bölgeler, tümör hücrelerinin hayalet benzeri mumyalanmış görünümüne sahiptir ve hem tümör hem de damarlar ölü gibi görünmektedir. Yani infarkt alanı yoğun hyalinli doku ile yer değiştirmiştir.

Nekrozun erken aşamalarında, yukarıda açıklanan mikroskopik özelliklerin tipik olarak mevcut olmadığı ve bu durumlarda tümör hücresi nekrozundan enfarktüsün ayırt edilmesinin çok zor olabileceği unutulmamalıdır. Ayrıca, çok erken enfarkt tip nekrozda canlı hücrelerle karışık halde apoptotik hücreler de görülür, bu görünüm de tümör hücresi nekrozu ile karıştırılabilir. Bu nedenle sitolojik atipi ve mitotik aktiviteyi değerlendirmek her zaman çok önemlidir. Tümör hücresi nekrozu bir tümörde mevcutsa, neredeyse her zaman belirgin sitolojik atipi ve mitotik aktivite eşlik etmektedir. Uterin düz kas tümörünün yüzeyinde sıklıkla görülen ülseratif nekrozlar, inflamatuvar hücrelerle ilişkilidir ve diğer nekroz tiplerinden ayırt edilmesi kolaydır (3).

**Tablo 3.** Malign ve benign düz kas tümörlerinde nekroz görünümünün karşılaştırılması

<b>Malign coğrafik tümör nekrozu</b>	<b>Benign nekroz</b>
Multifokal	Tek, genellikle merkezi
Düzensiz, harita ya da ada benzeri sınırlar	Düz, keskin sınır
Keskin ara yüz	İyi tanımlanmayan ara yüz
İnflamasyon ve fibroblastik tamir nadir	Arayüzde inflamasyon, periferel fibrozis ve merkezi mumyalaşma

#### 2.3.3.5. İmmünohistokimya

İmmünohistokimyasal olarak desmin, kalsdesmon, SMA pozitifler. Az diferansiye, epitelooid veya miksoid olanlarda boyanma kaybı veya zayıflaması görülebilir. Sıklıkla CD10, sitokeratin ve EMA (genellikle epitelooid olanlarda) ile

immünreaktiftirler. Konvansiyonel LMS'lerin %30-40'ı ÖR, PR ve androjen reseptörlerini eksprese ederler. Bir kısmı CD117 (c-Kit) ve DOG1 ekspresyonu göstermesine rağmen, c-kit mutasyonu tanımlanmamıştır. LMS'lerin leiomyomlara oranla daha yüksek Ki-67 seviyesine sahip olduğu gösterilmiştir. P53 mutasyonu ve ekspresyonu tümörlerin bir kısmında tanımlanmıştır. Özellikle p53 immünreaksiyonunun güçlü olduğu olgularda, p16 immünreaktivitesi güçlü ve yaygındır (12).

#### 2.3.3.6. Genetik profil

Uterin LMS'ler de novo ortaya çıkabilir veya önceden var olan bir leiomyomdan gelişebilir (17, 24). Hem sayısal hem de yapısal kromozomal sapmalar tanımlanmıştır. Genomik kararsızlığın uterus düz kas tümörlerinde malignitenin belirteci olduğu öne sürülmektedir. Özellikle 10q ve 13q kayıplarının yanı sıra, zaman zaman 1q, 17p kazanımı ve 2p, 16q kayıpları da gözlemlenmiştir (2, 12). En azından bazı tümörlerin, eşlik eden leiomyomlardan ayrımını sağlayan X inaktivasyonu vardır, bu da LMS'nin de novo olduğunu gösterir. Leiomyomların malign transformasyonu kanıtlanmasına devam edilmeye çalışılan bir anekdotdur. Bu tümörlerde MED12 mutasyonları nadirdir ve HMGA2 ile ilişkili translokasyonlar görülmez (12).

#### 2.3.3.7. Genetik duyarlılık

C-myc proto-onkogeninin aşırı ekspresyonu, leiomyom ve LMS'lerin yaklaşık %50'sinde meydana gelir. MDM2 proteini, leiomyomlarda eksprese edilmezken, bazı LMS'lerde aşırı eksprese edilir. Bunun aksine KRAS ise leiomyomların çok küçük bir kısmı haricinde ve LMS'lerde eksprese edilmez. Retinoblastom-siklin D yolağının anormallikleri, tümörlerin yaklaşık %90'ında bulunurken, gen yaklaşık dörtte üç LMS'de silinir. INK4 veya siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A (CDKN2A) olarak da bilinen p16, LMS'nin oluşumunda rol oynar. p16 proteini, CDK4-cyclin D kompleksine bağlanır ve bir negatif hücre döngüsü düzenleyicisi olarak işlev görür. Sonuç olarak, p16 delesyonu tümör baskılanma kaybına yol açar (12).

#### 2.3.3.8. Tedavi, prognoz ve prediktif faktörler

LMS tanısı konan hastalara, temel tedavi şekli cerrahi olduğundan, radikal histerektomi yapılmalıdır (12). Metastazsız hastalarda, kür için en iyi tedavi şansı

ameliyat ile tam çıkarımdır. Adjuvan tedavinin prensipleri yumuşak doku sarkomlarına uygulananlara benzerdir (7). Bununla birlikte, tamamen rezeke edilen U-LMS'de adjuvan radyasyonun minimal fayda sağladığının gösterildiği prospektif bir çalışma yapılmıştır (25). İlerlemiş hastalıklar için, birinci basamak antrasiklin bazlı kemoterapi ile tedavi edilen hastaların %22'sinde %1'lik bir objektif cevap oranı (ORR) gözlenmiş ve medyan sağ kalım 1 yıl olmuştur. Gemsitabin ve dosetakselin kemoterapötik kombinasyonu, son yıllarda LMS'li hastalarda sıkça çalışılmıştır. Çok kollu bir faz II çalışmasında, çoğunlukla U-LMS'li hastalarda uygulanan bu rejim, %53'lük ORR'ye ulaşmıştır (7, 26). Üçte biri LMS'ye sahip olan yumuşak doku sarkomlu hastalardan oluşan bir randomize faz II çalışması, gemcitabine ve dosetaksel'in aktivitesini %16 daha düşük ORR ile teyit etmiştir. Başka bir hasta popülasyonunda daha yeni randomize bir faz II çalışması, tek başına gemsitabin üzerine kombinasyonun değeri hakkında sorulan soruları içermektedir. Ancak, bu iki anatomik primer alan arasında UD-LMS üzerine U-LMS'de kombinasyonun ilginç üstün yanıt oranları bildirmiştir (7).

Evre I tümörlerde bile, LMS'nin davranışını öngören herhangi bir histolojik veya moleküler parametre yoktur. LMS, ilk tanı anında uterusu sınırlı olsa bile kötü prognozludur. LMS'li hastalar 5 yıldan daha uzun bir sağ kalım oranına (%25-%75) ve yüksek nüks oranına (%45-%75) sahiptirler (3). Evre, en önemli prognostik faktördür. Korpustaki tümörlerde boyut önemli bir prognostik faktördür. Boyutu 5 cm'den küçük çaptaki tümörlerin daha iyi sağkalım oranlarıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Mitotik indeksin prognostik değerinin olduğu bazı serilerde desteklenirken bazılarında desteklenmemiştir. Serilerin bir kısmında, aksini bildirenler olduğu gibi, premenopozal kadınlarda daha iyi seyirli olduğu bildirilmiştir. İğsi hücreli LMS'lerde, miksoid ve epiteloid olanlara göre iki yıl içerisinde daha sık nüks olduğu tespit edilmiştir (12) .

#### **2.3.4. Yumuşak dokularda LMS ve leiomyom**

Yumuşak doku LMS'leri pür düz kas farklılaşması gösteren malign tümörlerdir. Genellikle orta ileri yaşta ortaya çıkar. Sıklıkla retroperiton, intraabdominal bölge, cilt altı, ekstremitelerde ve büyük kan damarlarında gelişir (27, 28).

Tümör, iğsi hücre demetlerinin düzensiz, girdapvari paternde dizilimiyle

karakterlidir. Atipi, mitoz ve nekroz beklenir. Mitoz sayısının az olduğu durumlarda da atipik mitozlar dikkati çeker (28).

En önemli prognostik faktör tümör yerleşimi ve boyuttur. Retroperiton yerleşimli olanların cerrahi çıkarımı oldukça zordur ve bu tümörler kötü prognozludur. Başka bir prognostik faktör de histolojik derecedir (28).

Leiomyomlarda belirgin nükleer atipi, mitoz ve tümör nekrozu beklenmez. Erkeklerde intraabdominal yerleşimli leiomyomlarda mitoz 1'in altında, kadın peritoneal ve retroperitoneal yerleşimli leiomyomlarda ise bu sayı 5'e kadar çıkabilir (28).

**Tablo 4.** FNCLCC derecelendirme sistemindeki histolojik parametreler

<b><i>Tümör diferansiyasyonu</i></b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Skor 1: Normal mezenkimal dokuya çokça benzeyen ve benignden ayrımı zor olan sarkomlar</li><li>• Skor 2: Histolojik tipi kesin olan sarkomlar</li><li>• Skor 3: Embriyonel ve andiferansiye sarkomlar, sinovyal sarkomlar</li></ul>
<b><i>Mitoz sayısı(10 büyük büyütme alanında)</i></b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Skor 1: 0-9</li><li>• Skor2: 10-19</li><li>• Skor 3: 20 ve üzeri</li></ul>
<b><i>Tümör nekrozu</i></b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Skor 1: nekroz yok</li><li>• Skor 2: &lt; %50 tümör nekrozu</li><li>• Skor 3: <math>\geq</math> %50 tümör nekrozu</li></ul>
<b><i>Histolojik grade</i></b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Derece 1: toplam skor 2, 3</li><li>• Derece 2: toplam skor 4, 5</li><li>• Derece 3: toplam skor 6, 7, 8</li></ul>
FNCLCC: Federation Nationale Des Centres De Lutte Contre Le Cancer

### 2.3.5. Araştırmada kullanılan belirleyiciler ile ilgili genel bilgiler

- Östrojen reseptörü (ÖR) ve progesteron reseptörü (PR): Meme tümörü endokrin tedavisine yanıtın öngörülmesi ve hastalık prognozu ile yakından ilişkili biyolojik parametrelerdir. Reseptörler nükleer boyanma gösterir. Meme tümörleri yanında endometriyal ve ovaryan tümörlerde ve deride ekrin tümörlerde de östrojen ve progesteron reseptörü ifadesi gözlenir (29).
- SMA (Smooth muscle actin): Altı farklı izoformu olan bu mikrofilamentöz kasılma proteini, hücre hareketliliğinin olduğu her yerde bulunur. Bu izoformlar; iskelet kası-alfa, düz kas-alfa ve gamma, kardiyak kas-alfa, myojen olmayan beta gammadır. Alfa ve gamma kas izoformları pür myojenik diferansiyasyon gösteren dokularda görülmekle birlikte myofibroblastik ve myoepitelyal özellikleri olan hücrelerde de görülmüştür (30).
- Desmin: Bu kas tipi sitoplazmik intermediyer filaman, düz kas hücrelerinde ve daha az miktarda myofibroblastlarda bulunur. Düz kas hücrelerinde, sitoplazmik yoğun cisimler ve subplazmalemmal plaklar şeklinde görülür. Çizgili kasta ise desmin filamentleri Z çizgilerine bağlanır. Desmin myojenik diferansiyasyon gösteren rabdomyom, rabdomyosarkom, leiomyom, LMS, desmoid tümör ve myofibroblastlarda da pozitifdir. Primitif nöroektodermal tümörlerde, epitelioid sarkomlarda, malign periferik sinir kılıfı tümörlerinde, malign rabdoid tümörde ve gastrointestinal stromal tümörlerin bir kısmında da saptanabilmektedir (30).
- Kalponin: Kalponin, ilk olarak düz kasta tanımlanan, myofibroblastlarda ve myoepitelyal hücrelerde değişken olarak bulunan, kalsiyumdan bağımsız bir şekilde aktin bağlayıcı bir proteindir. Bu antikor, myoepitelyal hücreler ve düz kas hücreleri için bir belirteç olarak kullanılır. Kalponin için pozitif olması beklenen lezyonlar nodüler fasiit, nörotekoma, sinovyal sarkom, LMS ve endometriyal stromal sarkomu içerir (31). Sinovyal sarkomda da kalponin pozitifliği görüldüğünden LMS'den ayrılmasında diğer belirteçlere dikkat edilmelidir (30).
- Kaldesmon: Biri düz kas hücrelerinde ve diğeri kısmen myojenik farklılaşmaya sahip diğer hücre tiplerinde bulunan, iki izoform sınıfı olan bir sitoplazmik proteindir. 89 ve 93 kD arasında moleküler ağırlıklara sahip yüksek moleküler ağırlıklı izoformlar aktin, tropomyozin, kalmodulin, myozin ve

fosfolipidlere bağlanabilir ve aktin-tropomyosin ile aktive edilmiş myozin adenozin trifosfataza (ATPaz) karşı koyar. Bu nedenle, kalsiyuma bağlı düz kas kontraksiyonunun inhibisyonu için araçlardır. Düz kas diferansiyasyonu için nispeten özgül görünmektedir ve bu nedenle desmin ve aktin immün belirteçlerine yardımcıdır. Kaldesmon gastrointestinal stromal tümörlerin (GIST'ler), glomus tümörlerinin ve myoperistomaların çoğunda eksprese edilir ve bu nedenle tamamen spesifik değildir (30).

- CD117 (c-KIT): Tirozin kinaz aktivitesine sahip transmembran glikoproteini ve aynı zamanda bir protoonkogen olan c-KIT 'i tanımlar. Hücre dışı kısmı, kök hücre faktörü olarak adlandırılan bir ligandı bağlar, hücre içi kısım ise gerçek kinaz enzimatik alanını içerir (32). C-kit bir reseptör protoonkogen ürünü olup, en yüksek seviyelerde hematopoetik kök hücrelerde, mast, kıkırdak, germ hücreleri, melanositler ve interstisyel Kaval hücrelerinde ifade edilir. İmmünreaktif olduğu neoplazmlar arasında mastositoz, melanom, germ hücreli tümörler, glial tümörler, meme duktal karsinomu, kromofob renal hücreli karsinom, akciğer küçük hücreli karsinomu, anjiomyolipom, bazı sarkomlar ve GIST tümör ailesi bulunur (30, 32). C-kit reseptörünün akut myeloid lösemi hastalarının %68'inde ve kronik myeloid lösemide blastik faz hastalarının %80'inde, ancak akut lenfoid lösemi hastalarının sadece %2'sinde ifade edildiği gösterilmiştir. C-kit reseptörü pozitif olan AML hastalarının, tam remisyon oranının düşük ve tam remisyona rağmen nüksetme eğilimi olduğu bildirilmiştir (33). Anjiosarkom ve Ewing sarkomu gibi bazı sarkomlarda, c-kit ifadesinin farklı seviyeleri gösterilmektedir, ancak sinovyal sarkom, LMS ve malign fibröz histiyositomda eksprese edilip edilmediği hala tartışmalıdır (34).

- Fascin: Fascin, dendritik süreçlerin oluşumunda rol oynayan aktin bağlayıcı bir proteindir. Fascin normalde foliküler dendritik hücrelerde bulunur. Sıklıkla Hodgkin lenfomanın Reed-Sternberg hücrelerinde ve ayrıca anaplastik büyük hücreli lenfomanın tümör hücrelerinde ifade edildiği bulunmuştur (30, 35). Fascin proteinleri tarafından gerçekleştirilen aktin demetleri hücre zarı uzantılarında yoğunlaşır ve bu çıkıntılar hücrenin hareketliliğini sağlar (17). İnsan hücrelerinde 3 tip fascin proteini vardır. Fascin-1 en yaygın tiptir ve çoğu insan dokusunda bulunur. Fascin-2 ve fascin-3 sınırlı dağılıma sahiptir, retina ve testise özeldir (36). Hücre

motilitesi, kanserin invazyonu ve metastazında önemli bir faktör olduğundan, fascin ifadesine sahip bu tümörler yüksek dereceli, geniş invazyon veya metastaz ile ilişkilidir. Birçok insan tümöründe fascin ekspresyonu bildirilmesine rağmen, uterus düz kas tümörleri literatürde sadece bir çalışmada ele alınmıştır. Bu çalışmada, LMS'de leiomyom ve varyantlarına göre daha sık ve geniş ifade edildiği gösterilmiştir. Bu, LMS'de artmış fascin ifadesini ve uterus düz kas tümörlerinin ayırıcı tanısındaki değerini gösterir (37).

- P53: Bir nükleer fosfoprotein olan p53 tümör baskılayıcı geninin mutasyonları, insan tümörlerindeki en yaygın genetik değişikliği temsil eder. Bu genin ürünü, hücre siklusunun kontrolü, apoptoz ve genomik stabilitenin korunmasında rol oynadığı düşünülen bir nükleer proteindir. Birçok insan tümörünün patogenezi p53 fonksiyonunun kaybı ile ilişkilidir. LMS'de tümör supresörü p53'ün aşırı ekspresyonu ve mutasyonu yakın zamanda bildirilmiştir. Blom, p53 aşırı ifadesinin hastalısız sağkalım açısından prognostik bir önem taşıdığını ve hastalığın nüksüne işaret ettiğini öne sürmüştür (2). Mutant genin değiştirilmiş protein ürünü, uzatılmış bir yarı ömre sahiptir ve immünohistokimyasal tekniklerle tespit edilebilir (20, 35).

- P16: INK4a olarak da bilinen, siklin-bağımlı kinaz 4 inhibitörü, p16, 9p21 lokusunda CDKN2A geni tarafından kodlanır. Bu gen p53 ve retinoblastom denilen iki önemli hücre döngüsü kontrol yolağını düzenler (38). Bugüne kadar, p16 jinekolojik yolda meydana gelen neoplazmlarda rol almıştır. Vulvada ve servikte, premalign ve malign lezyonlarda insan papilloma virüs enfeksiyonunun bir vekil belirteci olarak kullanılmıştır. P16 ekspresyonu, bazaloid / kondilomatöz tip vulvar intraepitelyal neoplazi ve vulvanın bazaloid ve 'wartı' karsinomlarında, düşük ve yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlarda ve serviksin in situ ve invaziv skuamöz karsinomunda da gösterilmiştir. Endometriyumun endometrioid adenokarsinomları genellikle p16 ekspresyonu için negatiftir veya sadece fokal pozitiflik gösterir. Bodner-Adler ve ark., p16'yı U-LMS olgularının yaklaşık yarısında göstermişlerdir (38, 39). Sağlıklı myometriyum ve LMS ile karşılaştırıldığında, LMS'de p16 geninin aşırı ifadesi gözlenmiştir (39). Yakın zamanda yapılan bir çalışma, p16'nın, atipik lipomatöz tümörü derin benign lipomdan ayırt etmekte bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermiştir (30, 40).

- PAX8: Pax genleri, organojenez sırasında temel rol oynayan ve aynı soyun embriyonik veya neoplastik hücrelerinde eksprese olan, düzenleyici hücre transkripsiyon faktörü ailesindedir. PAX8, tiroid bezi, böbrek ve müllerian sisteminin organojenezi için önemli bir transkripsiyon faktörüdür (41). PAX8'in aynı zamanda, endometriyal epitelyal hücrelerde ve endoservikal bezlerde de tespit edildiğini ve bu bölgelerin stromal hücrelerinde eksprese edilmediği bildirilmiştir (42).
- WT-1: Bu böbreklerden izole edilen ve nefroblastomların %80'inden fazlasında eksprese edilen bir transkripsiyon faktörüdür. Kromozom 11'in kısa kolunda yer alır (11p13). Kemik ve yumuşak doku tümörleri açısından WT-1 proteini spesifik bir belirteç değildir ve potansiyel olarak anjiyosarkom, malign periferik sinir kılıfı tümörü, sinoviyal sarkom, osteosarkom, miksoid liposarkom ve şeffah hücreli sarkomda eksprese edilir. Yine de çoğu kez, diagnostik uygulamada endotelyal diferansiasyonun ek bir göstergesi olarak kullanılır. WT-1, düz kas tümörlerinde olduğu gibi endometrial stroma ve endometrial stromal neoplazmlarda da eksprese edilir(30). Büyük bir diagnostik yarar sağladığı kanıtlanmış olan bu nükleer belirteç, mezotelyoma ve müllerian epitelyal neoplazmlar (özellikle over seröz karsinomu) tarafından da eksprese edilmektedir. Rabdomyosarkomda değişmez bir sitoplazmik pozitiflik paterni görülmüştür (35).
- Siklin D1: Bu monoklonal antikor, Bcl-1 veya PRAD-1 (paratiroid adenomu 1) olarak da bilinen bir protoonkogendir. Siklin D1 antikor, hücre döngüsünün G1 fazını ilerletmek için olduğu düşünülen bazı protein kinazları düzenleyici, transkripsiyon faktörlerini serbest bırakan retinoblastoma gen ürününü fosforile ederek S fazına geçişi sağlayan bir alt birimdir. Bu proteinin aşırı ekspresyonu birkaç epitelyal tümörde gösterilmiştir. Lenfomalarda, özellikle mantle hücreli lenfomada, saçlı hücreli lösemi ve multiple myelomların bir kısmında ekspresyon gözlenmiştir (30). Çalışmalar, siklin D1'in invaziv meme kanserinde de eksprese edildiğini göstermektedir (43). Siklin D1 genotipleri nazofaringeal karsinom riski ile ilişkili olabilir (44). Nükleer boyanma gösteren bu antikor paratiroid adenomlarının %40'ında boyanırken, paratiroid karsinomlarında güçlü boyanma gösterir (45). UD-LMS'lerin %50'si siklin D1 pozitifdir (46).



- Bcl-2: Bcl-2, hücre döngüsü ve apoptoz regülasyonunda rol oynamaktadır (47). Ayrıca büyüme faktörü gereksinimini azaltarak hücre çoğalmasını destekleyebilir (48). Bcl-2 proto-onkogeni, mitokondriyal membranlarda lokalize olan 26 kDa'lık bir proteini kodlar. Bcl-2 proteininin, birçok antikanser ilacın, radyasyon ve DNA'ya zarar veren ajanların neden olduğu apoptotik süreçleri inhibe ederek hücre sağkalımını uzattığı gösterilmiştir. İnsanlarda kanserlerin birçoğunda bcl-2 ekspresyonu gösterilmiştir ve birtakım malignitelerde p53 ekspresyonu gibi, bcl-2 ekspresyonunun prognostik önemde olduğu bildirilmiştir (47). Bcl-2 ailesi proteinlerinin aşırı ekspresyonu kemo ve radyoterapi direncine katkıda bulunabilir, çünkü kemo ve radyoterapi, intrinsik apoptotik yolun aktivasyonu ile tümör regresyonunu provoke eden, DNA'ya zarar veren tedavilerdir. İlginç bir şekilde, immünohistokimya, LMS dahil olmak üzere yumuşak doku sarkomlarında antiapoptotik protein Bcl-2'nin yüksek ekspresyonunu göstermektedir (49).
- C-erb-B2: İnsan epidermal büyüme reseptörü 2 (Her2 / neu) geni, kromozom 17 (q21) üzerinde bulunur ve c-erb-B2 olarak da bilinen bir transmembran reseptör proteinini kodlar. Her2/neu, insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) gen ailesinin bir üyesidir ve hücre büyümesi, proliferasyonu ve sağkalımının düzenlenmesinde rol oynadığı kabul edilir (50). Aşırı ekspresyon olduğunda bir onkogen olarak davranır. Bu aşırı ekspresyon meme karsinomu, akciğer adenokarsinomu, kolorektal karsinom, mide adenokarsinomu ve akciğer skuamöz hücreli karsinomda görülebilir. Mide ve diğer organların karsinomlarında Herceptin (trastuzumab) yanıtı sağkalımı öngörmeye yararlıdır, ancak bağımsız bir prognostik faktör olarak değeri minimaldir (35). LMS'de c-erb-B2'nin güçlü ekspresyon gösterdiği tespit edilmiştir (51).
- PTEN: PTEN, hücre bölünmesini baskılayan ve apoptozu destekleyen tümör supresör genidir. Gen mutasyonu ve delesyonu, endometrial adenokarsinomada en sık görülen genetik değişiklikler olup, %34 ila %85 arasında değişen oranlardadır (29). LMS'ler ve mikst müllerian tümörlerinde PTEN mutasyonu taranmasında, 36'da sadece 2'sinde (%5) mutasyon oranı saptanmıştır. Bu bulgu çok ilgi çekicidir ve kromozom 10 üzerindeki diğer genlerin bu tümörlerin patobiyolojik mekanizmalarına dahil edilmesi gerektiğini ortaya koyan bir bulgu olarak kabul edilmiştir. 10q genetik eksikliği, PI3K/AKT yolağının ve mTOR yolunun

aktivasyonuna yol açan, PTEN inaktivasyonu anlamına gelir. Farelerde düz kas hücre serilerinde PTEN inaktive edilmiş, farelerin periton boşluğunda yaygın düz kas hücre hiperplazisi ve abdominal LMS geliştiği görülmüştür. PTEN-PI3K/AKT-mTOR yolu sadece LMS'nin oluşumunda değil aynı zamanda LMS'li hastaların prognozunun tahmininde ve tedavisinde de önemli roller oynayabilir (52).

- C-myc: C-myc geni, N-myc ve L-myc de içeren myc gen ailesinin bir üyesidir. C-myc proteini, hücre döngüsü regülasyonu, hücreyel farklılaşma, apoptoz, adezyon ve migrasyon dahil olmak üzere çok sayıda kritik düzenlemede rol alan bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapar. Onkogenik aktivasyonun şu anda tanınan mekanizmaları, gen amplifikasyonu, kromozomal translokasyon ve insersiyonel mutajenezine etkilidir. C-myc ekspresyonu, osteosarkom ve sinovyal sarkom dahil olmak üzere birçok solid tümörde kötü prognoz ile korelasyon göstermiştir. C-myc'in aşırı ekspresyonu ayrıca yüksek dereceli liposarkom, iskelet kondrosarkomu ve U-LMS'de tanımlanmıştır. Tsiatis ve arkadaşlarının çalışması, LMS'li hastalarda c-myc ekspresyonunun hem metastazsız hem de genel sağkalım ile anlamlı derecede ilişkili olduğu, bağımsız olarak sağkalım aralıklarını azaltan tek prognostik faktör olduğunu göstermiştir. C-myc'in immünohistokimyasal olarak saptanmasının, LMS'li hastalarda artmış metastaz riski ve daha kısa sağkalımı öngörmeye yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (53).

- CDK4: Siklin bağımlı kinaz-4 (CDK4), hücre döngüsü ile ilgili olan proteinlerden biridir ve 12q13 kromozomundaki bir gen tarafından kodlanır. CDK4, retinoblastoma-1 (RB1) genini inhibe eder. Adrenokortikal tümörlerde de aşırı ekspresyonu gözlenmiştir. (30)

- MDM2 (Murine double minute 2): Hücre döngüsünü ve apoptozu düzenleyerek ve hücre proliferasyonunu teşvik ederek tümör oluşumunu ve gelişimini artırabilen bir onkojendir (29, 52). MDM2 protein ekspresyonunun değerlendirilmesi ayırıcı tanıda yardımcı olmayabilir çünkü sıklıkla endometrial stromal sarkom veya diğer sarkomlar dahil olmak üzere çeşitli neoplazmlarda gözlenir. Aksine, FISH ile MDM2 gen amplifikasyonu değerlendirmesi, klasik lipomdan iyi diferansiye ve dediferansiye liposarkomu ayırt etmede rutin yardımcı bir araç haline gelmiştir (52). Atipik lipomatöz tümörlerde ve dediferansiye liposarkomlarda MDM2 ve CDK4 ile birlikte aşırı eksprese edilir (30, 35). Bu

fenomen, hem CDK4 hem de MDM2 genlerinin yer aldığı 12-13 kromozom bölgesini içeren halka veya dev işaretleyici kromozomların ortak varlığını yansıtır (30). MDM2/CDK4 aşırı ekspresyonu, miksofibrosarkom, sinovyal sarkom ve LMS gibi diğer sarkomlarda da bildirilmiştir (35). MDM2 ve CDK4'ün aynı anda ekspresyonu düşük dereceli osteosarkom, benign fibröz ve fibroosseöz lezyonların ayırıcı tanısında ve düşük dereceli osteosarkomdan progrese olan yüksek dereceli osteosarkom tanısı için oldukça spesifik ve sensitiftir (29)

- FOXM1: FOXM1 (forkhead box protein M1) DNA replikasyonu, onarımı, hasar kontrol noktası ve mitoz için gerekli olan hücre döngüsü genlerinin ekspresyonunu düzenleyen, embriyonik dokularda çokça eksprese edilen transkripsiyonel bir faktördür. Birçok tümörde (osteosarkom, rabdomyosarkom, Ewing sarkomu, malign periferik sinir kılıfı tümörü) FOXM1 ekspresyonunun artmış seviyeleri tespit edilmiştir. FOXM1'in, yumuşak doku sarkomasına karşı sıklıkla kullanılan bir antitümör ajan olan doksorubisin (DOX) gibi kemoterapi ilaçlarına olan direnci gösterdiği bildirilmiştir. FOXM1'in inhibisyonunun, terapötik bir hedef olma potansiyeline sahip olduğu düşünülmüştür (54). Maekawa ve ark.'larının yaptığı çalışmada, FOXM1 ekspresyonu, LMS hastalarında sağkalım için kötü prognoz ile korele bulunmuştur. Bu çalışmada, yüksek FOXM1 ekspresyonu; yüksek mitotik aktivite, yüksek MIB-1 indeksi ve yüksek FNCLCC derecesi ile korele olarak bildirilmiştir (54).

- EMMPRIN (extracellular matrix metalloproteinase inducer): CD147 olarak da bilinen EMMPRIN, 58 kDa ağırlığında bir transmembran proteindir. İmmüoglobulin ailesine aittir ve bazı organların epitelinde ve ayrıca serviks, mesane ve cilt dokularında da eksprese edilir. Tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunur ve matriks metaloproteinazın (MMP) indüksiyonunu aktive eder. MMP'ler, hücre dışı matriks yıkımı ve tümör ilerlemesi için önemlidir. Ekstraselüler matriksin bozulması, metastaz ve primer tümörler tarafından sızma için önemlidir. Bu nedenle, EMMPRIN'in yüksek düzeyde ekspresyonu birçok tümörde bildirilmiştir ve olumsuz patolojik bulgularla ilişkilidir. Ayrıca, EMMPRIN'in yüksek düzeydeki ekspresyonunun baş boyun kanserinde kemoterapi direncinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Sisplatin dirençli tümörlerde EMMPRIN ekspresyonu azaldığında, bu kanser grubunda ilaç duyarlılığı artmıştır. EMMPRIN'in LMS'deki ekspresyonu,

leiomyom ve varyanlarından anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ve zor vakalarda U-LMS'nin leiomyomlardan ayırımında yardımcı olabileceği bildirilmiştir (55).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1.Araştırma Olgularının Belirlenmesi ve Hazırlanması**

2006-2018 yılları arasında uterus ve uterus dışı yerleşimli LMS tanısı almış, cam ve blokları bölümümüzün arşivinde bulunan kadın ve erkek tüm olgular çalışmaya dahil edilmiştir. On beş tane UD-LMS, 10 tane U-LMS vakası dış merkezden gönderilen parafin bloklara aitti.

Olgulara ait mevcut tıbbi kayıt ve klinik bilgiler bilgisayar ortamında tarandı ve gözden geçirildi.

Dokular tamponlanmış % 10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi, rutin doku takip işleminden geçirilerek parafin blokları hazırlandı ve 4-6 mikrometre kalınlığında hematoksilin&eoziin kesitleri elde edildi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden çıkarılan hematoksilin&eoziin boyalı preparatlar tekrar incelendi. İğne biyopsi materyalleri çalışma dışında tutuldu.

#### **3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem**

Hematoksilin&eoziin boyalı preparatlardan immunohistokimyasal inceleme için tümörü en iyi temsil eden uygun dokular belirlenerek, bu dokulara ait Anabilim Dalı'mızın arşivindeki mevcut parafin bloklara ulaşıldı. Blokların nekrozsuz alanlarından 1mm çapında korlar çıkarılarak, daha önce parafin bloklarda açılan 60 adet boşluğa, her hasta için ikişer adet örnek yerleştirildi. Elde edilen üç adet parafin bloktan bölümümüzdeki mikrotom cihazları kullanılarak (Leica Rm, 2125RT) 21 adet immunohistokimyasal test için, pozitif şarjlı lamlara (Thermo scientific superfrost plus) birer adet 5 mikrometre'lik kesitler alındı. Bu preparatlar 56 °C'lik sabit ısıya ayarlanmış etüvde bir gece boyunca bekletilerek kurutuldu ve kesitlerin lama yapışması sağlandı. Alınan kesitlere östrojen reseptörü (monoklonal primer antikor, ref:790-4324, Tucson, Arizona, USA), progesteron reseptörü (tavşan monoklonal antikor, Novacastra liquid, Leica), WT-1(6F-H2, monoklonal fare antikor, ref:

760-4397, Tucson, Arizona, USA), p16 (monoklonal fare antikoru, IHC016, Canada), p53 (DO-7, ürün kodu: ncl-p53-do7, Leica), PAX8 (MRQ-50, monoklonal fare antikoru, ref: 760-4618, Cell Marque, USA), c-kit (CD117, primer antikor, REF: 790-2951, Arizona, USA), PTEN (tavşan monoklonal antikoru, ref: 790-5097, Tucson, USA), fascin (monoclonal antibody, FCN01, Thermo), EMMPRIN (8D6, fare monoklonal IgG, SC21746, Santa Cruz, Biotechnology), kalponin (ref:760-4376, cell marque, USA), c-erb-B2 (Rabbit monoclonal primer antibody, ref: 780-2991, Tucson, Arizona, USA), c-myc (EP121, ZETA, Traponi, Italy), MDM2 (BSB-2979, fare antikoru, Bio-SB, Santa barbara, USA), FOXM1 (ABN286, tavşan poliklonal antikoru, ref: VP1412082, Temecula, USA), siklin D1 (tavşan monoklonal antikoru, ref:24IR-15, Cell Marque, USA), CDK4 (DCS-31, t monoklonal fare antikoru, ZETA, ref:z2226, Trapani, İtaly), bcl-2 (SP66, tavşan monoklonal antikoru, ref:790-4604, Ventana ,Arizona, USA), SMA (fare monoklonal antikoru, ref:760-2513, Arizona, USA), desmin (primer antikor, ref: 760-2513, Arizona, USA), kaldesmon (E89, tavşan monoklonal antikoru, ref: 760-4375, Cell marque, USA) ile bölümümüzde bulunan otomatik immünohistokimyasal boyama cihazında (Ventana, Benchmark, XT, USA) yapıldı. İmmünohistokimya boyalı preparatlar iki gözlemci tarafından Olympus BX51 ışık mikroskopunda çift kör olarak değerlendirildi. Östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, FOXM1, CDK4, MDM2, c-myc, PAX8, c-erb-B2, siklin D1, p53 ile nükleer; WT-1 (nükleer boyananların tümü sitoplazmik de boyandı), p16, bcl-2, PTEN ile sitoplazmik ve nükleer; EMMPRIN ile membranöz; c-kit, fascin, kalponin, SMA, desmin, kaldesmon ile sitoplazmik boyanma değerlendirildi. %0-5 boyanma varsa negatif, %6-100 boyanma varsa pozitif boyanma kabul edildi. Pozitif boyanma kabul edilen olgular kendi içinde %6-50 boyanma fokal, %50' nin üzerindeki boyanmalar diffüz olarak sınıflandırıldı.

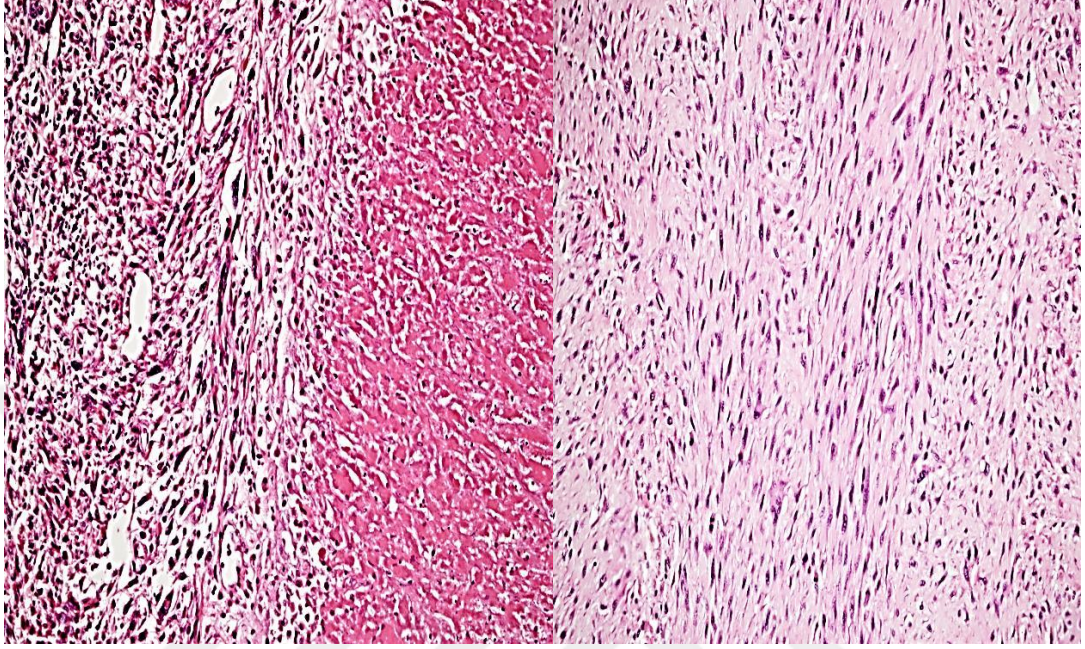
### **3.3. İstatistiksel Yöntem**

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi, istatistik paket programı SPSS for Windows 18.0 (SPSS Inc. Chicago) üzerinde yapıldı. Gruplar arasındaki yaş dağılımı One sample Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Kategorik verilerde Ki-kare testi uygulandı. Yirmi bir adet immünohistokimyasal belirteç ile boyanma, öncelikle uterus ve uterus dışı LMS' ler iki grup halinde ve sonra, uterin, kadın uterus dışı ve erkek LMS 'ler üç grup halinde karşılaştırıldı.  $P < 0,05$  anlamlı

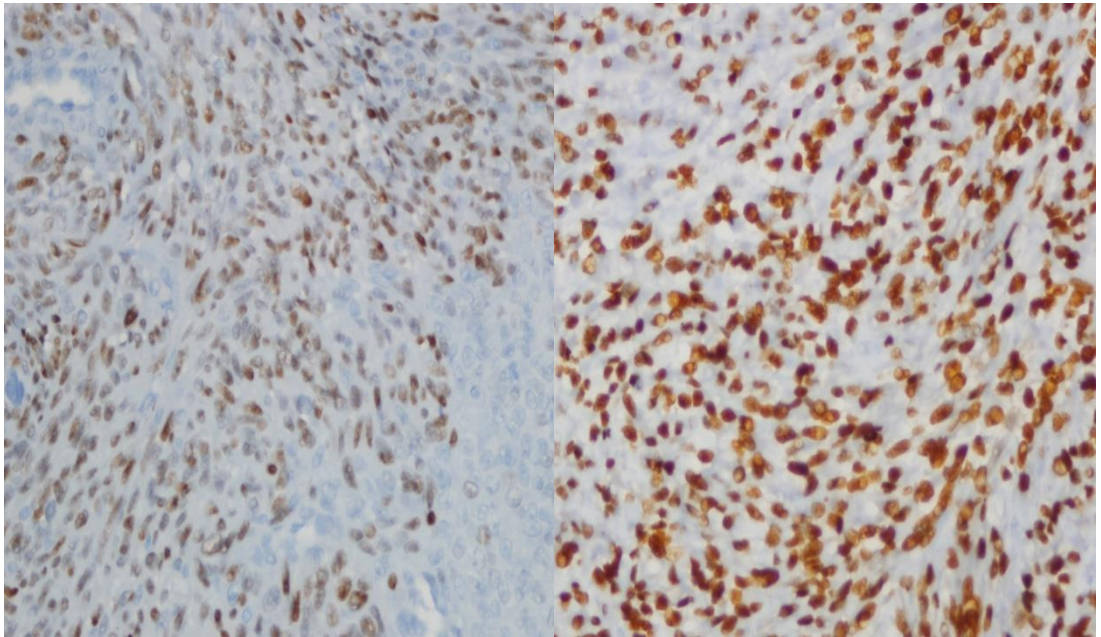


kabul edildi. Bu üçlü değerlendirmede boyanmada anlamlı fark çıkan olgu grupları, ikili karşılaştırıldı.

**Şekil 1.** Nekroz içeren U-LMS ve UD-LMS olguları (H&E, x400)

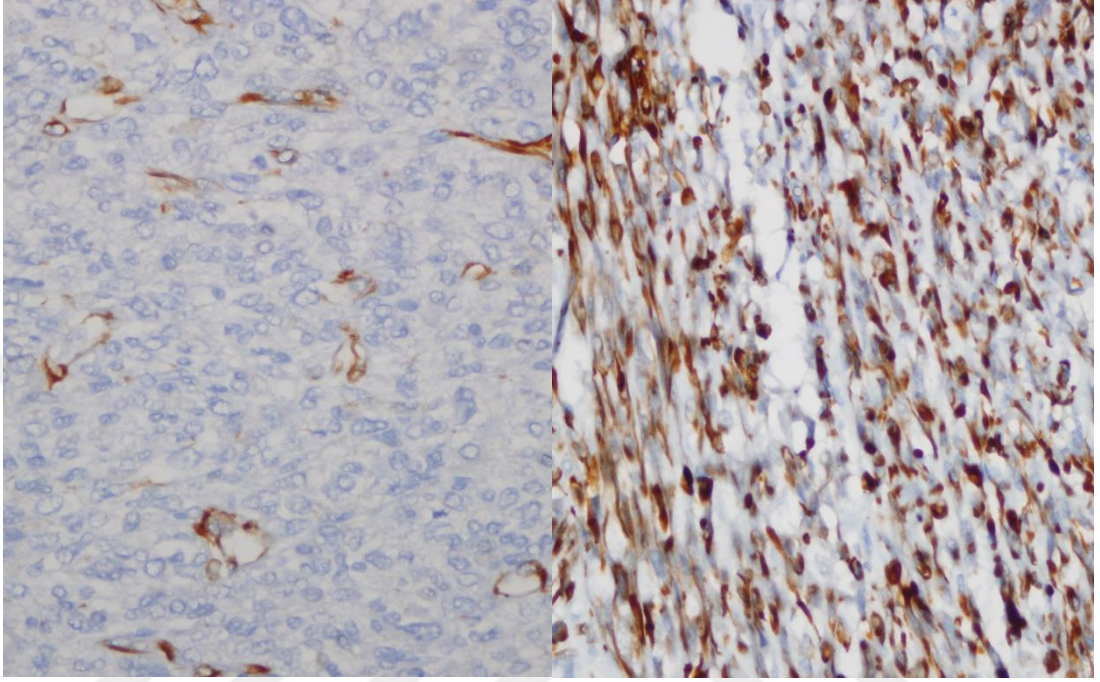


**Şekil 2.** U-LMS olgusunda ÖR ile fokal, PR ile diffüz boyanma (DAB, x400)

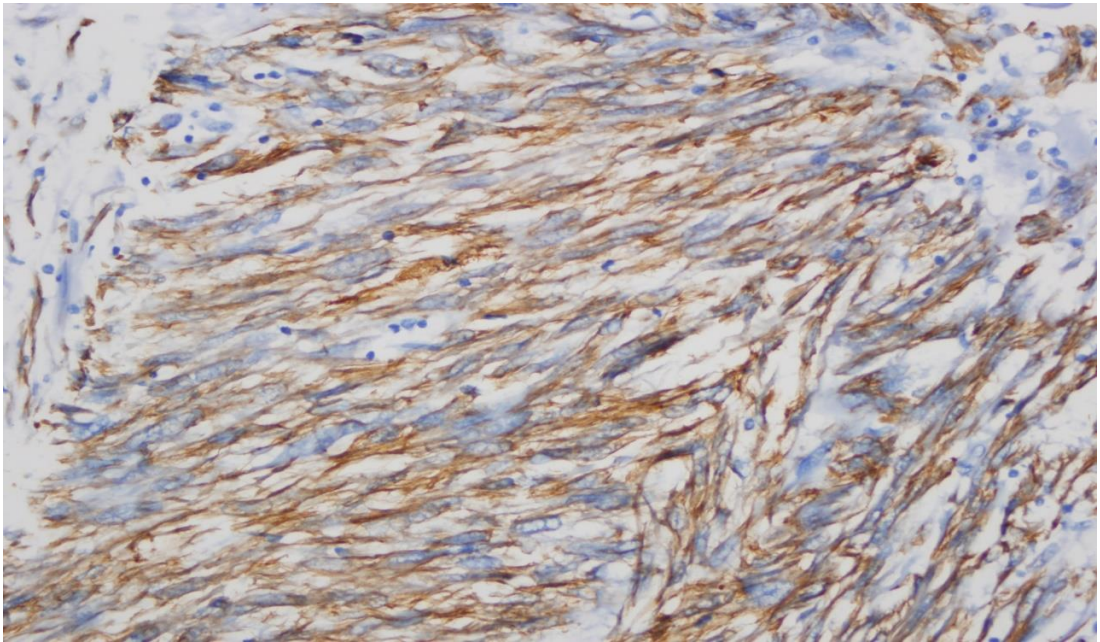




**Şekil 3.** UD-LMS olgusunda negatif WT1 ve U-LMS olgusunda nükleer/sitoplazmik pozitif WT1 boyanması (DAB, x400)

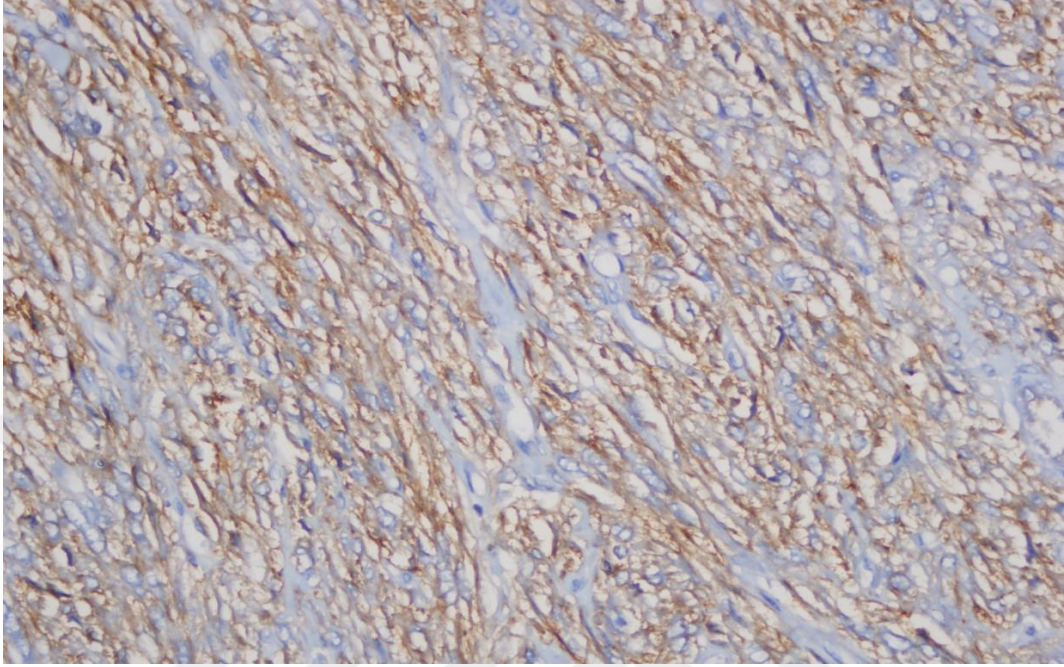


**Şekil 4.** UD-LMS olgusunda kaldesmon ile diffüz boyanma (DAB, x400)

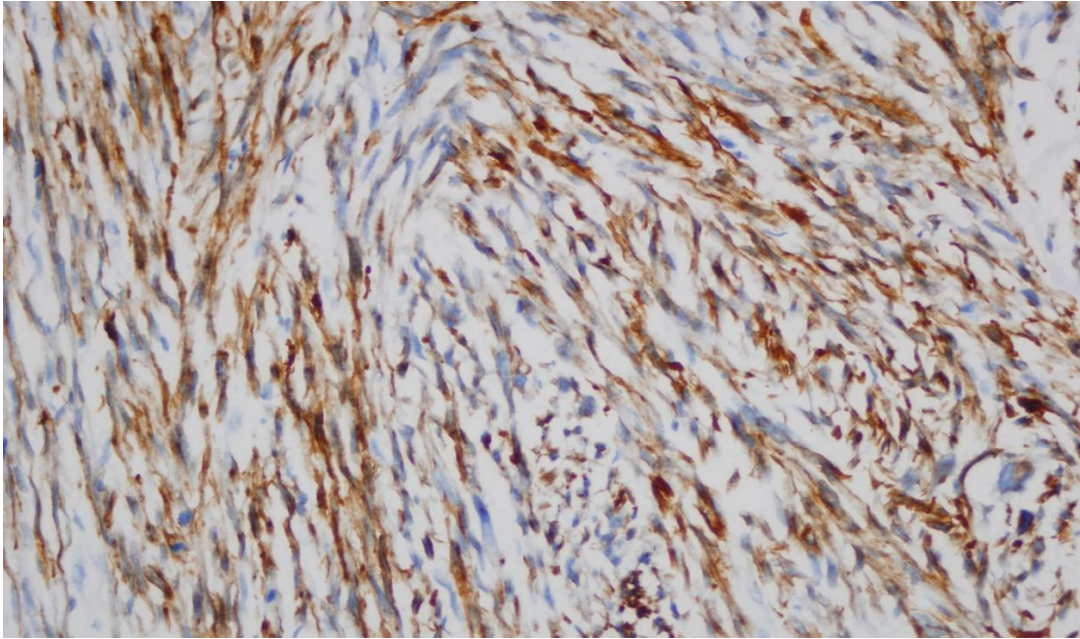




**Şekil 5.** U-LMS olgusunda EMMPRIN ile diffüz boyanma (DAB, x400)

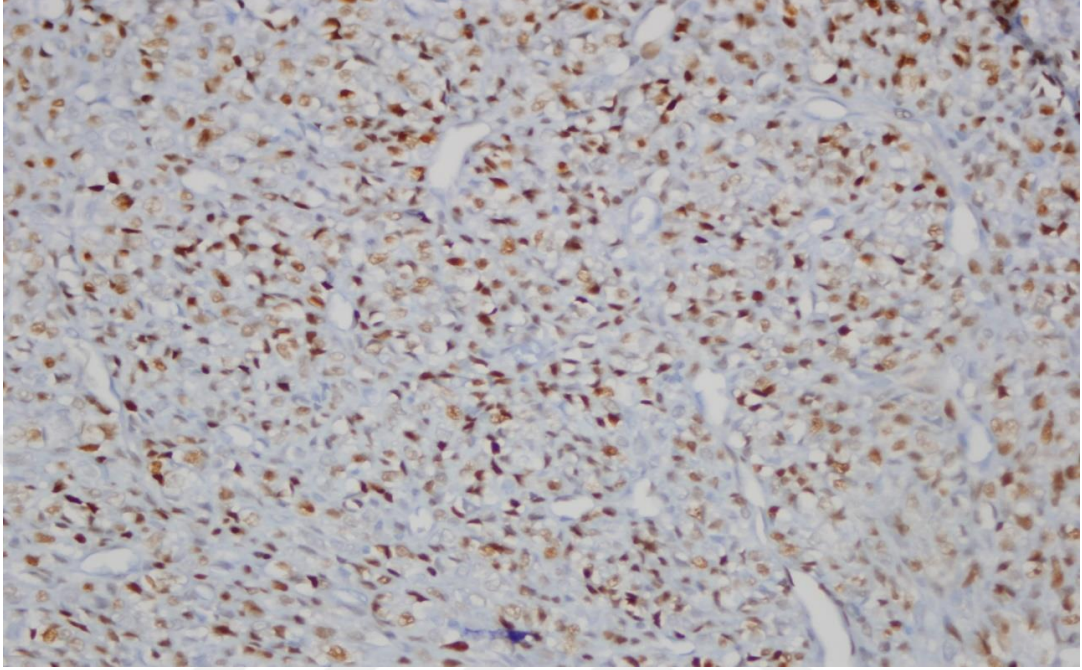


**Şekil 6.** UD-LMS olgusunda desmin ile diffüz boyanma (DAB, x400)

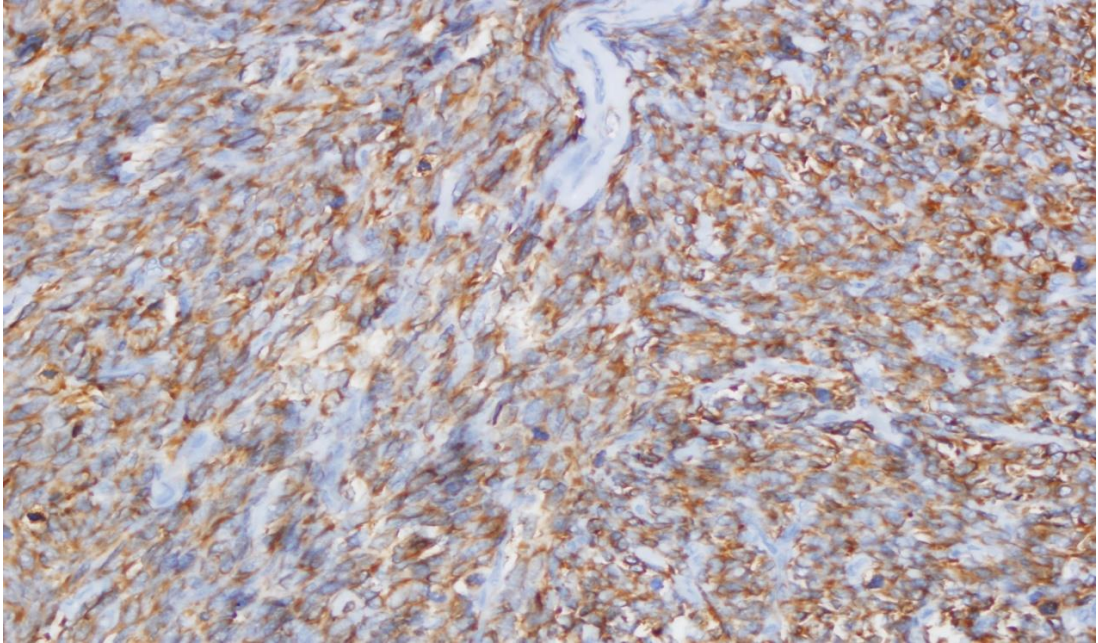




**Şekil 7.** UD-LMS olgusunda siklin D1 ile diffüz boyanma (DAB, x400)

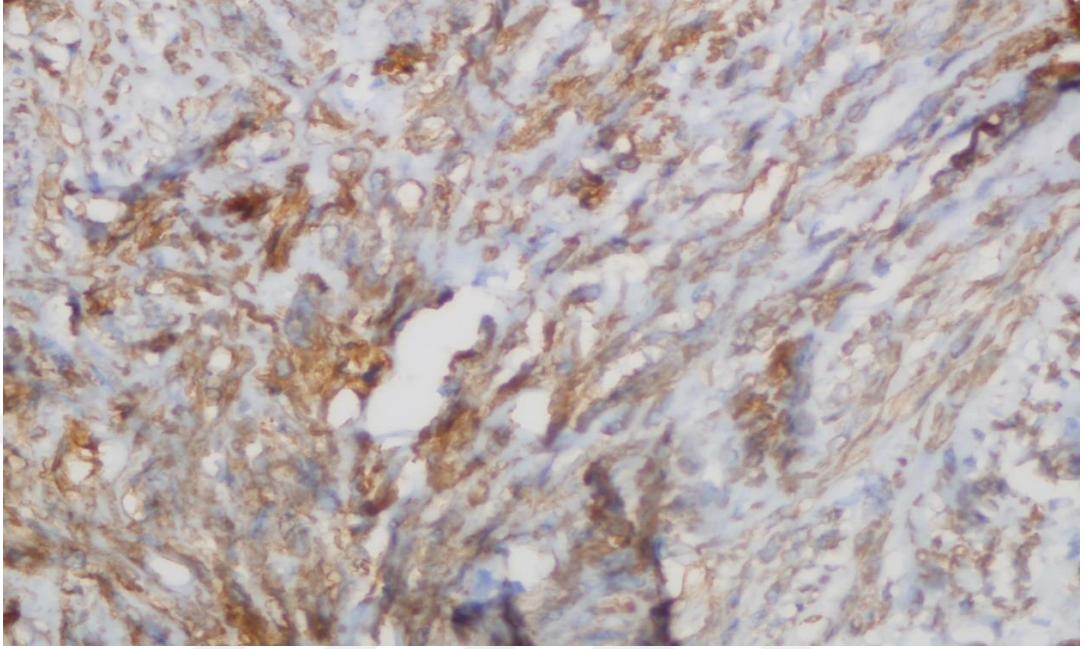


**Şekil 8.** U-LMS olgusunda bcl-2 ile diffüz boyanma (DAB, x400)

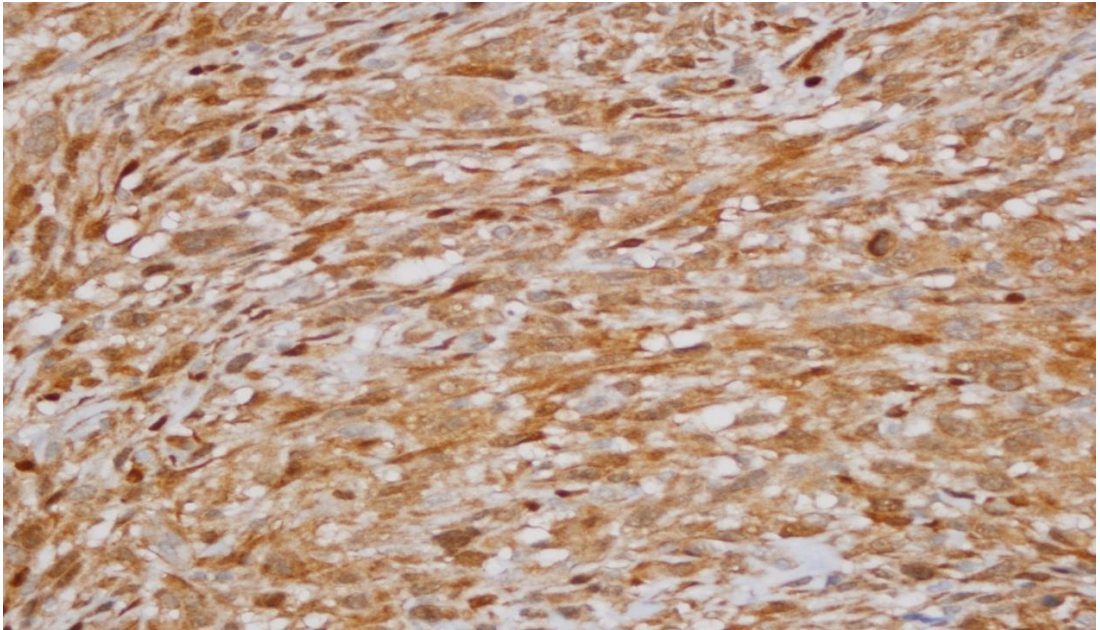




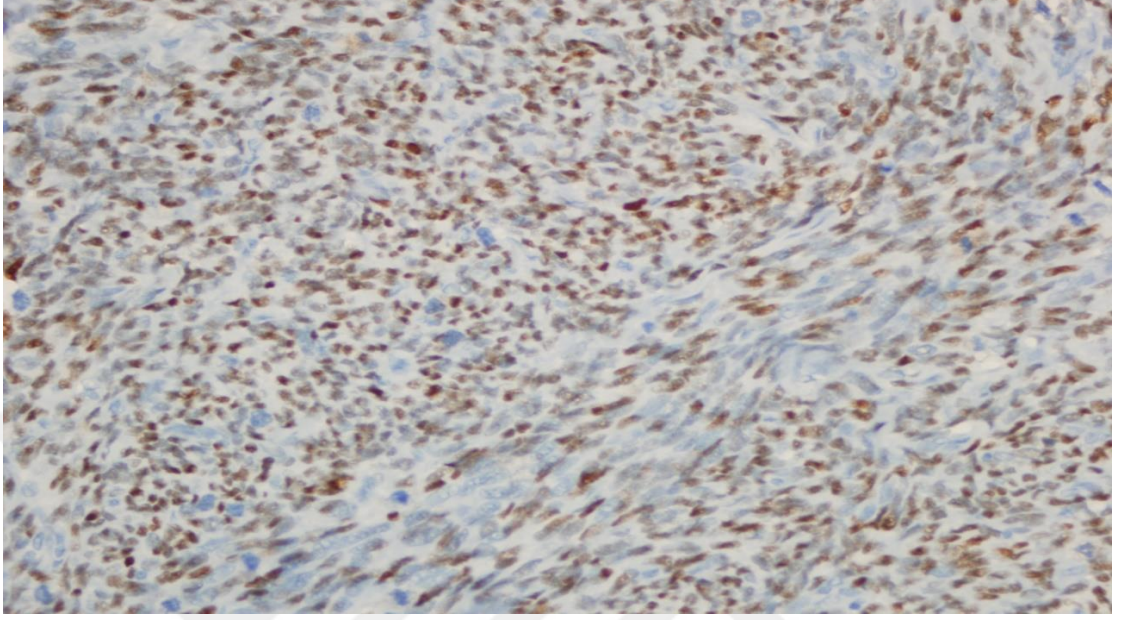
**Şekil 9.** UD-LMS olgusunda SMA ile diffüz boyanma (DAB, x400)



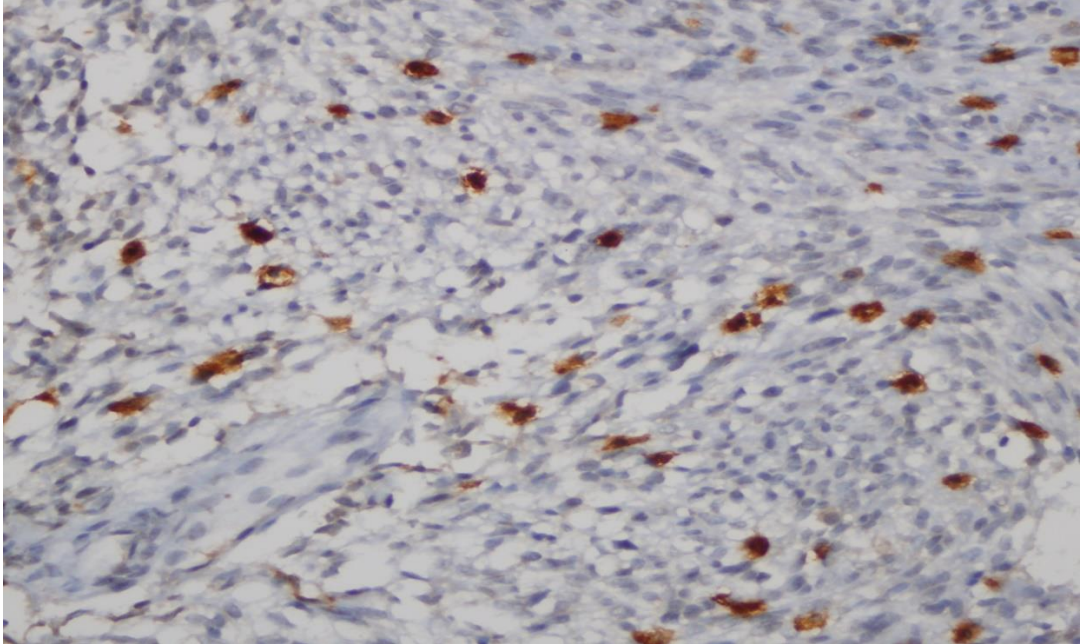
**Şekil 10.** UD-LMS olgusunda PTEN ile diffüz boyanma (DAB, x400)



**Şekil 11.** UD-LMS olgusunda p53 ile mutant boyanma (DAB, x400)

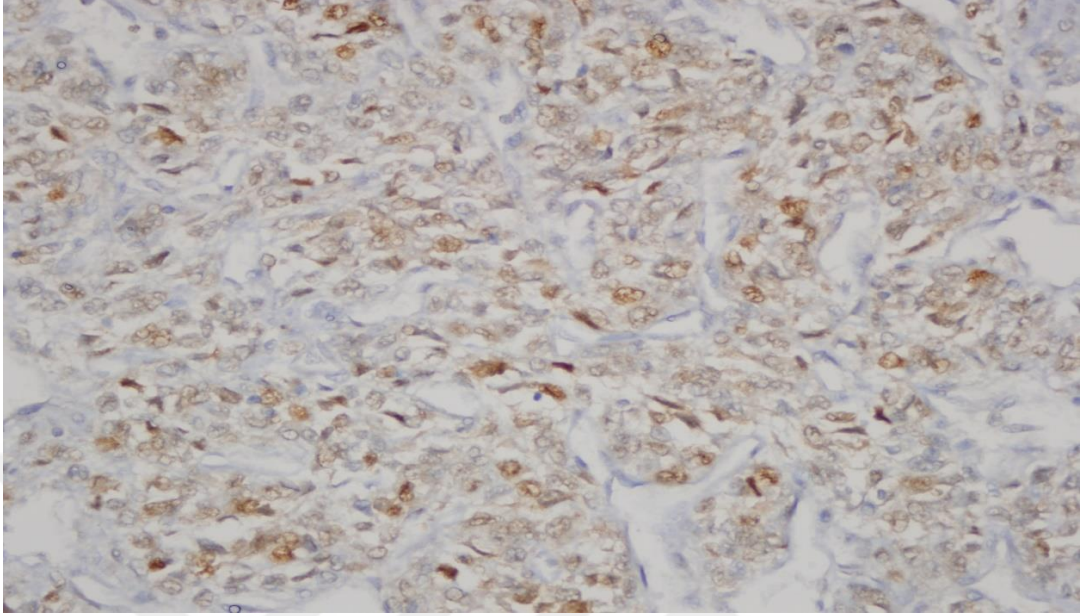


**Şekil 12.** U-LMS olgusunda tümörde negatif, mast hücrelerinde pozitif CD117 boyanması (DAB, x400)

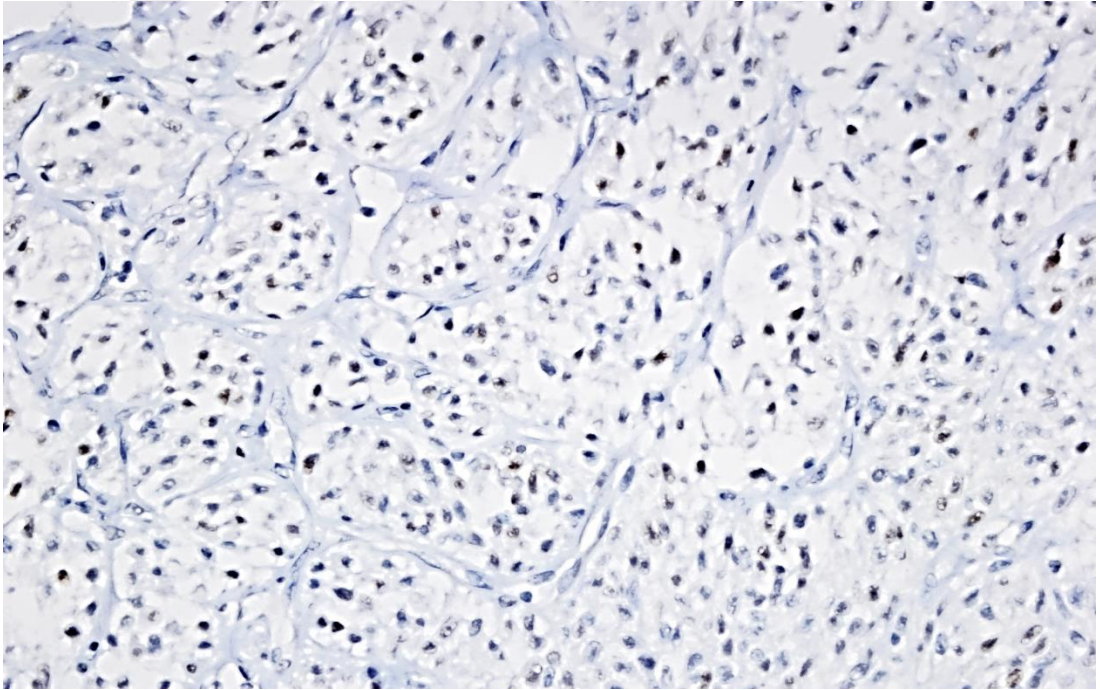




**Şekil 13.** U-LMS olgusunda CDK4 boyanması (DAB, x400)



**Şekil 14.** U-LMS olgusunda c-myc boyanması (DAB, x400)



#### 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 71 hastanın 29'u (%41) uterin LMS, 42'si (%59) UD-LMS olgusudur. UD-LMS olgularının 22'si (%52) kadın, 20'si (%48) erkek cinsiyetten oluşmaktadır.

Olgular 18-79 yaşları arasında olup, yaş ortalaması  $57\pm 15.2$  olarak hesaplandı. Uterin LMS olguları 28-76 yaşları arasında olup, ortalaması  $52.5\pm 9.8$  idi. UD-LMS olguları 18-79 yaşları arasında olup, ortalaması  $60\pm 17.5$  idi. Uterin ve UDLMS olguları arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,026$ ). Kadın UD-LMS olguları 18-79 yaşları arasında olup, yaş ortalaması  $59\pm 15.8$ ; erkek olgular 18-79 yaşları arasında olup, ortalaması  $61\pm 19.6$  idi. Uterus dışı olgularda, cinsiyetlere göre yaş ortalamaları arasında istatistiksel farklılık bulunmadı ( $p=0,704$ ).

**Tablo 5.** U-LMS ve UD-LMS olgularının ÖR ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	15 (%52)	14 (%48)	29
Uterus dışı	38 (%88)	5 (%12)	42
			71

P= 0,0005392

Östrojen reseptörü (ÖR) ile 29 uterin LMS olgusunun 14'ü (%48) pozitif (diffüz: 8 olgu, fokal: 6 olgu), 15'i (%52) negatiftir. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 5'i (%12) pozitif (diffüz:5 olgu, fokal:0 olgu), 38'i (%88) negatifti. Uterin ve UD-LMS olguları arasında ÖR boyanmasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,0005$ ) (Tablo 5).

**Tablo 6.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının ÖR ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	15 (%52)	14 (%48)	29
Kadın uterus dışı	20 (%91)	2 (%9)	22
Erkek	17 (%85)	3 (%15)	20
			71

P=0,00278727

UD-LMS'ler kadın ve erkek cinsiyetlerine göre 2 farklı grup olarak kabul edilip ÖR pozitifliği açısından üç grup ayrı ayrı değerlendirildiğinde U-LMS olgularının UD kadın ve erkek LMS gruplarına göre ÖR ile daha fazla boyandığı ( $p<0,002$ ), erkek LMS ve kadın UD-LMS olguları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0,005$ ) (Tablo 6).

**Tablo 7.** U-LMS ve UD-LMS olgularının PR ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	11 (%38)	18 (%62)	29
Uterus dışı	33 (%79)	9 (%21)	42
			71

$P=0,0005255$

Progesteron reseptörü (PR) ile 29 U-LMS olgusunun 18'i (%62) pozitif (diffüz: 2 olgu, fokal: 16 olgu) iken 11 olgu (% 38) negatifti. UD-LMS olgularının ise 9'u (%21) pozitif (diffüz: 3 olgu, fokal: 6 olgu) iken 33 olgu (%79) negatifti. U-LMS olgularında PR ile daha fazla boyanma gözlenmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,0005$ ) (Tablo 7).

**Tablo 8.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının PR ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	11 (%38)	18 (%62)	29
Kadın uterus dışı	18 (%82)	4 (%18)	22
Erkek	15 (%75)	5 (%25)	20
			71

$P= 0,00221010$

Uterus dışı LMS'ler kadın ve erkek cinsiyetlerine göre 2 farklı grup olarak kabul edilip PR pozitifliği üç grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde U-LMS olgularının UD kadın ve erkek LMS gruplarına göre PR ile daha fazla boyandığı ( $p=0,002$ ), erkek LMS ve kadın UD-LMS olgularının kendi aralarında karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0,05$ ) (Tablo 8).

**Tablo 9.** U-LMS ve UD-LMS olgularının WT-1 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	19 (%66)	10 (%34)	29
Uterus dışı	27 (%64)	15 (%36)	42
			71

P=0,9149522

WT-1 ile 29 U-LMS olgusunun 10'u (%34) pozitif ( diffüz: 8 olgu, fokal: 2 olgu), 19'u (%65) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 15'i (%36) pozitif ( diffüz: 12 olgu, fokal: 3 olgu), 27'si (%64) negatifti. U-LMS ve UD-LMS'ler arasında WT-1 boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 9).

**Tablo 10.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının EMMPRIN ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	9 (%31)	20 (%69)	29
Uterus dışı	23 (%55)	19 (%45)	42
			71

P= 0,0482532

EMMPRIN ile 29 U-LMS olgusunun 20'si (%69) pozitif (diffüz: 13 olgu, fokal: 7 olgu), 9'u (%31) negatifti. UD-LMS olgusunun ise 19'u (%45) pozitif ( diffüz: 12 olgu, fokal: 7 olgu ), 23'ü (% 55) negatifti. Uterin LMS olguları EMMPRIN ile daha yüksek oranda pozitif ve bu boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,048$ ) ( Tablo 10).

**Tablo 11.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının EMMPRIN ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	9 (%31)	20 (%69)	29
Kadın uterus dışı	12 (%55)	10 (%45)	22
Erkek	11 (%55)	9 (%45)	20
			71

P= 0,14213045

UD-LMS'ler kadın ve erkek cinsiyetlerine göre iki farklı grup olarak kabul edilip EMMPRIN pozitifliği üç grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, EMMPRIN boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 11).

**Tablo 12.** U-LMS ve UD-LMS olgularının kaldesmon ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	9 (%31)	20 (%69)	29
Uterus dışı	5 (%12)	37 (%88)	42
			71

$P=0,0464362$

Kaldesmon ile 29 U-LMS olgusunun 20'si (%69) pozitif (diffüz: 15 olgu, fokal: 5 olgu), 9'u (%31) negatifti. UD-LMS olgularının ise 37'si (%88) pozitif (diffüz: 28 olgu, fokal: 9 olgu), 5'i (%12) negatifti. Uterin ve UD-LMS olguları arasında kaldesmon boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,046$ ). Anlamlı farkın UD-LMS olgularındaki yüksek kaldesmon boyanma oranından kaynaklandığı düşünüldü (Tablo 12).

**Tablo 13.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının kaldesmon ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	9 (%31)	20 (%69)	29
Kadın uterus dışı	2 (%9)	20 (%91)	22
Erkek	3 (%15)	17 (%85)	20
			71

$P =0,12265378$

UD-LMS'ler kadın ve erkek cinsiyetlerine göre iki farklı grup olarak kabul edilip kaldesmon pozitifliği üç grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, kaldesmon boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 13).



**Tablo 14.** U-LMS ve UD-LMS olgularının SMA ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	1 (%4)	28 (%96)	29
Uterus dışı	5 (%12)	37 (%88)	42
			71

P: 0,2079416

SMA ile 29 U-LMS olgusunun 28'i (%96) pozitif (diffüz: 24 olgu, fokal: 4 olgu), 1'i (%4) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 37 'si (%88) pozitif (diffüz: 30 olgu, fokal: 7 olgu), 5'i (%12) negatifti. Olguların büyük kısmı diffüz pozitif boyanmış olup, U-LMS ve UD-LMS olgularının SMA boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 14).

**Tablo 15.** U-LMS, ve UD-LMS olgularının desmin ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	6 (%21)	23 (%79)	29
Uterus dışı	21 (%50)	21 (%50)	42
			71

P= 0,0123940

Desmin ile 29 U-LMS olgusunun 23'ü (%79) pozitif ( diffüz: 14 olgu, fokal: 9 olgu), 6'sı (%21) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 21'i (%50) pozitif ( diffüz: 16 olgu, fokal: 5 olgu ), 21'i (%50) negatifti. Uterin ve UD-LMS olgularının desmin boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,012$ ). Farkın U-LMS'lerin yüksek desmin boyanma oranından kaynaklandığı düşünüldü (Tablo 15).

**Tablo 16.** U-LMS , kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının desmin ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	6 (%21)	23 (%79)	29
Kadın uterus dışı	12 (%55)	10 (%45)	22
Erkek	9 (%45)	11 (%55)	20
			71

P= 0,03581722

U-LMS olguları kadın ve erkek cinsiyetlerine göre iki farklı grup olarak kabul edilip, desmin pozitifliği üç grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, U-LMS olgularının kadın UD-LMS ve erkek LMS gruplarına göre desmin ile fazla oranda boyandığı, kadın UD-LMS olgularının desmin ile az oranda boyandığı gözlenmiştir (p=0,03). Ancak U-LMS'lerde gözlenen belirgin yüksek oran ve diğer iki gruptaki oranların birbirine yakın izlenmesi nedeniyle farkın U-LMS'lerin yüksek boyanma oranından kaynaklandığı düşünüldü (Tablo 16).

**Tablo 17.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının kalponin ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	10 (%35)	19 (%65)	29
Uterus dışı	24 (%57)	18 (%43)	42
			71

P= 0,0602755

Kalponin ile 29 U-LMS olgusunun 19'u (%65) pozitif (diffüz: 13 olgu, fokal: 6 olgu), 10'u (%35) negatifti. UD-LMS olgularının ise 18'i (%43) pozitif ( diffüz: 13 olgu, fokal: 5 olgu ), 24'ü (%57) negatifti. Uterin ve UD-LMS olgularının kalponin boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05) (Tablo 17).

**Tablo 18.** U-LMS ve UD-LMS olgularının c-myc ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	26 (%90)	3 (%10)	29
Uterus dışı	28 (%67)	14 (%33)	42
			71

P= 0,0256666

c-myc ile 29 U-LMS olgusunun 3'ü (%10) pozitif (diffüz:1 olgu, fokal: 2 olgu), 26'sı (%90) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 14'ü (%33) pozitif (diffüz:9 olgu, fokal:5 olgu), 28'i, (%67) negatifti. UD-LMS olgularında daha yüksek oranda c-myc boyanması saptandı ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,02) (Tablo 18).

**Tablo 19.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının c-myc ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	26 (%90)	3 (%10)	29
Kadın uterus dışı	12 (%55)	10 (%45)	22
Erkek	11 (%55)	9 (%45)	20
			71

P=0,00756588

UD-LMS'ler kadın ve erkek cinsiyetlerine göre iki farklı grup olarak kabul edilip c-myc pozitifliği üç grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, c-myc boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,007$ ). UD kadın ve erkek LMS gruplarının U-LMS'lerden daha yüksek oranda boyandığı saptandı. Erkek ve kadın UD-LMS'ler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise benzer oranlarda boyanma izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0,05$ ) (Tablo 19).

**Tablo 20.** U-LMS ve UD-LMS olgularının PTEN ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	12 (%41)	17 (%59)	29
Uterus dışı	8 (%19)	34 (%81)	42
			71

P= 0,0397591

PTEN ile 29 ULMS olgusunun 17'si (%59) pozitif (diffüz: 13 olgu, fokal: 4 olgu), 12'si (%41) negatif. UD-LMS olgularının ise 34'ü (%81) pozitif (diffüz: 23 olgu, fokal: 11 olgu), 8'i (%19) negatif. UD-LMS olguları PTEN ile daha yüksek oranda boyanmış olup, iki grup arasındaki bu boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $P=0,039$ ) (Tablo 20).

**Tablo 21.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının PTEN ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	12 (%41)	17 (%59)	29
Kadın uterus dışı	5 (%23)	17 (%77)	22
Erkek	3 (%15)	17 (%85)	20
			71

P =0,10345248

UD-LMS'ler kadın ve erkek cinsiyetlerine göre iki farklı grup olarak kabul edilip PTEN pozitifliği üç grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, PTEN boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 21).

**Tablo 22.** U-LMS ve UD-LMS olgularının bcl-2 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	9 (%31)	20 (%69)	29
Uterus dışı	22 (%52)	20 (%48)	42
			71

P =0,0746420

Bcl-2 ile 29 U-LMS olgusunun 20'si (%69) pozitif (diffüz: 16 olgu, fokal: 4 olgu), 9'u (%31) 9 negatifti. UD-LMS olgularının ise 20'si (%48) pozitif (diffüz: 8 olgu, fokal: 12 olgu), 22'si (%52) negatifti. U-LMS ve UD-LMS olguları arasında Bcl-2 boyanma dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 22).

**Tablo 23.** U-LMS ve UD-LMS olgularının p53 ile boyanma durumu

	Wild	Mutant	Toplam
Uterin	25 (%86)	4 (%14)	29
Uterus dışı	35 (%83)	7 (%17)	42
			71

P=0,7422097

P53 ile 29 U-LMS olgusunun 4'ü (%14) pozitif, 25'i (%86) negatifti. UD-LMS olgularının ise 7'si (%17) pozitif, 35'i (%83) negatifti. Uterin ve UD-LMS olguları arasında p53 boyanmasında ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 23).

**Tablo 24.** U-LMS ve UD-LMS olgularının p16 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	13 (%45)	16 (%55)	29
Uterus dışı	10 (%24)	32 (%76)	42
			71

P=0,0628564

P16 ile 29 U-LMS olgusunun 16'sı (%55) pozitif (diffüz: 12 olgu, fokal: 4 olgu), 13'ü (%45) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 32'si (%76) pozitif (diffüz: 20 olgu, fokal: 12 olgu), 10'u (%24) negatifti. p16 boyanma yüzdesi UD-LMS olgularında daha yüksek oranda görülmesine rağmen, U-LMS ve UD-LMS olgularının p16 boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ) (Tablo 24).

**Tablo 25.** U-LMS ve UD-LMS olgularının FOXM1 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	6 (%21)	23 (%79)	29
Uterus dışı	4 (%9)	38 (%91)	42
			71

P=0,1836920

FOXM1 ile 29 U-LMS olgusunun 23'ü (%79) pozitif (diffüz: 20 olgu, fokal: 3 olgu), 6'sı (%21) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 38'i (%91) pozitif (diffüz: 31 olgu, fokal: 7 olgu), UD-LMS olgularının 4'ü (%9) negatifti. Olguların büyük kısmında boyanma yüzdeleri yüksek olup, U-LMS ve UD-LMS olgularının FOXM1 boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 25).

**Tablo 26.** U-LMS ve UD-LMS olgularının siklin D1 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	21 (%72 )	8 (%28)	29
Uterus dışı	20 (%48)	22 (%52)	42
			71

P= 0,0376150

Siklin D1 ile 29 U-LMS olgusunun 8'i (%28) pozitif (diffüz: 2 olgu, fokal: 6 olgu), 21'i (%72) negatifti. UD-LMS olgularının ise 22'si (%52) pozitif (diffüz: 7 olgu, fokal: 15 olgu), 20'si (%48) negatifti. UD-LMS olguları, U-LMS'lere göre daha yüksek oranda siklin D1 ile boyanmış olup bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (p=0,037) (Tablo 26).

**Tablo 27.** U-LMS, kadın UD-LMS ve erkek LMS olgularının siklin D1 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	21 (%72)	8 (%28)	29
Kadın uterus dışı	9 (%41)	13 (%59)	22
Erkek	11 (%55)	9 (%45)	20
			71

P=0,07521360

UD-LMS'ler kadın ve erkek cinsiyetlerine göre iki farklı grup olarak kabul edilip siklin D1 pozitifliği üç grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde gruplar arasında boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05) (Tablo 27).

**Tablo 28.** U-LMS ve UD-LMS olgularının CDK4 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	24 (%83)	5 (%17)	29
Uterus dışı	32 (%76)	10 (%24)	42
			71

P=0,5051350

CDK4 ile 29 U-LMS olgusunun 5'i pozitif (%17) ( diffüz: 5 olgu), 24'ü (%83) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 10'u (%24) pozitif (diffüz: 7 olgu, fokal: 3 olgu), 32'si (%76) negatifti. U-LMS ve UD-LMS olguları arasında CDK4 boyanmasında ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 28).

**Tablo 29.** U-LMS ve UD-LMS olgularının CD117 ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	25 (%86)	4 (%14)	29
Uterus dışı	38 (%90)	4 (%10)	42
			71

P=0,5760020

CD117 ile 29 U-LMS olgusunun 4'ü (%14) pozitif (diffüz: 2 olgu, fokal: 2 olgu), 25'i (%86) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 4'ü (%10) pozitif (diffüz: 2 olgu, fokal: 2 olgu) , 37'si (%90) negatifti. Olguların büyük kısmında boyanma gözlenmemiş olup, uterin ve UD-LMS olgularının CD117 boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 29).

**Tablo 30.** U-LMS ve UD-LMS olgularının fascin ile boyanma durumu

	Negatif	Pozitif	Toplam
Uterin	11 (%38)	18 (%62)	29
Uterus dışı	11 (%26)	31 (%74)	42
			71

P=0,2930035

Fascin ile 29 U-LMS olgusunun 18'i (%62) pozitif (diffüz: 12 olgu, fokal: 6 olgu) iken 11'i (%38) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 31'i (%74) pozitif (diffüz: 26 olgu, fokal: 5 olgu), 11'i (%26) negatifti. Olguların büyük kısmında boyanma yüzdeleri yüksek olup, U-LMS ve UD-LMS olguları arasında fascin boyanmasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 30).

C-erb-b2, PAX8 ve MDM2 ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada olguların hiçbirisinde boyanma saptanmadı.

## 5. TARTIŞMA

LMS'ler, yumuşak doku sarkomlarının en sık görülen alt tiplerinden biridir. Klinik pratikte, tümörlerin uterus veya uterus dışı bölgelerden kaynaklanıp kaynaklanmadıklarına bağlı olarak malignite kriterleri, sınıflandırılmaları ve bununla ilişkili olarak da tedavi yaklaşımları farklılık göstermektedir. Bu nedenle tanı ve tedavide multidisipliner yaklaşım önemlidir (1). LMS'lerin önemli bir kısmı uterustan kaynaklanırken geri kalanının damar duvarlarındaki düz kas hücrelerinden kaynaklandığı düşünülür ve uterus dışı bölgelerde ortaya çıkar (1). Yumuşak dokuda bir düz kas tümörü fokal atipi nedeniyle bile malign olarak değerlendirilirken aynı bulgu uterusu benign bir leiomyom varyantı olan bizar leiomyom tanısına götürebilir. Bu farklılıklar nedeniyle düz kas tümörünün orijinini belirlemek tanı ve tedavi için önemlidir (56).

Uterus dışı tümörlerin büyük bölümünün damar duvarı düz kas orijinli olduğu düşünülse de Posligua ve ark.'ları 19 düşük dereceli ve 31 yüksek dereceli LMS olgusunu inceledikleri çalışmada periton ve retroperiton yerleşimli düşük dereceli düz kas tümörlerinin sekonder mülleriyan sistem orijinli olabileceğine değinmişlerdir. Jinekolojik orijinli düşük dereceli düz kas tümörü olan hastalarda gözlenebilen omental ve peritoneal tümörlerin ikinci bir primer mi yoksa metastaz mı olduğunun ayırımı yapmak güçtür. Bunların bir kısmı, muhtemelen bir hormonal uyarının etkisi altındaki multipotansiyel submezotelyal mezenkimal hücrelerden kaynaklanan, omentum ve peritonda yerleşik düz kas tümörü ile karakterize 'peritoneal leiomyomatosis ile ilişkili olabilir. Hastaların bir kısmında ise daha öncesinde leiomyom nedeniyle yapılan histerektomi öyküsü olup, bununla ilişki kurulabilir (56).

Her iki tümör de yüksek dereceli olduğunda, uterus dışındaki tümör primer tümörün lenfatik veya transtubal metastazı ile ilişkili olabileceği gibi metastaz dışında pozitif rezeksiyon sınırları, uterin seroza infiltrasyonu ve peritoneal yayılım ile ilişkili olabilir. Bu özelliklerin hiçbiri Posligua ve ark.'larının çalışmasında düşük dereceli LMS'lerde saptanmamıştır. Eğer her iki lezyon da düşük dereceli ve uterus dışındaki tümör pelvis, karın veya retroperitonda yerleşik ise, yumuşak doku düz kas tümörü olarak değerlendirilebileceğini önermişlerdir (56). Periton ve retroperiton dahil olmak üzere sekonder mülleriyan sistemde ortaya çıkan tümörlerin, uterus



tümörlerinde olduğu gibi, mülleriyan olarak sınıflandırılabilceği ve bunun da WT-1 ve ER boyanması ile desteklenebileceğini göstermişlerdir (56).

Uterin ve uterus dışı mülleriyan orjinli olmayan tümörlerin ayırımının klinik ve prognostik önemi nedeniyle geçmişte çeşitli çalışmalar yapılmış ve bazı immünohistokimyasal belirleyicilerin bu ayırımdaki yeri araştırılmıştır.

Rao ve arkadaşlarının çalışmasında 15 UD-LMS'den sadece 2'si (%13) ÖR pozitifken 14 U-LMS'nin 10'u (%71) ÖR pozitif. Pozitiflik saptanan iki UD-LMS olgusu sadece fokal-zayıf ÖR boyanması sergilemişti. UD-LMS'lerin birinin geç nüks eden bir U-LMS ya da parazitik LMS olabileceği düşünülse de, retroperiton yerleşimli olan LMS'nin boyanması açıklanamamıştır. Buna rağmen ÖR'nin U-LMS ile UD-LMS ayırımında faydalı olacağı bildirilmiştir (46). Kelly ve ark.'larının çalışmasında ÖR ile 15 U-LMS olgusunun 13'ünde (%87), 16 UD-LMS olgusunun 1'i (%6) erkek, 3'ü (%19) kadın olmak üzere 4'ünde (%25) boyanma izlenmiştir. Bu çalışmada ise ÖR'yi güçlü bir şekilde eksprese eden UD-LMS olduğu, ancak boyama sıklığının U-LMS'lerden çok daha düşük olduğu bildirilmiştir. U-LMS'lerin çoğunluğu ÖR için en azından fokal pozitif boyama sergilemiştir. Bununla birlikte, alt torasik vertebral bölgede soliter tümörü olan ve hiçbir primer U-LMS'si olmayan 61 yaşında bir kadın hastada, yoğun, diffüz ÖR ve PR immün boyanması mevcuttu. Bu hastanın uterin fibroid için daha önce histerektomi yapılmış olması nedeniyle yazarlar tarafından tanısı konmamış bir uterin LMS'si olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, histerektomi numunesinden alınan hematoksilen-eozin boyalı kesitlerin gözden geçirilmesi sonucu sadece leiomyom olduğu ve nüks göstermediği bildirilmiştir (4). Lee ve ark.'larının çalışmasında ise ÖR ile U-LMS'lerin %50'si (51/102), UD-LMS'lerin %3'ü (4/140) pozitif boyanmıştır. ÖR boyanması, primer veya metastatik bölgelerde orijinin jinekolojik olduğunu %94 spesifite ile gösterdiği bildirilmiştir. Buna destek olacak şekilde, gen ekspresyonu profillemesi çalışmasında, 17 U-LMS'nin 9'unda (%53), 26 UD-LMS'nin ise sadece 1'inde (%4) ESR1 ekspresyon düzeyleri gözlemlenmiştir (5). Carvalho ve arkadaşlarının çalışmasında, 30 uterin ve 48 uterus dışı tümör ele alınmış, U-LMS'de ÖR %63 (19/30) pozitif bulunmuştur. On altı adet retroperitoneal LMS'nin erkeklerde %22'si (2/9) ÖR ile pozitifken (boyama yoğunluğu zayıf), kadınlarda izlenenlerin ise %86'sı (6/7) ÖR için pozitif. Uterus dışı, retroperitoneal olmayan LMS'ler arasında, ÖR pozitifliği

sıklığında da bir kadın üstünlüğü vardı. Genel olarak, 48 UD-LMS'de, % 23 (11 olgu) ÖR pozitifliği (57). Bizim çalışmamızda ise ÖR ile U-LMS olgularının 14'ü (%48), UD-LMS olgularının ise 5'i (%12) pozitifliği (p:0,0005). UD-LMS grubunda erkek ve kadın olgular kendi aralarında karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (p>0,05). Bu bulgu U-LMS'lerin tanımlanmasında literatürle uyumlu olarak ÖR'nin yararlanılabilecek bir belirleyici olduğunu desteklemiştir. Özellikle histerektomi öyküsü olan, retroperitoneal yerleşimli yüksek dereceli bir LMS olgusu ile karşılaştırıldığında, bunun uterusun bir LMS nüksü olabileceği olasılığının tanımlanmasında ÖR'den yararlanılabilir. Ancak nadir de olsa ÖR'nin UD-LMS'lerde de pozitif olabileceğini akılda tutmak gerekir.

Kelly ve arkadaşlarının çalışmasında PR ile 15 U-LMS olgusunun 12'sinde (%80), 16 UD-LMS olgusunun sadece 2 kadın olgusunda (%13) boyanma izlenmiştir. PR'yi güçlü bir şekilde ekspresyon eden UD-LMS'ler olduğu, ancak boyama sıklığının U-LMS'lerden çok daha düşük olduğu bildirilmiştir. UD-LMS'lerin çoğunun PR ifade etmediği belirtilmiştir (4). Carvalho ve ark.'larının çalışmasında ise PR, U-LMS'lerin %73'ünde (22/30) pozitifliği ve boyanma yoğunluğu her zaman zayıftı. Erkeklerde izlenen retroperitoneal LMS'lerde PR %33 olguda (3/9) pozitifliği ve boyanma yoğunluğu her zaman zayıftı. Kadınlarda retroperitoneal LMS'lerin ise % 86'sı (6/7) PR ile pozitifliği. Uterus dışı, retroperitoneal olmayan LMS olgularında PR pozitifliği kadın olgularda daha sıkı. Genel olarak, 48 UD-LMS'de, % 29 (14 olgu) PR pozitifliği. Her ne kadar UD-LMS'de PR ekspresyon oranı, diğerlerinin bildirdiğinden daha yüksek olsa da, bu çalışmada tümörlerin çoğunluğu sadece zayıf pozitif bulunmuştur (57). Bizim çalışmamızda PR ile U-LMS olgularının 18'i (%62), UD-LMS olgularının ise 9'u (%21) pozitifliği (p:0,0005). UD-LMS olguları kadın ve erkek cinsiyetine göre kendi aralarında karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (p>0,05). Bu bulgular uterusun LMS'lerin tanımlanmasında PR'nin, ÖR ile benzer şekilde, yararlanılabilecek bir belirleyici olduğunu desteklemektedir.

Genitoüriner sistemin gelişmesinde rol alan Wilms tümör geni olan WT-1, son zamanlarda müllerian farklılaşma için yol gösterici olarak tanımlanmaktadır. Lee ve ark.'larının çalışmasında WT-1'in, UD-LMS'lerin hiçbirinde boyanmazken, U-LMS'lerin %8'inde (8/98) nükleer boyandığı; U-LMS'lerin %55'inde (54/98) ve

UD-LMS'lerin %52'sinde (68/131) ise pozitif sitoplazmik boyanma gösterdiği saptanmıştır (5, 58). Daha önce yapılan Bing ve ark.'larının çalışmasında, aynı anti-WT-1 antikorunu kullanılmış, U-LMS'lerin %64'ünde (16/25), UD-LMS'lerin %58'inde (14/24) ağırlıklı olarak sitoplazmik immün boyanma paterni rapor etmişlerdir (58) Carvalho ve ark.'larının çalışmasında 30 uterin ve 48 uterus dışı LMS ele alınmış, nükleer WT-1 boyanması sadece kadınlarda ve ÖR pozitif retroperitoneal ve uterus tümörlerinde saptanmıştır (sırasıyla % 43 (3/7) ve %23 (7/30)). Bu nedenle, nükleer WT-1 ekspresyonu, kadınlarda belli bir grup tümörlerde, muhtemel müllerian olan ortak bir tümör alt kümesini tanımlamaktadır. Bizim çalışmamızda nükleer boyanan olguların tamamı sitoplazmik boyanma da gösterdiğinden sitoplazmik ve nükleer boyanan olgular birlikte ele alınmıştır. WT-1 ile U-LMS olgularının 10'u (% 34), UD-LMS olgularının ise 15'i (% 36) pozitif. Daha önceki çalışmaların tersine, U-LMS ve UD-LMS'ler arasında WT-1 boyanma farkı anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

U-LMS olgularında EMMPRIN'in ekspresyonunun, leiomyom ve varyantlarına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Her ne kadar nadiren leiomyom varyantlarında da EMMPRIN pozitifliği saptansa da, EMMPRIN'in diffüz pozitifliğinin LMS tanısını destekleyebileceği bildirilmiştir (55). Bizim çalışmamızda EMMPRIN ile U-LMS olgularının 20'si (% 69), UD-LMS olgularının ise 19'u (%45) pozitif ( $p=0,048$ ). Her ne kadar bizim çalışmamızda fark anlamlı çıksa da bu ayırımın araştırıldığı ilk çalışma olması nedeniyle UD-LMS'lerin uterus kaynaklı LMS'lerden ayırımında kullanılması için daha geniş serilerde araştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Carvalho ve ark.'larının kas belirleyicilerini ele aldıkları çalışmasında 30 uterin ve 48 uterus dışı tümör değerlendirilmiştir. UD-LMS'lerin % 100'ü ve U-LMS'lerin % 87'si (26/30) SMA ile pozitif saptanmıştır. Tüm LMS'lerin %73'ünde (57/78) desmin, % 88'inde (69/88) kalponin pozitif bulunmuştur. Kaldesmonun ise tüm LMS olgularının %66'sında (51/78) ve U-LMS'lerin %67'sinde (20/30) pozitif olduğu saptanmıştır. Kas belirteçleri arasında SMA, tüm LMS'ler için en duyarlı antikor olarak belirtilmiştir. Tüm anatomik alt tiplerde desmin ifade edilmesine rağmen, kadınlarda uterus %83 (24/30) ve retroperitoneal tümörlerde %86 (6/7) ile en yüksek pozitiflik saptanmıştır (57). Demicco ve ark.'larının U-LMS ve UD-LMS olguları ile

yaptığı çalışmada SMA'nın olguların yaklaşık %90'ında boyandığı izlenmiştir. Aynı çalışmada desmin, orta derecede farklılaşmış tümörlerde en değerli bağımsız sağkalım belirleyicisi ve ilk metastaz zamanı için tek anlamlı belirleyici olarak tanımlanmıştır. Retroperitoneal tümörler için, özellikle de kadınlarda diğer belirteçlere (SMA, kalponin, ÖR, PR, WT-1, desmin) göre desmin, en duyarlı belirleyici olarak bulundu. Kaldesmonun genellikle retroperitoneal tümörlerde en yüksek ekspresyon oranına sahip olduğu ve retroperitoneal olmayan LMS'lerin bu belirteci az da olsa eksprese ettiği belirtilmiş olup kas farklılaşma belirteçlerinin kaybının tümörün diferansiyasyon kaybı ile doğru orantılı olduğu sonucuna varıldı (59). Gupta ve ark.'larının renal leiomyom ve LMS olgularını içeren çalışmasında LMS'lerin tamamında kalponin ile boyanma saptanmıştır (60). Bizim çalışmamızda SMA ile U-LMS olgularının 28'i (%96), UD-LMS olgularının ise 37'si (%88) pozitif. Olguların büyük kısmında boyanma yüzdeleri yüksek olup, U-LMS ve UD-LMS olgularının SMA boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Çalışmamızda LMS'lerde yüksek oranda boyanması beklenen SMA'da gözlenen kaybın, kötü diferansiye tümör alanlarından kaynaklandığı düşünüldü. Bizim çalışmamızda desmin ile U-LMS olgularının 23'ü (%79), UD-LMS olgularının ise 21'i (%50) pozitif ( $p=0,012$ ). Farkın Carvalho'nun çalışması ile benzer şekilde U-LMS'lerin yüksek desmin boyanma oranından kaynaklandığı düşünüldü (57). Yine çalışmamızda kaldesmon ile U-LMS olgularının 20'si (%69), UD-LMS olgularının ise 37'si (%88) pozitif ( $p=0,046$ ). Carvalho'nun çalışması ile karşılaştırıldığında çalışmamızda UD-LMS'lerde kadın cinsiyetin fark oluşturmadığı, ancak uterus dışı yerleşimli tümörlerde kaldesmonun fazla oranda boyandığı dikkati çekti. Çalışmamızda U-LMS olgularının 19' u (%65) pozitif, UD-LMS olgularının ise 18'i (% 43) pozitif. U-LMS ve UD-LMS'lerin kalponin ile boyanma farkı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Jeffers'in uterin tümörlerdeki c-myc boyanması ile ilgili çalışmasında tüm leiomyomlarda ve bir LMS'de perinükleer bir bölgeyle sınırlı, bir kısım LMS'de yaygın sitoplazmik boyama görüldü. C-myc pozitif ve negatif LMS olguları arasında mitotik hızda veya sağkalımda anlamlı bir fark yoktu (61). Tsiatis ve ark.'larının çalışmasında, 28 yumuşak doku LMS olgusunun 15'i Tsiatis ve ark.'larının çalışmasında, 28 yumuşak doku LMS olgusunun 15'i (%54) c-myc ile pozitif. C-

myc pozitif tümörleri olan olgular, c-myc negatif tümörler ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha kısa metastazsız sağkalım sürelerine sahip olduğu saptandı. C-myc pozitifliği ayrıca genel sağkalım azalması ve metastaz artışı ile de korele idi. Bu çalışmada LMS'lerde nükleer c-myc tespitinin, genel prognostik değişkenlerden, tümör boyutundan, histolojik dereceden ve TNM evresinden bağımsız olarak, genel ve metastazsız sağkalımın azalmasını öngördüğü tespit edildi (53). Bizim çalışmamızda ise c-myc ile U-LMS olgularının 3'ü (%10), UD-LMS olgularının ise 14'ü (%33) pozitif. UD-LMS olgularında daha yüksek oranda c-myc boyanması saptandı (p=0,02). Daha önce prognoz ve sağkalım için anlamlı gösterilen bu belirtecin, UD- LMS'lerde daha fazla pozitiflik gösterdiğini bulduk.

Gökarslan'ın çalışması düz kas tümörlerinde diğer belirteçlerle birlikte PTEN değerlendirilen ilk çalışma olup, tamamında yaygın PTEN boyanması mevcuttu. LMS, leiomyom ve STUMP grupları arasında fark gözlenmemiştir. Bu çalışmada, PTEN mutasyonlarının endometrioid tip karsinom komponentleri ile uterin karsinosarkomların oluşumunda rol oynadığı, ancak nadiren U-LMS'nin patogenezinde katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir (62). George ve ark.'larının yumuşak doku ve U-LMS'leri içeren çalışmasında PTEN mutasyonlarının herhangi bir bölgenin LMS'sinde görülebildiğini saptamışlardır (6). Bizim çalışmamızda PTEN ile U-LMS olgularının 17'si (%59), UD-LMS olgularının ise 34'ü (%81) pozitif. George'nin PTEN mutasyonunun LMS' nin kaynaklandığı bölgeyi öngöremeyeceği sonucuna karşın bizim çalışmamızda UD-LMS olguları PTEN ile daha yüksek oranda boyandı (p=0,039).

Zhai ve ark.'larının çalışmasında benign uterin düz kas tümörlerinde (uterin leiomyomlar, sellüler ve bizar leiomyomlar, STUMP), normal myometrium veya LMS'lerde olduğundan daha güçlü bir bcl-2 ekspresyonu olduğu gözlenmiştir. Bcl-2, 21 LMS olgusunun 9'unda (%43) kısmen pozitif, 3'ünde (%14) yaygın olarak pozitif, 9'unda(%43) negatif olarak gözlenmiştir. Bcl-2 ekspresyonu daha uzun hastalıklı sağkalım ile korele bulunmuştur (47). Bodner'in çalışmasında, Zhai'ninkine benzer şekilde, LMS veya STUMP ile karşılaştırıldığında bcl-2'nin leiomyomlarda daha sık ve güçlü eksprese olduğu saptanmıştır. U-LMS olgularının ise, bcl-2 pozitif olanlarının daha az vasküler invazyon ve daha uzun genel sağkalım gösterdiği belirtilmiştir. Bu nedenle bu proteinin iyi bir prognostik faktör olarak etki

edebileceği ifade edilmiştir (48). De Graaff'ın LMS hastalarındaki bcl2'nin kemoterapiye etkisiyle ilgili çalışmasında ise iyi huylu uterin düz kas tümörlerine kıyasla LMS'lerde yüksek bcl-xL ve bcl-w protein ekspresyonu gösterilmiştir. Bu çalışmada daha kısa sağkalım ile yüksek bcl-2 ifadesi arasında bir ilişki gözlemlenmiş olup önceki çalışmalardan farklı sonuca varılmasının, sadece üç U-LMS içeren seride uterin ve yumuşak doku LMS'leri arasındaki biyolojik davranış farklılığından kaynaklanıyor olabileceği ileri sürülmüştür (49). Bizim çalışmamızda ise Bcl-2 ile 29 U-LMS olgusunun 20'si (%69) pozitif, 9'u (%31) negatif olup UD-LMS olgularının ise 20'si (%48) pozitif, 22'si (%52) negatifti. U-LMS ve UD-LMS olgularındaki Bcl-2 boyanması kıyaslandı ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Rao ve ark.'larının çalışmasında U-LMS'lerde P53 gen mutasyonu bulunmuştur. Daha çok, ileri evre ve yüksek risk grubundaki yumuşak doku sarkomlarında görülmektedir (46). MDM2'nin abartılı üretimi, p53'e bağlanarak onu inaktive eder. MDM2, 20 dakika gibi bir yarı ömre sahiptir ve genellikle immünohistokimyasal olarak gösterilemez. MDM2'nin etkisine p53'den bağımsız bir yoldan aracılık edilebileceği öne sürülmüş olmakla beraber MDM2 için bilgi veren olgu sayılarının küçüklüğü nedeniyle kesin sonuçlara ulaşılamamıştır. Buna rağmen Rao ve ark.'larının çalışmasında, MDM2 amplifikasyonunun UD-LMS'ler ile ilişkili olduğu bulunmuştur (46). Zhai ve ark.'larının çalışmasında ise bcl-2 ekspresyonu ile p53 mutasyonu arasında güçlü bir negatif korelasyon bulunmuş olup, U-LMS olgularında klinik evre ile p53 mutasyonu arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır (47). Çalışmamızda P53 ile 29 U-LMS olgusunun 4'ü (%14) mutant, 25'i (%86) wild tip boyandı. UD-LMS olgularının ise 7'si (%17) mutant, 35'i (%83) wild tip boyandı. Uterin ve UD-LMS olguları arasında p53 boyanmasında ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

P16 ve p53'ün çok sayıda primer jinekolojik düz kas tümöründe malign ve benign tümörlerin ayırt edilmesinde faydalı olabileceği gösterilmiştir (5). Bodner ve ark.'larının yaptığı çalışmada LMS'nin, leiomyom ve STUMP olgularından daha fazla p16 ile boyanma gösterdiği bildirilmiştir (38). Çalışmamızda olguların 48'i (%68) p16 ile boyanma göstermiş olup, pozitiflerin 32'si (%67) UD-LMS'lerdi.

Ancak uterin ve UD-LMS'ler arasındaki p16 boyanma farkı anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Rao ve ark.'larının çalışmasında, siklin D1'in abartılı boyanmasının bir dizi malign tümörde tanımlanan gen amplifikasyonu, kromozomal translokasyon ve retroviral entegrasyona bağlı olduğu, siklin D1 ve CDK4 amplifikasyonunun sarkomların küçük bir kısmında gözleendiği bildirilmiştir. Rb-siklin D1 yolağının yumuşak doku LMS'lerinde moleküler anormallikler için spesifik bir hedef olduğu ve siklin D1 fazla boyanmasının, hücre proliferasyonunun Rb aracılı inhibisyonunu atlamak için alternatif bir mekanizma olabileceği düşünülmektedir. Uterin ve UD-LMS olgularının incelendiği bu çalışmada UD-LMS olgularının yaklaşık %50'si, U-LMS olgularının ise % 30'u siklin D1 pozitifdir. ÖR ile negatif olan UD-LMS olgularında siklin D1 ile pozitiflik daha fazla görülmüştür (46). Lee ve ark.'larının çeşitli uterus tümörlerindeki siklin D1 boyanmasını gösteren çalışmasında ise 80 U-LMS olgusunun sadece bir tanesinde boyanma gözlenmiştir (63). Bizim çalışmamızda siklin D1 ile U-LMS olgularının 8'i (%28), UD-LMS olgularının ise 22'si (% 52) pozitifdir. U-LMS ve UD-LMS olguları arasında siklin D1 boyanma farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p:0,037$ ). Farkın Rao ve ark.'larının çalışması ile benzer şekilde UD-LMS olgularının uterin yerleşimlilerden daha yüksek oranda siklin D1 boyanmasından kaynaklandığı sonucuna varıldı. Bunun yanında çalışmamızda LMS olgularının 15'i (%21) CDK4 ile pozitifdir. U-LMS ve UD-LMS olguları arasında CDK4 boyanmasında ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Maekawa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, FOXM1 ekspresyonu, LMS hastalarında sağkalım için kötü prognoz ile korele bulundu (54). Çalışmamızda olguların 61'inde (%86) FOXM1 ile boyanma gözlenmiş olup, uterin ve UD-LMS'lerin ayırımına katkı sağlamadığı gözleendi ( $p>0,05$ ).

Wang ve ark.'larının (64) çalışmasında LMS olgularının %75'inde (12/16), Arber ve ark.'larının (65) ise 6 LMS olgusunun 4'ünde zayıf c-kit pozitifliği gözlenmiştir. Buna karşın Hornick ve ark.'larının (66) 10'u uterin 40 LMS olgusunun, Oliva ve ark.'larının (67) 9 LMS olgusunun hiçbirinde boyanma bildirilmemiştir. Özçelik ve ark.'larının çalışmasında LMS olgularının 10'unda (%60), leiomyomların 1'inde (%10) CD117 boyandığı gözlenmiştir. (68). Raspellini

ve ark.'larının çalışmasında 32 U-LMS olgusunun 17'sinde (%53) c-kit ile boyanma gözlenmiştir (69). Bizim olgularımızın toplam 8'i (%11) CD117 boyanmış olup, uterin ve uterus dışı LMS'ler arasında boyanma farkı anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Hücre motilitesi kanserin invazyonu ve metastazında önemli bir faktör olduğundan, fascin ekspresyonu genellikle bu tümörlerde yüksek derece, yaygın invazyon veya metastaz ile ilişkilidir. Uterin LMS'yi leiomyom ve varyantlarından ayırmada güvenilir bir immünohistokimyasal belirteç olarak işlev görebilir ve problemlili olguların tanısında histolojik kriterlerle birlikte yardımcı olabilir (37). Çalışmamızda olguların 49'unda (%69) fascin ile boyanma gözlenmiş olup, U-LMS olgularının 18'i (%62) pozitif iken 11'i (%38) negatifti. Kırk iki UD-LMS olgusunun ise 31'i (%74'i) pozitif, 11'i (%26) negatifti. Bu antikorun uterin ve UD-LMS'lerin ayırımına katkı sağlamadığı gözlemlendi ( $p>0,05$ ).



## 6. SONUÇLAR

1. U-LMS'de ortalama yaş 52,5 iken UD-LMS olgularında ise 60 idi. U-LMS'ler daha genç yaşlarda görülmekte olup her iki grup arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlıydı.
2. UD-LMS olgularında, cinsiyetlere göre yaş ortalamaları arasında anlamlı fark yoktu.
3. U-LMS olguları ile UD-LMS olgularında ÖR, PR, desmin ile izlenen boyanma farkı anlamlı bulundu. Ortaya çıkan fark, U-LMS olgularının UD-LMS olgularından yüksek oranda boyanmasından kaynaklanmaktaydı. Bu üç belirleyicinin, LMS olgusu ile karşı karşıya kalındığında, uterin orijini desteklediği sonucuna varıldı.
4. U-LMS olguları ile UD-LMS olgularında EMMPRIN ile izlenen boyanma farkı anlamlı bulundu. Ortaya çıkan fark, U-LMS olgularının UD-LMS olgularından yüksek oranda boyanmasından kaynaklanmaktaydı. Ancak kadın UD-LMS olguları ile U-LMS olguları iki grup halinde kıyaslandığında, gruplar arasındaki boyanma farkının anlamsız çıkması, UD-LMS olgusu ile karşılaşıldığında kökenin uterin olduğunu destekleme konusunda güçlü bir belirleyici olmadığını düşündürdü.
5. U-LMS olguları ile UD-LMS olgularında kaldesmon, c-myc, siklin D1, PTEN ile izlenen boyanma farkı anlamlı bulundu. Ortaya çıkan farkın UD-LMS olgularının, U-LMS olgularından yüksek oranda boyanmasından kaynaklandığı sonucuna varıldı. UD-LMS'lerin bu anlamda gerek taşıdıkları hücre iskelet proteinleri (kaldesmon), gerek tümörigenez mekanizmaları (PTEN, siklin D1), gerekse de prognostik belirleyiciler (c-myc) açısından farklı bir patobiyolojiye sahip oldukları düşünüldü.
6. Uterin ve UD-LMS olguları arasında kalponin, SMA, fascin, FOXM1, CD117, bcl-2, p16, p53, WT-1, CDK4, c-erb-B2, PAX8, MDM2 boyanmasında ortaya çıkan farkın istatistiksel olarak anlamlı olmaması nedeniyle, ayrımda yardımcı olmadıkları sonucuna varıldı. C-erb-b2, PAX8 ve MDM2 ile LMS olgularının hiçbirinde boyanma gözlenmedi. Özellikle retroperitoneal yerleşimli, kadın LMS'li olgularda immünohistokimya ile uterin ve UD-LMS ayırıcı tanısı yapılırken maliyet-etkin planlamada bu sonucun göz önünde bulundurulması gerektiği düşünüldü.

7. Hormon reseptörlerinin U-LMS'leri desteklemekle birlikte mülleriyan orijinli UD-LMS'lerde (peritoneal ve retroperitoneal) de pozitif bulunabileceği akılda tutulmalıdır.



## 7. KAYNAKLAR

1. Guo, X., et al., Clinically relevant molecular subtypes in leiomyosarcoma. *Clinical Cancer Research*, 2015; 21(15): p. 3501-11.
2. Crum, C.P., et al. , Diagnostic gynecologic and obstetric pathology., Elsevier, 2017.
3. Toledo, G., Oliva, E., Smooth muscle tumors of the uterus: a practical approach. *Archives of Pathology Laboratory Medicine*, 2008; p. 595-605.
4. Kelley, T.W., Borden, E.C., Goldblum , J.R., Estrogen and progesterone receptor expression in uterine and extrauterine leiomyosarcomas: an immunohistochemical study. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 2004; 12(4): p. 338-41.
5. Lee, C.H., et al., A panel of antibodies to determine site of origin and malignancy in smooth muscle tumors. *Modern Pathology*, 2009; 22(12): p. 1519-31.
6. George, S., et al., Soft Tissue and Uterine Leiomyosarcoma. *Journal Clinical Oncology*, 2018; 36(2): p. 144-150.
7. Farid, M., et al., The influence of primary site on outcomes in leiomyosarcoma: a review of clinicopathologic differences between uterine and extrauterine disease. *American Journal of Clinical Oncology*, 2013; 36(4): p. 368-74.
8. Fisher, C., Montgomery,E.A.,Thway, K., Biopsy Interpretation of Soft Tissue Tumors. Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
9. Kaysali H, S.G., Tasyürekli M., İnsan embriyolojisi. 1992.
10. Ehrmann, R.L. In histology dating of the endometrium, *J. reprod. Med.* 3: 179-200, 1969.
11. Junqueira, L.C., Carneiro, J., Basic histology. New York, McGraw-Hill, 2003.
12. Kurman, R.J., Carcangiu, M.L., Herrington, C.S., Young, R.H., WHO classification of tumours of female reproductive organs. Vol. 6. 2014, France: IARC.
13. Kefeli, M., et al., Leiomyoma with bizarre nuclei: clinical and pathologic features of 30 patients. *International Journal Gynecological Pathology*, 2018; 37(4): p. 379-387.
14. Abell, M.R. and E.R. Littler, Benign metastasizing uterine leiomyoma: multiple lymph nodal metastases. *Cancer*, 1975; 36(6): p. 2206-13.

15. Solomon, L.A., et al., Clinical update of smooth muscle tumors of the uterus. *Journal of Minimally Invasive Gynecol*, 2005; 12(5): p. 401-8.
16. Leibsohn, S., et al., Leiomyosarcoma in a series of hysterectomies performed for presumed uterine leiomyomas. *American Journal Obstetrics and Gynecology*, 1990; 162(4): p. 968-74; discussion 974-6.
17. Kobayashi, H., et al., The biology of uterine sarcomas: A review and update. *Molecular and clinical oncology*, 2013;1(4): p. 599-609.
18. H.J. Norris and Taylor, H.B., Mesenchymal tumors of the uterus. A clinical and pathological study of 53 endometrial stromal tumors. *Cancer*, 1966; 19(6): p. 755-766.
19. Gudgeon, D.H., Leiomyosarcoma of the uterus. *Obstet Gynecol*, 1968; 32(1): p. 96-100.
20. Akhan, S.E., et al., The expression of Ki-67, p53, estrogen and progesterone receptors affecting survival in uterine leiomyosarcomas. A clinicopathologic study. *Gynecologic Oncology*, 2005; 99(1): p. 36-42.
21. Kempson, R.L. and W. Bari, Uterine sarcomas. Classification, diagnosis, and prognosis. *Hum Pathol*, 1970; 1(3): p. 331-49.
22. Van Dinh, T. and Woodruff J.D., Leiomyosarcoma of the uterus. *American Journal of Obstetric Gynecology*, 1982; 144(7): p. 817-23.
23. O'Connor, D.M. and Norris H.J., Mitotically active leiomyomas of the uterus. *Human Pathology*, 1990. 21(2): p. 223-7.
24. Mittal, K.R., et al., Molecular and immunohistochemical evidence for the origin of uterine leiomyosarcomas from associated leiomyoma and symplastic leiomyoma-like areas. *Modern Pathology*, 2009; 22(10): p. 1303-11.
25. Reed, N.S., et al., Phase III randomised study to evaluate the role of adjuvant pelvic radiotherapy in the treatment of uterine sarcomas stages I and II: an european organisation for research and treatment of cancer gynaecological cancer group study (protocol 55874). *European Journal of Cancer*, 2008; 44(6): p. 808-18.
26. Hensley, M.L., et al., Gemcitabine and docetaxel in patients with unresectable leiomyosarcoma: results of a phase II trial. *Journal Clinical Oncology*, 2002; 20(12): p. 2824-31.

27. Goldblum, J.R.F., Andrew L., Enzinger and Weiss's soft tissue tumors. 6th ed. 2014, Philadelphia, PA Saunders/Elsevier.
28. Fletcher, C.D.M., Bridge, J.A., Hogendoorn, P., Mertens, F., WHO Classification of Tumours, 4th ed, Lyon, IARC Press, 2013.
29. Chu, P., Weiss, L., Modern immunohistochemistry. 2014, United Kingdom Cambridge University Press.
30. Dabbs, D., Diagnostic immunohistochemistry. 3 ed., Elsevier, 2010.
31. Perez-Montiel, M.D., et al., Differential expression of smooth muscle myosin, smooth muscle actin, h-caldesmon, and calponin in the diagnosis of myofibroblastic and smooth muscle lesions of skin and soft tissue. *American Journal of Dermatopathology*, 2006; 28(2): p. 105-11.
32. Aydin, O., et al., CD117 expression in normal, neoplastic, inflammatory, and reactive lesions of the thyroid. *Pathology Research and Practice*, 2008; 204(6), p. 359-65.
33. Liang, J., et al., The C-kit receptor-mediated signal transduction and tumor-related diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 2013; 9(5): p. 435-43.
34. Kubo, T., et al., Uterine epithelioid leiomyosarcoma with c-kit expression and YWHAE gene rearrangement: a case report of a diagnostic pitfall of uterine sarcoma. *Diagnostic Pathology*, 2017; 12(1): p. 26.
35. Rosai, J., Rosai and Ackerman's surgical pathology. 11th ed, Elsevier, 2017.
36. Yildiz, L., et al., Fascin expression in melanocytic lesions of the skin. *Eur J Dermatol*, 2009; 19(5): p. 445-50.
37. Kefeli, M., et al., Fascin expression in uterine smooth muscle tumors. *International Journal Gynecological Pathology*, 2009; 28(4),p. 328-33.
38. Bodner-Adler, B., et al., Expression of p16 protein in patients with uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical analysis. *Gynecologic Oncology*, 2005; 96(1), p. 62-6.
39. Gannon, B.R., Manduch, M. and T.J. Childs, Differential immunoreactivity of p16 in leiomyosarcomas and leiomyoma variants. *International Journal Gynecological Pathology*, 2008; 27(1), p. 68-73.

40. He M, A.S., Benevenia J, et. al., p16 immunohistochemistry as an alternative marker to distinguish atypical lipomatous tumor from deep-seated lipoma. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 2009; 17(1), 51-56.
41. Tacha, D., Zhou, D. and Cheng, L. Expression of PAX8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study. *Applied Immunohistochemistry & Mol Morphoogyl*, 2011; 19(4): p. 293-9.
42. Tong, G.X., et al., Pax8: a marker for carcinoma of Mullerian origin in serous effusions. *Diagnostic Cytopathology*, 2011; 39(8): p. 567-74.
43. El-Hafez, A.A., A., Shawky E.A., and Hasan B., Cyclin D1 overexpression associates with favourable prognostic factors in invasive breast carcinoma. *Cancer Biomark*, 2013; 12(4-5): p. 149-54.
44. Shih, L.C., et al., Association of cyclin D1 genotypes with nasopharyngeal carcinoma risk. *Anticancer Research*, 2012; 32(3): p. 1093-8.
45. Vasef, M.A., et al., Expression of cyclin D1 in parathyroid carcinomas, adenomas, and hyperplasias: a paraffin immunohistochemical study. *Modern Pathology*, 1999; 12(4): p. 412-6.
46. Rao, U.N., Finkelstein S.D., MW Jones, Comparative immunohistochemical and molecular analysis of uterine and extrauterine leiomyosarcomas. *Modern pathology*, 1999; 12(11),1001-09.
47. Zhai, Y.L., et al., Prognostic significance of bcl-2 expression in leiomyosarcoma of the uterus. *British Journal of Cancer*, 1999; 80(10): p. 1658-64.
48. Bodner, K., et al., Bcl-2 receptor expression in patients with uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical analysis comparing leiomyoma, uterine smooth muscle tumor of uncertain malignant potential, and leiomyosarcoma. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 2004; 11(3): p. 187-91.
49. De Graaff, M.A., et al., Inhibition of Bcl-2 family members sensitises soft tissue leiomyosarcomas to chemotherapy. *British Journal of Cancer*, 2016; 114(11): p. 1219-26.
50. Ton, O., Basaran, S., Kabukcuoglu F., The correlation of c-ErbB-2 (Her-2/Neu) and p53 expressions with prognostic parameters in patients with gastric carcinoma. *Turkiye Klinikleri Journal Medical Sciences*, 2009; 31(3), 575.

51. Kim, S.M., et al., Metastatic leiomyosarcoma in the oral cavity: case report with protein expression profiles. *Journal of Craniomaxillofacial Surgery*, 2009; 37(8): p. 454-60.
52. Tsuyoshi, H. and Y. Yoshida, Molecular biomarkers for uterine leiomyosarcoma and endometrial stromal sarcoma. *Cancer Sci*, 2018; 109(6): p. 1743-52.
53. Tsiatis, A.C., et al., Prognostic significance of c-Myc expression in soft tissue leiomyosarcoma. *Modern Pathology*, 2009; 22(11): p. 1432-8.
54. Maekawa, A., Kohashi, K., Setsu, N. et al., Expression of Forkhead box M1 in soft tissue leiomyosarcoma: Clinicopathologic and in vitro study using a newly established cell line. *Cancer Sci*, 2016; 107(1), 95-102.
55. Kefeli, M., et al., EMMPRIN (CD147) Expression in Smooth Muscle Tumors of the Uterus. *International Journal Gynecological Pathology*, 2016; 35(1): p. 1-7.
56. Posligua, L., et al., Low-grade smooth muscle tumors of the primary and the secondary mullerian system: a proposed concept of multicentricity. *International Journal of Gynecological Pathology*, 2012. 31(6), p. 547-55.
57. Carvalho, J.C., Thomas, D.G. and Lucas, D.R., Cluster analysis of immunohistochemical markers in leiomyosarcoma delineates specific anatomic and gender subgroups. *Cancer*, 2009. 115(18): p. 4186-95.
58. Bing, Z., et al., Cytoplasmic overexpression of WT-1 in gastrointestinal stromal tumor and other soft tissue tumors. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 2008; 16(4): p. 316-21.
59. Demicco, E.G., et al., Progressive loss of myogenic differentiation in leiomyosarcoma has prognostic value. *Histopathology*, 2015; 66(5): 627-38.
60. Gupta, S., et al., Renal Leiomyoma and Leiomyosarcoma: A Study of 57 Cases. *American Journal Surgical Pathology*, 2016; 40(11): p. 1557-1563.
61. Jeffers, M.D., Richmond, J.A. and Macaulay, E.M., Overexpression of the c-myc proto-oncogene occurs frequently in uterine sarcomas. *Modern Pathology*, 1995; 8(7): p. 701-4.
62. Gokaslan, H., et al., Differential diagnosis of smooth muscle tumors utilizing p53, pTEN and Ki-67 expression with estrogen and progesterone receptors. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 2005; 59(1): p. 36-40.

63. Lee, C.H., et al., Cyclin D1 as a diagnostic immunomarker for endometrial stromal sarcoma with YWHAE-FAM22 rearrangement. *American Journal of Surgical Pathology*, 2012; 36(10): p. 1562-1570.
64. Wang, L., Felix, J. C., Lee, J. L., Tan, P. Y., Tourgeman, D. E., T O'Meara, A., & Amezcuca, C. A. , The proto-oncogene c-kit is expressed in leiomyosarcomas of the uterus. *Gynecologic oncology*, 2003; 90(2): p. 402-406.
65. Arber, D.A., Tamayo, R., & Weiss, L. M. Paraffin section detection of the c-kit gene product (CD 117) in human tissues: value in the diagnosis of mast cell disorders. *Human pathology*, 1998; 29(5): p. 498-504.
66. Hornick, J.L., & Fletcher, C. D., Immunohistochemical staining for KIT (CD117) in soft tissue sarcomas is very limited in distribution. *American journal of clinical pathology*, 2002; 117(2); p. 188-193.
67. Oliva, E., et al., An immunohistochemical analysis of endometrial stromal and smooth muscle tumors of the uterus: a study of 54 cases emphasizing the importance of using a panel because of overlap in immunoreactivity for individual antibodies. *The American Journal Surgical Pathology*, 2002; 26(4): p. 403-12.
68. Ozcelik, B., et al., Uterin Leiomyosarkomlarda C-kit Pozitifliği İle Bcl-2 Artışı Arasındaki İlişki. *Turk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, 2004; 7(2): p.59-65.
69. Raspollini, M.R., et al., c-Kit expression in patients with uterine leiomyosarcomas: a potential alternative therapeutic treatment. *Clinical Cancer Research*, 2004; 10(10): p. 3500-3.