

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OSTEOSARKOM, EWING SARKOMU VE RABDOMİYOSARKOMDA
C-KIT, C-ERB B2 EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK ÖNEMİNİN
ARAŞTIRILMASI VE KLİNİK PARAMETRELERLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Gülay YÜZER

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Bilge BİLGİÇ

İSTANBUL, NİSAN 2008

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-689/30062005

TEŞEKKÜR

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim sırasında yetişmeme, bilgi ve deneyimleriyle katkıda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız Sn. Prof.Dr. Işın Kılıçarslan ve Sn. Prof.Dr. Misten Demiryont'a başta olmak üzere tüm değerli öğretim üyesi hocalarıma, tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen, bana güvenen, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, yeteneklerine ve sabrına hayran olduğum tez danışmanım, Kemik ve Yumuşak Doku Seksiyonu Başkanı Sn. Prof.Dr. Bilge Bilgiç'e, istatistiksel değerlendirmede desteğini esirgemeyip, çalışmaya en sıkıntılı döneminde moral ve ivme kazandıran Sn. Doç.Dr.Nadir Arıcan'a, tezimin teknik aşamalarının hazırlanmasında ve uygulamasında yardımcı olan Sn.Fatma Ay'a, Sn. Hatice Öğüt, Sn.Jülide Hocioğlu'na ve mesai arkadaşlarım ile dostum Kumru Kiroğlu'na ve varlıklarını hep yanımda hissettiğim sevgili annem ve babama...

TEŞEKKÜRLER

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
I- Osteosarkom	3
II- Ewing Sarkomu	11
III- Rabdomiyosarkom	15
IV- Çalışmada kullanılan belirleyicilere ait genel bilgiler	24
1- C-kit antikoru	24
2- C-erb B2 antikoru	26
GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
BULGULAR	34
RESİMLER.....	52
TARTIŞMA.....	60
SONUÇLAR.....	71
ÖZET	76
KAYNAKLAR.....	77

GİRİŞ VE AMAÇ

Osteosarkom (OS) en sık görülen nonhemopoetik primer malign kemik tümörü olup, yıllık görülme insidansı 2/1.000.000'dir (1, 2). Genel olarak primer malign kemik tümörlerinin yaklaşık %20'sini, çocukluk çağı malign kemik tümörlerinin ise %56'sını oluşturmaktadır (3, 4).

OS'lerin tedavisinde cerrahi ve kemoterapinin birlikte kullanımı kür ve sağkalım oranlarında belirgin artışa sebep olmuştur. Son 30 yılda 5 yıllık sağkalım %10'dan %70'e yükselmiştir (5, 6, 7). Agresif tedaviyle birlikte, metastatik olgularda 5 yıllık sağkalım %40'a ulaşmıştır (5, 6).

Ewing sarkomu (ES) çocukluk çağı ve genç erişkin döneminde OS'nin ardından en sık görülen ikinci malign kemik tümörüdür. Primer malign kemik tümörlerinin %10-15'ini oluşturmaktadır. Tüm yaş gruplarında yıllık insidansı 0.6/1.000.000'dir (8, 9, 10).

ES'lerde tedavi amacıyla cerrahi ve radyoterapinin uygulandığı yıllarda 5 yıllık sağkalım %10'un altındayken, günümüzde kullanılan multimodal tedavi rejimleri sayesinde bu oran nonmetastatik olgularda %60-85'e yükseltilmiştir (11, 12).

Rabdomiyosarkom 15 yaş altındaki çocuklarda en sık görülen yumuşak doku sarkomudur. 45 yaş altında oldukça nadir rastlanmakla beraber adolesan ve genç erişkinlerde de oldukça sık görülmektedir. Mayo Clinic verilerine göre yumuşak doku sarkomlarının %19'unu oluşturmaktadır (13).

1960'lardan itibaren cerrahi, multiajan kemoterapi ve/veya radyoterapiyi kapsayan multidisipliner tedavi yaklaşımlarının benimsenmesiyle, sağ kalım oranında belirgin ilerleme kaydedildi. 1970'te kür oranı %25 civarındayken 1991'de %70'lere yükseldi (14).

Genellikle çocukluk ve genç erişkin döneminde görülen bu grup sarkomlarda, tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen, özellikle metastatik ve nüks olgularda istenilen sağkalım oranlarına ulaşamamıştır. Son yıllarda tümör onkogenezinde rol oynayan genleri hedef alan biyolojik inhibitörlerin tedavi rejimlerine girmesi ve olumlu sonuçlar elde edilmesi üzerine bu tedavi ajanlarını konu alan araştırmalar yapılmaya başlamıştır (15, 16, 17).

Bu biyolojik ajanlardan ilki ATP analogu olan imatinib mezilat (İM) (STI571, gleevec/glivec; Novartis Pharmaceuticals, St Louis) ABL tirozin kinazlar (c-ABL, bcr, ABL), PDGFRα ve c-kit için güçlü ve selektif bir inhibitördür (18, 19, 20, 21, 22, 23). İlk olarak kronik myeloid lösemi (KML) tedavisinde kullanılan İM, son yıllarda metastatik ve inoperabl GİST olgularında giderek artan oranda kullanılmaya başlanmıştır (18, 19, 20)

C-erb B2'nin ekstrasellüler bölgesine karşı geliştirilen monoklonal antikör trastuzumab (Herceptin; Genentech, South San Francisco, CA), c-erb B2 ekspresyonu gösteren meme

karsinomlarının tedavisinde kullanılmaktadır (4, 24, 25, 26, 27).

Çalışmamızın amacı OS, ES, RMS olgularında c-kit, c-erb B2 protein ekspresyonunun varlığını araştırmak, şayet ekspresyon gösteriyor ise klinik parametreler ile ilişkisini ortaya koymak ve prognoz üzerine etkisini belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

I- OSTEOSARKOM

EPİDEMİYOLOJİ VE ETYOLOJİ

Osteosarkom (OS) en sık görülen nonhemopoetik primer malign kemik tümörü olup, yıllık görülme insidansı 2/1.000.000'dir (1, 2). Genel olarak primer malign kemik tümörlerinin yaklaşık %20'sini, çocukluk çağı malign kemik tümörlerinin ise %56'sını oluşturmaktadır (3, 4).

Tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte pik insidansını 2. ve 3. dekatta; kızlarda 16, erkeklerde 18 yaşlarında yapmaktadır. Olguların %75'i 10 ile 30 yaşları arasında ortaya çıkar, 5 yaş altında oldukça nadirdir (1, 2). Erkeklerde kadınlara oranla 1.5 kat daha sık görülmektedir (28).

Yapılan çok sayıda araştırmaya rağmen OS etyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. OS'nin en sık ortaya çıktığı dönemin, kemiklerin hızla büyüdüğü dönemle aynı oluşu, ikisi arasında ilişki olabileceğini düşündürmüştür. Cotterill ve ark.'nın (29) yayınladığı bir çalışmada OS ve ES'nin etyolojisinde uzun boy ve erken pubertal büyümenin etken olabileceği düşünülmüştür.

OS olgularında sıklıkla karşılaşılan travma öyküsünün tümör oluşumunu tetiklediği iddia edilmiştir (2). Radyasyon etkisi detaylı olarak araştırılmış, ancak radyasyona maruz kalınan dönem ile tümörün ortaya çıkışı arasındaki sürenin uzun olduğu olgularda bağlantı kurulamamıştır (30).

Li-Fraumeni sendromu, Beckwith Wiedemann sendromu, Bloom sendromu, Rothmund Thomson sendromu gibi bazı kalıtsal hastalıklarda OS gelişme riski yüksek bulunmuştur (1, 6). Bazı çalışmalarda osteoblastom, osteokondrom gibi neoplastik, Paget hastalığı, kronik osteomyelit, metal protez varlığı gibi nonneoplastik durumların da OS'nin ortaya çıkışına zemin hazırlayabileceği düşünülmüştür (1, 2, 5, 31).

LOKALİZASYON

OS sıklıkla uzun kemiklerin metafizinden kaynaklanır, radyal büyüme paterni gösterip, korteksi ve periostu aşarak yumuşak dokuya ulaşır. Nadiren eklem aralığına invazyon oluşturur. Olguların %56'sı diz çevresine yerleşir; %64'ü distal femur, %4'ü proksimal tibia, %4'ü proksimal fibula, %1'den azı patellayı tutar (2, 5). Daha az sıklıkla kraniyofasiyal kemikler, pelvis ve skapula gibi yassı ve kısa kemiklerde de ortaya çıkabilir. Yassı kemiklerde görülen OS'ler çocukluk çağı ve genç erişkin dönemde nadirdir, insidansları yaşla birlikte artar (32).

OS genellikle tutulan kemiklerin metafizinin medüller bölgesinden kaynaklanmaktadır;

ancak bazen kemik yüzeyinden köken alıp kortekse sınırlı kalabilir veya ekstraskletal olarak ortaya çıkabilir. Kemiklerin yüzeyinden kaynaklanan tümörler (yüksek gradlı yüzeyel OS dışında), medulladan kaynaklananlara göre daha düşük gradlıdır ve daha ileri yaşlarda ortaya çıkmaktadır (5).

KLİNİK ÖZELLİKLER

OS olgularında en tipik klinik semptom haftalar veya aylar öncesinde başlayan, başlangıçta hafif ve zaman zaman hissedilen, daha sonra şiddetini giderek artırıp sürekli hale gelen, analjeziklere yanıtız ağrıdır (5). Ağrının şiddeti tümörün kortekse penetrasyonu, periost irritasyonu ve patolojik kırıkların varlığına göre değişmektedir (33).

Fizik muayenede ağrılı, sıklıkla sert ve gergin kitle saptanır. Kitlenin yüzeyinde eritem, venöz dilatasyon, ödem, ekstremitelerde hareket kısıtlılığı ve fonksiyon kaybı belirlenebilir (1, 5, 32). Patolojik kırıklar daha çok osteolitik olan telenjiektatik OS’de görülür (5)

Laboratuvar bulguları arasında serum alkalen fosfataz (ALP) ve laktik asit dehidrogenaz (LDH) yüksekliği sayılabilir. Tedavi öncesi serum ALP düzeylerinin prognostik öneminin olduğu, yüksek seviyelerinin nüks riskini artırdığı belirtilmiştir (5).

OS olgularında radyolojik görünüm oldukça değişkendir; litik, sklerotik veya mikst lezyonlar şeklinde olabilir (1, 30). En karakteristik görünüm periostun kalkmasına neden olan, metafiziyal yerleşimli, düzensiz sınırlı radyodens lezyondur. Medulladan kortekse doğru büyüyen tümörün, periostu yüzeyden ayırması ve bu alanda kambiyum tabakası tarafından yeni kemik yapımı sonucunda, kenarlarını korteks, periost ve tümörün oluşturduğu Codman üçgeni oldukça tipik bir radyolojik görünümdür. Ancak OS için karakteristik olmayıp, osteomyelit gibi benign durumlarda veya Ewing sarkomu gibi malign tümörlerde de izlenebilir. Batan güneş manzarası da reaktif periostal kemiğin çevreye doğru ışımsal tarzda spiküller oluşturmasıyla meydana getirdiği bir görünümdür (1,5).

Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG) yöntemleri ile yumuşak doku ve eklem penetrasyonları, MRG ile ilave olarak medüller kemiğin etkilenip etkilenmediği ve skip lezyonların varlığı araştırılabilir (1, 5, 33).

Tm99 (Metilen difosfonat ile işaretli Teknesyum) Radyonüklid Kemik Sintigrafisi ve Tl201 (Talyum) Sintigrafisi primer tümörün sistemik yayılımını, multisentrisiteyi, skip metastazları belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (2, 30).

İnvaziv bir yöntem olan anjiyografi sayesinde tümörün vaskülaritesini değerlendirerek, preoperatif kemoterapiye verdiği yanıt belirlenmeye çalışılabilir (33).

MAKROSKOPİK ÖZELLİKLER

OS çoğunlukla metafiziyal yerleşimli, korteksi penetre edip, periostu kaldıran, çevre yumuşak dokulara invazyon oluşturan, 5 cm.'den büyük, sert, solid kitleler oluşturur (2).

Tümörün kesit yüzeyi içerdiği kemik, kırıkdağı komponentine, hücresel stroma ve vasküler yapıların oranına göre değişkenlik gösterir. Bir kısmında gri-beyaz renkli, granüler görünümlü, bir kısmında ise sarı-beyaz renkli sklerotik görünümlü olabilir. Osteoblastik ve kemik yapan formlarda daha sık olmakla üzere kemik, kırıkdağı ve kalsifikasyon odakları içerebilir, psödokapsül yapısı izlenebilir (2, 5).

MİKROSKOPİK ÖZELLİKLER

OS içerdiği malign mezenkimal hücre komponenti ve sarkomatöz osteoblastik hücreler tarafından sentezlenen disorganize kemik veya osteoid komponentinin oranına ve niteliğine bağlı olarak oldukça geniş bir morfolojik spektrum göstermektedir (30). Az miktarda kemik ve osteoid üretiminin olduğu hücresel lezyonlardan oluşabileceği gibi, hücreden fakir, yoğun kalsifiye matrikse sahip alanlardan da meydana gelebilir (5).

Çok çeşitli hücresel varyasyonlarına rağmen pleomorfizm, hiperkromazi ve atipik mitozlar olguların çoğunda belirlenebilen karakteristik hücresel özelliklerdir. Tümörü oluşturan hücreler iğsi, oval-yuvarlak, bizar dev hücreler şeklinde olup, diffüz, psödopapiller, yuvalanmalar tarzında dizilim gösterebilir (5, 32).

OS'nin histolojik alt tiplerinde, farklı histolojik diferansiyasyon alanları izlenmektedir (34). Sarkomatöz komponent osteoblastik, kondroblastik, fibroblastik, malign fibröz histiyositoma benzer şekilde veya dev hücre baskınlığında olabilir (2, 32).

Spesifik immünhistokimyasal (İHK) belirleyicileri olmadığından, OS'de İHK inceleme genellikle ayırıcı tanı gücünü yaşayan olgularda uygulanır, ancak sitokeratin ve düz kas aktin antikoru ile immünreaksiyon gösterebileceği unutulmamalıdır. Anti-CD99 antikoru ile intrasitoplazmik pozitivite saptanabilir, osteokalsin ve osteonektin gibi kemik morfojenik proteinler ile osteoid alanlar vurgulanabilir ((2)).

OSTEOSARKOM ALT TİPLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

OS alt tiplerine yönelik sınıflandırma çalışmaları temelde dayandıkları kriterlere göre farklılıklar göstermektedir (11). Anatomik lokalizasyona (yüzeyel, intrakortikal, ekstraosseöz, epifizyal), radyolojik ve makroskopik görünüşe (telenjektatik), histolojik görünüşe (telenjektatik, küçük hücreli), prognoza (düşük gradlı intraosseöz) ve predispozan faktörlerin varlığına göre (Paget hastalığı, radyasyon maruziyeti, infarkt) çok sayıda osteosarkom alt tipi belirlenmiştir (5,

32, 35). Günümüzde WHO'nun 2002 yılında son şeklini verdiği sınıflama yöntemi kullanılmaktadır (2) (Tablo 1). 2006 yılında Klein ve ark. histolojik paterne ilave olarak anatomik lokalizasyon ve histolojik gradın da değerlendirildiği daha ayrıntılı bir sınıflama sunmuşlardır (1) (Tablo 1).

TABLO 1- OSTEOSARKOM ALT TİPLERİNİN HİSTOLOJİK SINIFLANDIRMASI

WHO (2002) (2)	KLEIN (2006) (1)		
1-Konvansiyonel	1-Santral		
a-Kondroblastik	a-Yüksek gradlı:	b-Düşük gradlı:	
b-Fibroblastik	-Konvansiyonel	-Düşük gradlı santral	
c-Osteoblastik	-Telenjektatik	•Fibröz displazi benzeri	
2-Telenjektatik	-Küçük hücreli	•Desmoplastik fibrom benzeri	
3-Küçük hücreli	-Epiteloid		
4-Düşük gradlı santral	-Osteoblastom benzeri		
5-Sekonder	-Kondroblasom benzeri		
(Paget hastalığı	-Fibrohistiyositik		
postradyasyon)	-Dev hücreli		
6-Parosteal	2-Yüzeyel:		
7-Periosteal	a-Düşük gradlı	b-İntermeyer gradlı	c-Yüksek gradlı
8-Yüksek gradlı yüzeyel	-Parosteal	-Periosteal	-Dediferansiye parosteal
			-Yüksek gradlı yüzeyel
	3-İntrakortikal		
	4-Gnatik		
	5-Ekstraskletal:		
	a-Düşük gradlı	b-Yüksek gradlı	

OSTEOSARKOMLARIN HİSTOLOJİK ALT TİPLERİ

KONVANSİYONEL OSTEOSARKOM

Konvansiyonel tip, OS'lerin en sık görülen alt tipi olup, çoğunlukla 2. dekatta ortaya çıkar. Uzun kemiklerin metafizlerini tutan, primer intramedüller yüksek gradlı bir sarkomdur (1, 5, 32). WHO, tümörde baskın matriks komponentine göre konvansiyonel OS'yi osteoblastik, kondroblastik ve fibroblastik olmak üzere üç ana gruba ayırmıştır (1, 2, 30, 32). Osteoblastik tip, kemik veya osteoid matriksi baskın, değişen oranda küçük yuvarlak hücreler, iğsi hücreler, multinükleer dev hücreler içeren malign plazmasitoid-epiteloid osteoblastlardan oluşmaktadır. Kondroblastik OS'de kondroid matriks, fibroblastik OS'de ise minimal kemik ya da kırıkta matriksin yanısıra, yüksek gradlı iğsi hücreler görülmektedir. Bu üç grubun biyolojik davranışları benzerdir (2).

Bacci ve ark.'nın (36) 1058 OS olgusunu içeren çalışmasında yüksek gradlı OS'lerden fibroblastik ve telenjiektatik varyantların, osteoblastik ve kondroblastik varyantlara göre, preoperatif kemoterapiye daha iyi histolojik yanıt verdiği belirtilmiştir. Ayrıca 5 yıllık sağkalımın da fibroblastik (%83) ve telenjiektatik (%75) varyantlarda, osteoblastik (%62) ve kondroblastik (%60) varyantlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirtilmiştir (36).

Hauben ve ark. (37) tarafından yürütülen, 570 olgunun değerlendirildiği çalışmada da fibroblastik OS olgularının preoperatif kemoterapiye, kondroblastik OS olgularına oranla daha iyi histolojik yanıt verdiği gösterilmiştir. Ancak aynı çalışmada kondroblastik varyantın kötü histolojik yanıtla rağmen, uzun dönem sağkalım takiplerinin daha olumlu seyredebileceği de öne sürülmüştür (37).

TELENJIEKTATİK OSTEOSARKOM

OS'lerin %4'ünü oluşturmaktadır. Klasik klinik semptomlara ek olarak olguların 1/4'ünde patolojik kırıklara rastlanmaktadır (2). Radyolojik olarak, kanla dolu kistik boşlukların, destrüksiyona uğramış kemik yapılarının, litik lezyonların varlığı söz konusudur (1, 2, 32).

Morfolojik olarak gözlenen konjesyone multipl kistik sinüzoidler anevrizmal kemik kistini hatırlatsa da, nükleer pleomorfizm ve yüksek mitoz oranıyla ayırım yapılabilir (1). Yeni tedavi yaklaşımları sayesinde telenjiektatik OS'nin önceki yıllarda konvansiyonel OS'ye göre daha kötü olan prognozunda düzelme kaydedilmiştir (38).

KÜÇÜK HÜCRELİ OSTEOSARKOM

OS'lerin %1.5'ini oluşturan nadir bir alt tipidir (2). Morfolojik olarak küçük hücreli OS osteoid üreten, dar sitoplazmalı, küçük yuvarlak veya iğsi hücrelerden oluşur. Osteoid oluşumu

belirgin değilse küçük yuvarlak hücrelerden oluşan varyantı Ewing sarkomu, daha büyük hücrelerden oluşan varyantı ise büyük hücreli lenfoma ile karışabilir (1, 2).

İmmünohistokimyasal olarak ES'ye benzer şekilde CD99 antikoruna pozitif immünreaksiyon gösterebilir, ancak ES'de belirlenen 11:22 kromozom translokasyonları söz konusu değildir (1,2). Küçük hücreli OS'nin adjuvan kemoterapiye yanıt düşüktür, ES'nin aksine radyoterapiye genellikle duyarlıdır (39).

DÜŞÜK GRADLI SANTRAL OSTEOSARKOM

%1-2'lik görülme sıklığıyla OS'nin nadir alt tiplerindendir . Yoğun fibröz stromaya eşlik eden mikrotaraküler osseöz matriks nedeniyle fibröz displazi gibi benign lezyonlara ve daha sıklıkla düşük gradlı parosteal OS'ye, kemik formasyonundan fakirse desmoplastik fibroma benzerlik gösterebilir (2, 40).

Doğru tanı yoğun skleroz, düzensiz sınırlar, periosteal reaksiyon ve kortikal infarktın izlenebildiği radyolojik görüntüleme yöntemleri ve dikkatli bir histolojik incelemenin birlikte değerlendirilmesiyle konabilir (40). Prognozu konvansiyonel OS'ye göre daha iyi olmakla beraber %15-20 oranında nüks veya sekonder yüksek gradlı sarkom geliştiği bildirilmiştir (2, 41).

PAROSTEAL (JUKSTAKORTİKAL) OSTEOSARKOM

OS'nin %4 oranında görülen, kemik yüzeyinden kaynaklanan düşük gradlı bir alt tipidir. Ortalama görülme yaşı konvansiyonel tipten bir dekat ileridir (1,2).

Olguların %75-80'inde distal posterior femuru tutan kitle belirlenir. Radyolojik olarak kitlenin santral bölümü periferine göre daha radyodens görülür. Sklerotik tümöral kitleyi korteksten ayıran radyolüsen bir çizgi belirlenebilir (2, 5).

Histolojik olarak işsi hücrelerden oluşan hücreden fakir stroma içerisinde, nispeten düzgün şekilli kemik trabekülleri izlenir. Olguların %50'sinde kıkırdak diferansiyasyonu görülür. %25-30 oranında lezyonun yüzeyinde osteokondroma benzer şekilde hücreden zengin kıkırdak bir başlık seçilebilir. Ancak osteokondromun aksine medüller kavitede yağlanma veya hematopoetik ilik yerine hücresel fibröz doku gözlenir (1,2). 5 yıllık prognoz %91 oranındadır; kemik iliği invazyonu ve orta derecede sitolojik atipi kötü prognozu göstermez, ancak komplet cerrahi rezeksiyonun yapılamadığı durumlarda nüks veya dediferansiyasyon söz konusu olabilir (2).

PERİOSTEAL OSTEOSARKOM

OS'nin %2'sinden azını oluşturan, kemik yüzeyinden kaynaklanan intermediyer gradlı kondroblastik bir OS'dir. Genellikle uzun kemiklerin diafiz ve diafiz-metafiz bileşkesine yerleşir;

klavikula, pelvis, mandibula ve kraniumu tutabilir (1, 2).

Radyolojik olarak Codman üçgeni ve batan güneş manzarası sıklıkla görülür (2). Orta derecede diferansiye kondroblastik OS morfolojisi gösterir. Korteks invazyonu nadirdir, medüller kavite tutulumu neredeyse hiç görülmez (1). Konvansiyonel OS'ye oranla daha iyi prognoz gösterse de yetersiz cerrahi rezeksiyon durumunda nüksler ve %15 oranında metastazlarla karşılaşmaktadır (2).

YÜKSEK GRADLI YÜZEYEL OSTEOSARKOM

Yüzeyel OS'lerin en kötü prognozlu varyantıdır. Radyolojik olarak yüzeyel yerleştiğinden, korteks hasarına ve periostal yeni kemik oluşumuna neden olduğundan parosteal OS'ye benzer (1, 2, 5). Genellikle yumuşak dokuya sınırlı kalmasına rağmen, lokalize korteks invazyonu, minimal medulla tutulumu gösterebilir (1, 2).

Konvansiyonel OS'ye benzer histolojik özellikler gösterir, tedavide aynı şekilde cerrahi ve adjuvan kemoterapi protokolü uygulanmalıdır (5).

GNATİK OSTEOSARKOM

Orta-ileri yaş grubunda görülen, mandibula ve maksilla yerleşimli, radyolojik olarak sıklıkla radyolusen görünümüne sahip bir OS varyantıdır. Histolojik olarak genellikle kondroblastik matriks üretimi gözlenir, ancak osteoblastik, fibroblastik matriks de izlenebilir (42).

Histolojik olarak genellikle yüksek gradlı olmalarına rağmen, olguların küçük bir kısmında metastaz görülür, hastalar kontrol edilemeyen lokal nükslerden dolayı kaybedilir (43). Nongnatik kraniyofasiyal kemiklerde saptanan OS'ler, daha ileri yaşlarda ortaya çıkar; zemininde sıklıkla Paget hastalığı, radyasyon öyküsü gibi predispozan faktörler vardır ve biyolojik davranışları konvansiyonel OS'ye benzer (1).

OSTEOSARKOMLARDA HİSTOLOJİK GRADLAMA VE KLİNİK EVRELEME

Histolojik grad, klinik evrelemede ve uygulanacak onkolojik tedavinin belirlenmesinde oldukça önemli bir etkidir. Geliştirilen gradlama sistemlerinde değişen oranlarda subjektivite söz konusu olmakla beraber, değerlendirilen ortak kriter sitolojik atipidir. Tümör anaplazi oranına göre 1'den 4'e kadar numaralandırılmaktadır.

Pratik uygulamada tüm konvansiyonel santral OS'ler grad 3-4, düşük gradlı santral OS ve parosteal OS'ler grad 1 olarak kabul edilmektedir. Grad 1'deki tümörde anaplazik bir odağın saptanması histolojik gradın 4'e yükselmesine ve tümörde dediferansiyasyona sebep olur. Gnatik OS ve periosteal OS'da sitolojik atipi derecesi grad 1 tümörlerde görülenden daha yüksek olduğu

için, grad 2 veya 3 olarak değerlendirilmektedir (1, 35).

Klinik evreleme amacıyla en sık Enneking sistemi kullanılmaktadır. Bu sistemde değerlendirme histolojik grad (düşük grad: evre I, yüksek grad: evre II), kortekse invazyonun da değerlendirildiği lokal anatomik yayılım ve uzak metastazlara göre yapılır. OS'lerin yaklaşık %70'i Evre IIB'dir (30, 33, 44).

OSTEOSARKOMLARDA TEDAVİ VE PROGNOZ

OS'ların tedavisinde cerrahi ve kemoterapinin birlikte kullanımı kür ve sağkalım oranlarında belirgin artışa sebep olmuştur. Son 30 yılda 5 yıllık sağkalım %10'dan %70'e yükselmiştir (30, 44, 45). Agresif tedaviyle birlikte, metastatik olgularda 5 yıllık sağkalım %40'a ulaşmıştır (30, 44).

Tanı anında olguların çoğunda mikroskopik metastazlar olduğundan, sadece cerrahi rezeksiyon ve/veya radyoterapi ile tedavi edilen olgularda %80-90 oranında metastatik nüksler ortaya çıkmaktadır (30). Bu nedenle OS'lerin tedavisinde adjuvan veya neoadjuvan kemoterapi esastır. İlk olarak 1976 yılında, Rosen ve ark. (46) tedavide kemoterapinin kullanıldığı olguları literatüre sunmuşlardır. Bu sayede mikrometastazların erken tedavisi, ekstremitte koruyucu cerrahi yöntemlerin geliştirilmesi ve tümörün kemoterapiye verdiği histolojik yanıtın değerlendirilmesi mümkün olmuştur. Tümörün neoadjuvan kemoterapiye verdiği histolojik yanıtın, osteonekrozun değerlendirilmesi amacıyla birçok derecelendirme sistemi önerilmiştir. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan Huvos derecelendirme sistemidir. Neoadjuvan ve adjuvan kemoterapi protokolleri içerisinde en sık kullanılan ajanlar ifosfamid, yüksek doz metotreksat, sisplatin ve doksorubisindir (30).

Fuchs ve ark. (47) tarafından yayınlanan bir çalışmada multiajan kemoterapi ve cerrahi sonrasında, 10 yıllık sağkalım %71 olarak bildirilmiştir (47). Alfa interferon da adjuvan kemoterapide kullanılan ajanlardandır, Müller ve arkadaşlarının (48) yayınladığı, 19 yıla yayılan bir seride 10 yıllık hastalıksız sağkalım %39-43 olarak bildirilmiştir. Berend ve ark.'nın yayınlamış olduğu çalışmada, neoadjuvan kemoterapi ve cerrahiye ilave olarak uygulanan adjuvan kemoterapinin sağkalımı arttırmadığı, aksine sekonder malignite riskini arttırdığı belirtilmiştir (44, 49, 50).

Modern kemoterapi rejimleri lokalize OS tedavisinde etkin olmakla beraber, tanı anında klinik olarak metastatik olan olgulara etkinliği kısıtlıdır. Aynı durum tedavi sonrasında rekürrens veya metastazlarla seyreden olgularda da söz konusudur. Akciğer metastazı gelişen olgularda 5 yıllık sağkalım %40 civarındadır (30). Kemik metastazlarıyla nüks eden olgularda prognoz, akciğer metastazlarına göre daha kötüdür (50).

Tedaviye eklenen yoğun kemoterapi rejimleri sayesinde nonmetastatik olgularda hastalıksız sağ kalım %60-80'lere ulaşmaktadır. Uzun dönemde en iyi prognozu, rezeksiyon spesmeninde %90'dan fazla nekroz belirlenen olgular göstermektedir (33). Yaşam süresinin artmasıyla beraber nüks, metastaz, sekonder malignite gelişimi, miyokardiyopati gibi tedavi komplikasyonları daha sık görüleceğinden olguların uzun dönem takibi önerilmektedir (49).

II- EWING SARKOMU

EPİDEMİYOLOJİ, İNSİDANS VE ETYOLOJİ

Ewing sarkomu çocukluk çağı ve genç erişkin döneminde OS'nin ardından en sık görülen ikinci malign kemik tümörüdür. Primer malign kemik tümörlerinin %10-15'ini oluşturmaktadır (8, 9, 10). Tüm yaş gruplarında yıllık insidansı 0.6/1.000.000'dır. Erkek kadın oran 1.5/1'dir (9). Genellikle ikinci dekatta görülmekte olup, İngiltere Ulusal Kansere Enstitüsü'nün verilerine göre ortalama görülme yaşı 15'tir (9). İlk dekatta belirlenen olguların oranı %20-30 (8), Avrupa Ewing Sarkomu Çalışma Grubu'nun verilerine göre ikinci dekattan sonra tanı alan olguların oranı %20 civarındadır (9).

ES'nin etyolojisine yönelik yapılan sınırlı sayıda çalışmada etyolojide aile mesleğinin (özellikle çiftçilik) önemli olabileceği ortaya konmuştur (51, 52, 53). Valery ark.'nın yapmış olduğu çalışmada aile mesleğinin yanı sıra, inguinal herniler ile özellikle pubertaya erken girmiş erkek cinsiyetin, etyolojide rol oynayabileceği bildirilmiştir (52). ES insidansı beyazlarda, Çinliler ve siyah Afrikalılara oranla daha yüksek olduğundan genetik yatkınlığın da etyolojik olarak anlamlı olabileceği düşünülmektedir (8, 54).

LOKALİZASYON

ES vücutta herhangi bir lokalizasyonda ortaya çıkabilse de, en sık yerleşim yeri alt ekstremitedir (%45); takiben pelvis (%20), üst ekstremiteler (%13), vertebra ve kostalar (%13), yüz kemikleri (%2) gelir (8). Femur en sık etkilenen kemiktir (%20). Genellikle diafiz veya metafiz-diafiz bileşkesinden gelişir (9, 54). Ekstraskletal ES ise sıklıkla paravertebral bölge ve göğüs duvarına yerleşir. Toraks yerleşimli olanlara Askin tümörü denir. Alt ekstremitelerde, nadiren pelvis, retroperiton ve üst ekstremitelerde de belirlenebilir (55).

KLİNİK ÖZELLİKLER

ES vücutta herhangi bir kemik veya yumuşak doku kompartmanını tutabileceğinden, etkilenen bölgeye göre klinik semptom verir. Tipik klinik prezentasyon şekli tutulum bölgesinde aralıklı, şiddeti değişken, geceleri hafiflemeyen ağrı ve sonrasında gelişen kitledir (56).

Olgular genellikle adolösan yaş grubunda olduklarından ağrı semptomu, kemiklerin büyümesine veya muhtemel spor yaralanmalarına bağlanarak gözden kaçırılabilir (56). Ateş, anemi, lökositöz, sedimentasyon artışı, serum LDH yüksekliği gibi sistemik semptom ve bulguların varlığı nedeniyle klinik olarak akut osteomyelit ile karışması nadir değildir (56). Semptomlar tanıdan ortalama 3-9 ay önce ortaya çıkar. Tanı anında olguların %25'i metastatiktir (9, 54).

Radyolojik görünüm hastanın yaşına, tutulum bölgesine, yaygınlığına, periost reaksiyonunun derecesine göre değişir. Genellikle uzun veya yassı kemiklerin diafizine yerleşmiş kötü sınırlı osteolitik lezyon belirlenir. Tipik olarak intramedüller yerleşimlidir; kortekste kalınlaşma ve periostu yükseltmeden veya masif hasar oluşturmada, subperiostal kortikal tabakalara infiltrasyonu sonucu oluşan 'soğan zarı' görünümü izlenir (54, 56). Soğan zarı görünümü ES için karakteristik olmayıp, osteomyelit, eozinofilik granülom, lenfoma, osteosarkom gibi korteks ve diafiz periostunu infiltre eden neoplastik ve nonneoplastik lezyonlarda da görülebilir. Codman üçgeni ve yumuşak doku kitlelerinde kalsifiye spiküller görülebilir. BT ve MRI ile tümörün medulla ve çevre yumuşak dokulara yayılımı değerlendirilebilir (9).

MAKROSKOPİK ÖZELLİKLER

ES yumuşak dokuda genellikle derin yerleşimli, lobüle kontürlü, 5-10 cm arasında değişen çaplara sahip kitleler oluşturmaktadır. Kesit yüzeyi gevşek veya akıcı kıvamlıdır, gri-sarı renkli, geniş nekroz, hemoraji, apse alanları içermektedir (55). Kemik yerleşimli olgular da benzer görünümde; cerrah nekrotik görünümlü, kısmen akıcı sarı-yeşil renkli materyali püy olarak değerlendirip, olguyu osteomyelit olarak yorumlayabilir. Lezyon kemik trabeküllerini tamamen destrükte etmeden medullayı diffüz olarak infiltre edebileceği gibi, korteksi rezorbe edip çevre yumuşak dokulara da yayılabilir (54, 55).

HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLER

ES ilk olarak 1921 yılında, James Ewing tarafından 14 yaşındaki bir kız çocuğunda tanımlanmış, 'diffüz endotelyoma' olarak adlandırılmıştır (10).

Mikroskopik incelemede üniform, küçük (lenfositlerin 2 katı büyüklüğünde), yuvarlak, mavi hücrelerden meydana gelen monoton hücre popülasyonunun yuvalanma, tabaka şeklinde veya solid paternde dizilimi izlenir (11, 55, 56). Tümör hücreleri yuvarlak, ince kromatinli, yer yer nükleolusları seçilebilen nükleusa, dar, berrak veya eozinofilik, sınırları düzensiz sitoplazmaya sahiptir. İntrasitoplazmik PAS pozitif glikojen birikimleri belirlenebilir (9, 56).

Özellikle yumuşak doku yerleşimli olanlar nadiren iğsi morfolojide olabilirler (54, 56). İnce cidarlı, yarık şeklindeki damar yapıları hücre gruplarını saran kollajen bantlara, nekroz ve dejenerasyon alanlarına eşlik eder. Damar yapıları çevresinde dizilen tümör hücreleri psödorozet formasyonu oluşturabilir (55, 56). Değişik derecelerde nekroz varlığı sık görülen bir bulgudur (54). Mitotik aktivite düşüktür (9). Tümör korteksi infiltre etmişse, osteoblast ve osteoklastları içeren periostal yeni kemik oluşumu ve kıkırdak metaplazi alanları gözlenebilir (56).

İMMÜN FENOTİPİK BULGULAR

X ve Y kromozomlarının psödootozomal bölgesinde lokalize MIC2 geninin kodladığı 32 kD ağırlığında bir transmembran protein olan CD99'a karşı geliştirilen antikorlar, ES olgularının %95-100'ünde kuvvetli membranöz immünreaktivite göstermektedir (9, 54, 55, 56). Önceki yıllarda yüksek oranda spesifik olduğu düşünülen bu antikorun, günümüzde ayırıcı tanıda yer alan lenfoblastik lenfoma, Merkel hücreli karsinom, küçük hücreli karsinom, rabdomiyosarkom, küçük hücreli osteosarkom, desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör, mezenşimal kondrosarkomda da değişik oranlarda pozitivite gösterdiği bilinmektedir (55). ES vimentine karşı da immünpozitivite göstermektedir. Olguların %20'sinde düşük molekül ağırlıklı sitokeratin pozitivitesi belirlenmiştir (9, 55). ES, gösterdiği nöral diferansiyasyonun derecesine göre NSE, Leu-7, S-100, sinaptofizin, kromogranin , CD57, PGP-9.5 antikorlarına karşı da değişik oranlarda immünreaksiyon göstermektedir (11, 55, 56).

Sonuç olarak ES'nin histolojik ve immünfenotipik özellikleri çocukluk çağıının diğer küçük yuvarlak hücreli tümörleriyle değişik oranlarda benzerlik gösterdiğinden, ayırıcı tanıda yer alan bu antiteleri dışlamak amacıyla geniş bir immünhistokimyasal panel uygulanmalıdır (9).

SİTOGENETİK DEĞİŞİKLİKLER

ES olgularında %85 oranında 11 ve 22 numaralı kromozomlar arasında resiprokal bir translokasyon [t(11;22)(q24;q12)] (EWS ve FLI1 genleri) mevcuttur (8, 9, 10, 54). Ewing tümör ailesi olarak bilinen ES, primitif nöroektodermal tümör, Askin tümörünü kapsayan grupta bu translokasyonun varlığı karakteristiktir (54). Geri kalan olguların çoğunda 22q12 ile 21q22 veya 7p22 arasında (%10 oranında), 17q12 ve 2q36 (<%1 olguda) kromozomlarda varyant translokasyonlar belirlenmiştir (9).

Bu translokasyonlara ek olarak olguların %20'sinde, 1 ve 16 numaralı kromozomları etkileyen yapısal değişiklikler, 1/2-1/3 olguda trizomi 8 ve/veya 12 gibi sayısal kromozomal değişiklikler saptanmıştır. Olguların %25'inde ise ink4A genini kodlayan 9p21 kromozom bölgesinin homozigot kaybı söz konusudur (9).

ES, çocukluk çağında kuşkulu histolojik ve immünohistokimyasal özellikler gösterdiğinden ES ile karışabilen indifferansiye küçük yuvarlak hücreli tümörlerle ayırıcı tanısını yapmak amacıyla floresans in situ hibridizasyon (FISH), reverse transkriptaz- polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), Southern blotting (SB) gibi moleküler genetik yöntemler kullanılmaktadır. Bu tümörlere özgü translokasyonların belirlenmesiyle ES, rabdomiyosarkom ve sinovyal sarkom tanıları kesinleştirilip, birbirinden çok farklı olan tedavi rejimleri uygulanabilmektedir (9).

TEDAVİ VE PROGNOZ

Tedavi amacıyla cerrahi ve radyoterapinin uygulandığı yıllarda 5 yıllık sürvi %10'un altındayken, günümüzde kullanılan multimodal tedavi rejimleri sayesinde bu oran nonmetastatik olgularda %60-85'e yükseltilmiştir (11, 12). Multimodal tedavi rejimleri, indüksiyon kemoterapisini takiben cerrahi tedavi ve/veya radyoterapi ve devam kemoterapisini içermektedir (9, 56). En sık kullanılan kemoterapötik ajanlar doksorubisin, vinkristin, ifosfamid, etoposid, siklofosfamid ve daktinomisin (9, 12, 55). Topotekan ve siklofosfamid kombinasyonu deneme aşamasındadır (9). İndüksiyon kemoterapisinin ardından izole, rezektabl tümör cerrahi olarak tedavi edilebilir, negatif cerrahi sınır eldesi ve ekstremitte koruyucu cerrahi prosedürleri uygulayabilmek amacıyla preoperatif radyoterapi uygulanabilir (9). ES radyosensitif bir tümör olmasına rağmen, lokal tedavi amacıyla sadece radyoterapi uygulaması tercih edilen bir yöntem olmamakla birlikte, yerleşim yeri itibarıyla rezeksiyonun yapılamayacağı kötü prognozlu olgularda mümkündür. Antianjiyogenik tedavi ve kök hücre infüzyonu son yıllarda üzerinde çalışılan tedavi yaklaşımlarıdır (9).

Multimodal tedavi rejimlerine rağmen olguların %30-40'ı lokal nüks veya uzak metastaz göstermektedir. Primer metastatik olanlarda risk daha yüksektir. Nüks sonrası sağkalım %20-25, erken nüks olgularında (ilk 2 yıl) %4-8.8'dir (9). Bu grup hastalar cerrahi ve ilave kemoterapi rejimleri ile tedavi edilirler.

Primer metastatik olgularda prognoz daha kötüdür. Hastalıksız sağkalım akciğer metastazı saptananlarda %30, kemik veya kemik iliği tutulanlarda %20'nin altındadır. Standart tedavilere ilave olarak antianjiyogenik tedavi ve kök hücre infüzyonu gibi seçenekler genellikle bu grup hastalara uygulanmaktadır (9).

PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Yapılan çalışmalarda ES'de prognozu etkileyen çok sayıda klinik ve tedaviyle ilişkili parametrenin varlığını ortaya konmuştur (57).

Yukarıda belirtildiği gibi sağkalımı etkileyen en önemli faktör tanı anında metastaz varlığıdır (8, 9, 11, 55) Nonmetastatik olgularda tümör volümü ve lokalizasyon ile sağkalım

arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. 200 ml'den büyük ve pelvik yerleşimli olguların sağkalımlarının daha düşük olduğu bildirilmiştir (9, 10). Tümörün neoadjuvan kemoterapiye verdiği histolojik yanıt OS'de olduğu gibi ES'de de sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (11, 55, 57).

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar tümörün sitogenetik özelliklerinin de prognostik değer taşıyabileceğini düşündürmüştür (9, 11, 54, 56). EWS-FLI1 gen füzyonu, diğer füzyon tipleriyle kıyaslandığında iyi prognoz lehine değerlendirilmektedir (8, 11, 54). INK4α, p53 gen mutasyonları, p16 delesyonu, telomeraz, IGF-1 ve anöploidi gibi diğer değişikliklerin prognoza etkisi üzerine yapılan çalışmalar devam etmektedir (56).

Klinik parametrelere ilişkin yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar göstermektedir (10). On-on iki yaş altındaki hastalarda tümörün, daha iyi klinik gidiş gösterdiğini belirten çalışmaların yanı sıra (9, 58, 59), etkisiz olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur (60). Serum LDH düzeyi, anemi varlığı, uygulanan kemoterapi protokolü, lokal tedavi şekli ve yerleşim yerinin de prognoza etkisi olduğu düşünülmekle beraber, lokal veya sistemik nüksleri tek bir parametreye bağlamanın doğru olmadığı düşünülmektedir (57).

III- RABDOMİYOSARKOM

EPİDEMİYOLOJİ

Rabdomiyosarkom 15 yaş altındaki çocuklarda en sık görülen yumuşak doku sarkomudur. 45 yaş altında oldukça nadir rastlanmakla beraber, adolesan ve genç erişkinlerde de oldukça sık görülmektedir. Mayo Clinic verilerine göre yumuşak doku sarkomlarının %19'unu oluşturmaktadır (13).

Rabdomiyosarkomların farklı alt tipleri, farklı yaş gruplarında ortaya çıkmaktadır. Embriyonel, botrioid ve iğsi hücreli rabdomiyosarkom genellikle 15 yaş altında, alveoler rabdomiyosarkom 10-25 yaşlar arasında, pleomorfik rabdomiyosarkom ise ortalama 50-56 yaşlar arasında ortaya çıkmaktadır (61, 62, 63).

Yerleşim yeri ve yaş arasında da korelasyon saptanmıştır. Mesane, prostat, vajina ve orta kulak yerleşimli olan rabdomiyosarkomlar ortalama 4 yaş, paratestiküler ve ekstremiteler yerleşimli olanlar ise ortalama 14 yaş civarında görülmektedir. Erkek kadın oranı 1.3/1.0 olarak belirlenmiştir (13).

HİSTOLOJİK SINIFLANDIRMA

Arthur Purdy Stout'un rabdomiyosarkomu tanımlamasının ardından Horn ve Enterline, tümörün klinik ve patolojik özelliklerine dayanarak ilk sınıflamayı şekillendirmişlerdir (13).

Ancak bu sınıflamanın prognostik farklılıklar yönünden yetersiz kalışı nedeniyle 1969 yılında, ileride Rabdomiyosarkom Çalışma Grubu'nun (IRS) da temel alacağı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflaması geliştirildi (64) (Tablo 2).

1981'de Palmer ve ark. (65, 66) tümörün yapısal özelliklerinden ziyade, sitolojik özelliklerini temel alan bir sınıflama sundular. Bu şemaya göre monomorfik yuvarlak hücreli tip ve anaplastik tip kötü prognozlu olarak kabul edildi.

1989 yılında ise Uluslararası Pediatrik Onkoloji Derneği (SIOP), alveoler morfoloji gösteren ve göstermeyen rabdomiyosarkom subtiplerinde, hücresel diferansiyasyon ile klinik davranış arasındaki ilişkiyi vurgulayan bir sınıflama geliştirdi. Bu sınıflamada alveoler yapı bağımsız bir prognostik faktör olarak düşünülmedi. Botrioid ve iyi diferansiye tiplerin, nonbotrioid ve kötü diferansiye tiplere göre daha iyi prognozlu olduğu belirtildi (67).

1992 yılında Ulusal Kanser Enstitüsü'nün (NCI) Pediatri Bölümü, 159 olgunun değerlendirildiği serilerine dayanarak sınıflamayı yeniden değerlendirdi (Tablo 2). Konvansiyonel, pleomorfik leyomyomatöz ve agresif histolojik özellikler gösteren alt tipleri içeren embriyonel rabdomiyosarkom iyi, alveoler rabdomiyosarkom ise kötü prognozlu olarak belirtildi (68).

1995 yılında SIOP ve NCI sınıflamalarının tekrar gözden geçirilmesiyle, Uluslararası Rabdomiyosarkom Sınıflaması (ICR) ortaya çıkarıldı (69) (Tablo 2).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan sınıflama WHO'nun 2002 yılında son şeklini vermiş olduğu histolojik sınıflamadır (70).

TABLO 2- RABDOMİYOSARKOMLARIN HİSTOLOJİK SINIFLANDIRMASI

WHO (1969) (64)	NCI (1992) (68)
1. Embriyonel rabdomiyosarkom	1. Embriyonel sarkom
2. Botrioid rabdomiyosarkom	2. Embriyonel rabdomiyosarkom
3. Alveoler rabdomiyosarkom	a- Gevşek:
4. Pleomorfik rabdomiyosarkom	-Botrioid
5. Sarkom, sınıflandırılmayan	-Non-botrioid
6. Küçük yuvarlak hücreli sarkom	b- Yoğun:
7. Ekstraosseöz Ewing sarkom	-İyi diferansiye
	-Kötü diferansiye
	3. Alveoler rabdomiyosarkom
	4. Erişkin (Pleomorfik) Rabdomiyosarkom
	5. Diğer spesifik yumuşak doku tümörleri
	6. Sarkom, tanımlanmamış tümör grupları

SIOP, NCI (1995) (69)	WHO (2002) (70)
1. İyi prognoz	1-Embriyonel rabdomiyosarkom
-Botrioid rabdomiyosarkom	-İğsi hücreli
-İğsi hücreli rabdomiyosarkom	-Botrioid
2. İntermediate prognoz	-Anaplastik
-Embriyonel rabdomiyosarkom	2-Alveoler rabdomiyosarkom
3. Kötü prognoz	-Solid
-Alveoler rabdomiyosarkom	-Anaplastik
-İndiferansiye sarkom	3-Pleomorfik rabdomiyosarkom
4. Prognozu tahmin edilemeyen subtipler	
5. Rabdoid özellikler gösteren rabdomiyosarkom	

KLİNİK ÖZELLİKLER

Rabdomiyosarkom vücutta baş-boyun, genitoüriner sistem-retroperiton ve alt-üst ekstremiteler olmak üzere başlıca üç kompartmanda ortaya çıkar.

Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) ve IRS serilerine göre, baş-boyun bölgesi sırasıyla %44 ve %35 oranında olmak üzere en sık görüldüğü lokalizasyondur (71, 72, 73). Parameningeal rabdomiyosarkom hem intrakranyal yayılım potansiyelinden ötürü kötü klinik gidişi nedeniyle, hem de baş-boyun bölgesinde oldukça sık görüldüğünden ayrı bir öneme sahiptir (13). Göz bu bölgede ikinci en sık lokalizasyondur, çoğunlukla embriyonel alt tip görülür. Kural olarak üst iç kadranda ağırlı, hızlı büyüyen kitle oluşturur, göz kapağına, konjonktivaya yayılıp görsel yakınmalara neden olur, paranazal sinüslere, kafa tabanına ve meninkslere invazyon gösterebilir (13).

RMS sıklık sırasıyla kulak ve kulak kanalı, paranasal sinüsler, yüz ve boynun yumuşak dokuları, oral kaviteyi de tutabilir (13). Karakteristik olarak hızlı büyür ve infiltratiftir. Yerleştiği yerde oluşturduğu kitle etkisiyle nefes almada, yutkunmada güçlük, ses kısıklığı, işitme kaybı, otalji ve hemorajik-pürülan akıntıya sebep olabilir. Nazofarenks yerleşimli olanlar genişlemiş adenoidler, anjiyofibrom ve tedaviye yanıt vermeyen kronik enfeksiyonlarla, kulak yerleşimli olanlar ise otitis media ile karışır. Genellikle kemiği invaze ettiğinden, BT ve MRI yöntemleriyle yayılımın derecesi belirlenmelidir (74, 75).

RMS IRS serilerine göre ikinci sıklıkla genitoüriner sistemde (%24), görülmektedir. Histolojik olarak çoğunluğu embriyonel, daha az sıklıkta botrioid tiptedir. Genellikle adolesan çağda ortaya çıkar, paratestiküler lokalizasyonda yer alır. Bu vücut kompartmanında yer alan tümörler birkaç hafta veya birkaç ay önce oluşmuş, genellikle testisin üst kutbuna yerleşmiş, tek taraflı, sert, ağrısız kitleler olarak tarif edilirler. Paraaortik ve retroperitoneal lenf nodlarının tutulum sıklığı yüksektir (76).

Retroperitoneal ve pelvik tutulum seyrek değildir. Genellikle efektif tedavi oranı paratestiküler yerleşimli olan rabdomyosarkomlara göre daha düşüktür (13).

RMS'lerin %5'i mesane ve prostattan gelişir. Mesane lokalizasyonlu tümörler hem infant döneminde en sık görülen rabdomyosarkomlardır, hem de 10 yaş altı çocuklarda en sık görülen mesane tümörleridir. Hemen tümü embriyonel ve botrioid tiptedir. Botrioid morfolojili tümörler tipik olarak mesane lümenine doğru uzanan üzüm salkımı benzeri, mukoid, polipoid kitle oluşturup, obstrüksiyon, hematüri, hidronefroz gibi semptomlara sebep olur (13).

Nadiren fallop tüpleri, uterus, serviks, vagina, labium, vulva, perine ve perianal bölge gibi genitoüriner sistemin diğer bölümleri de tutulabilir, genellikle botrioid, daha az oranda embriyonel ve alveoler morfoloji gösterir (13).

Erişkin yumuşak doku sarkomlarının aksine, RMS'ler ekstremiteleri daha az sıklıkla tutar. AFIP'in yayınladığı çalışmada, olguların %14.6'sını, IRS'nin çalışmasında ise %19'unu oluşturduğu bildirilmiştir (77). Alveoler ve embriyonel tipler birbirine yakın oranlarda görülmekle birlikte, nadiren derin yumuşak dokulardan köken alan pleomorfik tipler de karşılaşılmaktadır (78). Ekstremiteler yerleşimli tümörlerin çoğu derin yumuşak dokuda, çizgili kasla ilişkili kitleler oluşturur, kemik erozyonu nadirdir (13).

RMS'ler sık görüldüğü baş-boyun, genitoüriner sistem-retroperiton ve alt-üst ekstremiteler dışında hepatobiliyer sistem, ön mediasten, akciğerler, kemik, deri gibi atipik lokalizasyonlarda da ortaya çıkabilir (13).

MAKROSKOPİK ÖZELLİKLER

Rabdomiyosarkomların nazofarenks, mesane gibi vücut boşluklarına doğru büyüyen tipleri iyi sınırlı, multinodüler veya polipoid yapıda, kesit yüzeyinde yama tarzında hemorajik ve kistik alanlar içeren, gri-beyaz renkli, parlak, jelatinöz görünümündedir (13).

Sıklıkla ekstremiteleri tutan derin yerleşimli tümörler düzensiz sınırlı olup çevre dokuları infiltrate eder. Sert, beyaz-pembe renkli kesit yüzeyine sahiptir, odaksal nekroz ve kistik dejenerasyon alanları içerebilir. Nadiren büyük çaplara ulaşır, ortalama tümör çapı 3-4 cm'dir. (13).

RABDOMİYOSARKOMLARIN ALT TİPLERİ

EMBRİYONEL RABDOMİYOSARKOM

Embriyonel tip, rabdomiyosarkomların en sık görülen alt tipi olup, %49 oranında görülür (69). Histolojik olarak normal iskelet kasının embriyogenezindeki basamaklara benzer; tanının sadece immünohistokimyasal yöntemler veya elektron mikroskopik inceleme ile konulabileceği az diferansiye formlardan, fetal iskelet kasına benzeyen iyi diferansiye formlara kadar oldukça değişken bir morfolojik spektrum gösterir (13).

En sık görülen histolojik özellikler (1) hipersellüler alanların yanısıra gevşek miksoid alanlar, (2) küçük, indiferansiye, hiperkromatik, oval-iğsi hücreler ile eozinofilik sitoplazmalı rabdomiyoblastlar, (3) az miktarda kollajen ve değişen oranlarda miksoid materyal içeren matriks'tir (13).

Schmidt ve ark. (79) embriyonel rabdomiyosarkomları primitif (%10'un altında rabdomiyoblast içeren), orta derecede diferansiye (%10-50 oranında rabdomiyoblast içeren) ve iyi diferansiye (%50'den fazla rabdomiyoblast içeren) olmak üzere üç gruba ayırmıştır.

Sitogenetik Bulgular

Embriyonel rabdomiyosarkom 11. kromozomun p15.5 bandında yer alan birçok loküste heterozigozite kaybı ile karakterizedir (13). Bu kaybın sonucunda human tyrosine hydroxilase gibi tümör süpressör genler aktive olur (80). Wilms tümörünü de içeren çocukluk çağıının bazı küçük hücreli tümörlerinde de, 11. kromozomun kısa kolunda hasara rastlanmıştır (81, 82, 83). Embriyonel rabdomiyosarkomlarda trizomi 8 varlığı da bildirilmiştir (84, 85).

Embriyonel Rabdomiyosarkom, İğsi Hücreli Tip

1992 yılında Cavazzana ve ark. (86) tarafından miyogenezin geç dönemlerinde oluşan, fetal miyotübül yapılarını taklit eden hücrelerden baskın (>%80) iğsi hücreli tip tanımlanmıştır.

Rabdomiyosarkomların nadir görülen bir alt tipi olup, %3-4.4 oranında görülür (69, 86). Embriyonel rabdomiyosarkom, diğer tiplerinde olduğu gibi genellikle çocukluk çağında, ortalama 7 yaş civarında ortaya çıkar. Belirgin bir erkek baskınlığı söz konusudur (6/1). En sık yerleştiği yerler paratestiküler yumuşak doku ve baş boyun olmakla birlikte mesane, abdomen, retroperiton ve ekstremiteleri de tutabilir (13).

Makroskopik olarak sert, kapsülsüz ancak iyi sınırlı, sıklıkla 4-6 cm çapında nodüler yapıda kitleler meydana getirir (13).

Histolojik olarak belirgin nükleollü, puro şeklinde nükleusa sahip iğsi hücrelerden oluşmaktadır. Tümör hücrelerinin sınırları belirgin eozinofilik fibriler sitoplazması, fetal myoblast hücrelerine benzer. Sitoplazmik çizgilenmeler izlenebilir. Kollajenden zengin formda iğsi hücreler yoğun kollajen liflerle çevrelenirken, kollajenden fakir formda ise leyomiyosarkomu hatırlatır şekilde hücresel fasiküller oluşturur (13).

Tümör hücreleri miyoglobulin, kas spesifik aktin, desmin gibi miyojenik antijenlerin yanı sıra, myogenezin geç dönemlerinde ortaya çıkan titin ve troponin T gibi antijenleri de eksprese eder. Bu tipin sitogenetik temeli bilinmediğinden, sıradan embriyonel rabdomiyosarkoma göre neden daha iyi prognozlu olduğu hakkında yorum yapılamamaktadır (13).

Embriyonel Rabdomiyosarkom, Botrioid Tip

Rabdomiyosarkomların %6'sını oluşturan botrioid tip burun boşluğu, nazofarinks, safra kesesi, mesane, vagina, anüs, göz kapağı gibi mukoza ile örtülü bölgelerde ortaya çıkar. Karakteristik olarak ödemli, üzüm salkımı benzeri görünümündedir (13).

ICR kriterlerine göre bu tipin belirlenmesi için 'kambiyum tabakası' adı verilen, tümör hücrelerinin sağlam yüzey epiteli altında, gevşek bir stromal zon bırakarak subepitelyal birikiminin görülmesi gerekir. Tümör hücreleri primitif küçük hücrelerden miyoblastik diferansiyasyon gösteren, genellikle sitoplazmik uzantıları seçilebilen değişik matürasyon evresindeki hücrelerden oluşmaktadır. Miksoid görünümlü, hücreden fakir stroma oldukça tipiktir. Yüzey epiteli hiperplastik görünümde olabileceği gibi, karsinomu andıracak derecede belirgin skuamöz değişiklikler de gösterebilir (13).

İmmünohistokimyasal olarak özellikle miyoblastik diferansiyasyon gösteren hücreler miyojenik antijenlerle oldukça kuvvetli boyanır (13, 70).

Palazzo ve ark.'nın tümörün sitogenetik kökenine yönelik yaptığı çalışmada 1. kromozomun kısa kolunda delesyon, 13. ve 18. kromozomlarda trizomiler belirlenmiştir (13).

ALVEOLER RABDOMİYOSARKOM

Rabdomiyosarkom alt tipleri arasında %31'lik görülme oranıyla ikinci sırada yer alır (69). Genellikle 10-25 yaşlar arasında, ekstremitelerin derin yumuşak dokularında ortaya çıkar. Ekstremitte yerleşimli rabdomiyosarkomların %50'sini oluşturmakla birlikte baş-boyun, gövde, perine, pelvis ve retroperitondan da kaynaklanabilir (13).

Histolojik olarak, düzensiz 'alveoler' boşluklar oluşturan, sıklıkla hücreler arası bağlantılarını kaybetmiş, az diferansiye oval-yuvarlak hücrelerin meydana getirdiği kötü sınırlı topluluklar görülür. Hücre toplulukları, merkezinde vasküler yapıları barındıran hiyalinize fibröz septalarla çevrelenir. Canlı tümör hücrelerinin çok azaldığı, dejenere hücrelerin ve nekrotik hücre artıklarının kalın fibröz trabeküllerle bal peteği tarzında sarıldığı alanlar da izlenebilir (13).

Alveoler rabdomiyosarkomun solid formunda, alveoler patern yerine uniform görünümde tümör hücre tabakaları görülür. Bu tabakalar sıklıkla periferde yer alır, tümöral proliferasyonun aktif olduğu alanları yansıtır. Solid form, daha kötü prognoza sahip indifferansiye tip embriyonel rabdomiyosarkom ile karıştırılmamalıdır. Ancak, dikkatle incelenirse solid tümör topluluklarının yanı sıra, henüz başlangıç aşamasındaki alveoler yapılar ve primitif yuvarlak hücreleri çevreleyen fibröz septalar görülebilir. Berrak hücreli rabdomiyosarkom olarak adlandırılan nadir bir formunda ise, berrak hücreli karsinoma benzer görünümde geniş, soluk boyanan, glikojen içeren sitoplazmaya sahip hücreler belirlenir (13).

Alveoler rabdomiyosarkomda, granüler eozinofilik sitoplazmalı neoplastik rabdomiyoblastlar embriyonel rabdomiyoblastlara oranla daha az görülür. Alveoler boşluklarda yer alan rabdomiyoblastlar oval-yuvarlak, fibröz septalarda yer alanlar ise iğsi şekillidirler. Embriyonel rabdomiyoblastın aksine, multinükleer dev hücrelerin varlığı bu alt tipin belirgin bir özelliğidir (13).

Embriyonel ve alveoler rabdomiyosarkomun özelliklerini taşıyan mikst tipler, alveoler rabdomiyosarkom olarak adlandırılmalıdır. Alveoler rabdomiyosarkomların çoğu kas dokusundan köken aldığından, tümör hücreleri arasında sıkışmış normal kas lifleri seçilebilir. Bu lifler, çizgilenmeler gösteren rabdomiyoblastlar olarak düşünülüp, bazen yanlışlıkla doğru tanıya ulaşılmasına, bazen de başka sarkomların rabdomiyosarkom tanısı almasına neden olur (13).

Alveoler rabdomiyosarkomu, rabdomiyosarkomun diğer alt tiplerinden ve yuvarlak hücreli neoplazilerden ayıran belirgin sitogenetik özellikleri vardır. Çoğunda t(2;13)(q35;q14) translokasyonları görülür. İkinci kromozomda yer alan PAX 3 geni ve 13. kromozomda yer alan FKHR genlerinde ortaya çıkan kırılmalar sonucunda 13.kromozomda PAX3-FKHR, 2. kromozomda FKHR-PAX3 chimeric genleri oluşturur. Translokasyonlar sonucu oluşan genler aberan bir transkripsiyon faktörü gibi davranıp, PAX3 bağlanma noktalarına sahip genlerin

ekspresyonunu aktive eder (76).

Shiedler ve ark., füzyon proteinin doku kültürlerinde fibroblastları transforme ettiğini göstermişlerdir. Rabdomiyosarkomun tanısında PAX3-FKHR transkripsiyonu, FKHR-PAX3'ten daha duyarlı ve özgündür. Moleküler yöntemler tedavi sonrası minimal, rezidü hastalık varlığını araştırmak amacıyla da kullanılabilir (13).

Sitogenetik değişiklikler RT-PCR (13, 64, 71, 73) veya (FISH) (13, 81) ile belirlenebilir. Histolojik olarak rabdomiyosarkom tanısı alan olguların %70-85'inde PAX3-FKHR veya PAX7-FKHR füzyon transkripsiyonu saptanmıştır. Bu olguların %10-20'sinde PAX7-FKHR, geri kalanlarda PAX3-FKHR pozitifdir. Kelly ve ark., PAX7-FKHR füzyon transkripsiyonuna sahip vakaların sıklıkla gençlerde görüldüğünü, tümörün genellikle ekstremitelerde ortaya çıktığını ve hastalısız sağkalımın belirgin derecede uzamış olduğunu ileri sürmüşlerdir (13).

Histolojik olarak embriyonal rabdomiyosarkom tanısı alan bazı olgularda belirlenen bu moleküler değişikliklerin, atlanmış alveoler komponentle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (13, 71).

PLEOMORFİK RABDOMİYOSARKOM

Pleomorfik rabdomiyosarkom, rabdomiyosarkomun 45 yaş üstü erişkinlerde görülen nadir bir varyantıdır. Tüm yumuşak doku sarkomlarının %9-14'ünü oluşturur, erkeklerde daha sık görülür. Ön planda uyluk olmak üzere, genellikle ekstremitelerde görülebilse de, nadiren göğüs duvarı, retroperiton, baş ve boyunda da ortaya çıkabilir (13).

Tümör sıklıkla 10 cm'den büyük çaplara ulaşır, fokal hemoraji, yaygın nekroz alanları içerebilir, düzgün sınırlıdır (13).

Histolojik olarak diğer alt tiplerden gevşek, rastgele dizilmiş, hiperkromatik nükleuslu, koyu eozinofilik sitoplazmalı, büyük oval veya pleomorfik hücrelerin belirlenmesiyle ayrılabilir. Malign fibröz histiositomu veya leyomiyosarkomun fasiküler paternini hatırlatan tarzda girdapvari dizilimler de gösterebilir. Embriyonel rabdomiyosarkomda olduğu gibi raket şeklinde rabdomiyoblastlar görülebilir, ancak daha büyük ve düzensiz şekillidirler. Rabdoid hücreler, intrasitoplazmik glikojen varlığı, orta derecede lenfohistiositik infiltrasyon varlığı tümöre eşlik eden diğer bulgulardır (13).

Tanıyı doğrulamak, sarkomerik diferansiyasyonu belirlemek amacıyla immünohistokimyasal olarak desmin, kas spesifik aktin, miyoglobulin, sarkomerik alfa-aktin antikorları kullanılabilir. Wesche ve ark., Myo-D1 antikorunun pleomorfik RMS tanısında ve diğer yetişkin pleomorfik yumuşak doku sarkomlarından ayırımında oldukça duyarlı ve özgün olduğunu öne sürmüşlerdir.

Pleomorfik rabdomiyosarkom kötü klinik gidişli olup, erken dönemde metastaz yapar (13).

RABDOMİYOSARKOMLARDA EVRELEME, TEDAVİ VE PROGNOZ

Son 30 yıl içerisinde, rabdomiyosarkomun prognozunda dramatik bir düzelme sağlanmıştır. 147 olgunun takiplerinin değerlendirildiği 1963 tarihli AFIP çalışmasında, 5 yıllık mortalite oranı %90, Masson ve Soule tarafından 1965'te yayınlanan çalışmada %88 olarak yayınlanmıştır (13).

1972 yılında üç pediatrik kanser çalışma grubunun birleşmesiyle oluşturulan Rabdomiyosarkom Çalışma Grubu (IRS) elde ettikleri sonuçları günümüze kadar dört kez (IRS-I, 1972-78; IRS-II, 1978-84; IRS-III, 1984-91; IRS-IV, 1991-97) yayınlamıştır.

IRS-II çalışmasında histolojik olarak rabdomiyosarkom tanılı 21 yaşından genç olgular, cerrahi tedavi sonrası rezidü tümör miktarına göre dört gruba ayrılmıştır. Grup I ve II olgularda 5 yıllık sağkalım %85, grup III olgularda %66, grup IV olgularda ise %26 oranında belirlenmiştir. Daha sonra IRS Komitesi, tedavi öncesi tümör yaygınlığını esas alan, günümüzde de kullanılan modifiye TNM evreleme sistemini ortaya koymuştur (13).

TNM evreleme sistemi primer tümörün lokalizasyonu, komşu yapılara invazyon durumu, çevre lenf nodu tutulumu, uzak metastaz varlığı/yokluğu kriterlerine göre uygulanmaktaydı. Hem IRS Klinik Gruplama hem de TNM evreleme sisteminin prognostik öneminin varlığı, artan TNM evresi ile azalan sağkalımın ilişkili olduğu belirlendi. IRS-III çalışmasında her dört grupta da sağkalımlarda düzelme saptandı (13).

Anatomik yerleşim prognozun belirlenmesinde en önemli faktörlerdendir. IRS-II çalışmasına göre orbita rabdomiyosarkomları en iyi prognoza sahip tümörlerdir (5 yıllık sağkalım %92); ardından baş-boyun ve genitouriner sistem (mesane ve prostat hariç) tümörleri (5 yıllık sağkalım %80) gelir. Parameningeal, mesane, prostat ve ekstremiteler yerleşimlerinde sağkalım %70 civarındadır. En kötü prognozu retroperiton, safra yolları ve periton lokalizasyonlu tümörler göstermektedir (13).

Yerleşim yeri aynı olan tümörlerde geç tanı, büyük tümör çapı, meninksler ve BOS'a yayılım, lenf nodu metastazı, tümörün total eksizyonunun mümkün olmayışı prognostik farklılıklara sebep olmaktadır. Tümörün lokalizasyonu tedaviyi büyük ölçüde şekillendirir. Göz yerleşimli olgularda sistemik kemoterapi ve radyoterapi, paratestiküler yerleşimli olgularda cerrahi rezeksiyon, kemoterapi uygulanır. Parameningeal ve paraspinal bölge yerleşimli tümörlerde genişletilmiş radyoterapi ve intratekal kemoterapi lokal nüks ve yayılım olasılığını azaltmaktadır. Neo-adjuvan radyoterapi ve kemoterapi mesane ve prostat rabdomiyosarkomlarında daha az agresif cerrahiye ve organ fonksiyonlarının korunmasına olanak sağlar (13).

Histolojik alt tip de önemli bir bağımsız prognostik parametredir. Newton ve ark. çalışmalarında embriyonel rabdomiyosarkomun botrioid ve içsi hücreli alt tiplerinin iyi prognozlu (5 yıllık sağkalım %95-%88), klasik embriyonel rabdomiyosarkomun orta dereceli (5 yıllık

sağkalım %66), alveoler rabdomyosarkomun ise kötü prognozlu olduğu (5 yıllık sürvi %54) sonucuna varmışlardır (13).

1960'lerden itibaren cerrahi, multiajan kemoterapi ve/veya radyoterapiyi kapsayan multidisipliner tedavi yaklaşımlarının benimsenmesiyle, sağ kalım oranında belirgin ilerleme kaydedildi. 1970'te kür oranı %25 civarındayken 1991'de %70'e yükseltilmiştir (14). 1960'tan itibaren Vinkristin (VCR), Daktinomisin (AMD) ve Siklofosfamid (CYP) tekli antineoplastik ajan olarak kullanılmaktayken, 1970'lerden itibaren kombine kemoterapi rejimleri ve radyoterapi uygulanmaya başlanmıştır (14).

IRS-IV çalışma sonuçları RMS'li olgularda tedavi riskinin doğrudan tümörün yerleşim yeri, yaygınlığı ve tümörün varoluş süresiyle ilişkili olduğunu desteklemektedir. Ayrıca olguların çoğunda, radyoterapi ilaveli veya ilavesiz Vinkristin, Daktinomisin ve Siklofosfamid içeren kombine kemoterapi ve cerrahi tedavinin altın standart olduğunu da ortaya koymaktadır. Topotekan gelecekte daha sık kullanılması muhtemel antineoplastik ajan olarak çalışmalarda yer almaktadır (14).

IV- ÇALIŞMADA KULLANILAN BELİRLEYİCİLERE AİT GENEL BİLGİLER

1- CD117 (C-KIT)

1986 yılında retroviral bir onkojen (v-kit) olarak izole edilen c-kit'in, 1 yıl sonra Besmer ve ark. tarafından kedi DNA'sında hücresel homoloğu (c-kit) tanımlanmıştır (18, 19). C-kit geni kromozom 4q12'de perisentromerik yerleşimlidir. Genom DNA'sı 89 kB genişliğinde olup, 21 ekson içermektedir (19). 145 kD ağırlığında olan c-kit proteini Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörü α (PDGF α), PDGF β , FLT3, Koloni Stimüle Edici Faktör 1R (CSF1R)'i de içeren Tip III tirozin kinaz reseptör ailesinden bir transmembran proteinidir (18, 19, 20). C-kit proteininin 5 Ig benzeri ekstrasellüler bölgesi, bir intrasellüler split tirozin kinaz bölgesi vardır (19).

KIT sinyali, adenosin trifosfat'ın c-kit'in hücre membranına komşu kinaz bölgesine bağlanmasıyla başlar. Fosfat transferini takiben, substrat bağlanır ve sinyal aşağı doğru yayılarak efektör molekülleri aktive eder (20). C-kit'in fizyolojik ligandı fibroblast ve mast hücreleri tarafından sentezlenen, mast hücre büyüme faktörü olarak da bilinen kök hücre faktörüdür (18, 19, 21, 87). C-kit reseptörüne ligandı olan kök hücre faktörünün bağlanmasıyla reseptör dimerizasyonu, intrasek tirozin kinaz aktivasyonu ve reseptör otofosforilasyonu indüklenir, farklı hücre tiplerinde, farklı transkripsiyon faktörlerini aktive ederek hücrelerde apoptoz, diferansiyasyon, proliferasyon, kemotaksi, ve adezyon fonksiyonlarını düzenler (19, 20).

Mast hücreleri, hematopoetik kök hücreler, germ hücreleri, melanositler, gastrointestinal sistemde yer alan Cajal hücreleri, ter bezi epitel hücreleri, deri adnekslerine ait bazal hücrelerin bir

kısmı ve özellikle serebellar yerleşimli nöronlarda c-kit ekspresyonu belirlenmiştir (18, 19, 21). C-kit reseptör fonksiyonlarının kalıtsal bazı mutasyonlar sonucu kaybı defektif deri pigmentasyonu, makrositik anemi, intestinal dismotilite, mast hücre eksikliği ve infertiliteye, tam kaybı ise embriyo kaybına neden olmaktadır. Kaybın aksine c-kit fonksiyonlarında artışa neden olan aktive edici mutasyonlar sonucunda KIT bağımlı ve KIT pozitif neoplaziler ortaya çıkmaktadır (19).

Gastrointestinal stromal tümörler (GIST), etyolojik olarak c-kit ile ilişkilendirilmiş ve son yıllarda üzerinde en çok çalışılmış neoplazidir. GİS'in en sık görülen mezenşimal tümörü olan GİST'te %90 oranında c-kit ekspresyonu belirlenmiştir (19). Olguların %57-71'inde ekson 11, %4-17'sinde ekson 9 veya 13 mutasyonları saptanmıştır. KIT mutasyonları belirlenemeyen olgularda da %35 oranında PDGFR α mutasyonları bulunmuştur (18, 19). Etiyolojide c-kit'in rolü belirginleşince, tedavide c-kit üzerinden etki gösterecek terapötik ajanlara yönelik araştırmalar yapılmıştır. ATP analogu olan imatinib mezilat (STI571, gleevec/glivec; Novartis Pharmaceuticals, St Louis) bütün ABL tirozin kinazların (c-ABL, bcr, ABL), PDGFR α ve c-kit için güçlü ve selektif bir inhibitördür (18, 19, 20, 21, 22, 23). İmatinib mezilat (İM), ATP'den hedef substrattaki tirozin rezidülerine fosfat geçişini inhibe ederek sinyal iletimini engeller. Böylece hücre proliferasyonu azalır ve apoptoz artar (20). İlk olarak kronik myeloid lösemi (KML) tedavisinde kullanılan İM, son yıllarda metastatik ve inoperabl GİST olgularında giderek artan oranda kullanılmaya başlanmıştır (18, 19, 20).

Oldukça geniş bir klinik semptom spektrumu gösteren mastositoz, çeşitli organlarda mast hücre birikimi ve mast hücre mediyatörlerinin salınımıyla karakterizedir. Kök hücre faktörü ve KIT ilişkisi mast hücrelerinin gelişimi, fonksiyonları ve sağkalımı açısından oldukça önemlidir (18). Mastositozda aktive edici KIT mutasyonları belirlenmiştir. C-kit CD34 pozitif kök hücre popülasyonunun yarısında, mononükleer hücrelerin %4'ünde eksprese edilmekte, özellikle eritropoezde rol almaktadır (19). Akut myeloid lösemi (AML) olgularının %80-90'ında, KML'nin blastik kriz döneminde aberan bir KIT ekspresyonu saptanmıştır (18, 19). Ekson 8, ekson 11 ve nokta mutasyonlar belirlenmiştir. Önceki yıllarda AML için olumsuz bir prognostik faktör olduğu düşünülen c-kit ekspresyonunun, günümüzde prognostik öneminin olmadığı düşünülmektedir (18, 19). KML tedavisinde kullanılan İM, BCR-ABL kinaz aktivitesini inhibe ederek etki göstermektedir (18, 22, 23)

Deri ve koroidal melanositlerin KIT ekspresyonu gösterdiği bilinmektedir (18). C-kit ekspresyonu süperfisiyal yayılan melanomlarda, vertikal yayılım gösteren melanomlara oranla daha sıktır. Desmoplastik melanomlar genellikle negatif, üveal melanomlar %64-88 oranında KIT pozitifdir (19). Melanom olgularında KIT ekspresyon kaybının apoptozu önlediği, tümörün büyümesine ve metastaz yapmasına olanak sağladığı düşünülmektedir (18).

Akciğerin küçük hücreli karsinomlarında değişik serilerde %28-88 arasında değişen oranlarda, büyük hücreli nöroendokrin karsinomlarında %55-77 oranında, adenokarsinomlarının yaklaşık yarısında c-kit ekspresyonu belirlenmiştir. In vitro çalışmalarda İM'nin, c-kit pozitif küçük hücreli akciğer karsinomlarında hücre proliferasyonunu inhibe etmesi, gelecek yıllarda tedavi amacıyla kullanılabileceği beklentisini doğurmuştur (19).

Kromofob tip böbrek hücreli karsinomların tamamına yakınında, onkositom ve papiller tip böbrek karsinomlarının bir kısmında c-kit ekspresyonu belirlenmiştir (19).

Hotte ve ark. tarafından yürütülen bir çalışmada, tükürük bezinin adenoid kistik karsinomlarında %80'in üzerinde c-kit pozitifliği belirlenmesine rağmen uygulanan İM tedavisi etkili bulunamamıştır (87).

Merkel hücreli karsinom ve timik karsinomda yüksek oranda c-kit ekspresyonu belirlenmiş (19), Strobel ve ark'nın çalışmasında timik karsinomun İM tedavisine yanıt verdiği gösterilmiştir (88).

Overin epitelyal, özellikle seröz karsinomlarında c-kit ve kök hücre faktörünün ekspresyonu belirlenmiş, bazı çalışmalarda c-kit pozitifliğinin kemoterapiye daha kötü yanıt ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (19).

Yumuşak doku sarkomlarında, c-kit ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Ewing sarkom tümör ailesinde c-kit ekspresyonunun belirlenmesi amacıyla yapılan üç ayrı çalışmada %31, %45, %65 oranında pozitifite saptanmıştır (19). Mutasyon tipleri henüz belirlenememiştir (89). Yapılan klinik çalışmalar sayıca yetersiz olmakla beraber, İM'nin konvansiyonel kemoterapötik ajanların etkisini arttırabileceğini düşündürmüştür (19). Landuzzi ve ark. çalışmalarında, rabdomiyosarkomda c-kit ekspresyonunun yok sayılabilecek kadar az, ancak kök hücre faktör üretiminin oldukça yüksek olduğunu belirlemişlerdir (90). Osteosarkomda c-kit ekspresyonuna yönelik yapılan çalışmalarda Smithey ve ark. (17) %83, Entz-Werle ve ark. (15) %57'lik bir oran elde etmişlerdir. Sinovyal sarkom, leyomiyosarkom, malign fibröz histiyositom ve diğer yumuşak doku tümörlerinde çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (19).

2- C-ERB B2

HER/erbB büyüme faktör reseptör ailesi HER-1(EGF-R), HER-2, HER-3, HER-4 olarak adlandırılan 4 homolog tip I tirozin kinaz reseptöründen oluşmaktadır (24, 91, 92, 93, 94). HER reseptörleri hücre membranına yerleşir ve benzer yapısal özellikler gösterir (93). Ekstrasellüler büyüme faktörü (ligand) bağlayıcı bölüm, transmembranöz lipofilik bölüm ve intrasellüler protein kinaz bölümlerinden oluşmaktadırlar (93). Reseptör kompleksine büyüme faktörü bağlandıktan

sonra c-erb B2 molekülleri homodimerizasyon veya heterodimerizasyona uğrar, tirozin kinaz aktive olur. Bu aktivasyon sinyali nükleusa taşınır, mitoz ve hücre replikasyonu gerçekleşir (24).

Human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2/neu, Erb B2), protoonkogeni 17q21.1. numaralı kromozomda lokalize, 185 kD ağırlığında bir transmembran glikoproteindir. Henüz spesifik bir ligand tanımlanmamakla birlikte, HER reseptör ailesinin diğer üyelerinin epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF α), heregulin, neuregulin gibi ligandlarla aktive olması sonucu açığa çıkan sinyalleri amplifiye ettiği bilinmektedir (24, 92, 93, 95). HER2 ve diğer HER proteinleri arasındaki etkileşim hücre büyüme ve diferansiyasyon döngüsünde önemli rol oynamaktadır (93). C-erb B2 fizyolojik olarak sinir sistemi, kemik, kas, deri, kalp, akciğerler ve intestinal epitel gibi birçok dokuda eksprese edilmektedir (24, 93).

HER2 geninin amplifikasyonu, c-erb B2 proteininin overekspresyonuyla sonuçlanır (96). C-erb B2 proteininin overekspresyonu meme, over, akciğer, pankreas, mide, kolon, tükrük bezi, mesane, böbrek kaynaklı birçok tümörde belirlenmiştir (25, 91, 93, 96, 97). Bazı çalışmalarda c-erbB2 ekspresyonu artmış tümörojenik etki ve metastaz potansiyeli yanı sıra kemoterapötik ajanlara dirençten sorumlu tutulmuştur (97).

Üzerinde çok sayıda araştırmanın yapıldığı ve c-erb B2 ile ilişkisi kısmen aydınlatılmış olan meme kansinomlarında, %30 oranında c-erb B2 ekspresyon saptanmış ve ekspresyonun kötü prognozla ilişkili olduğu belirlenmiştir (24, 93, 95, 98, 99, 100). C-erb B2 proteini immünohistokimyasal yöntemlerle, genom kopyaları FISH, PCR, SB yöntemleriyle belirlenebilir (95). Son yıllarda c-erb B2'nin ekstrasellüler bölgesine karşı geliştirilen monoklonal antikor trastuzumab (Herceptin; Genentech, South San Francisco, CA), c-erb B2 ekspresyonu gösteren meme kansinomlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Elde edilen olumlu sonuçlar, trastuzumabın c-erb B2 ekspresyonu gösteren diğer tümörlerde de kullanımını gündeme getirmiştir (4, 24, 25, 26, 27).

Yumuşak doku sarkomlarında c-erb B2 ekspresyonunun belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, oldukça farklı sonuçlar ortaya konmuştur. Foster ve ark.'nın (101) 273 hasta üzerinden yürüttüğü çalışmada genel olarak %10.6 oranında overekspresyon belirlenmiştir ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. En yüksek ekspresyon insidansını karsinosarkom (%40), malign fibröz histiyositom (%26) ve dermatofibrosarkom (%18.2) göstermiştir (101). Merimsky ve ark.'nın (99) yürüttüğü çalışmada ise, 230 sarkom olgusunda c-erb B2 ekspresyonu belirlenmemiştir

Osteosarkomda c-erb B2 ekspresyonu bir grup araştırmacı tarafında kötü klinik gidiş, metastaz ve azalmış sağkalım ile ilişkilendirilirken (96, 102, 103), diğer grup iki parametre arasında ilişki kuramamıştır (4, 26, 95). Bir başka grup araştırmacı ise c-erb B2 ekspresyonu

varlığının sağkalımı arttırdığını öne sürmüştür (104).

Yapılan çalışmalarda Ewing sarkomunda c-erb B2 ekspresyonunun anlamlı olmadığı, dolayısıyla prognostik olarak da önemi olmadığı bildirilmiştir (97, 105).

Ricci ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan rabdomiyosarkom hücre dizilerinde HER reseptör ailesine ait üyelerin eksprese edildiği belirlenmiştir (91).

GEREÇ VE YÖNTEM

Olguların Biyopsi Raporlarının Değerlendirilmesi ve Çalışma Grubuna Alınacak Olguların Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılacak olguların tespiti için, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalının bilgisayar ortamındaki rapor arşivinden yararlanıldı. Bilgisayar ortamındaki arşivde osteosarkom, Ewing sarkomu, rabdomiyosarkom tanısı alan olgular belirlendi. İlk aşamada rapor suretleri incelendi. Raporlardan, hastaların yaş, cinsiyet, rezeksiyon tipi gibi klinik bilgiler ve makroskopik özellikler, blok sayısı gibi patolojik incelemeye ait bulgular belirlendi.

Çalışmaya alınabilecek olguların arşiv lamaları ve bloklarına ulaşıldı, doku boyutu, yeterliliği, tespit ve takip kalitesi değerlendirilerek gözden geçirildi.

Bu değerlendirme sonucunda bloklarına ve lamalarına ulaşılabilen, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında Haziran 2000-Aralık 2006 tarihleri arasında tanı almış toplam 75 olgudan oluşan çalışma grubu belirlendi. Çalışma grubu 25 osteosarkom, 25 Ewing sarkomu, 25 rabdomiyosarkom olgusundan oluşmaktaydı.

Parafin Bloklardan Yeni Kesit Hazırlanması

Belirlenen parafin bloklar arşivden çıkarıldı. Her parafin bloktan bir adet H.E. inceleme, iki adet immünohistokimyasal inceleme için, bir adet yedek olmak üzere toplam dört adet, 2-3 µm kalınlığında yeni kesit hazırlandı. Yeni kesitler adeziv kaplı lamalar (Menzel-Glaser, Superfrost®Plus) üzerine alındı.

Kaplı lamalar 56°C etüvde 2 saat bekletilerek kurutuldu ve kesitlerin yapışması sağlandı. Lamlar incelemenin yapılacağı güne kadar tozsuz ortamda, oda sıcaklığında saklandı.

İmmünohistokimyasal Çalışma

Çalışmada kullanılacak primer antikolar olan c-kit ve c-erb B2 için optimal sulandırma oranları ve inkübasyon süreleri değerlendirildi. C-kit antikoruna 1/100 sulandırma oranı ve 1 saat inkübasyon süresi ile mide dokusuna ait pozitif kontrol kesitlerinde, c-erb B2 antikoruna da 1/100 ve 1 saat inkübasyon süresi ile meme dokusuna ait pozitif kontrol kesitlerinde denendi. Alınan olumlu sonuçları takiben immünohistokimyasal çalışmanın yapılacağı gün sırası ile aşağıdaki basamaklar uygulandı.

- Uygun koşullarda saklanmış olan kaplı lamlardan ikisi 56°C etüvde bir gece bekletildi.
- Etüvden çıkarılan lamalar ksilen serisinden (30 dak.) geçirilerek deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Asetonu takiben (5 dak.), %96'lık alkolden (15 dak.) geçirilerek distile suya kadar

getirilen kesitler hidrate edildi.

Antijen retrieval işlemi c-kit ve erbB2 antikorları için farklı basamaklar içerdiğinden sırasıyla anlatılmıştır.

C- kit için:

- Antijen retrieval solüsyonu olarak EDTA Buffer (Ph:8, x10, Heat-Induced Epitop Retrieval, Cat no.:AP-9004-500, Lot.: 9004E507B) hazırlandı ve mikrodalga fırın içerisinde 3x5 dak. ışınlama yapıldı (10'ar dakikalık sürelerle dışarıya alınıp soğutuldu). Işınlama işlemi bittikten sonra tekrar dışarıya alınan lamalar 20 dak. oda sıcaklığında bekletilerek soğutuldu.

C-erb B2 için:

- 1 lt sitrat tampon solüsyonu hazırlandı: Sitrik asit 2.1 g alınarak distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı ve 2M NaOH ile pH:6'ya ayarlandı.

- Su aşamasına getirilmiş preparatlar lam taşıyıcılarına yerleştirildi.

- 1 lt tampon solüsyonu, kapağı kapalı basınç valvi açık düdüklü tencere içinde elektrikli ısıtıcı levha üzerinde kaynayınca kadar ısıtmaya devam edildi. Bu sırada taşıyıcılar da düdüklü tencereye, kesit yüzeylerinin tamamen örtülü olmasına dikkat edilerek yerleştirildi. Düdüklü tencerenin kapağı yeniden kapatıldı. Basınç valvi yine açık bırakıldı. Buradan hava yerine tamamen su buharı çıkıncaya dek ısıtma devam edildi. Tamamen su buharı çıkınca valv kapatıldı. 1 atmosfer basınçta 1.5 dak. daha ısıtma işlemine devam edildi. Düdüklü tencere ısıtıcı levha üzerinden alınıp 20 dak. oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Bu sürenin sonunda basınç valvi ve kapak açılarak lamalar düdüklü tencereden çıkarılıp, distile suya alındı.

Antijen retrieval işleminin ardından c-kit ve c-erb B2 antikorları için tekrar ortak basamaklara geçildi.

- İmmünohistokimya setleri hazırlandı.

- Antijen retrieval işlemi sonrası distile suya alınan kesitlerin çevresi hidrofobik kalem ile doku sınırlarından çizildi ve bu lamalar PBS (fosfat tamponlu serum fizyolojik, Ph:7.4) bulunan şaleye alındı.

- Primer antikorlar hazırlandı.

- Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için kesitler üzerine %3'lük hidrojen peroksit damlatıldı ve 20 dakika bekletildi.

- Hidrojen peroksit uygulamasını takiben kesitler önce distile suda, sonra PBS (phosphate buffered saline, pH:7.4) ile yıkandı (2x5 dak.).

- Nonspesifik bağlanmaları engellemek için protein blokajı uygulandı. Blokaj işlemi (Large Volume Ultra-V-Block, Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA, Cat no.: TA-125-UB, Lot no.: AUB50818) 15 dakika süre ile uygulandı.

- Distile su ve sonra PBS ile yıkandı (2x5 dak.).

- Primer antikorlar ile 60 dakika inkübasyon yapıldı.

- Distile su ve sonra PBS ile yıkandı (2x5 dak.).

- Biotin ile işaretli sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent, Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA, Cat no.: TP-125-BN, Lot no.: PBN50719) damlatılarak antijen antikor kompleksi (Link) işaretlendi, 25 dakika inkübasyon yapıldı.

- Distile su ve sonra PBS ile yıkandı (2x5 dak.).

- Horse radish peroxidase ile işaretli streptavidin molekülü içeren enzim solüsyonu (Large Volume Streptavidin Peroxidase, Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA, Cat no.: TP-125-HR, Lot no.: SHR50713) ile antijen-antikor-link kompleksinin etiketlenme (Label) işlemi gerçekleştirildi, 25 dakika inkübe edildi.

- Distile su ve sonra PBS ile yıkandı (2x5 dak.).

- Aminoethyl Carbazole Kromojen (AEC) solüsyonu (Large Volume AEC Substrate System (RTU), Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA, Cat no.: TA-125-HA, Lot no.: AHA50817) kullanılarak iki önceki basamakta işaretlenen komplekslerin renklendirilme safhası yapılmış oldu. 15 dakika inkübe edildi.

- Distile su ile yıkama yapıldı (2x5 dak.).

- Daha sonra kesitlere Mayer Hematoksilen ile (2 dak.) zıt boya yapıldı.

- Kesitlerin mor renklenmesini takiben, distile su ile yıkanan kesitler kapatma maddesi (Large Volume Ultra Mounth Plus, Lab Vision Corp., Fremont, CA, USA, Cat no.: TA-125-UMX, Lot no.: UMX40414) damlatılarak lamelle kapatıldı.

- Antikorların özellikleri, sulandırma oranları, inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları Tablo 3'te gösterilmiştir.

TABLO 3-PRİMER ANTİKORLAR, SULANDIRMA ORANLARI VE İNKÜBASYON SÜRELERİ

Antikor ve Klon	Üretici	Sulandırma Oranı	İnkübasyon Süresi ve Sıcaklığı
Polyclonal, Rabbit CD117/c-kit Oncoprotein/SCF- Receptor	Neomarkers Fremont, CA, USA. RB-9038-P1 Lot no.: 9038P412F	1/100	60 dakika Oda sıcaklığı
Monoclonal, Mouse CerbB2 Oncoprotein Klon 10A7	Novocastra Newcastle, UK. NCL-L-CBE-356 Lot no.: L 135613	1/100	60 dakika Oda sıcaklığı

SISH (Silver In Situ Hybridization)

VENTANA Benchmark LT aygıtı ile inform HER-2 DNA probe (VENTANA) kiti kullanılmıştır. C-erb B2 ve kromozom 17 DNA problemleri ile işlem uygulanan preparatlar üzerinde mikroskopik inceleme yapılmıştır.

DEĞERLENDİRME

Her olguya ait arşivden alınan lamalar ve yeniden H.E. ile boyanan kesitler eş zamanlı olarak immunhistokimya preparatları ile birlikte değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal değerlendirme:

C-kit antikoru kullanılarak yapılan değerlendirmede kullanılan parametreler;

1- Boyanma yaygınlığı: %0-10, %10-50, >%50

2- Boyanma yoğunluğu: (+) (zayıf), (++) (orta), (+++) (kuvvetli)

Sonuçlar;

Boyanma yaygınlığı %0-10, boyanma yoğunluğu (+) ise: Negatif

Boyanma yaygınlığı %0-10, boyanma yoğunluğu (++) , (+++) ise: Pozitif

Boyanma yaygınlığı %10-50, boyanma yoğunluğu (+), (++) , (+++) ise: Pozitif

Boyanma yaygınlığı >%50, boyanma yoğunluğu (+), (++) , (+++) ise: Pozitif

olarak değerlendirildi (20).

C-erb B2 antikoru kullanılarak yapılan değerlendirmede kullanılan parametreler;

1- Boyanma yaygınlığı: %0-10, >%10

2- Boyanma şiddeti: (+)(zayıf), (++) (orta), (+++) (kuvvetli)

3- Boyanan hücrelerde boyanmanın lokalizasyonu: Membranöz, sitoplazmik-membranöz

Sonuçlar;

Boyanma yaygınlığı <%10 ise: Negatif (0)

Boyanma yaygınlığı >%10, boyanma yoğunluğu (+) ise: Negatif (1+)

Boyanma yaygınlığı >%10, boyanma yoğunluğu (++) ise: Pozitif (2+)

Boyanma yaygınlığı >%10, boyanma yoğunluğu (+++) ise: Pozitif (3+)

olarak değerlendirildi (26, 95).

İstatistiksel değerlendirme:

İstatistiksel değerlendirmede kesitli değişkenler Ki-kare, Fisher's exact test, Kaplan Meier, Log rank test uygulandı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS programı (SPSS 11.0 for Windows) kullanılarak bilgisayar ortamında yapıldı.

SISH yönteminin değerlendirilmesi:

C-erb B2 ve kromozom 17 için hazırlanan lamalar 100x immersiyon ile incelendi. Skorum kriterlerine uygun en az iki alandaki toplam 40 hücrenin çekirdek sinyalleri sayıldı, çekirdek başına düşen ortalama sinyal sayısı belirlendi. C-erbB2 için ortalama sinyal sayısı/ Kromozom 17 için ortalama sinyal sayısı > 2.2 ise anlamlı kabul edildi.

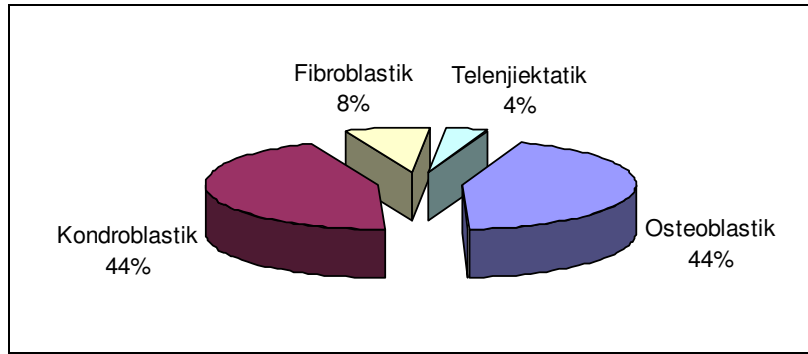
BULGULAR

OSTEOSARKOM

OLGULARIN DAĞILIMI

Çalışma grubuna katılan toplam 25 adet OS olgusunun 11'i osteoblastik (%44), 11'i kondroblastik (%44), 2'si fibroblastik (%8), 1'i telenjektatik tip (%4) olarak sınıflandırıldı. (Grafik 1).

Patoloji raporlarından ve hasta dosyalarından elde ettiğimiz bilgilere göre olgularımızın 22'si (%88) ilk kez tanı almıştır. İki olgu nüks (%8), 1 olgu metastatik (%4) olarak değerlendirilmiştir. Nüks olarak değerlendirilen olguların birinde (Prot. No:7583-2004) 1 yıl, diğerinde (Prot. No:34769-2006) 2 yıl sonra lokal nüks, metastaz olarak değerlendirilen olguda (Prot. No:28692-2005) ise 3 yıl sonra uzak kemik metastazı belirlenmiştir. Bir olguda (Prot. No:16264-2004) tanı anında metastatik akciğer nodülleri mevcuttur.



Grafik 1- Osteosarkom olgularının histolojik tiplerine göre dağılımı

YAŞ ve CİNSİYET

Olguların yaşları 11 ile 50 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 22,76 olarak saptandı. On iki olgu 20 yaşın altındaydı. Pik insidansı 2. dekat olarak belirlendi.

Yirmi beş olgunun 14'ü kadın (%56), 11'i erkektir (%44).

Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 4'te, yaş ve cinsiyetlerinin histolojik tiplere göre dağılımı Tablo 5'te görülmektedir.

Cinsiyet	(n)	Yaş ortalaması	Standart Sapma	Yaş dağılımı
Erkek	11	23.27	7.93	16-39
Kadın	14	22.36	10.84	11-52
Toplam	25	22.76	9.49	11-52

Tablo 4- Osteosarkom olgularının yaş ve cinsiyet dağılımı

Histolojik Tip	Olgu Sayısı (n)			Yaş Dağılımları	Ortalama±SS	Medyan
	Toplam	Kadın	Erkek			
Osteoblastik	11	8 (%72.7)	3 (%27.3)	14-29	19.82±5.07	17.00
Kondroblastik	11	4 (%36.4)	7 (%63.6)	11-52	23.36±11.89	18.00
Fibroblastik	2	2 (%100)	-	21-34	27.5±9.19	27.5
Telenjektatik	1	-	1 (%100)	39	39.00±0.00	39
Toplam	25	14 (%56)	11 (%44)	11-52	22.76±9.49	19

Tablo 5- Osteosarkom olgularının histolojik tiplerine göre cinsiyet ve yaş dağılımları

TANI MATERYALİ

Makroskopik bulgularına ulaşılabilen OS olgularının 15'i insizyonel biyopsi (%60), 10'u eksizyonel biyopsi (%40) materyalidir. İnsizyonel biyopsi materyallerinin 1'i küretaj, 14'ü tru-cut biyopsidir.

YERLEŞİM YERİ

En sık tutulan yerleşim yeri 15 olgu ile ekstremitelerdir (%60). Bunların 9'u femur (%36), 6'sı tibiadır (%24). Belirlenen diğer yerleşim yerleri olguların 3'ünde mandibula (%12), 2'sinde pelvis (%8), 1'inde skapula (%4), 1'inde maksilla (%4), 1'inde kosta (%4), 1'inde vertebra (%4), 1'inde fasiyal kemik (orbita tabanı)'tir (%4).

NEKROZ

Yirmi bir adet olguda cerrahi öncesi uygulanan kemoterapiye cevabın belirlenmesi amacıyla nekroz oranları değerlendirildi. Bu olguların 10'unun total eksizyonu çalışma grubumuzda yer almakta idi. On bir olgunun ise tanısal tru-cut biyopsileri çalışma grubumuzda yer almakta olup, daha sonra Anabilim Dalı'mıza gönderilen total eksizyonlarına ait preparatlara arşiv taraması yapılarak ulaşıldı, tekrar değerlendirildi. On yedi olguda %90'ın altında (%81), 4 olguda %90'ın üzerinde (%19) nekroz belirlendi.

SAĞKALIM

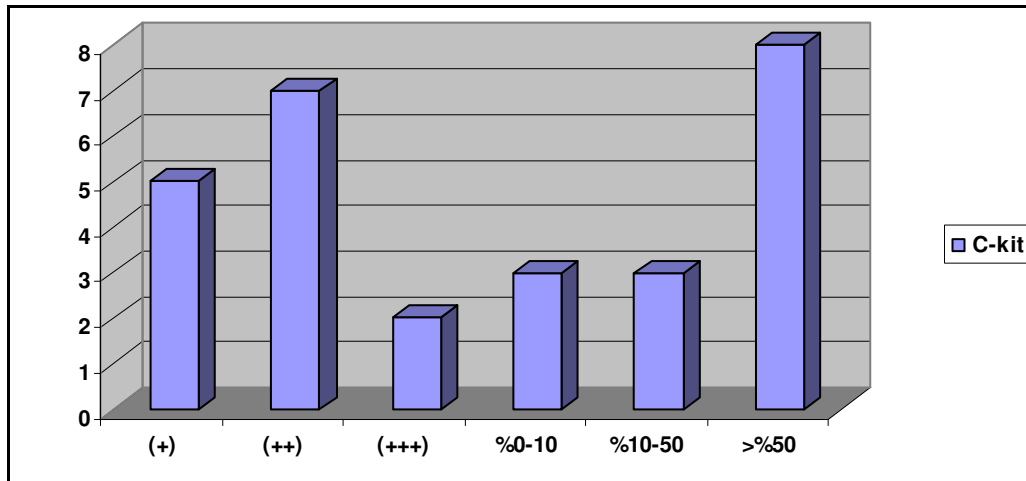
Yirmi beş adet olgunun 24'ünün (%96) klinik takibine ulaşıldı. İki ay ile 62 ay arasında değişen, ortalama 25.4 aylık takip süreleri olduğu belirlendi. Olguların 13'ünün (%54) hastalık nedeniyle öldüğü, yaşayan hastaların 1'inde lokal nüks (%4), 1'inde metastaz (%4) varlığı saptandı. Geri kalan 9 hasta (%38) sağ ve sağlıklı olup, hastalık belirtisi taşıyorlardı.

İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

C-KIT

C-kit antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 25 olgunun 11'inde (%44) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Bazı olgularda boyanmaya zayıf bir membranöz boyanma da eşlik etmekte idi. Pozitif immünreaksiyon alınan olguların 2'sinde (%8) yaygın, kuvvetli (>%50, +++), 6'sında (%24) yaygın, orta derecede (>%50, ++), geri kalan 3 olguda (%12) ise fokal, zayıf-orta derecede (%10-50, +++) boyanma saptandı.

On dört olguda (%56) negatif immünreaksiyon gözlemlendi. Bu olguların 3'ünde negatif olarak değerlendirilen %10'un altında, zayıf boyanma belirlendi. Tümör hücrelerinde boyanmanın gözlenmediği olguların birinde (Prot. No: 16506-2006) osteoblastik ve osteoklastik hücrelerde sitoplazmik pozitivite saptandı. Olguların c-kit ekspresyon oranı ve şiddeti Grafik 2 ve Tablo 6'da, sağkalım ile ilişkisi Tablo 7'de görülmektedir.



Grafik 2- Osteosarkom olgularında c-kit boyanma yaygınlığı ve şiddeti

		BOYANMA ŞİDDETİ				
BOYANMA YAYGINLIĞI		YOK	ZAYIF (+)	ORTA (++)	KUVVETLİ (+++)	TOPLAM
YOK	n	11				11
	%	%44				%44
%0-10	n		3			3
	%		%12			%12
%10-50	n		2	1		3
	%		%8	%4		%12
>%50	n			6	2	8
	%			%24	%8	%32
TOPLAM	n	11	5	7	2	25
	%	%44	%20	%28	%8	%100

Tablo 6- Osteosarkom olgularında c-kit boyanma yaygınlığı ve şiddeti

		Sayı (%)	c-kit pozitif (%)	c-kit negatif (%)
Histolojik tip	Osteoblastik	11 (44.0)	4 (36.4)	7 (50.0)
	Kondroblastik	11 (44.0)	5 (45.4)	6 (42.9)
	Fibroblastik	2 (8.0)	2 (18.2)	-
	Telenjektatik	1 (4.0)	-	1 (7.1)
	Toplam	25 (100.0)	11 (100.0)	14 (100.0)
Sağkalım	Sağ	11 (45.8)	3 (30.0)	8 (57.1)
	Ölü	13 (54.2)	7 (70.0)	6 (42.9)
	Toplam	24 (100.0)	10 (100.0)	14 (100.0)

Tablo 7- C-kit immünreaktivitesinin histolojik tip ve sağkalıma göre dağılımı

C-ERB B2

C-erb B2 antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 25 olgunun hiçbirinde immünreaksiyon belirlenmedi.

Dört olguda (Prot. No:13881-2006, 20170-2006, 2912-2006, 8527-2002) tümöre komşu kas dokusunda kuvvetli sitoplazmik boyanma saptandı.

İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI

Osteosarkom olgularında kadın ve erkekler arasında yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

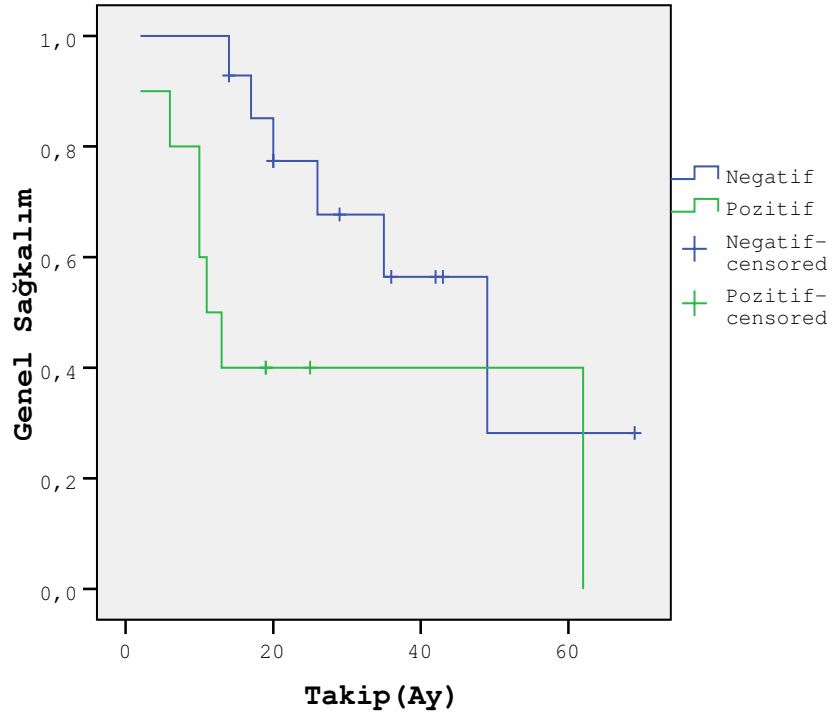
Olgular 18 yaş ve altı ile 18 yaş ve üstü olmak üzere iki gruba ayrıldı, cinsiyet, yerleşim yeri, histolojik tip ve sağkalım ile ilişkisi araştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$). Histolojik tip ile yerleşim yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

OS olgularında nekroz oranı %90'ın altı ve %90'ın üstü olmak üzere iki gruba ayrıldı. Nekroz oranının histolojik tip ve sağkalım ile ilişkisini belirlemeye yönelik olarak yapılan istatistiksel çalışmada anlamlı bir farklılık belirlenemedi ($p>0.05$).

Sağkalım ile histolojik tipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Osteoblastik tipte 20 aylık sağkalım süresi %63, kondroblastik tipte 19 aylık sağkalım süresi %63 olarak belirlendi.

C-kit immünreaktivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak **anlamlı bir ilişki bulundu** ($p=0.04$). C-kit ekspresyonu gösteren olgularda sağkalım süresi belirgin derecede düşüktür. Bu

sonuç üzerine boyanmanın şiddeti ve oranı sağkalım ile ayrı ayrı karşılaştırılmış, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak c-kit ekspresyonunun şiddeti ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine oldukça yakın bir sonuç elde edilmiştir ($p=0.059$). C-kit imünreaktivitesine göre genel sağkalım dağılımı Grafik 3’de görülmektedir.



Grafik 3- C-kit imünreaktivitesine göre genel sağkalım dağılımı ($p<0.05$)

Osteosarkom olgularının klinik ve immünohistokimyasal özellikleri Tablo 8’de görülmektedir.

TABLO 8-OSTEOSARKOM OLGULARINA AİT KLİNİK VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

NO	PROT. NO	YAŞ	CİNS	YERLEŞİM YERİ	BİYOPSİ	HİST. TİP	DURUM	C-KIT	C-ERB B2	SAĞKALIM	TAKİP (AY)
1	2680-2001	18	E	FEMUR	TC	KB	P	(-)	(-)	Ö	26
2	12554-2001	20	E	DİSTAL FEMUR	İB	KB	P	(-)	(-)	Ö	35
3	25083-2001	16	K	DİSTAL FEMUR	TC	OB	P	(-)	(-)	Ö	49
4	8527-2002	18	E	KOSTA	TC	KB	P	>%50, ++	(-)	Ö	62
5	14850-2002	14	K	PROKSİMAL TİBİA	TC	OB	P	(-)	(-)	S(S)	69
6	21229-2002	34	K	DİSTAL FEMUR	EB	FB	P	%10-50, +	(-)	U	U
7	6972-2003	52	K	MANDİBULA	TC	KB	P	>%50, +++	(-)	Ö	13
8	22964-2003	30	E	PELVİS	TC	KB	P	(-)	(-)	Ö	20
9	30215-2003	30	E	PELVİS	EB	KB	P	(-)	(-)	Ö	17
10	7583-2004	24	K	VERTEBRA	EB	OB	LN	%10-50, ++	(-)	Ö	10
11	16264-2004	17	E	FEMUR	TC	OB	M	>%50, ++	(-)	Ö	6
12	19804-2004	16	K	PROKSİMAL TİBİA	EB	OB	P	(-)	(-)	S(S)	43
13	23490-2004	27	K	DİZ	EB	OB	P	(-)	(-)	S(S)	42
14	7325-2005	23	K	SKAPULA	EB	OB	P	(-)	(-)	S(S)	36
15	10142-2005	11	K	DİSTAL TİBİA	TC	KB	P	(-)	(-)	Ö	14
16	26210-2005	17	K	DİSTAL FEMUR	TC	KB	P	(-)	(-)	S(M)	29
17	28692-2005	32	E	PROKSİMAL TİBİA	TC	KB	M	>%50, ++	(-)	Ö	10
18	2912-2006	21	K	MAKSİLLA	TC	FB	P	>%50, ++	(-)	S(LN)	25
19	3438-2006	29	K	MANDİBULA	EB	OB	P	>%50, +++	(-)	Ö	11
20	13881-2006	17	K	MANDİBULA	EB	OB	P	>%50, ++	(-)	Ö	2
21	16506-2006	16	E	PROKSİMAL TİBİA	TC	OB	P	(-)	(-)	S(S)	20
22	16681-2006	19	E	DİSTAL FEMUR	TC	OB	P	(-)	(-)	S(S)	20
23	19938-2006	17	E	PROKSİMAL TİBİA	TC	KB	P	>%50, ++	(-)	S(S)	19
24	20170-2006	12	K	DİSTAL FEMUR	EB	KB	P	%10-50, +	(-)	S(S)	19
25	34769-2006	39	E	ORBİTA TAVANI	EB	TLJ	LN	(-)	(-)	S(S)	14

KB: Kondroblastik, OB: Osteoplastik, FB: Fibroblastik, TLJ: Telenjektatik

P: Primer, LN: Lokal nüks, M: Metastatik

TC: Tru-cut, İB: İnsizyonel biyopsi, EB: Eksizyonel biyopsi

Ö: Ölü, S(S): Sağ-sağlıklı, S(M): Sağ-metastatik S(LN): Sağ-lokal nüks, U: Ulaşılamadı

EWING SARKOMU

OLGULARIN DAĞILIMI

Çalışma grubuna katılan toplam 25 adet ES olgusu dahil edildi. Patoloji raporlarından ve hasta dosyalarından elde ettiğimiz bilgilere göre olgularımızın 19'u (%76) ilk kez tanı almıştır. İki olgu nüks (%8), 4 olgu metastatik (%16) olarak değerlendirilmiştir. Nüks olarak değerlendirilen 2 hastadan birinde (Prot. No:1779-2004) rezeksiyon sonrası 3 yıl, 2.sinde (Prot. No:14972-2002) 1 yıl sonra lokal nüks saptanmıştır. Metastaz olarak değerlendirilen olguların birinde (Prot. No:25440-2004) cerrahi ve kemoterapiden 2 yıl, 2.sinde (Prot. No:9678-2005) cerrahi, kemoterapi ve radyoterapiden 1 yıl sonra uzak kemik metastazları, 3.sünde (Prot. No:19009-2006) ise cerrahi, kemoterapi ve radyoterapiden 1 yıl sonra akciğer metastazı belirlenmiştir. Bir olgu tanı anında metastatik bulunmuştur (Prot. No:2756-2006). İlk kez tanı alan 2 olgudan birinin (Prot. No:5696-2005) biyopsi öncesinde kemoterapi ve radyoterapi, diğerinin (Prot. No:251-2006) kemoterapi aldığı saptanmıştır.

YAŞ ve CİNSİYET

Olguların yaşları 3 ile 80 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 25 olarak saptandı. On olgu 20 yaşın altındaydı. Pik insidansı 2. dekat olarak belirlendi.

Yirmi beş olgunun 15'i erkek (%60), 10'u kadındır (%40).

Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 9'da görülmektedir.

Cinsiyet	(n)	Yaş ortalaması	Standart Sapma	Yaş dağılımı
Erkek	16	27.50	19.58	10-80
Kadın	9	20.56	11.62	3-35
Toplam	25	25.00	17.21	3-80

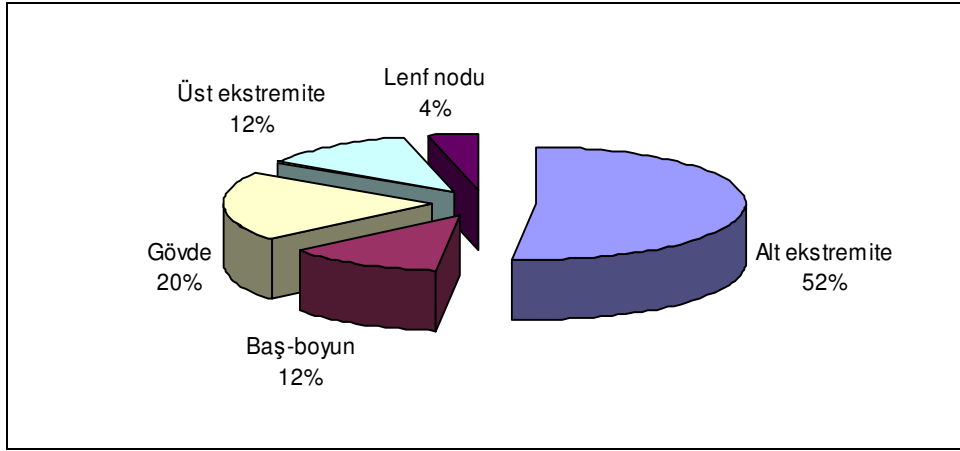
Tablo 9- Ewing sarkomu olgularında yaş ve cinsiyet dağılımı

TANI MATERYALİ

Makroskopik bulgularına ulaşılabilen ES olgularının 16'sı insizyonel (%64), 9'u eksizyonel biyopsi (%36) materyalidir. İnsizyonel biyopsi materyallerinin 13'ü tru-cut biyopsidir. İki olgu (%8) birimize konsültasyon amacıyla gönderilen eksizyonel biyopsilere ait hazır blok ve lamlardan ibarettir.

YERLEŞİM YERİ

En sık tutulum yeri 13 olgu ile alt ekstremitedir (%52). Bunların 3'ü femur (%12), 2'si tibia (%8), 3'ü fibuladır (%12). Belirlenen diğer yerleşim yerleri olguların 5'inde inguinal bölge (%20), 3'ünde üst ekstremité (%12), 2'sinde pelvis (%8), 1'inde göğüs duvarı yumuşak dokularıdır (%4). İki olgu fasiyal kemik (maksiler sinüs) (%8), 1 olgu boyun (%4), 2 olgu vertebra (%8) yerleşimlidir. Bir olgu lenf nodu (%4) yerleşimli olup, metastatik niteliktedir. Olguların yerleşim yerine göre dağılımı Grafik 4'te görülmektedir.



Grafik 4- Ewing sarkomu olgularının yerleşim yerlerine göre dağılımı

SAĞKALIM

Yirmi beş adet olgunun 15'inin (%60) klinik takibine ulaşılabildi. İki ay ile 68 ay arasında değişen, ortalama 23.2 aylık takip süreleri olduğu belirlendi. Olguların 8'inin (%53) hastalık nedeniyle öldüğü, yaşayan hastaların 4'ünde (%27) metastaz varlığı saptandı. Geri kalan 3 hasta (%20) sağ ve sağlıklı olup, hastalık belirtisi taşıyorlardı.

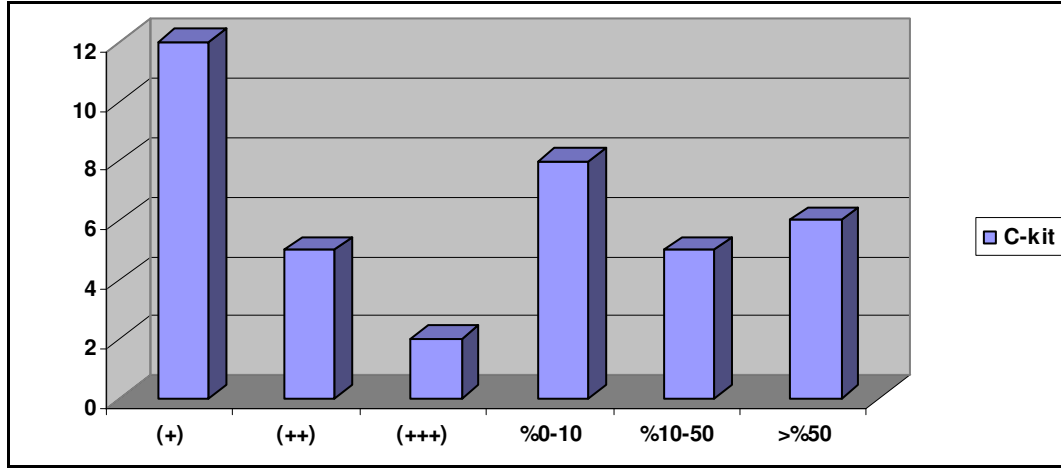
İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

C-KIT

C-kit antikoru kullanılarak yapılan immünhistokimyasal çalışmada 25 olgunun 11'inde (%44) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Bazı olgularda boyanmaya zayıf bir membranöz boyanma da eşlik etmekte idi. On dört olguda (%56) immünreaksiyon gözlenmedi. Bu olguların 8'inde negatif olarak değerlendirilen %10'un altında, zayıf boyanma belirlendi.

Pozitif immünreaksiyon alınan olguların 2'sinde (%8) yaygın, kuvvetli (>%50, +++), 4'ünde (%16) yaygın, zayıf-orta derecede (>%50, +- ++), geri kalan 5 olguda (%20) ise fokal, zayıf-orta derecede (%10-50, +++) boyanma saptandı.

Olgularda c-kit ekspresyonunun oranı ve şiddeti Grafik 5 ve Tablo 10'da görülmektedir



Grafik 5-Ewing sarkomu olgularında c-kit boyanma yaygınlığı ve şiddeti

BOYANMA YAYGINLIĞI		BOYANMA ŞİDDETİ				TOPLAM
		YOK	ZAYIF (+)	ORTA (++)	KUVVETLİ (+++)	
YOK	N	6				6
	%	%24				%24
%0-10	N		8			8
	%		%32			%32
%10-50	N		2	3		5
	%		%8	%12		%20
>%50	n		1	3	2	6
	%		%4	%12	%8	%24
TOPLAM	n	6	11	6	2	25
	%	%24	%44	%24	%8	%100

Tablo 10- Ewing sarkomu olgularında c-kit boyanma yaygınlığı ve şiddeti

C-ERB B2

C-erb B2 antikoruna kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 25 olgunun hiçbirinde tümöral hücrelerde immünreaksiyon belirlenmedi. Bir olguda (Resim 4c) non-tümöral kas dokusunda boyanma belirlendi.

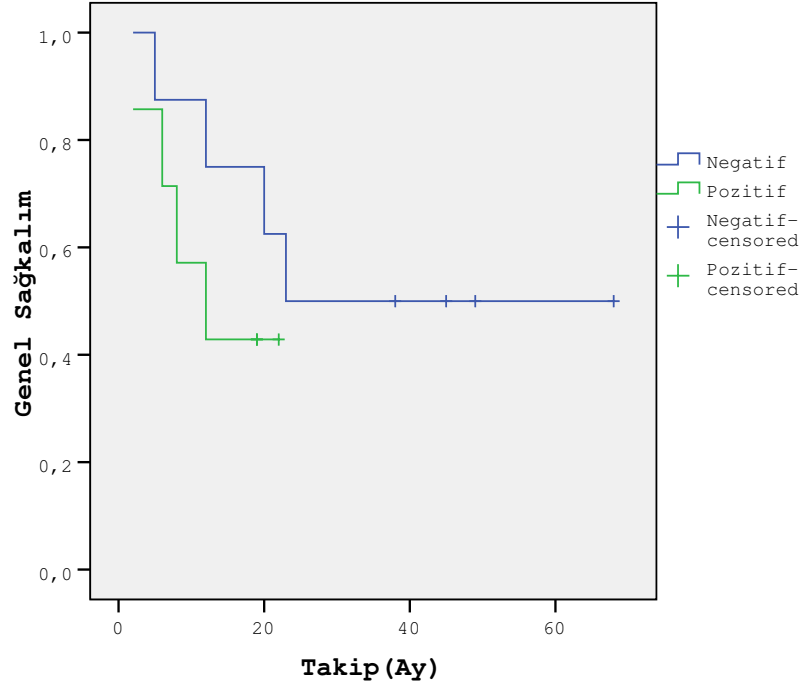
İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI

Ewing sarkomu olgularında kadın ve erkekler arasında yaş ortalamaları ve sağkalım bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Olgular 18 yaş ve altı ile 18 yaş ve üstü olmak üzere iki gruba ayrıldı, cinsiyet, yerleşim yeri ve sağkalım ile ilişkisi araştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

C-kit immünreaktivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Boyanmanın şiddeti ve oranı sağkalım ile ayrı ayrı karşılaştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). C-kit ekspresyonu gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi 13.42 ay, göstermeyen olgularda 41.50 ay olarak belirlendi. C-kit immünreaktivitesine göre genel sağkalım dağılımı Grafik 6'da gösterilmiştir.

C-kit ekspresyonu ile yaş, cinsiyet ve yerleşim yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).



Grafik 6- C-kit immünreaktivitesine göre genel sağkalım dağılımı ($p>0.05$)

Ewing sarkomu olgularında klinik ve immünohistokimyasal özellikleri Tablo 11'de görülmektedir.

TABLO 11- EWING SARKOMU OLGULARINA AİT KLİNİK VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

NO	PROT. NO	YAŞ	CİNS	YERLEŞİM YERİ	BİYOPSİ	DURUM	C-KIT	C-ERB B2	SAĞKALIM	TAKİP(AY)
1	5033-2001	25	E	EL BİLEĞİ	TC	P	(-)	(-)	U	U
2	8206-2002	16	E	PROKSİMAL FEMUR	TC	P	(-)	(-)	Ö	23
3	14972-2002	35	K	VERTEBRA	EB	LN	(-)	(-)	U	U
4	17209-2002	18	E	PROKSİMAL TİBİA	TC	P	(-)	(-)	S(M)	68
5	29130-2002	19	E	PROKSİMAL FİBULA	TC	P	>%50, ++	(-)	Ö	6
6	3736-2003	11	E	BOYUN	EB	P	%10-50, ++	(-)	U	U
7	32709-2003	50	E	İNGUİNAL BÖLGE	TC	P	(-)	(-)	U	U
8	1779-2004	60	E	MAKSİLLER SİNÜS	EB	LN	(-)	(-)	S(M)	49
9	2289-2004	10	K	MAKSİLLER SİNÜS	İB	P	%10-50, +	(-)	U	U
10	15402-2004	23	E	ÖN KOL	EB	P	(-)	(-)	S(M)	45
11	25440-2004	20	K	DİSTAL FEMUR	EB	M	(-)	(-)	U	U
12	26099-2004	33	K	İNGUİNAL BÖLGE	TC	P	>%50, +	(-)	U	U
13	29229-2004	80	E	GÖĞÜS DUVARI	İB	P	%10-50, ++	(-)	U	U
14	33114-2004	19	E	KASIK	TC	P	(-)	(-)	S(S)	38
15	5696-2005	17	K	OMUZ	TC	P	(-)	(-)	Ö	12
16	9678-2005	35	E	VERTEBRA	EB	M	%10-50, ++	(-)	Ö	2
17	17202-2005	27	K	GLUTEUS	TC	P	(-)	(-)	Ö	5
18	22738-2005	18	E	PELVİS	TC	P	(-)	(-)	U	U
19	251-2006	10	E	DİSTAL FEMUR	EB	P	>%50, ++	(-)	Ö	8
20	2756-2006	12	E	İNGUİNAL BÖLGE	İB	M	(-)	(-)	Ö	20
21	10671-2006	31	K	TİBİA	TC	P	>%50, +++	(-)	S(S)	22
22	18156-2006	25	E	FİBULA	TC	P	>%50, +++	(-)	Ö	12
23	19009-2006	3	K	AKCİĞER	EB	M	%10-50, +	(-)	S(M)	19
24	19268-2006	19	E	AYAK BİLEĞİ	TC	P	>%50, ++	(-)	S(S)	19
25	21400-2006	9	K	UYLUK	EB	P	(-)	(-)	U	U

TC: Tru-cut, EB: Eksizyonel biyopsi, İB: İnsizyonel biyopsi

P: Primer, LN: Lokal nüks, M: Metastatik

U: Ulaşılamayan, Ö: Ölü, S(M): Sağ-metastatik, S(S): Sağ-sağlıklı

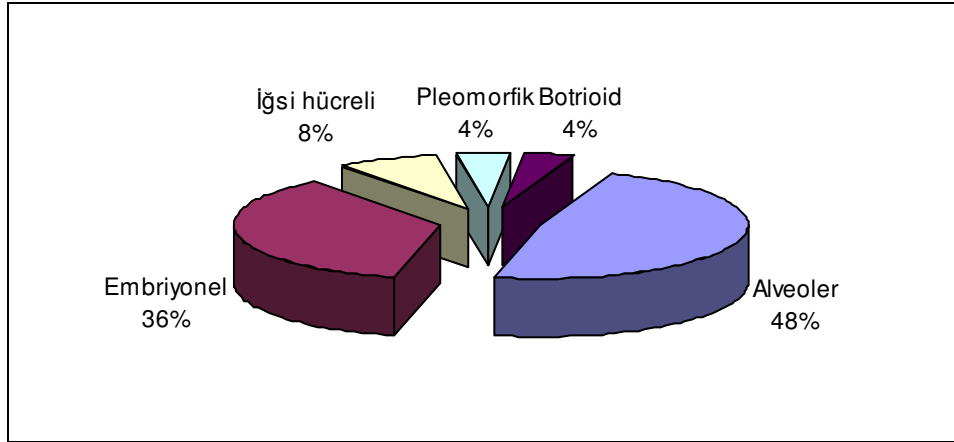
RABDOMYOSARKOM

OLGULARIN DAĞILIMI

Çalışma grubuna katılan toplam 25 adet RMS olgusunun 12'si alveoler (%48), 9'u embriyonel (%36), 2'si iğsi hücreli (%8), 1'i pleomorfik (%4), 1'i botrioid tip (%4) olarak sınıflandırıldı. Olguların histolojik tip dağılımı Grafik 7'de görülmektedir.

Patoloji raporlarından ve hasta dosyalarından elde ettiğimiz bilgilere göre olgularımızın 18'si (%72) ilk kez tanı almıştır.

Önceki yıllarda tanı almış altı olgu lokal nüks (%24), 1 olgu metastaz (%4) olarak değerlendirilmiştir. Dört lokal nüks olgusu (Prot. No:8020-2005, 1861-2004, 1673-2001, 29124-2006) ilk tanıdan 2 yıl, iki olgu (Prot. No:20387-2002, 28223-2000) 4 yıl sonra ortaya çıkmıştır. Metastatik olguda (Prot. No:1683-2004) tanıdan 1 yıl sonra bölgesel lenf noduna yayılım saptanmıştır. Nüks olgularından biri (Prot. No:28223-2000) hariç diğerlerinin cerrahi tedaviye ek olarak kemoterapi ve radyoterapi aldıkları belirlenmiştir.



Grafik 7- Rabdomiyosarkom olgularının histolojik tiplerine göre genel dağılımı

YAŞ ve CİNSİYET

Olguların yaşları 1 ile 74 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 15,68 olarak saptandı. On üç olgu 10 yaşın altındaydı. Pik insidansı 1. dekat olarak belirlendi.

Yirmi beş olgunun 14'ü kadın (%56), 11' erkektir (%44).

Olguların genel yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 12'de, histolojik tipler ile ilişkisi Tablo 13'te görülmektedir.

Cinsiyet	(n)	Yaş ortalaması	Standart Sapma	Yaş dağılımı
Erkek	11	19.09	20.82	3-74
Kadın	14	13.00	10.45	1-35
Toplam	25	15.68	15.79	1-74

Tablo 12- Rabdomiyosarkom olgularının yaş ve cinsiyet dağılımı

Histolojik Tip	Olgu Sayısı (n)			Yaş Dağılımları	Ortalama	Standart Sapma
	Toplam	Kadın	Erkek			
Alveoler	12	6 (%50)	6 (%50)	1-35	14.83	11.76
Embriyonel	9	6 (%66.6)	3 (%33.3)	2-74	16.89	23.06
İğsi Hücreli	2	1 (%50)	1 (%50)	14-17	15.5	5.19
Pleomorfik	1	-	1 (%100)	6	6	0.00
Botrioid	1	1 (%100)	-	25	25	0.00
Toplam	25 (%100)	14 (%56)	11 (%44)	1-74	15.68	15.79

Tablo 13- Rabdomiyosarkom olgularının histolojik tiplerine göre cinsiyet ve yaş dağılımları

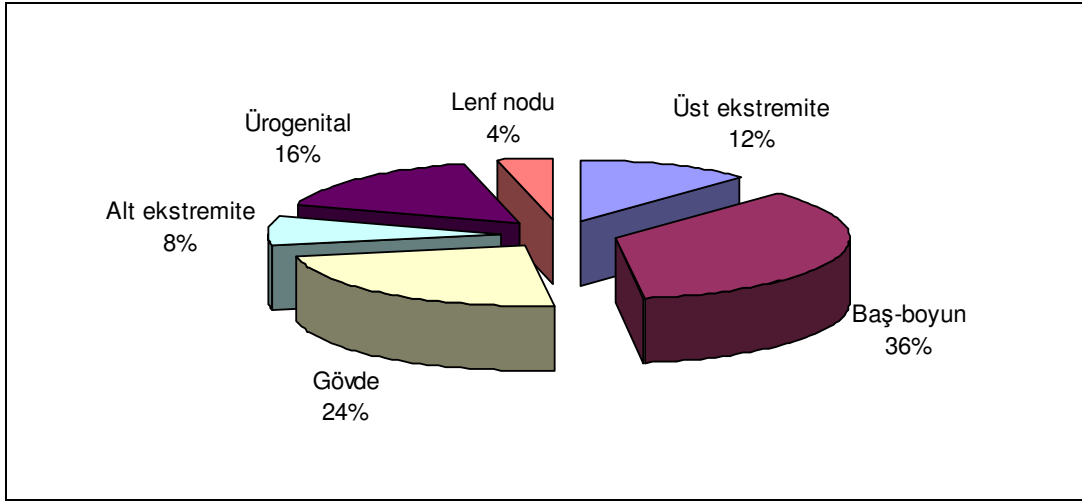
TANI MATERYALİ

Makroskopik bulgularına ulaşılabilen RMS olgularının 18'i eksizyonel (%72), 7'si insizyonel biyopsi (%28) materyalidir. İnsizyonel biyopsi materyallerinin 4'ü tru-cut biyopsidir. İki olgu birimimize konsültasyon amacıyla gönderilen eksizyonel biyopsilere ait hazır blok ve lamlardan ibarettir.

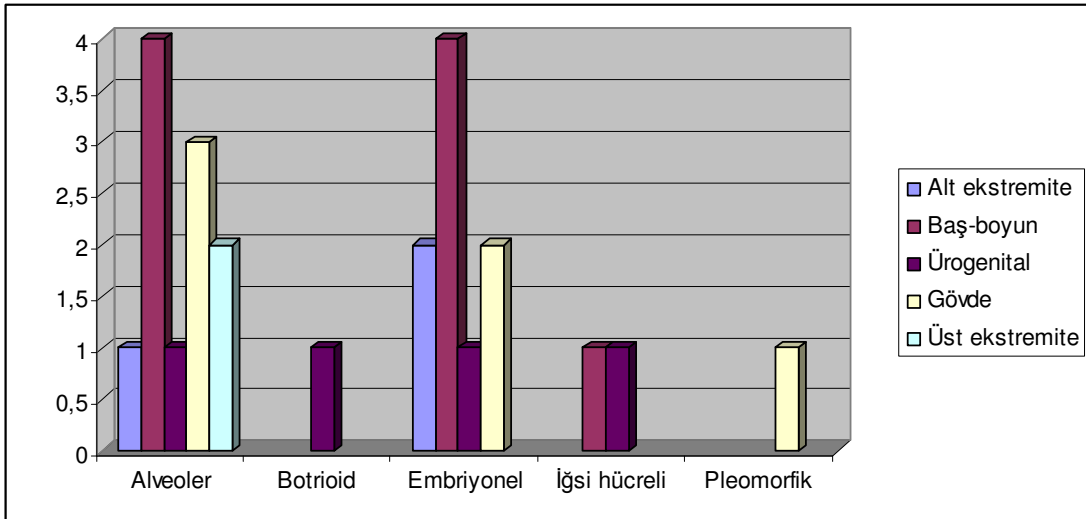
YERLEŞİM YERİ

En sık tutulum yeri 7 olgu ile sinonazal bölgedir (%28). Olguların 2'sinde üst ekstremité (%8), 3'ünde alt ekstremité (%12), 3'ünde gövde (skapula altı, sırt, göğüs duvarı) (%12), 2'sinde paratestiküler bölge (%8), 2'sinde kranyal yumuşak doku (%8) tutulumu saptanmıştır. Vagina (%4), paravezikal (%4), retroperitoneal (%4), intraperitoneal (%4), presakral (%4) bölge ve inguinal lenf nodu (metastatik olgu) (%4) 1'er olgu ile tutulan diğer yerleşim yerleridir.

Olguların yerleşim yerine göre genel dağılımı Grafik 8'de, histolojik tiplerine göre dağılımı Grafik 9'da görülmektedir.



Grafik 8- Rabdomiyosarkom olgularının yerleşim yerlerine göre genel dağılımı



Grafik 9- Rabdomiyosarkom olguların histolojik tiplerine göre yerleşim yerlerinin dağılımı

SAĞKALIM

Yirmi beş adet olgunun 14'ünün (%56) klinik takibine ulaşılabildi. On dört ay ile 51 ay arasında değişen, ortalama 27.6 aylık takip süreleri olduğu belirlendi. Olguların 2'sinin (%14) hastalık nedeniyle öldüğü, yaşayan hastaların 1'inde lokal nüks (%7), 4'ünde metastaz (%29) varlığı saptandı. Geri kalan 7 hasta sağ ve sağlıklı (%50) olup, hastalık belirtisi taşıyorlardı.

İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

C-KIT

C-kit antikoru kullanılarak yapılan immünhistokimyasal çalışmada 25 olgunun 15'inde (%60) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Bazı olgularda boyanmaya zayıf bir membranöz boyanma da eşlik etmekte idi. On olguda (%40) immünreaksiyon gözlenmedi. Bu olguların 4'ünde negatif olarak değerlendirilen %10'un altında, zayıf boyanma belirlendi.

Pozitif immünreaksiyon alınan olguların 3'ünde (%12) yaygın, kuvvetli (>%50, +++), 6'sında (%24) yaygın, zayıf-orta derecede (>%50, +- ++), geri kalan 6 olguda (%24) ise fokal, zayıf-orta derecede (%10-50, +-++) boyanma saptandı.

Olgularda c-kit ekspresyonunun oranı ve şiddeti ve Tablo 14'te, sağkalım ve histolojik tip ile ilişkisi Tablo 15'te görülmektedir.

		BOYANMA ŞİDDETİ				
BOYANMA YAYGINLIĞI		YOK	ZAYIF (+)	ORTA (++)	KUVVETLİ (+++)	TOPLAM
YOK	n	6				6
	%	%24				%24
%0-10	n		4			4
	%		%16			%16
%10-50	n		3	3		6
	%		%12	%12		%24
>%50	n		2	4	3	9
	%		%8	%16	%12	%36
TOPLAM	n	6	9	7	3	25
	%	%24	%36	%28	%12	%100

Tablo 14- Rabdomiyosarkom olgularında c-kit boyanma yaygınlığı ve şiddeti

		Sayı (%)	c-kit pozitif (%)	c-kit negatif (%)
Histolojik tip	Alveoler	12 (48.0)	6 (40.0)	6 (60.0)
	Embriyonel	9 (36.0)	7 (46.6)	2 (20.0)
	İğsi hücreli	2 (8.0)	1 (6.7)	1 (10.0)
	Pleomorfik	1 (4.0)	1 (6.7)	-
	Botrioid	1 (4.0)	-	1 (10.0)
	Toplam	25 (100.0)	15 (100.0)	10 (100.0)
Sağkalım	Sağ	12 (85.7)	8 (88.9)	4 (80.0)
	Ölü	2 (14.3)	1 (11.1)	1 (20.0)
	Toplam	14 (100.0)	9 (100.0)	5 (100.0)

Tablo 15- C-kit immünreaktivitesinin histolojik tip ve sağkalıma göre dağılımı

C-ERB B2

C-erb B2 antikoruna kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 25 olgunun 7'sinde (%28) pozitif immünreaksiyon belirlendi. On sekiz olguda (%72) boyanma saptanmadı.

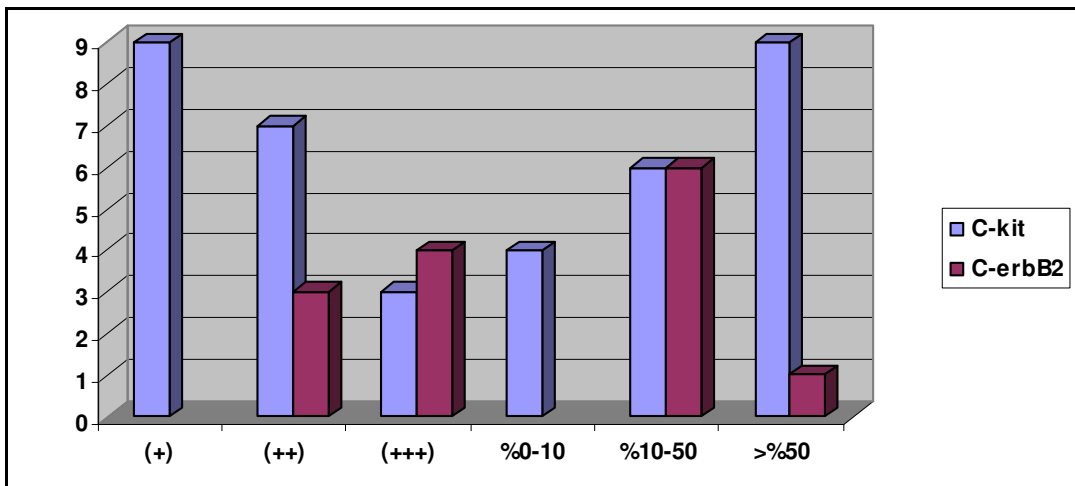
Pozitif immünreaksiyon alınan olguların 4'ü (%16) '2+', 3'ü (%12) '3+'tir. Yedi olguda da (%28) membranöz-sitoplazmik boyanma gözlemlendi. İmmünopozitif olgularda rabdomyoplastik diferansiyasyonun belirgin olduğu dikkati çekti. Ayrıca olguların bir kısmında tümöre komşu kas dokusunda kuvvetli sitoplazmik boyanma saptandı. Olguların c-erb B2 boyanma yaygınlığı ve şiddetinin Tablo 16'da görülmektedir.

Rabdomyosarkom olgularında c-kit ve c-erb B2 boyanma yaygınlığı ve şiddetinin karşılaştırılması Grafik 10'da görülmektedir.

Olguların klinik ve immünohistokimyasal özellikler Tablo 17'de görülmektedir.

		BOYANMA ŞİDDETİ				
BOYANMA YAYGINLIĞI		YOK	ZAYIF (+)	ORTA (++)	KUVVETLİ (+++)	TOPLAM
YOK	N	14				14
	%	%56				%56
%0-10	N		1	2		3
	%		%4	%8		%12
>%10	N		1	4	3	8
	%		%4	%16	%12	%32
TOPLAM	N	14	2	6	3	25
	%	%56	%8	%24	%12	%100

Tablo 16- Rabdomyosarkom olgularında c-erb B2 boyanma yaygınlığı ve şiddetinin yüzde oranları



Grafik 10- Rabdomyosarkom olgularında c-kit ve c-erbB2 boyanma yaygınlığı ve şiddeti

SISH İNCELEME BULGULARI

İHK olarak anti-c-erb B2 protein ekspresyonu gösteren 7 olgudan 6'sına, c-erb B2 gen amplifikasyonunu belirlemek amacıyla SISH testi uygulandı. Bir olgu, parafin blokta doku kalmadığından çalışma kapsamına alınamadı.

C-erbB2'ye yönelik mikroskopik değerlendirmede 1 olguda ortalama 7 sinyal, 2 olguda ortalama 2 sinyal saptandı. Kromozom 17'ye yönelik mikroskopik incelemede ise her 3 olguda da 1'er sinyal alındı. Diğer olgularda sinyal belirlenmedi.

Sonuç olarak sadece 1 olguda (Prot. No:14912-2005) c-erb B2 gen amplifikasyonu saptandı (Değer:7).

İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA SONUÇLARI

Rabdomiyosarkom olgularında kadın ve erkekler arasında yaş ortalamaları ve sağkalım bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Olgular 18 yaş ve altı ile 18 yaş ve üstü olmak üzere iki gruba ayrıldı, cinsiyet, yerleşim yeri, histolojik tip ve sağkalım ile ilişkisi araştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Histolojik tipler ile yerleşim yerleri ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

C-kit ekspresyonu gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi 35.75 ay, göstermeyen olgularda 43.60 ay olarak belirlendi. C-kit immünreaktivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Boyanmanın şiddeti ve oranı sağkalım ile ayrı ayrı karşılaştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

C-kit ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, yerleşim yeri ve histolojik tip arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

C-erb B2 ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenemedi ($p>0.05$).

TABLO 17- RABDOMİYOSARKOM OLGULARINA AİT KLİNİK VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

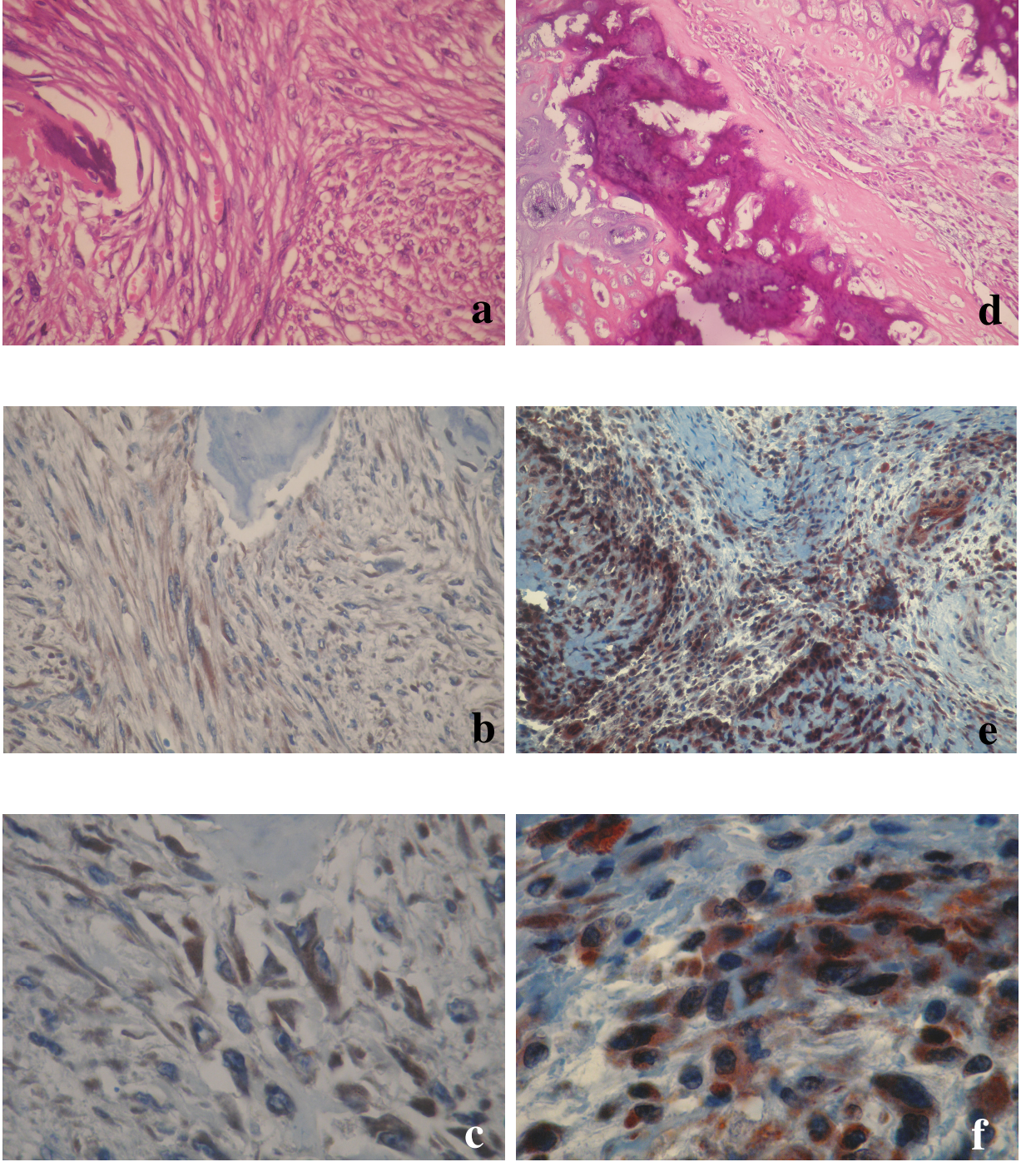
NO	PROT. NO	YAŞ	CİNS	YERLEŞİM YERİ	BİYOPSİ	HİST. TİP	DURUM	C-KİT	C-ERBB2	SAĞKALIM	TAKİP (AY)
1	3141-2000	16	K	GÖĞÜS DUVARI	EB	ALV	P	(-)	(-)	U	U
2	15484-2000	25	K	VAGİNA	TC	BTR	P	(-)	(-)	U	U
3	28223-2000	5	K	BURUN BOŞLUĞU	EB	ALV	LN	(-)	>%10, ++	U	U
4	1673-2001	3	E	SUBMANDİBULAR	EB	EMB	LN	>%50, ++	(-)	U	U
5	12588-2001	30	E	BURUN BOŞLUĞU	İB	EMB	P	%10-50, +	>%10, ++	U	U
6	20387-2002	7	K	TALUS ÖNÜ	TC	EMB	LN	(-)	(-)	U	U
7	32504-2003	4	K	BACAK	EB	EMB	P	(-)	(-)	S(S)	51
8	1683-2004	20	E	LENF NODU	EB	ALV	M	>%50, +++	>%10, +++	U	U
9	1861-2004	9	K	PARAVEZİKAL	EB	EMB	LN	>%50, +++	(-)	Ö	26
10	20925-2004	8	K	MAKSİLLER SİNÜS	EB	EMB	P	>%50, ++	(-)	U	U
11	31242-2004	2	K	SIRT	EB	EMB	P	>%50, ++	(-)	S(S)	39
12	6655-2005	1	K	AURİKULA ARKASI	EB	ALV	P	(-)	(-)	S(M)	33
13	6861-2005	5	E	ÖN KOL	EB	ALV	P	(-)	(-)	S(S)	28
14	8020-2005	10	E	KOL	TC	ALV	LN	(-)	(-)	Ö	14
15	14912-2005	74	E	İNTRAPERİTONEAL	EB	EMB	P	%10-50, +	>%10, +++	U	U
16	17652-2005	32	E	NAZAL KAVİTE	İB	ALV	P	>%50, +	(-)	S(M)	31
17	19033-2005	11	K	SKAPULA ALTI	EB	ALV	P	(-)	(-)	U	U
18	21928-2005	14	K	YUMUŞAK DAMAK	EB	İH	P	(-)	(-)	S(S)	30
19	33851-2005	30	K	PARANAZAL SİNÜS	EB	ALV	P	%10-50, ++	(-)	U	U
20	1656-2006	6	E	PRESAKRAL	EB	ALV	P	%10-50, ++	>%10, +++	S(S)	26
21	4519-2006	35	K	FEMUR	TC	ALV	P	>%50, ++	(-)	S(S)	25
22	6549-2006	17	E	PARATESTİKÜLER	EB	İH	P	>%50, +	(-)	S(S)	24
23	12281-2006	15	K	PTERİGOPALATİNAL	İB	EMB	P	%10-50, ++	>%10, ++	S(S)	22
24	13704-2006	7	E	PARATESTİKÜLER	EB	ALV	P	>%50, +++	>%10, +++	S(M)	21
25	29124-2006	6	E	RETROPERİTON	EB	PLM	LN	%10-50, +	(-)	S(M)	17

EB: Eksizyonel biyopsi, TC: Tru-cut, İB: İnsizyonel biyopsi

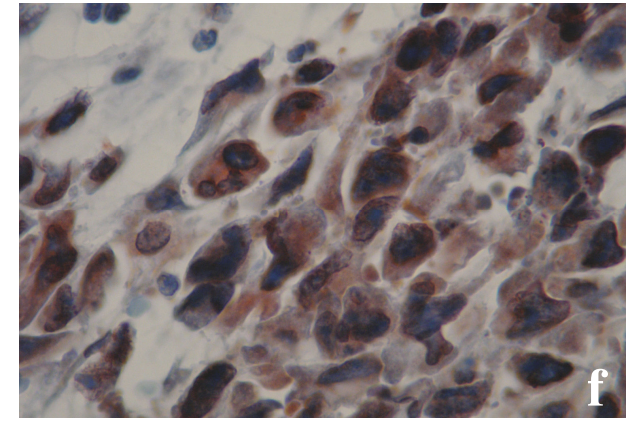
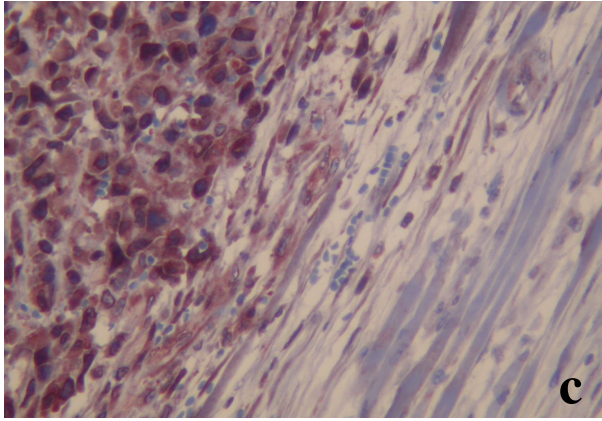
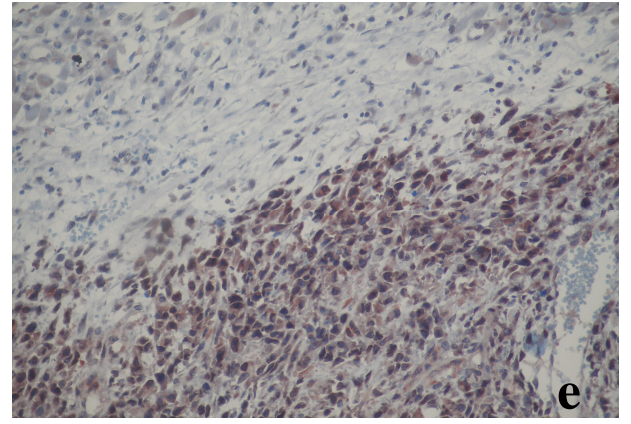
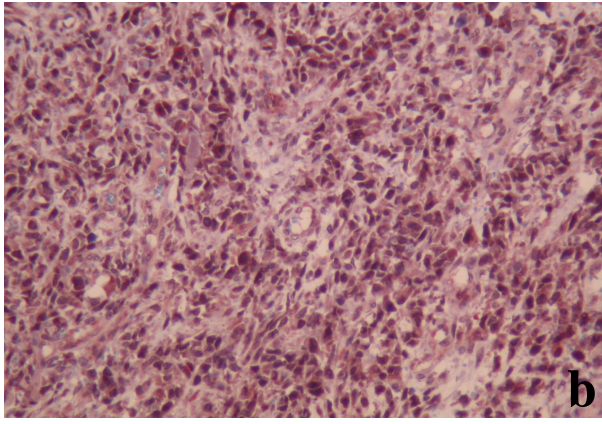
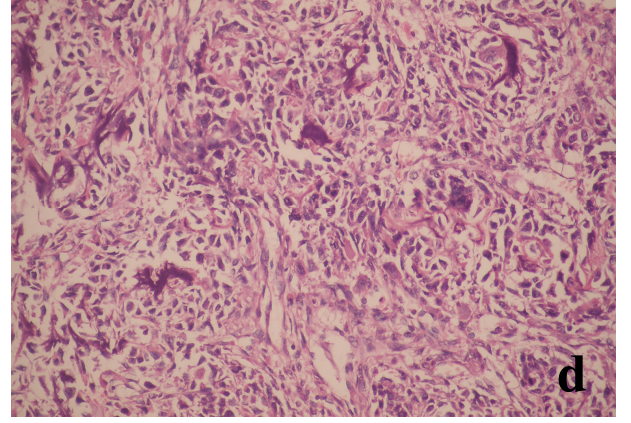
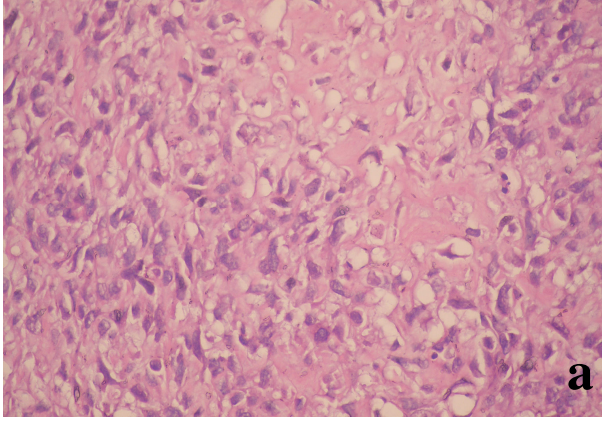
ALV: Alveoler, BTR: Botrioid, EMB: Embriyonel, İH: İğsi hücreli, PLM: Pleomorfik

P: Primer, LN: Lokal nüks, M: Metastatik

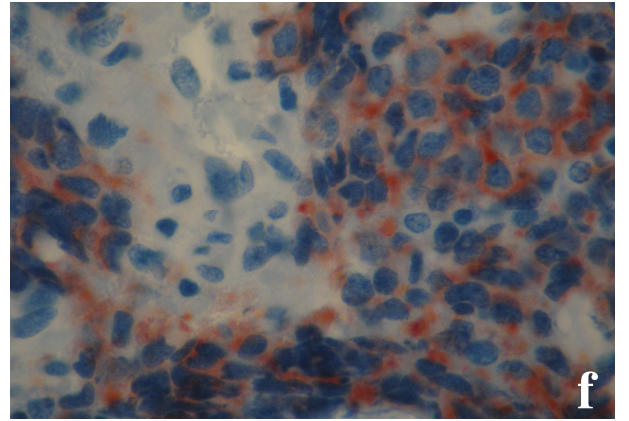
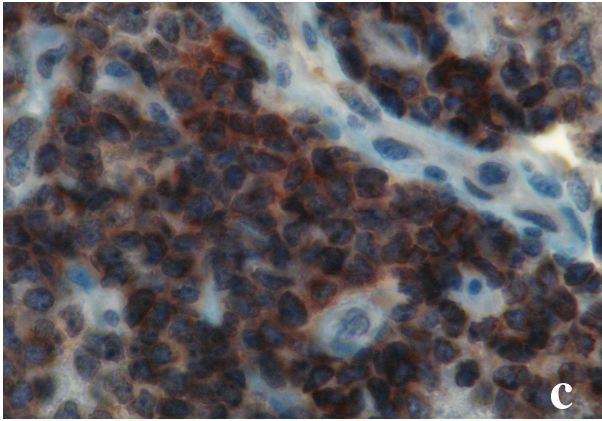
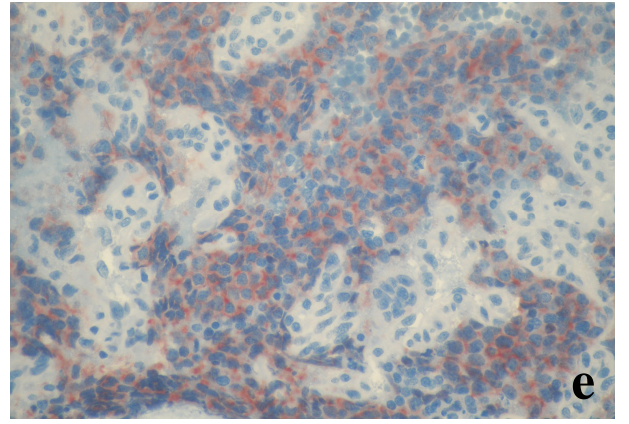
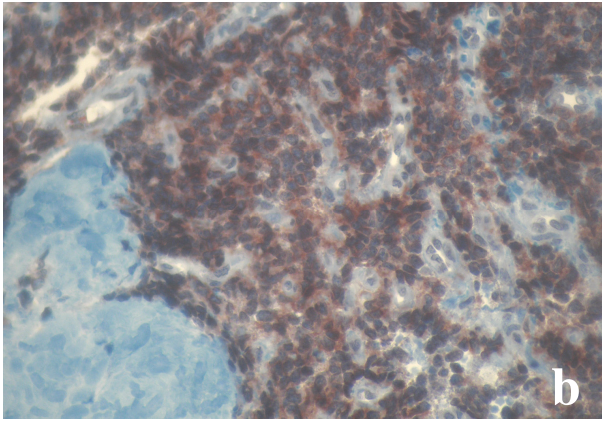
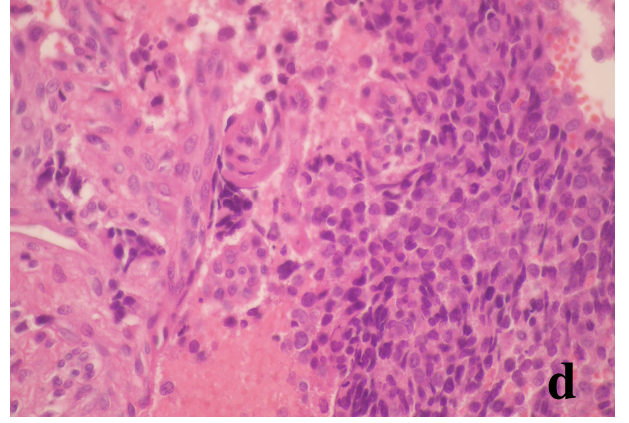
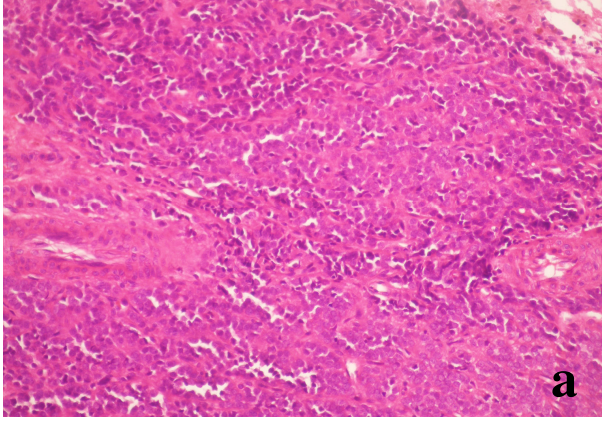
U: Ulaşılamayan, Ö: Ölü, S(S): Sağ-sağlıklı, S(M): Sağ-metastatik



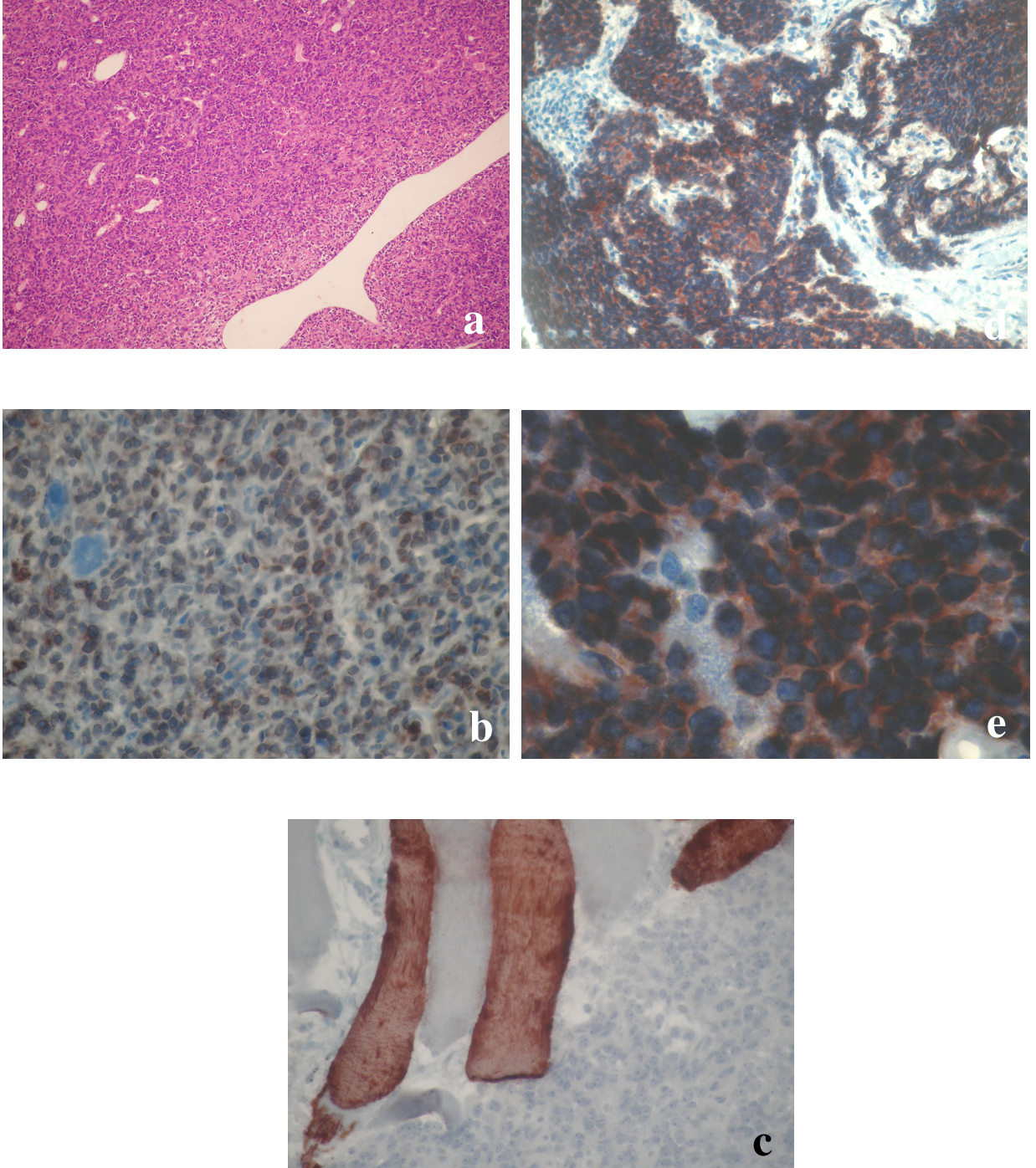
Resim 1: a: H.E. ile fibroblastik tipte osteosarkom (21229-2002, x200), b:Aynı olguda tümöral hücrelerde c-kit pozitifliği (x200), c:Aynı olguda bizar hücrelerde sitoplazmik c-kit boyanması (x400) d: H.E. ile kondroblastik tipte osteosarkomda kıkırdak-kemik yapımı alanları (6972-2003, x100), e,f: Aynı olguda kuvvetli sitoplazmik c-kit pozitifliği (x100, x400)



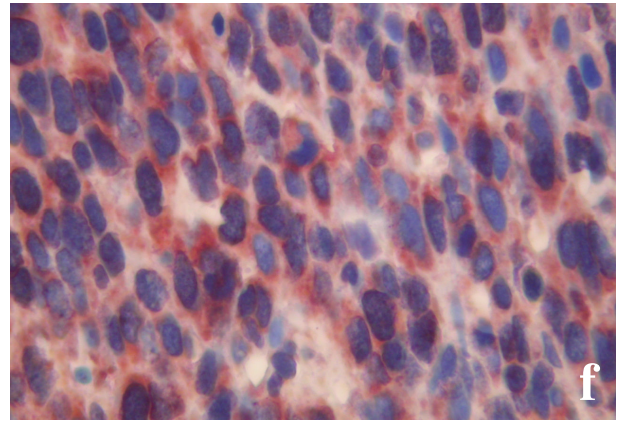
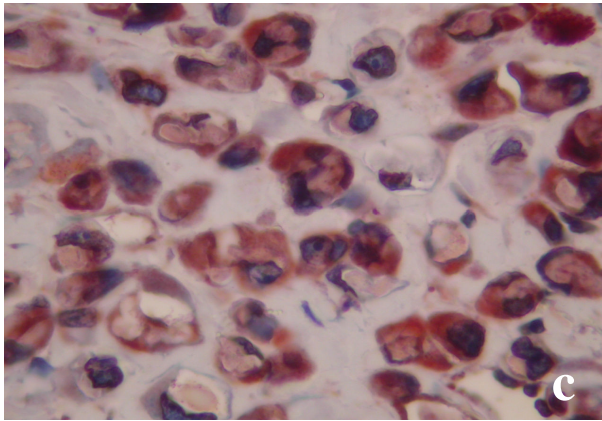
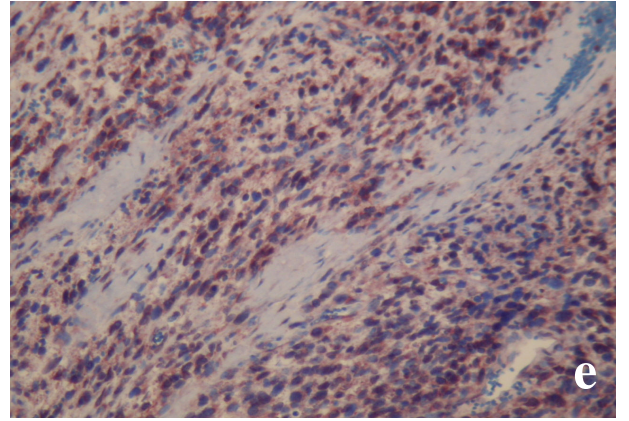
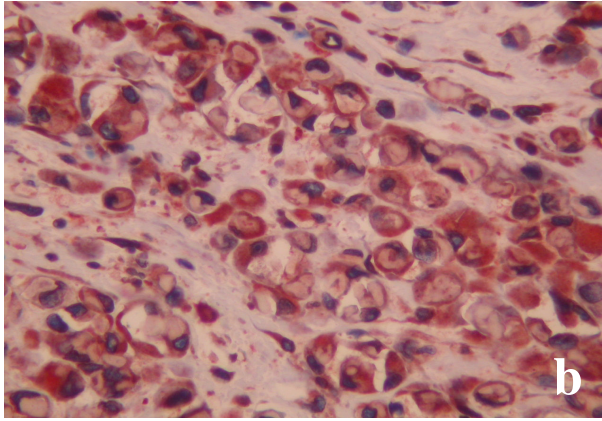
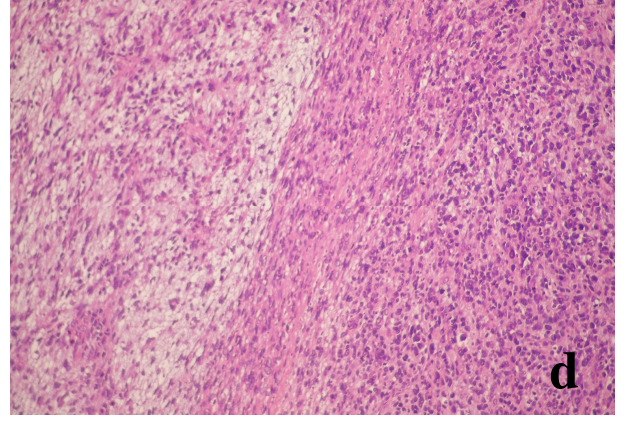
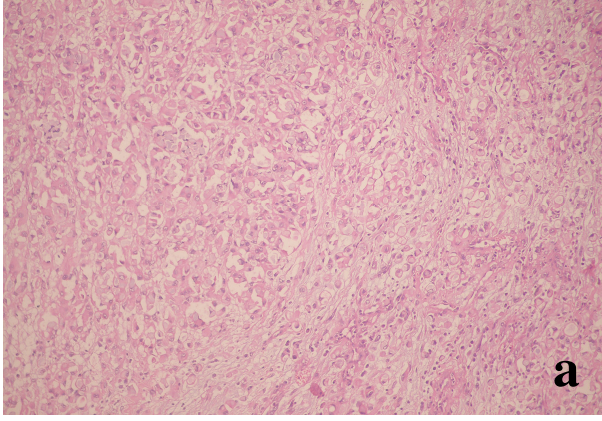
Resim 2: a: H.E. ile pleomorfik hücreler ve osteoid yapımı içeren osteoblastik tipte osteosarkom (3438-2006, x200), b,c: Aynı olguda hücrelerin tamamına yakınında kuvvetli pozitif sitoplazmik c-kit immünreaktivitesi (x200, x400), d:H.E. ile osteoblastik tipte osteosarkom (13881-2006, x200) e,f:Aynı olguda sitoplazmik c-kit reaktivitesi (x200, x1000)



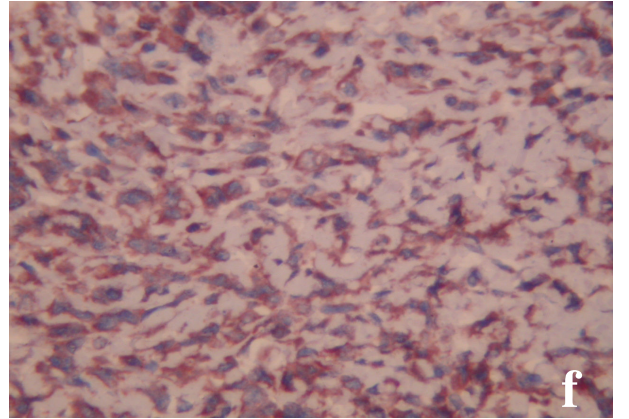
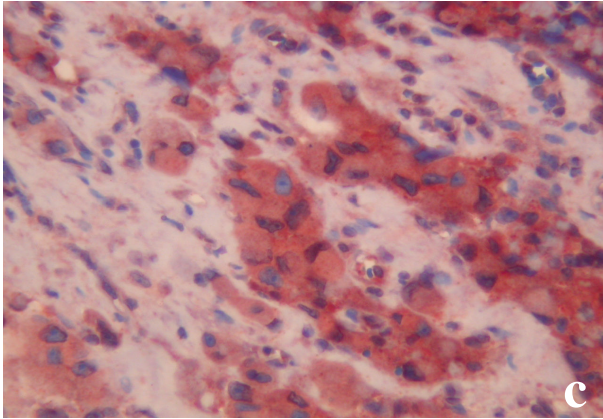
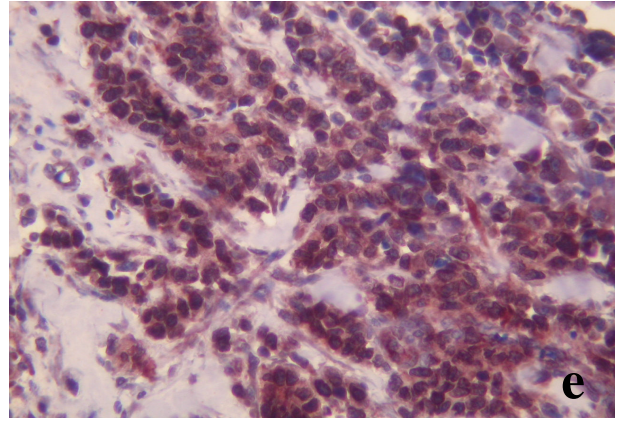
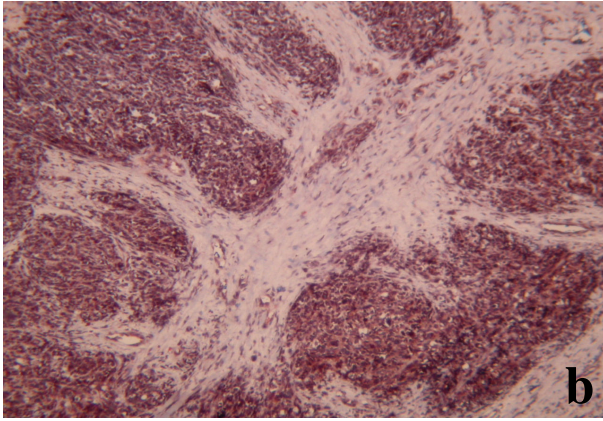
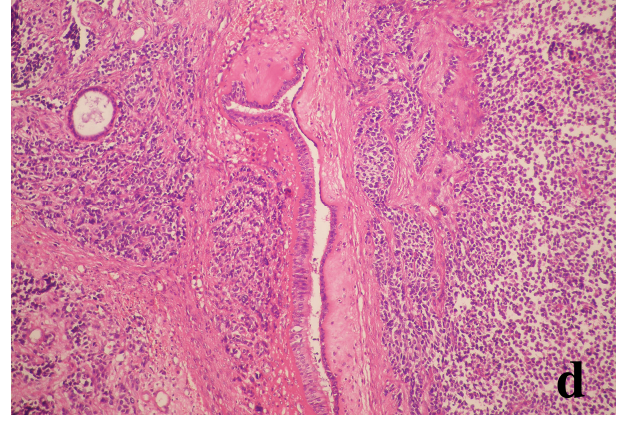
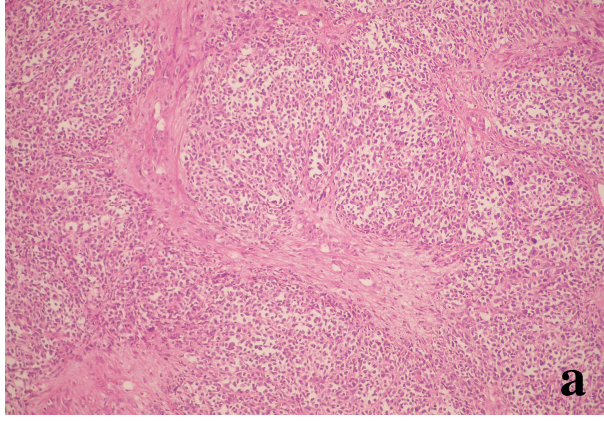
Resim 3: a: H.E. ile Ewing sarkomunda dar sitoplazmalı, yuvarlak hücrelerden oluşan infiltrasyon (10671-2006, x100), b,c:Aynı olguda sitoplazmik c-kit pozitifliği (x200, x400), d:Ewing sarkomunda H.E. ile nekroz ve kanama alanlarına komşu tümör hücreleri (29130-2002, x200), e,f: Aynı olguda hücrelerin bir bölümünde sitoplazmik c-kit pozitifliği (x200, x400)



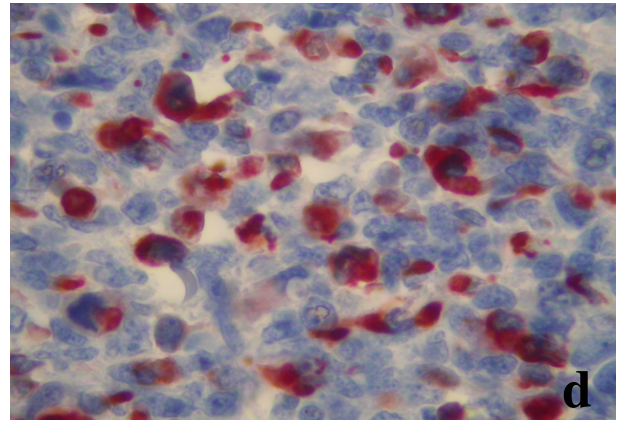
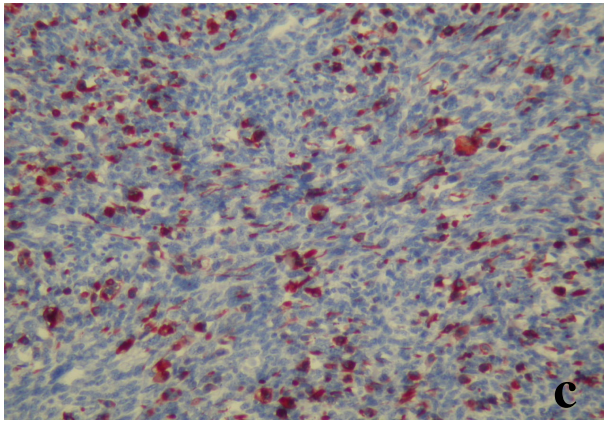
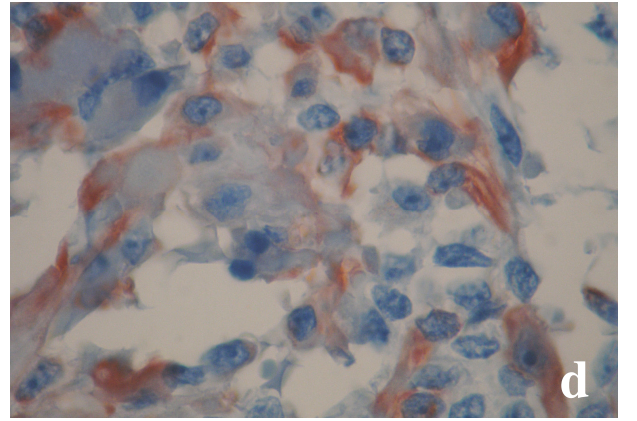
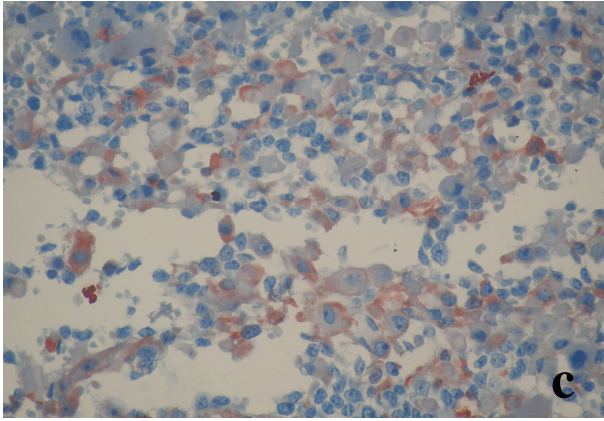
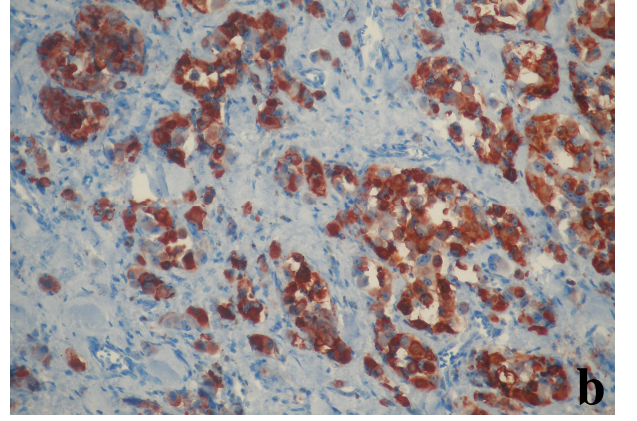
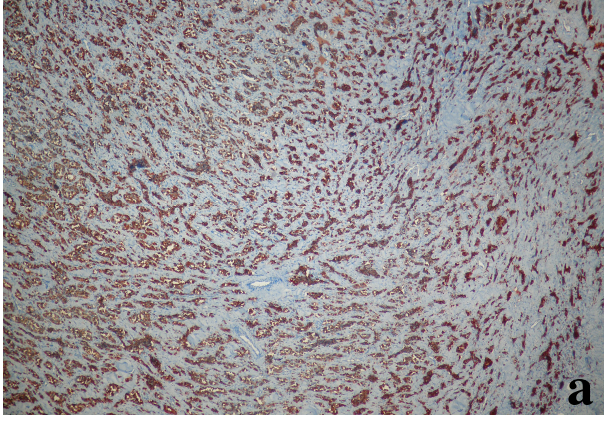
Resim 4: a: H.E. ile Ewing sarkomunda diffüz küçük yuvarlak hücreli tümöral infiltrasyon (29130-2002, x100), b:Aynı olguda sitoplazmik c-kit pozitifliği (x200), c:C-erb B2 immünpozitivitesi göstermeyen başka bir olguda non-tümöral çevre kas dokusunda pozitif boyanma (19268-2006, x200) d,e:Ewing sarkomunda hücrelerin büyük bölümünde sitoplazmik c-kit pozitifliği (18156-2006, x200, x400)



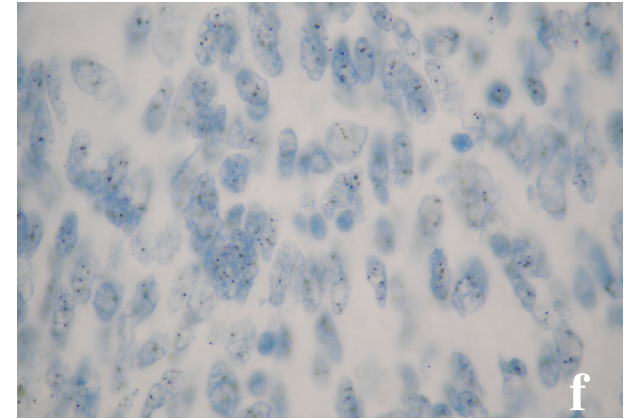
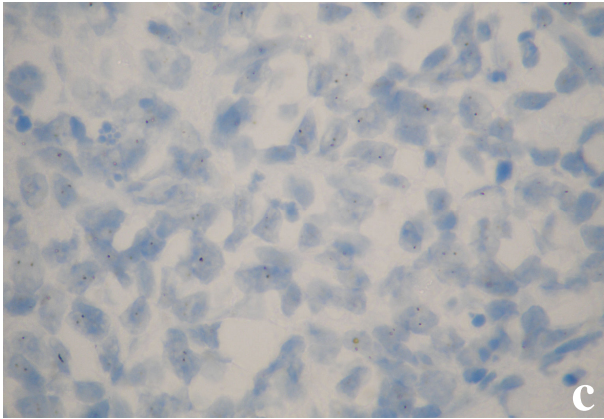
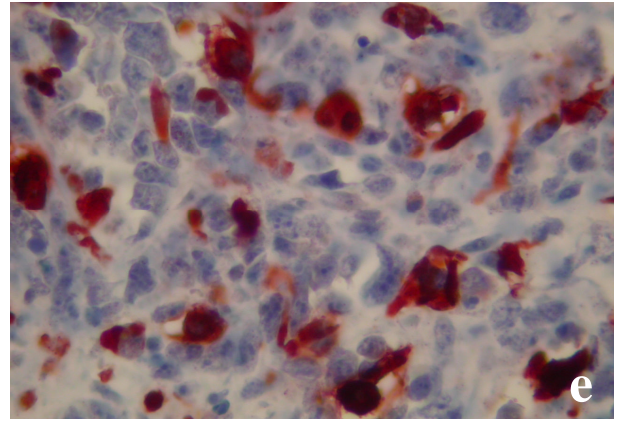
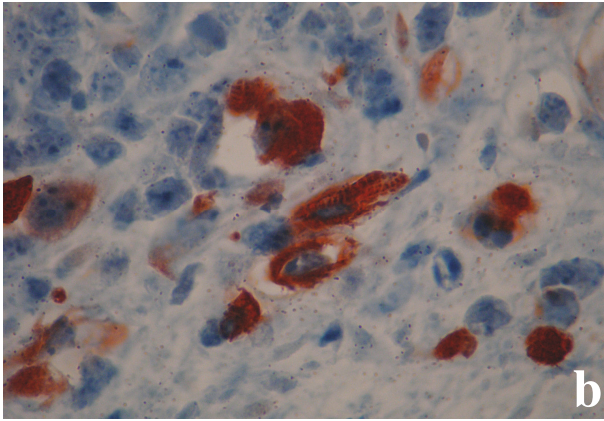
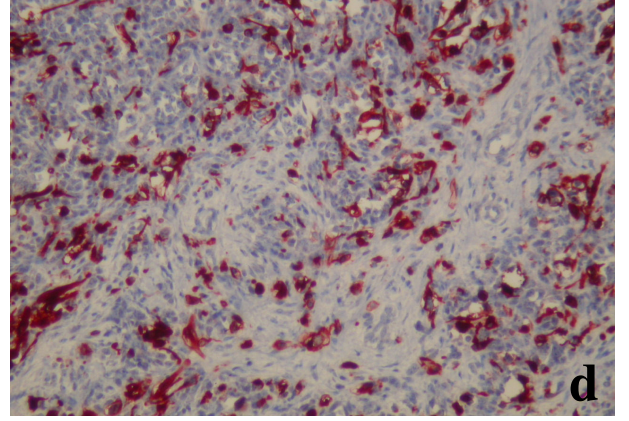
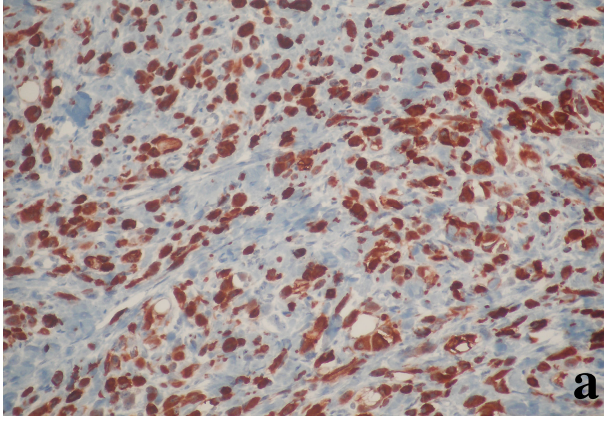
Resim 5: a: H.E. ile rabdomiyoblastik differansiyasyon gösteren embriyonal tipte rabdomiyosarkom (1861-2004, x100), b,c:Aynı olguda kuvvetli sitoplazmik-membranöz c-kit pozitifliği (x400, x1000), d:H.E. ile embriyonal tipte rabdomiyosarkom (31242-2004, x100) e,f:Aynı olguda sitoplazmik c-kit pozitifitesi (x200, x1000)



Resim 6: a: H.E. ile solid adacıklar oluşturmuş alveoler tipte rabdomiyosarkom (13704-2006, x100), b: Aynı olguda hücrelerin tamamına yakınında kuvvetli sitoplazmik c-kit reaktivitesi (x100), c:Başka bir alveoler tipte rabdomiyosarkom olgusunda sitoplazmik c-kit pozitifliği (1656-2006, x400), d: H.E. ile epitelioid adacıklar içeren alveoler tipte rabdomiyosarkom (33851-2006, x100) e:Aynı olguda sitoplazmik kuvvetli c-kit pozitifliği (x200) f: Embriyonal tipte rabdomiyosarkom olgusunda stromada sıkışmış tümöral hücrelerde c-kit pozitifliği (20925-2004, x200)



Resim 7: a,b: Alveoler tipte rabdomiyosarkom olgusunda kuvvetli sitoplazmik-membranöz c-erb B2 pozitifliği (1656-2006, x40, x200), c,d: Alveoler tipte rabdomiyosarkom olgusunda zayıf-orta şiddette sitoplazmik c-erb B2 pozitifliği (28223-2000, x200, x1000) e,f:Alveoler tipte rabdomiyosarkom olgusunda hücrelerin bir kısmında kuvvetli sitoplazmik-membranöz c-erb B2 boyanması (1683-2004, x200, x400)



Resim 8: a,b: Alveolar tipte rabdomiyosarkom olgusunda kuvvetli sitoplazmik-membranöz c-erb B2 pozitifliği (13704-2006, x100, x400), c: Aynı olguda SISH yöntemi ile c-erb B2 geninde normal sayıda sinyal sayısı (x400), d,e: Embriyonal tipte rabdomiyosarkom olgusunda kuvvetli sitoplazmik-membranöz c-erb B2 pozitifliği (14912-2005, x100, x400) f:Aynı olguda SISH yöntemi ile c-erb B2 geninde artmış sinyal sayısı (x400)

TARTIŞMA

OSTEOSARKOM

Yirmi beş olgudan oluşan çalışma grubumuzda yer alan hastaların yaşları 11-52 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 22.76, pik insidansı 2. dekat olarak belirlendi. Literatürde de pik insidansının 2. dekat olduğu, olguların %75'inin 10-30 yaş arasında yer aldığı gözlemlendi (2, 5, 106)

On dört kadın, 11 erkek hastadan oluşan serimizde kadın erkek oranı 1/1.2'dir. Literatürde bu oran erkek cinsiyet baskınlığında 1.5/1 olarak belirtilmiştir ve özellikle 20 yaş altı hastalarda söz konusu olduğu vurgulanmıştır. Yaş ilerledikçe bu fark ortadan kalkmaktadır. (2, 5). Çalışmamızda kadın ve erkeklerin yaş ortalamaları arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamış ($p>0.05$), literatürde de bu konuda herhangi bir veriye ulaşılamamıştır.

Yaş ile sağkalım süreleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). Literatürde ise bu konuda farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Bazı çalışmalarda 12 yaş altındaki hastalarda prognoz, 12 yaş üstündeki hastalara oranla daha kötü bulunmuştur (107). Ancak bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte, yaş ile prognoz arasında belirgin bir ilişki olmadığını savunan yayınlar da mevcuttur (107).

Çalışma grubunda yer alan OS olgularının %60 oranında alt ekstremitte, %20 oranında baş-boyun, %20 oranında gövde (pelvis, kolumnar aks, skapula) yerleşimlidir. Söz konusu oranlar literatürde belirtilen oranlara oldukça yakındır (2, 5). Tümörlerin yerleşim yeri ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon kurulamadı ($p>0.05$). Literatürde yassı kemiklerde görülen OS'ların çocukluk çağı ve genç erişkinlerde nadir olduğu, insidansının yaşla birlikte arttığı bildirilmiştir (32).

Histolojik tip ile prognoz arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik farklı çalışmalarda bu iki parametre arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (107). Çalışmamızda da histolojik tip ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon kurulamadı ($p>0.05$). Bacci ve ark.'nın 1058 OS olgusunu içeren serisinde, sağkalımın fibroblastik ve telenjiektatik varyantlarda, osteoblastik ve kondroblastik varyantlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir (36). Bizim çalışmamızda 11 osteoblastik, 11 kondroblastik tipte OS olgusuna karşılık, 2 fibroblastik, 1 telenjiektatik tip OS olgusu bulunduğundan bu konuda yoruma gitmek mümkün olamamıştır. Başka bir çalışmada ise kondroblastik varyantın uzun dönem sağkalımının daha iyi olduğu ileri sürülmüştür (35).

OS olgularında prognostik faktörleri belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda yaş, cinsiyet, yerleşim yeri, histolojik tip, evre gibi birçok klinik ve histolojik parametre üzerinde çalışılmış olsa da, sağkalımı etkileyen en önemli etkenin yukarıda sayılanlar değil, tümörün cerrahi tedavi öncesinde kemoterapiye verdiği yanıt olduğu görüşü son yıllarda öne çıkmaktadır (2). Bizim çalışma grubumuzda eksizyonlarına ulaştığımız 21 olgunun 17'sinde (%81) %90'ın altında, 4'ünde (%19) %90'ın üzerinde nekroz belirlendi.

OS olgularında anti-c-kit antikoruна karşı immünreaktivitenin araştırıldığı çalışmamızda olguların 11'inde (%44) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Olguların 2'si yaygın, kuvvetli, 6'sı yaygın, orta şiddette, 3'ü fokal, orta-hafif şiddette pozitive göstermekte idi. C-kit immünpozitivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($p=0.04$). C-kit ekspresyonu gösteren olgularda sağkalım süresi anlamlı derecede düşük bulundu. Ancak boyanmanın şiddeti ve oranı ayrı ayrı sağkalım ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p>0.05$). İlginç bir bulgu olarak boyanmanın gözlenmediği olguların birinde osteoblastik ve osteoklastik hücrelerde sitoplazmik pozitive saptandı.

Werle ark.'nın (15) 68 OS olgusununda c-kit genini içeren 4q12 loküsünde PCR yöntemi kullanılarak kromozomal mutasyonları belirlemeye yönelik olarak yaptıkları çalışmada, aynı zamanda immünohistokimyasal yöntemlerle de c-kit ekspresyonu araştırılarak aralarındaki ilişki değerlendirilmiştir. Olguların 22'sinde 4q12 loküsünde allelik imbalans, bu olguların 21'inde immünohistokimyasal olarak c-kit ekspresyonu saptanmıştır. Ayrıca negatif boyanma gözlenen olgularda 5 yıllık sağkalım %100 iken, pozitif boyanma gözlenen olgularda %85 olarak belirlenmiş ve c-kit ekspresyonunun bizim çalışmamızda da saptandığı gibi kötü bir prognostik parametre olabileceği ileri sürülmüştür.

Sulzbacher ve ark.'nın (108) 100 OS olgusunu kapsayan çalışmalarında %20 oranında c-kit immünreaktivitesi saptanmış olup, bu olgularla immünreaksiyon alınamayan olgular arasında sağkalım açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. OS'lerin bir kısmının c-kit ekspresyonu gösterebileceğini, ancak bu durumun prognoz üzerine herhangi bir etkisi olmadığını ileri sürmüşlerdir (100).

On sekizi OS olmak üzere toplam 151 tane çocukluk çağı sarkomunun ele alındığı, Smithey ve ark.'nın (17) yürüttüğü bir çalışmada, %83 (15 olgu) oranında pozitif boyanma saptanmıştır. Yedi olguda (%39) boyanma kuvvetli ve diffüzdür. Boyanma lokalizasyonu 12 olguda sitoplazmik (%80), 2 olguda (%13) membranöz, 1 olguda (%7) ise membranöz ve sitoplazmiktir. Ayrıca bizim çalışmamızda da 1 vakada saptandığı gibi tümöre komşu nonneoplastik osteoblastik hücrelerde de kuvvetli sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Bu durum osteoblastların SCF sentezlediği, ayrıca c-kit sentezleyen osteoblastik hücre dizisine (U2-OS), sahip oldukları

düşüncesiyle açıklanmaya çalışılmıştır. Osteoblastlarda c-kit ekspresyonunun, otokrin etki ile bu hücreler üzerinde reglatuvar rol oynadığı (hematopoez, kalsiyum metabolizması), dolayısıyla imatinibin ileride tedavi rejimlerine girmesi durumunda, bu sistemler üzerinde ortaya çıkabilecek yan etkiler açısından dikkatli olunması gerektiği bildirilmiştir (101).

C-kit transmembran reseptör proteini olmasına rağmen sarkomlarda c-kit ekspresyonu genellikle sitoplazmiktir. Sabah ve ark.'nın (109) çalışmasında bu durum nükleositoplazmik oranı yüksek hücrelere sahip tümörlerde sitoplazmik-membranöz boyanma ayırımının zor olduğu gerekçesiyle açıklanmaya çalışılmıştır. Dolayısıyla hem membranöz hem de sitoplazmik ve membranöz boyanmalar pozitif kabul edilmiştir (109, 110).

Bond ve ark.'nın (111) yürüttüğü, imatinibin c-kit ekspresyonu gösteren nüks OS ve ES olgularında tek medikal ajan olarak kullanıldığı faz II çalışmalarda, imatinibin etkinlik göstermediği saptanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sadece c-kit ekspresyonunun imatinib tedavisine yanıtı belirlemede yeterli olmadığı öne sürülmüştür. Esas belirleyici faktörün c-kit geninde mutasyonların varlığı, tipi, lokalizasyonu olduğu düşünülmektedir. Mutasyonların prevalansının düşük oluşu, imatinib tedavisinden fayda sağlayacak hasta sayısının az olacağı sonucunu doğurmaktadır (15, 110).

Çalışmamızda immünreaktivitesi araştırılan diğer bir antikor olan c-erb B2, 25 OS olgusunun hiçbirinde pozitif immünreaksiyon göstermemiştir. Dört olguda tümöre komşu kas dokusunda kuvvetli sitoplazmik boyanma saptanmıştır.

Aninga ve ark. (100) OS olgularında c-erb B2 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada bizim çalışmamız ile aynı sonucu elde etmiş, OS olgularında membranöz c-erb B2 ekspresyonunun gözlenmediğini bildirilmiştir. Bu çalışmada 33 olguda İHK ve PCR yöntemleri kullanılarak c-erb B2 protein ve mRNA düzeyleri belirlenmiş, immünpozitif olgularda FISH tekniği kullanılarak olası gen amplifikasyonları identifiye edilmeye çalışılmıştır. İHK çalışmaya uygun 27 olgunun sadece 1 tanesinde orta derecede membranöz boyanma saptanmış, bu olguda da gen amplifikasyonu belirlenmemiştir. OS'lerde c-erb B2 mRNA veya membranöz c-erb B2 proteininin aşırı ekspresyonunun söz konusu olmadığı, daha önce yayınlanan ve anlamlı sonuçlar elde ettikleri bildirilen çalışmaların güvenilir olmadığı, yöntem ve yorum farklılıkları nedeniyle bu neticelere ulaşıldığı bildirilmiştir. Sonuç olarak c-erb B2 geninin aşırı ekspresyonunun saptanmadığı olgularda, İHK olarak c-erb B2 ekspresyonu belirlense bile trastuzumabın (Herceptin) tedavide etkili bir ajan olamayacağı öne sürülmüştür. Kırk bir OS olgusunda iki farklı klon kullanılarak (CB-11, Oncor) c-erb B2 ekspresyonunun araştırıldığı, Kilpatrick ve ark.'nın (26) sonuçlandığı çalışmada OS olgularında histolojik tip, grad, kemoterapiye yanıt, progresif hastalık gibi parametrelerden bağımsız olarak sitoplazmik pozitivitenin gözlenebileceği (%98,

%83), ancak komplet membranöz boyanmanın söz konusu olmadığı belirtilmiştir. Dolayısıyla gen ekspresyonu ile korele komplet membranöz boyanmanın anlamlı olduğu savunulmuştur.

2001 yılında Thomas ve ark.'nın (105) 44 OS olgusu üzerinde, İHK ve PCR yöntemlerini kullanarak c-erb B2 protein ve gen ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada, %44 oranında sitoplazmik boyanma gözlenmiş olup, komplet membranöz boyanmaya ve gen ekspresyonuna rastlanmamıştır.

Maitra ve ark.'nın (4) diğer çalışmalara benzer şekilde c-erb B2 protein ve gen ekspresyonunu belirlemek amacıyla İHK ve FISH testlerini kullandıkları çalışmada 21 olgunun tamamı negatif reaksiyon göstermiştir. C-erb B2 ekspresyonunun ve gen amplifikasyonunun tümörün gelişiminde ve progresyonunda belirleyici bir rol oynamadığı, primer ve metastatik OS hastalarının tedavisinde trastuzumab kullanımının fayda sağlamayacağı sonucuna varılmıştır.

C-erb B2 proteininin İHK yöntemle ekspresyonunun belirlenmesine ilave olarak, kromojenik in situ hibridizasyon (CISH) yöntemi ile gen amplifikasyonunun araştırıldığı, Somers ve ark. (95) tarafından yürütülen çalışmada, eksizyon materyallerinin %12'sinde fokal-zayıf boyanma gözlenmiş, olguların hiçbirinde CISH yöntemi ile gen amplifikasyonu belirlenmemiştir .

Yukarıda özetlenen çalışmaların aksine c-erb B2 immünreaktivitesinin prognostik önemi olduğunu ileri süren yayınlar da mevcuttur. Bu çalışmaların ilki 1996 yılında Onda ve ark. (96) tarafından literatüre sunulmuştur. Yirmi altı OS olgusunun İHK, immunoblotting (IB), SB, PCR yöntemleri ile incelendiği seride %42 oranında c-erb B2 ekspresyonu belirlenmiş, gen amplifikasyonu ve mutasyonu gözlenmemiştir. C-erb B2 ekspresyonu yüksek akciğer metastaz riski, kemoterapiye yanıtı ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur.

Onda ve ark.'nın (96) görüşlerine paralel başka bir çalışma Gorlick ve ark. (102) tarafından literatüre sunulmuştur. Elli üç olgu çalışma kapsamına alınmış, %42 oranında c-erb B2 ekspresyonu saptanmış, pozitifitenin sağkalımı ve tedaviye yanıtı azaltan kötü prognostik bir parametre olduğu sonucuna varılmıştır.

2004 yılında yayınlanan, Ferrari ve ark.'nın (103) primer tümör biyopsileri ve metakron akciğer rezeksiyonlarını içeren 115 OS olgusunu kapsayan serisinde, c-erb B2 ekspresyonunun multiple metastaz ve nüks ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gösterdiği ileri sürülmüştür.

Scotlandi ve ark.'nın (97) 84 adet OS olgusunu içeren çalışmasında %32 oranında c-erbB2 pozitifitesi saptanmış, nüks ve kötü klinik gidiş ile ilişkili bulunmuştur, ancak aynı çalışmada in vitro ortamda trastuzumabın etkinliği de araştırılmış, tek başına kullanıldığı taktirde terapötik potansiyelinin olmadığı belirtilmiştir.

Yukarıda özetlenen çalışmaların aksine Akatsuka ve ark.'nın (104) araştırmasında 81 OS olgusunda %61 oranında c-erb B2 ekspresyonu saptanmış ve tümörde c-erb B2 ekspresyonunun hastalısız sağkalım üzerinde anlamlı derecede olumlu etki gösterdiği bildirilmiştir.

Özetleyecek olursak, OS olgularında İHK yöntemlerle c-erb B2 ekspresyonunu konu alan çalışmalarda ortaya çıkan çelişkili sonuçların farklı fiksasyon ve dekalsifikasyon yöntemleri, antikör klonları, antijen retrieval yöntemleri, değerlendirme skorları kullanımına bağlı olabileceği düşünülmektedir (95). Olgularda c-erb B2 ekspresyonunun varlığını sağlıklı bir şekilde değerlendirmek için bu parametrelerin meme kanserinde olduğu gibi standardize edilmesi gerekmektedir. Antikör seçimi oldukça önemlidir, yanlış pozitif sonuçlara yol açtığı düşünülen olgularda başka antikörlerle doğrulanmalıdır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda c-erbB2 ekspresyonunu skorlamaya yönelik altı sistem kullanılmıştır; özellikle zayıf-heterojen boyanma, retraksiyon artefaktları, sitoplazmik boyanma araştırmacılar arasında yüksek oranda yorum farklılıklarına neden olmuştur. Sitoplazmik boyanma artefakt olarak değerlendirilmelidir. İHK yöntemde kullanılan pozitif ve negatif kontrol olguları dikkatle seçilmelidir. İHK yöntemle elde edilen sonuçlar SB, IB, PCR, FISH, CISH gibi moleküler yöntemlerle desteklenmelidir (4, 26, 100).

EWING SARKOMU

Yirmi beş olgudan oluşan ES çalışma grubumuzda yer alan hastaların yaşları 3-80 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 25, pik insidansı 2. dekat olarak belirlendi. Serimizde 50, 60, 80 yaşlarında 3 olgu bulunduğundan, ortalama yaş literatüre göre daha yüksek bulunmuştur. Literatür verilerine göre ortalama yaş 15, pik insidansı 2. dekattır. İlk dekatta belirlenen olguların oranı %20-30, 2. dekattan sonra tanı alan olguların oranı ise %20 civarındadır (8, 9, 105). On altı erkek, 9 kadından oluşan serimizde erkek kadın oranı 1.7/1'dir. Literatürde bu oran 1.5/1 olarak belirtilmiştir. Çalışmamızda kadın ve erkeklerin yaş ortalamaları arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$).

On sekiz yaş altı ve 18 yaş üstü olmak üzere iki gruba ayırdığımız olgularda yaş ve cinsiyet ile sağkalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Literatürde ise bu konuda farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Bacci ve ark. (58) nonmetastatik olgularda prognoz 12 yaş altındaki hastalarda, 12 yaş üstündeki hastalara oranla, kadınlarda erkeklere oranla daha iyi olduğunu saptamıştır. Scurr ve ark.(10) çocuklarda yetişkinlere oranla daha iyi olduğunu bildirmiştir. Ancak bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte, yaş, cinsiyet ve prognoz arasında belirgin bir ilişki olmadığını ileri süren yayınlar da mevcuttur (10, 60).

Çalışma grubumuzda yer alan ES olgularının %52'si alt ekstremitte, %20'si gövde, %12'si baş-boyun, %12'si üst ekstremitte yerleşimlidir. Söz konusu oranlar literatürde belirtilen oranlara

oldukça yakındır (9, 54). Tümörlerin yerleşim yeri ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon kurulamadı ($p>0.05$). Literatürde ekstremité dışı, pelvik ve aksiyal yerleşimin, kötü prognostik parametre olduğu bildirilmiştir (54, 58). Ancak yerleşim yerinin sağkalım üzerinde etkisi olmadığını bildiren yayınlar da mevcuttur (60).

ES olgularında prognostik parametreleri belirlemeye yönelik olarak yapılan çalışmalarda saptanan farklılıkların; (a) birçok seride düşük hasta sayısı, (b) değerlendirmeye alınan parametrelerde standardizasyonun bulunmaması, (c) farklı cut-off değerlerinin baz alınması, (d) farklı tedavi protokollerinin uygulanışına bağlı olduğu yorumu yapılabilir.

ES olgularında anti-c-kit antikoruna karşı immünreaktivitenin araştırıldığı çalışmamızda olguların 11'inde (%44) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Olguların 2'sinde (%8) yaygın, kuvvetli, 4'ünde (%16) yaygın, zayıf-orta şiddette, geri kalan 5 olguda (%20) fokal, zayıf-orta şiddette pozitivite saptandı. C-kit ekspresyonu gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi 13.42 ay, göstermeyen olgularda 41.50 ay olmasına rağmen, c-kit immünpozitivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). C-kit ekspresyonu gösteren olgularda sağkalım süreleri, göstermeyen olgulara göre oldukça düşük olmasına rağmen, her iki grupta da mortalite oranı birbirine çok yakındır (4/7, 4/8). Ayrıca kaybedilen ve yaşayan hastalar da benzer oranda c-kit ekspresyonu göstermektedir (4/8, 3/7). Sonuç olarak kaybedilen hastalar c-kit ekspresyonundan bağımsız olarak daha kısa sağkalım oranlarına sahiptir ve bu durum sağkalımı etkileyen başka parametreler olduğu düşüncesini doğurmaktadır. Boyanmanın şiddeti ve oranı sağkalım ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p>0.05$).

On yedi ES olgusunun ele alındığı, Atıf ve ark.'nın (89) yürüttüğü bir çalışmada c-kit antikorunun niteliği ve kullanılan yöntemle vurgu yapılmıştır. Monoklonal anti-c-kit antikoruna ile %65 oranında sitoplazmik boyanma saptanmış, özellikle diffüz ve kuvvetli pozitif olgularda oldukça koyu ve nükleer boyanma gözlenmiştir. Aynı durum bizim çalışmamızda yer alan bazı olgularda da gözlenmiştir. Antijen retrieval yöntemi kullanmadan uygulanan poliklonal anti-c-kit antikoruna ile %9 oranında c-kit ekspresyonu saptanırken, bizim çalışmamızda olduğu gibi antijen retrieval yöntemi kullanıldığında oran %53'e yükselmiştir. Bu farklılık fiksasyon ve bloklama esnasında kaybedilen antijenlerin, ısı aracılı antijen retrieval yöntemleri kullanılarak tekrar açığa çıkarılması ve İHK'nın duyarlılığını artırması ile açıklanmaya çalışılmış, c-kit mutasyonları saptanmadıkça sadece İHK ile anlamlı sonuçlara ulaşmanın güç olduğu ileri sürülmüştür. Smithey ve ark. da (17) 31 ES olgusu içeren serilerinde poliklonal anti-c-kit antikoruna kullanarak %71 oranında pozitif sonuç elde etmişlerdir .

Gonzalez ve ark.'nın (22) 110 olgu içeren serilerinde, %44.5 oranında membranöz ve/veya sitoplazmik c-kit immünreaktivitesi belirlenmiştir. PCR, WB yöntemleri ile genetik mutasyonlar araştırılmış, hücre kültürleri kullanılarak in vitro ortamda imatinibin etkinliği belirlenmeye çalışılmıştır. KIT tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib kullanımının KIT fosforilasyonunda down-regülasyona sebep olduğu ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, ancak apoptozda artışa yol açmadığı gösterilmiştir. C-kit inhibisyonunun ES tedavisinde kullanılan doxorubicin ve vincristine gibi kemoterapötiklerin sitotoksik etkisini arttırdığını belirtmişlerdir. Elde ettikleri verilerle imatinibin, c-kit ekspresyonu gösteren refrakter ve metastatik ES olgularında standart kemoterapötik ajanlarla kombinasyonunun söz konusu olabileceği bildirilmiştir.

C-kit mutasyon analizlerinin yapıldığı en geniş seri 2007 yılında yayınlanmış olup, 71 olgu ile Do ve ark.'na (112) aittir. İHK olarak %38 oranında c-kit pozitivitesi saptanmasına rağmen sadece 2 (%2.6) olguda exon 9'da aktive edici c-kit mutasyonu belirlenmiştir. Önceki çalışmaların sonuçlarına paralel şekilde, aktive edici KIT mutasyonları ile c-kit protein ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. ES'de KIT ekspresyonunun mekanizmasının tam olarak anlaşılamadığı, muhtemelen KIT'in otokrin-parakrin aktivasyonu, gen amplifikasyonu sonucunda ortaya çıktığı düşünülmüştür. Günümüzde ES tedavisinde imatinibin etkisinin hala açıklığa kavuşmadığı, yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu ifade edilmiştir. Benzer sonuçlar Bozzi ve ark.'nın (113) çalışmasında da elde edilmiştir. 20 olguda PCR, FISH, WB, İHK yöntemlerle c-kit protein ekspresyonu ve gen mutasyonları araştırılmış, İHK olarak %79 oranında pozitivite saptanmış, ancak mutasyon belirlenememiştir.

Scotlandi ve ark.'nın (21) 101 olguyu kapsayan çalışmalarında, %30 oranında c-kit immünreaktivitesi saptanmıştır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi c-kit ekspresyonunun yaş, yerleşim yeri ve sağkalım ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca imatinibin ES hücrelerine in vitro etkinliği araştırılmış, yüksek oranda c-kit ekspresyonu gösteren hücrelerde inhibisyona neden olduğu saptanmıştır. Dikkat çekici bir bulgu da etkin imatinib dozunun, GIST gibi tümörlerde kullanılan dozun en az 10 katı oluşudur. Yine de yüksek oranda c-kit ekspresyonu gösteren ES olgularında imatinibin standart kemoterapi protokollerine eklenebileceği sonucuna varılmıştır.

Merchant ve ark. (23), imatinibin in vivo ve in vitro ortamda tümör hücrelerine etkisini araştırmıştır. Imatinibin c-kit'in fosforilasyonunu önleyerek apoptozu yol açtığını ve belirli konsantrasyonlarda test edilen tüm ES hücre dizilerinde etkili olduğu belirlenmiştir. In vivo çalışmada da imatinib tedavisinin ES'un regresyonunu veya kontrolünü sağladığı ileri sürülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar sayesinde tirozin kinaz inhibisyonunu hedefleyen kemoterapi ajanlarının gelecekte ES tedavisinden ilave bir seçenek olabileceğini bildirmişlerdir .

ES olgularında %20-82 arasında değişen oldukça geniş bir c-kit ekspresyon aralığı mevcuttur. Bu sonuçların kullanılan farklı yöntemler, antikorlar, immünohistokimya protokolleri, antijen retrieval yöntemleri gibi birçok parametrenin etkisine bağlayabiliriz.

Yirmi beş olgudan oluşan ES çalışma grubumuzda c-erb B2 protein ekspresyonunu İHK yöntem ile belirlemeye çalıştık. Olguların hiçbirinde pozitif olarak nitelendirebileceğimiz immünreaktivite saptanmadı.

Thomas ve ark.'nın (105) çalışmalarında yer alan 11 ES olgusunda %27 oranında sitoplazmik c-erb B2 pozitifliği elde edilmiş, RT-PCR ile c-erb B2 mRNA amplifikasyonu belirlenememiştir. C-erb B2 ekspresyonunun tümörün onkogenezinde aktif rol oynamadığı, dolayısıyla c-erb B2'nin ekstrasellüler bölgesine karşı geliştirilen monoklonal antikor trastuzumabın alternatif bir tedavi seçeneği olamayacağı öne sürülmüştür.

Trastuzumabın ES olgularında biyolojik ve terapötik öneminin olmadığını belirten diğer bir yayın da Ye ve ark. (114) tarafından literatüre sunulmuştur. On üç olguda protein ekspresyonu ve gen amplifikasyonunu araştırmak üzere İHK ve FISH yöntemi uygulanmış, hiçbir olguda ekspresyon ve amplifikasyon elde edilememiştir. Eş zamanlı olarak trastuzumabın etkinliği hücre kültüründe 5 farklı hücre dizisinde araştırılmış, anlamlı sonuca ulaşılamamıştır.

Scotlandi ve ark.'nın (97) 113 ES olgusunda, Ye (114) ile benzer yöntemleri kullanarak yürüttüğü çalışmada %16 oranında sitoplazmik c-erb B2 immünopozitivitesi saptanmış, ancak klinik parametreler (yaş, cinsiyet, sağkalım) ile anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. FISH yöntemi ile gen amplifikasyonu belirlenemeyince önceki yayınlarda bildirildiği gibi protein ekspresyonunun gen amplifikasyonundan bağımsız olduğu sonucuna varılmıştır.

RABDOMİYOSARKOM

Yirmi beş olgudan oluşan RMS çalışma grubumuzda yer alan hastaların yaşları 1-74 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 15.68, pik insidansı 1. dekat olarak belirlendi. Çalışmamızda yaş ortalamaları ile histolojik tipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamış olsa da literatür verilerine göre embriyonel, botrioid ve iğsi hücreli tip genellikle 15 yaş altında, alveoler tip 10-25 yaş arasında, pleomorfik tip ise 50-56 yaş arasında daha sık görülmektedir (61, 62, 63).

On dört kadın, 11 erkek hastadan oluşan serimizde erkek kadın oranı 1/1.2'dir. Literatürde bu oran erkek cinsiyet baskınlığında 1.3/1 olarak belirtilmiştir. Ancak bu oran adolesan ve genç erişkin dönemde eşitlenmektedir. (13). Çalışmamızda kadın ve erkeklerin yaş ortalamaları arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamış ($p>0.05$), literatürde de bu konuda anlamlı bir veriye ulaşılamamıştır.

Çalışmamızda yaş ile sağkalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Literatürde ise RMS'nin en sık görülen alt tipi olan embriyonel RMS'de küçük yaşın sağkalım üzerine olumlu etki gösterdiği bildirilmiş, genel olarak küçük yaş bağımsız bir prognostik parametre olarak kabul edilmiştir (13, 70).

Çalışma grubumuzda yer alan RMS olguları %36 oranında baş-boyun, %24 oranında gövde, %16 oranında ürogenital bölge, %12 oranında üst ekstremité, %8 oranında alt ekstremité yerleşimlidir. Söz konusu oranlar literatürde belirtilen oranlara oldukça yakındır, en sık yerleşim yeri farklı serilerde %44 ve %35'lik oranıyla baş-boyundur. Retroperiton embriyonel tipte %45, alveoler tipte %15 oranında tutulurken, ürogenital bölgenin genel olarak %24, ekstremitelerin %14-%19 oranında tutulduğu bildirilmiştir (71, 72, 73, 77). Çalışmamızda tümörün yerleşim yeri ile histolojik tip ve prognoz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon kurulamadı ($p>0.05$). Literatür bilgilerine göre yerleşim yeri prognozun belirlenmesinde en önemli parametrelerdendir. IRS-II çalışmasına göre orbita rabdomiyosarkomları en iyi prognoza sahip tümörlerdir (5 yıllık sürvi %92), arkasından baş-boyun ve genitoüriner sistem (mesane ve prostat hariç) tümörleri (5 yıllık sürvi %80) gelir. Parameningeal, mesane, prostat ve ekstremité yerleşimlilerde sürvi %70 civarındadır (13).

Çalışmamızda histolojik tip ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kurulamadı. Ancak literatür verilerine göre histolojik alt tip önemli bir bağımsız prognostik parametredir. Botrioid ve iğsi hücreli alt tiplerinin iyi (5 yıllık sağkalım %95-%88), klasik embriyonel rabdomiyosarkomun orta (5 yıllık sağkalım %66), alveoler ve pleomorfik RMS'nin kötü prognozlu olduğu (5 yıllık sağkalım %54) bildirilmiştir (1, 70, 115).

RMS olgularında anti-c-kit antikoruна karşı immünreaktivitenin araştırıldığı çalışmamızda 25 olgunun 15'inde (%60) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Olguların 3'ünde (%12) yaygın, kuvvetli, 6'sında (%24) yaygın, zayıf-orta derecede, geri kalan 6 olguda (%24) ise fokal, zayıf-orta derecede boyanma saptandı. C-kit ekspresyonu gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi 35.75 ay, göstermeyen olgularda 43.60 ay olarak belirlendi. c-kit immünpozitivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). Boyanmanın şiddeti ve oranı ayrı ayrı sağkalım ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ($p>0.05$).

Potti ve ark.'nın (116) 2 RMS olgusu içeren 90 yumuşak doku sarkomunda c-kit ve c-erb B2 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada RMS olgularında boyanma saptanmamış, genel olarak sarkomların %20'sinde c-kit, %8.8'inde c-erb B2 immünreaktivitesi belirlenmiş, ancak sağkalım ile antikorların ekspresyonu arasında anlamlı ilişki kurulamamıştır.

Armistead ve ark.nın (115) 105 RMS olgusunda tirozin kinaz reseptörlerinin ve apoptotik moleküllerin ekspresyonunu belirlemeye çalıştıkları seride %6 oranında c-kit, %9 oranında c-erb B2 pozitivitesi saptanmıştır.

Yirmi beşi RMS, 20'si ES olmak üzere toplam 365 yumuşak doku sarkomun ele alındığı, Hornick ve ark.'nın (117) yürüttüğü çalışmada, RMS olgularında anti-c kit antikoruna karşı boyanma saptanmazken, ES olgularının %20'sinde fokal pozitif boyanma gözlenmiştir. Poliklonal antikor ile çalışılmış, kendi deneyimlerine göre ısı aracılı antijen retrieval yöntemi boyanma yoğunluğunu azalttığından bu basamak atlanmıştır. Tüm sarkomlar değerlendirildiğinde boyanmanın GİST'lerde olduğu gibi diffüz ve kuvvetli değil, fokal olduğuna dikkat çekilmiştir. Önceki araştırmalarda bildirilen yüksek pozitifliklerin zemin boyanmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Antikor seçiminin ve İHK tekniğin direkt olarak immünreaktiviteyi etkileyip, araştırmalar arasında farklı sonuçlara sebep olduğu, moleküler yöntemlerle KIT mutasyonları belirlenmedikçe İHK inceleme sonuçlarına dayanan tirozin kinaz inhibitörleri ile tedaviyi hedefleyen klinisyenlerin hayal kırıklığına uğrayabileceği öngörülmüştür.

Miettinen (19) metastatik GİST hastalarında başarılı sonuçlar alınan KIT tirozin kinaz inhibitör tedavisinin diğer sarkomlarda da benzer sonuçlar verebileceği umudunu doğurduğunu, ancak farklı patogenetik mekanizmalara sahip sarkomlarda fayda sağlamayabileceğini öne sürmüştür. Öncelikle mezenkimal tümörlerde duyarlılığı ve özgüllüğü en yüksek KIT antikorları belirlenmesi ve kullanılacak İHK yöntemin standardize edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Sadece İHK olarak c-kit pozitifliğinin tümörün patogenezinin KIT aracılı olduğunu ortaya koyamayacağını, belirgin olarak pozitif tümörlerde aynı zamanda aktive edici KIT mutasyonlarının moleküler yöntemlerle de belirlenmesi gerektiğini ifade etmiştir.

Çalışmamızda yer alan OS ve ES'den farklı olarak RMS olgularının 7'sinde (%28) anti-c-erb B2 antikoruna karşı pozitif immünreaktivite belirlendi. Olguların 4'ü (%16) orta derecede (++), 3'ü (%12) kuvvetli (+++) pozitif immünreaktivite gösterdi. 7 olguda sitoplazmik-membranöz boyanma saptandı. İmmünpozitif olgularda rabdomiyoblastik diferansiyasyonun belirgin olduğu dikkati çekti. Ayrıca 2 olguda tümöre komşu nonneoplastik kas dokusunda boyanma gözlendi. C-kit immünreaktivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). İHK olarak anti-c-erb B2 protein ekspresyonu gösteren 7 olgudan 6'sına, c-erb B2 gen amplifikasyonunu belirlemek amacıyla SISH testi uygulandı. Bir olgu parafin blokta doku kalmadığından çalışma kapsamına alınamadı. Altı RMS olgusunun 1'inde c-erb B2 geninde amplifikasyon saptandı.

Potti ve ark. (116) ile Armistead ve ark.'nın (115) daha önce değindiğimiz çalışmalarında da c-erb B2 ekspresyonu ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Merimsky ve ark.'nın (99) 11'i RMS olmak üzere 230 yumuşak doku sarkomunda c-erb B2 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada olguların tümü negatif bulunmuştur.

Ricci ve ark.'nın (91) in vitro çalışmasında 5 farklı RMS hücre dizisinde HER reseptör ailesinin bazı üyelerinin (HER-1, HER-2, HER-3) değişik oranlarda eksprese edildiği belirlenmiştir. Önümüzdeki yıllarda HER-2 eksprese eden tümörleri hedefleyen monoklonal antikolar, immünotoksinler, selektif tirozin kinaz inhibitörlerini içeren yeni tedavi ajanlarının geliştirilebileceğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacıların 2 yıl sonra yayınlanan çalışmalarında RMS hücrelerinin epitelyal tümörlere oranla daha düşük oranda c-erb B2 eksprese ettikleri, bu nedenle immünotoksin tedavilerine epitelyal tümörler kadar iyi cevap veremeyeceğini öne sürmüşlerdir. 2006 yılında yayınlanan 66 RMS olgusunda c-erb B2 ekspresyonunun ve gen amplifikasyonunun İHK ve FISH yöntemleriyle araştırıldığı çalışmada, Ganti ve ark. (118) %33 oranında c-erb B2 pozitifliği elde etmiş ancak hiçbir olguda gen amplifikasyonu belirleyememişlerdir. Membranöz veya membranöz-sitoplazmik boyanmanın geçerli sayıldığı çalışmada, klinik parametreler ile arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Son yıllarda c-kit ve c-erb B2 genlerinin bazı epitelyal ve stromal tümörlerin etyopatogenezindeki rollerinin aydınlatılması ve bu reseptörleri hedef alan tedavilerin başarılı sonuçlar elde etmesiyle birçok tümörde c-kit ve c-erb B2 ekspresyonu araştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre OS, ES, RMS başta olmak üzere yumuşak doku tümörlerinde c-kit ve c-erb B2 ekspresyonunun kısıtlı olduğu, araştırmalar arasında gözlenen çelişkili sonuçların, kullanılan farklı antikor, İHK yöntem ve değerlendirme kriterlerine bağlı olduğu ortaya konmuştur. Bu aşamadan sonra yapılacak olan çalışmalarda, meme kanseri ve GİST'te olduğu gibi standardize edilmiş İHK yöntemlerin kullanılması, ek olarak moleküler yöntemlerle gen amplifikasyonlarının araştırılması gerekmektedir. Aksi takdirde bu reseptörleri hedef alan monoklonal antikoların kullanımı klinisyen ve hastalar üzerinde hayal kırıklığına yol açacaktır.

SONUÇLAR

OSTEOSARKOM

- Yirmi beş olgudan oluşan çalışma grubumuzda yer alan hastaların yaşları 11-52 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 22.76, pik insidansı 2. dekat olarak belirlendi. On dört kadın, 11 erkek hastadan oluşan serimizde kadın erkek oranı 1/1.2'dir.
- Kadın erkek yaş ortalamaları açısından anlamlı bir fark bulunamadı.
- Olguları histolojik tiplerine göre gruplandırdığımızda, %44 oranında osteoblastik, %44 oranında kondroblastik, %8 oranında fibroblastik, %4 oranında telenjiektatik tipte oldukları belirlendi.
- Histolojik tiplerin dağılımı, yaş ve cinsiyete göre belirgin bir fark göstermemekte idi.
- Olgularımızın %60'ı alt ekstremitte, %20'si baş-boyun, %20'si gövde (pelvis, kolumnar aks, skapula) yerleşimlidir.
- Yerleşim yeri ile histolojik tip, yaş, cinsiyet arasında anlamlı ilişki kurulamadı.
- Total eksizyonları değerlendirilebilen 21 adet olgunun neoadjuvan kemoterapiye cevabı değerlendirildi. Olguların 17'sinde (%81) %90'ın altında, 4'ünde (%19) %90'ın üzerinde nekroz varlığı saptandı.
- Nekroz oranı ile yaş, cinsiyet, histolojik tip ve yerleşim yeri arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. Son 2 yılda incelenen eksizyonlarla karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu gözlenen nekroz oranı, farklı kemoterapi protokollerinin uygulanmış olabileceği ile açıklanabilir. Nekroz oranı yüksek olan olgu sayısı düşük olduğundan, klinik parametreler ile anlamlı ilişki kurulamadığı düşünülmüştür.
- Klinik takiplerine ulaşılan 24 hastanın ortalama takip süreleri 25.4 ay olup, 13 hastanın (%54) hastalık nedeniyle öldüğü, yaşayan hastaların 1'inde (%4) lokal nüksün, 1'inde (%4) uzak metastazın ortaya çıkmış olduğu belirlendi.
- Sağkalım ile yaş, cinsiyet, yerleşim yeri ve nekroz arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı.
- Histolojik tiplere göre sağkalım süresi değerlendirildiğinde osteoblastik tipte 20 aylık sağkalım süresi %63, kondroblastik tipte 19 aylık sağkalım süresi %63 olarak belirlendi. Bu iki parametre arasında belirgin bir ilişki olmadığı saptandı.
- OS olgularında anti-c-kit antikoruна karşı immünreaktivitenin araştırıldığı çalışmamızda olguların 11'inde (%44) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Olguların 2'si yaygın, kuvvetli, 6'sı yaygın, orta şiddette, 3'ü fokal, orta-hafif şiddette pozitivite göstermekte idi.

Boyanmanın gözlenmediği olguların birinde osteoblastik ve osteoklastik hücrelerde sitoplazmik pozitivite saptandı.

- C-kit immünpozitivitesi ile sağkalım arasında istatistiksel olarak **anlamli bir ilişki bulundu**. C-kit ekspresyonu gösteren olgularda sağkalım süresinin anlamli derecede düşük olduğu saptandı. Osteosarkom olgularında c-kit ekspresyonunun kötü prognostik parametre olduğu, ileriki yıllarda tedaviyi yönlendirebileceği ihtimali ortaya kondu. Boyanmanın şiddeti ve oranı, sağkalım ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında anlamli bir fark belirlenmedi. Bununla birlikte c-kit ekspresyonunun şiddeti ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlilik düzeyine oldukça yakın bir sonuç elde edildi.
- İHK olarak c-kit pozitifliğinin yaş, cinsiyet, yerleşim yeri ve histolojik tipler ile ilişkili olmadığı belirlendi.
- C-erb B2 antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 25 olgunun hiçbirinde immünreaksiyon belirlenmedi. Dört olguda tümöre komşu kas dokusunda kuvvetli sitoplazmik boyanma saptandı.
- Osteosarkom olgularında c-erb B2 antikorunun ekspresyon göstermediği, dolayısıyla prognostik ve tedaviyi yönlendirici bir parametre olarak kullanılamayacağı düşünüldü.

EWING SARKOMU

- Çalışma grubumuzu oluşturan 25 adet ES olgusunda ortalama yaş 25, pik insidansı 2. dekat olarak belirlendi. 3-80 yaş arasında yer alan olguların 15'i erkek, 10'u kadın idi.
- Kadın erkek yaş ortalamaları arasında anlamli fark bulunamadı.
- Olgularımızın %52'si alt ekstremitte, %20'si gövde, %12'si üst ekstremitte, %12'si baş-boyun yerleşimlidir. %4 oranında lenf nodu metastazı belirlenmiştir.
- Yerleşim yeri ile yaş ve cinsiyet arasında anlamli ilişki kurulamadı.
- Klinik takiplerine ulaştığımız 15 hastanın ortalama takip süreleri 23.2 aydır. İki ile 68 ay arasında değişen takipler sonucunda olguların 8'inin (%53) hastalık nedeniyle öldüğü, yaşayan 7 hastadan 4'ünde (%27) metastaz varlığı saptandı.
- Sağkalım ile yaş, cinsiyet ve yerleşim yeri arasında anlamli bir ilişki kurulamadı. Bu sonuca ulaşmamıza sebep olan en önemli faktörün klinik takiplerine ulaşabildiğimiz hasta sayısı kısıtlılığı olduğunu düşündük.
- ES olgularında anti-c-kit antikoruna karşı immünreaktivitenin araştırıldığı çalışmamızda olguların 11'inde (%44) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Olguların 2'sinde

(%8) yaygın, kuvvetli, 4'ünde (%16) yaygın, zayıf-orta şiddette, geri kalan 5 olguda (%20) fokal, zayıf-orta şiddette pozitivite göstermekte idi.

- C-kit ekspresyonu gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi 13.42 ay, göstermeyen olgularda 41.50 ay olmasına rağmen, c-kit immünpozitivitesi ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Bu durum c-kit ekspresyonu gösteren ve göstermeyen olgularda mortalite oranlarının ve sağkalım sürelerinin birbirine çok yakın oluşu ile açıklanabilir. Boyanmanın şiddeti ve oranı ayrı ayrı sağkalım ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi.
- C-kit pozitifliğinin yaş, cinsiyet ve yerleşim yeri ile anlamlı bir ilişki göstermediği saptandı.
- C-erb B2 antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 25 olgunun hiçbirinde immünreaksiyon belirlenmedi.
- Sonuç olarak; ES olgularında c-erb B2 antikorunun eksprese edilmediği, dolayısıyla prognostik ve tedaviyi yönlendirici bir parametre olarak kullanılamayacağı, belirli bir oranda c-kit pozitifliğine (%44) rağmen, ekspresyonun sağkalım ile ilişkisi bulunmadığından, c-kit ekspresyonu için de aynı varsayımın geçerli olduğu söylenebilir.

RABDOMİYOSARKOM

- Yirmi beş adet RMS olgusundan oluşan çalışma grubumuzda yer alan hastaların yaşları 1-74 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 15.68, pik insidansı 1. dekat olarak belirlendi. On dört kadın, 11 erkek hastadan oluşan grubumuzda kadın erkek oranı 1/1.2'dir.
- Kadın erkek yaş ortalamaları açısından anlamlı bir fark bulunamadı.
- Olguları histolojik tiplerine göre gruplandırdığımızda, %48 oranında alveoler, %36 oranında embriyonel, %8 oranında iğsi hücreli, %4 oranında botrioid, %4 oranında pleomorfik tipte oldukları belirlendi. Histolojik tiplerin dağılımı, yaş ve cinsiyete göre belirgin bir fark göstermemekte idi.
- Olgularımızın %36'sı baş-boyun, %24'ü gövde, %16'sı ürogenital bölge, %12'si üst ekstremité, %8'i alt ekstremité yerleşimlidir. %4 oranında lenf nodu metastazı belirlenmiştir.
- Yerleşim yeri ile histolojik tip, yaş, cinsiyet arasında anlamlı ilişki kurulamadı. Klinik takiplerine ulaşabildiğimiz 14 hastanın takip süreleri 14-51 ay arasında değişmektedir. Ortalama takip süresi 27.6 ay olup, 2 olgunun (%14) hastalık nedeniyle öldüğü, yaşayan hastaların 4'ünde (%29) metastaz, 1'inde (%7) lokal nüksün ortaya çıktığı belirlendi.
- Sağkalım ile yaş, cinsiyet ve yerleşim yeri arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı.

- C-kit antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 25 olgunun 15'inde (%60) pozitif sitoplazmik immünreaktivite belirlendi. Bazı olgularda boyanmaya zayıf bir membranöz boyanma da eşlik etmekte idi. Pozitif immünreaksiyon alınan olguların 3'ünde (%12) yaygın, kuvvetli, 6'sında (%24) yaygın, zayıf-orta derecede, geri kalan 6 olguda (%24) ise fokal, zayıf-orta derecede boyanma saptandı.
- C-kit ekspresyonu gösteren olgularda ortalama sağkalım süresi 35.75 ay, göstermeyen olgularda 43.60 ay olarak belirlendi. C-kit immünpozitivitesi ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Boyanmanın şiddeti ve oranı ayrı ayrı sağkalım ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi.
- İHK olarak c-kit pozitifliğinin yaş, cinsiyet, yerleşim yeri ve histolojik tipler ile ilişkili olmadığı belirlendi.
- RMS olgularının 7'sinde (%28) anti-c-erb B2 antikoruна karşı pozitif immünreaktivite belirlendi. Olguların 4'ü (%16) orta derecede (++), 3'ü (%12) kuvvetli (+++) pozitif immünreaktivite gösterdi. Yedi olguda da sitoplazmik-membranöz boyanma saptandı. İmmünpozitif olgularda rabdomiyoblastik diferansiyasyonun belirgin olduğu dikkati çekti. Ayrıca 2 olguda tümöre komşu nonneoplastik kas dokusunda boyanma gözlemlendi.
- C-erb B2 immünreaktivitesi ile yaş, cinsiyet, yerleşim yeri, histolojik tip ve sağkalım arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.
- İHK olarak anti-c-erb B2 protein ekspresyonu gösteren 7 olgudan 6'sına, c-erb B2 gen amplifikasyonunu belirlemek amacıyla SISH testi uygulandı. Altı RMS olgusunun 1'inde c-erb B2 geninde amplifikasyon saptandı.
- Elde edilen İHK sonuçlar yorumlandığında, RMS olgularında c-kit ve c-erb B2 ekspresyonunun prognostik öneminin olmadığı düşünüldü. Ancak İHK olarak c-erb B2 pozitifliği saptanan 1 olguda, SISH yöntemi ile gen amplifikasyonunun belirlenmesi bu konuda kesin yorumun, daha geniş serileri kapsayan ve moleküler yöntemlerin ön plana çıkarıldığı araştırmaların ardından yapılmasının doğru olacağını düşündürmüştür.
- Histolojik tiplerine, sağkalımlarına, c-kit ve c-erb B2 pozitifliğine göre oluşturduğumuz gruplardaki düşük olgu sayısının, bu şekilde sonuçlar elde edilmesine sebep olduğu düşünüldü. Çalışmamızın, olguların daha uzun süreli takipleri, bu süreçte yeni olguların katılımıyla zenginleştirilecek daha geniş kapsamlı bir araştırmaya zemin hazırladığı düşünülmüştür.
- Çalışma grubumuzda yer alan toplam 75 OS, ES, RMS olgusunda İHK yöntemle c-kit ve c-erbB2 protein ekspresyonu, 6 RMS olgusunda SISH yöntemi ile c-erb B2 gen amplifikasyonu

araştırıldı. Elde edilen sonuçlar literatür verileri ile birleştirildiğinde, ileriki yıllarda yapılacak olan çalışmalarda İHK yöntemlerin standardize edilmesi, ilave olarak moleküler yöntemlerin uygulanması gerektiğini ortaya koymuştur.

ÖZET

Osteosarkom, Ewing sarkomu, rabdomyosarkom özellikle çocukluk ve genç erişkin döneminin nadir görülen, agresif klinik davranışa sahip kemik ve yumuşak doku sarkomlarıdır. Tedavi yöntemlerindeki ilerlemeler sonucunda 5 yıllık sağkalım oranı %70'lere ulaşmasına rağmen, nüks olgularda tedaviye yanıt konusunda başarılı sonuçlar alınamamaktadır. Prognostik faktörlerin ve alternatif tedavi stratejilerinin belirlenmesi bu grup tümörlerin tedavisinde elzemdir.

Son yıllarda tümör onkogeneğinde rol oynayan genleri hedef alan biyolojik inhibitörlerin tedavi rejimlerine girmesi ve olumlu sonuçlar elde edilmesi üzerine bu tedavi ajanlarını konu alan araştırmalar yapılmaya başlamıştır.

C-kit (CD117) organizmada birçok hücre tipinde sinyal iletiminde rol oynayan bir tirozin kinaz (tip III) reseptörüdür. C-kit inhibitörleri (imatinib mezilat, STI571, gleevec/glivec; Novartis Pharmaceuticals, St Louis) genellikle metastatik GİST'lerin tedavisinde kullanılmakta ve c-kit ekspresyonu belirlenen diğer tümörlere (Myeloid Lösemi, Akciğerin Küçük Hücreli Karsinomu) yönelik olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmaktadır.

C-erb B2 onkogeninin aşırı ekspresyonu başta meme, over ve akciğer olmak üzere birçok kanser türünde tümörün agresif klinik seyri, artmış metastatik kapasitesi, kemoterapiye rezistansı dolayısıyla kötü prognoz göstermesiyle ilişkili bulunmuştur. Yumuşak doku ve kemik sarkomlarında Erb B2 gen aktivasyonu ve protein ekspresyonu günümüzde birçok araştırmaya konu olmaktadır.

Biz de çalışmamızda her biri 25 olgudan oluşan OS, ES, RMS tümör gruplarında c-kit ve c-erb B2 ekspresyonunu, ekspresyon saptanırsa prognostik öneminin olup olmadığını araştırdık.

Osteosarkom olgularında c-kit ekspresyonunun sağkalım ile anlamlı derecede ilişkili olduğu belirlendi. C-kit ekspresyonunun kötü prognostik parametre olarak değerlendirilebileceği saptandı. Ancak diğer klinik parametrelerle karşılaştırıldığında anlamlı ilişki kurulamadı. Ewing sarkomu ve rabdomyosarkomda c-kit ekspresyonunun prognostik öneminin olmadığı belirlendi.

Üç grup tümörde de anlamlı derecede c-erb B2 ekspresyonu gözlenmedi. Literatürde bu konuda yapılan önceki çalışmaların sonuçlarıyla birleştirildiğinde c-kit ve c-erb B2 protein ekspresyonlarının, sadece immunhistokimyasal yöntemlerle belirlenmesinin çok sağlıklı olmadığı sonucuna varıldı, sitomoleküler çalışmalarla desteklenmesi gerektiği düşünüldü. Tümörlerde gerçek c-kit, c-erb B2 ekspresyonu ve gen amplifikasyonu saptanabildiği takdirde bu grup hastaların reseptörlere yönelik tedaviden fayda görebileceği öngörüldü.

KAYNAKLAR

1. Klein M.J, Siegal G.P. Osteosarcoma; Anatomic and Histologic Variants. *Am J Clin Pathol* 2006;125:555-581.
2. Fletcher C, Unni KK, Mertens F. ed. Osteogenic Tumours; Conventional Osteosarcoma. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology of Genetics Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC;2002;p.264-270.
3. Hitora T, Yamamoto T, Akisue T, Marui T, Nakatanii T, Kawamoto T, Nagira K, Yoshiya S, Kurosaka M. Establishment and characterization of a KIT-positive and stem cell factor-producing cell line, KTHOS, derived from human osteosarcoma. *Pathol Int* 2005;55(2):41-47.
4. Maitra A, Wanzer D, Weinberg AG, Ashfag R. Amplification of the HER-2/neu oncogene is uncommon in pediatric osteosarcomas. *Cancer* 2001;92(3):677-683.
5. Marina N, Gebhardt M, Teot L, Gorlick R. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma. *Oncologist* 2004;9(4):422-441.
6. Saeter G, Kloke O, Jelic S; ESMO Guidelines Task Force. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of osteosarcoma. *Ann Oncol* 2005;16:71-72.
7. Longhi A, Errani C, De Paolis M, Mercuri M, Bacci G. Primary bone osteosarcoma in the pediatric age stage: state of the art. *Cancer Treat Rev* 2006;32(6):423-436.
8. Burchill SA. Ewing's sarcoma: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications of molecular abnormalities. *J Clin Pathol* 2003;56:96-102.
9. Bernstein M, Kovar H, Paulussen M, Lor Randall R, Schuck A, Teot LA, Juergensg H. Ewing's Sarcoma Family of Tumors: Current Management. *The Oncologist* 2006;11:503-519.
10. Scurr M, Judson I. How to treat the Ewing's Family of Sarcomas in Adult Patients. *The Oncologist* 2006;11:65-72.
11. Rosai J. ed. Bone and Joints: Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 9th ed., Volume 2, Edinburgh: Mosby;2004;p.2172-2177.
12. Saeter G, Oliveira J, Bergh J; ESMO Guidelines Task Force. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of Ewing's sarcoma of bone. *Ann Oncol* 2005;16:73-74.
13. Weiss SW, Goldblum JR. Rhabdomyosarcoma. In: Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors, 5th ed., China: Mosby;2008;p.595-631.
14. Crist WM, Anderson JR, Meza JL, Fryer C, Raney RB, Ruymann FB, Breneman J, Qualman SJ, Wiener E, Wharam M, Lobe T, Webber B, Maurer HM, Donaldson SS. Intergroup Rhabdomyosarcoma Study-IV: results for patients with nonmetastatic disease. *J Clin Oncol* 2001;19(12):3091-3102.
15. Entz-Werle N, Marcellin L, Gaub MP, Guerin E, Schneider A, Berard-Marec P, Kalifa C, Brugiera L, Pacquement H, Schmitt C, Tabone MD, Jeanne-Pasquier C, Terrier P, Dijoud F, Oudet P, Lutz P, Babin-Boilletot A. Prognostic significance of allelic imbalance at the c-kit gene locus and c-kit overexpression by immunohistochemistry in pediatric osteosarcomas. *J Clin Oncol* 2005;23(10):2248-2255.

16. Entz-Werle N, Gaub MP, Lavaux T, Marcellin L, Metzger N, Marec-Berard P, Schmitt C, Brugiere L, Kalifa C, Tabone MD, Pacquement H, Gentet P, Lutz P, Oudet P, Babin A. KIT gene in pediatric osteosarcomas: could it be a new therapeutic target? *Int J Cancer* 2007;120(11):2510-2516.
17. Smithey BE, Pappo AS, Hill DA. c-kit expression in pediatric solid tumors: a comparative immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 2002;26(4):486-492.
18. Lennartsson J, Jelacic T, Linnekin D, Shivakrupa R. Normal and oncogenic forms of the receptor tyrosine kinase kit. *Stem Cells* 2005;23(1):16-43.
19. Miettinen M, Lasota J. KIT (CD117): a review on expression in normal and neoplastic tissues, and mutations and their clinicopathologic correlation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005;13(3):205-20.
20. Kurt G. Gastrointestinal Stromal Tümörlerde Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analiz (c-kit, CD34, SMA, S-100, Desmin, Ki-67). Uzmanlık tezi. İstanbul 2006;p.18-31.
21. Scotlandi K, Manara MC, Strammiello R, Landuzzi L, Benini S, Perdicizzi S, Serra M, Astolfi A, Nicoletti G, Lollini PL, Bertoni F, Nanni P, Picci P. c-kit receptor expression in Ewing's sarcoma: lack of prognostic value but therapeutic targeting opportunities in appropriate conditions. *J Clin Oncol* 2003;21(10):1952-60.
22. Gonzalez I, Andreu EJ, Panizo A, Inoges S, Fontalba A, Fernandez-Luna JL, Gaboli M, Sierrasesumaga L, Martin-Algarra S, Pardo J, Prosper F, de Alava E. Imatinib inhibits proliferation of Ewing tumor cells mediated by the stem cell factor/KIT receptor pathway, and sensitizes cells to vincristine and doxorubicin-induced apoptosis. *Clin Cancer Res* 2004;10(2):751-761.
23. Merchant MS, Woo CW, Mackall CL, Thiele CJ. Potential use of imatinib in Ewing's Sarcoma: evidence for in vitro and in vivo activity. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(22):1673-1679.
24. Willmore-Payne C, Holden JA, Zhou H, Gupta D, Hirschowitz S, Wittwer CT, Layfield LJ. Evaluation of Her-2/neu gene status in osteosarcoma by fluorescence in situ hybridization and multiplex and monoplex polymerase chain reactions. *Arch Pathol Lab Med* 2006 ;130(5):691-698.
25. Sato O, Wada T, Kawai A, Yamaguchi U, Makimoto A, Kokai Y, Yamashita T, Chuman H, Beppu Y, Tani Y, Hasegawa T. Expression of epidermal growth factor receptor, ERBB2 and KIT in adult soft tissue sarcomas: a clinicopathologic study of 281 cases. *Cancer* 2005;103(9):1881-1890.
26. Kilpatrick SE, Geisinger KR, King TS, Sciarrotta J, Ward WG, Gold SH, Bos GD. Clinicopathologic analysis of HER-2/neu immunoexpression among various histologic subtypes and grades of osteosarcoma. *Mod Pathol* 2001;14(12):1277-1283.
27. Schaller G, Evers K, Papadopoulos S, Ebert A, Buhler H. Current use of HER2 tests. *Ann Oncol* 2001;12(1):97-100.
28. Vigorita VJ. Bone Tumors. In: *Orthopaedic Pathology*, Lippincot Williams and Wilkins, 1999;p.326-346.
29. Cotterill SJ, Wright CM, Pearce MS, Craft AW; UKCCSG/MRC Bone Tumour Working Group. Stature of young people with malignant bone tumors. *Pediatr Blood Cancer* 2004 ;42(1):59-63.
30. Marina N, Gebhardt M, Teot L, Gorlick R. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma. *Oncologist* 2004;9(4):422-441.
31. Fuchs B, Pritchard DJ. Etiology of osteosarcoma. *Clin Orthop Relat Res* 2002;(397):40-52.

32. Rosai J. ed. Bone and Joints: Osteosarcoma. In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 9th ed., Volume 2, Edinburgh: Mosby;2004;p2150-2158.
33. Wittig JC, Bickels J, Priebat D, Jelinek J, Kellar-Graney K, Shmookler B, Malawer MM. Osteosarcoma: a multidisciplinary approach to diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2002;65(6):1123-1132.
34. Huvos AG. Bone Tumors, Diagnosis, Treatment and Prognosis. Chapter 5, Osteogenic Sarcoma, 2nd ed., WB Saunders Company, 1991;p85-199.
35. Coffin CM, Lowichik A, Zhou H. Treatment effects in pediatric soft tissue and bone tumors: practical considerations for the pathologist. *Am J Clin Pathol* 2005;123(1):75-90.
36. Bacci G, Bertoni F, Longhi A, Ferrari S, Forni C, Biagini R, Bacchini P, Donati D, Manfrini M, Bernini G, Lari S. Neoadjuvant chemotherapy for high-grade central osteosarcoma of the extremity. Histologic response to preoperative chemotherapy correlates with histologic subtype of the tumor. *Cancer* 2003;97(12):3068-3075.
37. Hauben EI, Weeden S, Pringle J, Van Marck EA, Hogendoorn PC. Does the histological subtype of high-grade central osteosarcoma influence the response to treatment with chemotherapy and does it affect overall survival? A study on 570 patients of two consecutive trials of the European Osteosarcoma Intergroup. *Eur J Cancer* 2002;38(9):1218-1225.
38. Dorfman HD, Czerniak B. Bone Tumors. St Louis, MO: Mosby; 1998.
39. Nakajima H, Sim FH, Bond JR, et al. Small cell osteosarcoma of bone: review of 72 cases. *Cancer* 1997;79:2095-2106.
40. Kurt AM, Unni KK, McLeod RA, et al. Low-grade intraosseous osteosarcoma. *Cancer*. 1190;65:1418-1428.
41. Ogoe A, Hotta T, Emura I, et al. Repeated dedifferentiation of low-grade intraosseous osteosarcoma. *Hum Pathol* 2000;31:615-618.
42. Clark JL, Unni KK, Dahlin DC, et al. Osteosarcoma of the jaw. *Cancer* 1983;51:2311-2316.
43. Mardinger O, Givol N, Talmi YP, Taicher S. Osteosarcoma of the jaw. The Chaim Sheba Medical Centre experience. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001 ;91(4):451-55.
44. Saeter G, Kloke O, Jelic S; ESMO Guidelines Task Force. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of osteosarcoma. *Ann Oncol* 2005;16(1):71-72.
45. Longhi A, Errani C, De Paolis M, Mercuri M, Bacci G. Primary bone osteosarcoma in the pediatric age stage: state of the art. *Cancer Treat Rev* 2006;32(6):423-36.
46. Rosen G, Murphy ML, Huvos AG et al. Chemoterapy, en bloc resection, and prosthetic bone replacement in the treatment of osteogenic sarcoma. *Cancer* 1976;37:1-11.
47. Fuchs N, Bielack SS, Epler D, Bieling P, Dellling G, Korholz D, Graf N, Heise U, Jurgens H, Kotz R, Salzer-Kuntschik M, Weinel P, Werner M, Winkler K. Long-term results of the co-operative German-Austrian-Swiss osteosarcoma study group's protocol COSS-86 of intensive multidrug chemotherapy and surgery for osteosarcoma of the limbs. *Ann Oncol* 1998;9(8):893-899.

48. Muller CR, Smeland S, Bauer HC, Saeter G, Strander H. Interferon-alpha as the only adjuvant treatment in high-grade osteosarcoma: long term results of the Karolinska Hospital series. *Acta Oncol* 2005;44(5):475-480.
49. Bacci G, Longhi A, Bertoni F, Briccoli A, Versari M, Pignotti E, Picci P. Bone metastases in osteosarcoma patients treated with neoadjuvant or adjuvant chemotherapy: the Rizzoli experience in 52 patients. *Acta Orthop* 2006;77(6):938-943.
50. Berend KR, Pietrobon R, Moore JO, Dibernardo L, Harrelson JM, Scully SP. Adjuvant chemotherapy for osteosarcoma may not increase survival after neoadjuvant chemotherapy and surgical resection. *J Surg Oncol* 2001;78(3):162-170.
51. Valery PC, Williams G, Sleigh AC, Holly EA, Kreiger N, Bain C. Parental occupation and Ewing's sarcoma: pooled and meta-analysis. *Int J Cancer* 2005;115(5):799-806.
52. Valery PC, McWhirter W, Sleigh A, Williams G, Bain C. A national case-control study of Ewing's sarcoma family of tumours in Australia. *Int J Cancer* 2003;105(6):825-830.
53. Hum L, Kreiger N, Finkelstein MM. The relationship between parental occupation and bone cancer risk in offspring. *Int J Epidemiol* 1998;27(5):766-771.
54. Fletcher C, Unni KK, Mertens F. ed. Ewing Sarcoma/Primitive neuroectodermal tumour. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology of Genetics Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC;2002;p.297-300.
55. Weiss SW, Goldblum JR. Ewing's Sarcoma/PNET Tumor Family and related Lesions In: Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors, 5th ed., China: Mosby;2008;p.963-979.
56. Hameed M. Small Round Cell Tumors of bone. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:192-204.
57. Bacci G, Longhi A, Ferrari S, Mercuri M, Versari M, Bertoni F. Prognostic factors in non-metastatic Ewing's sarcoma tumor of bone: an analysis of 579 patients treated at a single institution with adjuvant or neoadjuvant chemotherapy between 1972 and 1998. *Acta Oncol* 2006;45(4):469-475.
58. Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, Rimondini S, Loghi a, Bacchini P, Forni C, Manfrini M, Donati D, Picci P. Prognostic Factors in Nonmetastatic Ewing's Sarcoma of Bone Treated With Adjuvant Chemotherapy: Analysis of 359 Patients at the Istituto Ortopedico Rizzoli. *J Clin Oncol* 2000;18(1):4-11.
59. Cotterill SJ, Ahrens S, Paulussen M, Jurgens HF, Voute PA, Gadner H, Craft AW. Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group. *J Clin Oncol* 2000;18(17):3108-3114.
60. Ilic I, Manojlovic S, Cepulic M, Orlic D, Seiwert S. Osteosarcoma and Ewing's sarcoma in children and adolescents: retrospective clinicopathological study. *Croat Med J* 2004 ;45(6):740-745.
61. Gaffney EF, Dervan PA, Fletcher CDM. Pleomorphic rhabdomyosarcoma in adulthood: analysis of 11 cases with definition of diagnostic criteria. *Am J Surg Pathol* 1993;17(6):601-609.
62. Hollowood K, Fletcher CDM. Rhabdomyosarcoma in adults. *Semin Diagn Pathol* 1994; 11(1):47-57.
63. Linscheid RL, Soule EH, Henderson ED. Pleomorphic rhabdomyosarcoma of the extremities and limb girdles:a clinicopathological study. *J Bone Joint Surg Am* 1965;47:715-726.

64. Enzinger FM, Lattes R, Torloni H. Histological typing of soft tissue tumours. In: International Histological Classification of Tumors, No. 3. World Health Organization, Geneva, 1969.
65. Palmer NF, Sachs N, Foulkes M. Histopathology and prognosis in rhabdomyosarcoma. *Proc Int Soc Pediatr Oncol* 1981;1:113-121.
66. Palmer NF, Sachs N, Foulkes M. Histopathology and prognosis in rhabdomyosarcoma (IRS). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1982;1:170-179.
67. Caillaud JM, Gerard-Marchant R, Marsden HB, et al. Histopathological classification of childhood rhabdomyosarcoma: a report from the International Society of Pediatric Oncology Pathology Panel. *Med Pediatr Oncol* 1989;17(5):391-400.
68. Tsokos M, Webber BL, Parham DM, et al. Rhabdomyosarcoma: a new classification scheme related to prognosis. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116(8):847-855.
69. Newton WA Jr, Gehan EA, Webber BL, et al. Classification of rhabdomyosarcomas and related sarcomas: pathologic aspects and proposal for a new classification-an Intergroup Rhabdomyosarcoma Study. *Cancer* 1995;76(6):1073-85.
70. Fletcher C, Unni KK, Mertens F. ed. Skeletal Muscle Tumours; Rhabdomyosarcoma. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology of Genetics Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC;2002;p.146-154.
71. Crist WM, Gehan EA, Ragab AH, et al. The intergroup Rhabdomyosarcoma Study III. *J Clin Oncol* 1995;13(3):610-630.
72. Mauer HM, Beltangady M, Gehan EA, et al. The intergroup Rhabdomyosarcoma Study I: a final report. *Cancer* 1988;61:209-222.
73. Mauer HM, Gehan EA, Beltangady M, et al. The intergroup Rhabdomyosarcoma Study II. *Cancer* 1993;71(5):1904-1922.
74. Lee JH, Lee MS, Lee BH, et al. Rhabdomyosarcoma of the head and neck in adults: MR and CT findings. *Am J Neuroradiol* 1996;17(10):1923-1928.
75. Yang WT, Kwan WH, Li CK, et al. Imaging of pediatric head and neck rhabdomyosarcomas with emphases on magnetic resonance imaging and a review of the literature. *Pediatr Hematol Oncol* 1997;14(3):243-257.
76. Raney RB Jr, Trefft M, Lawrence W, et al. Paratesticular rhabdomyosarcoma in childhood and adolescence. *Cancer* 1987;60(9):2337-2343.
77. Pappo AS, Shapiro DN, Crist WM, et al. Biology and therapy of pediatric rhabdomyosarcoma. *J Clin Oncol* 1995;13(8):2123-2139.
78. Newton WA Jr, Soule EH, Hamoudi AB, et al. Histopathology of childhood sarcomas, Intergroup Rhabdomyosarcoma Studies I and II: Clinicopathologic correlation. *J Clin Oncol* 1988;6(1):67-75.
79. Schmidt D, Reimann O, Treuner J, et al. Cellular differentiation and prognosis in embryonal rhabdomyosarcoma: a report from the Cooperative Soft Tissue Sarcoma Study 1981 (CWS 81) *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1986;409(2):183-194.

80. Besnard Guerin C, Cavenee WK, Newsham I. A new highly polymorphic DNA restriction site marker in the 5' region of heterozygosity in human embryonal rhabdomyosarcoma. *Hum Genet* 1994;93(3):349-350.
81. Mannens MMAM, Devilee P, Blik J, et al. Loss of heterozygosity in Wilms' tumors, studied for six putative tumor suppressor regions, is limited to chromosome 11. *Cancer Res* 1990;50(11):3279-3283.
82. Parham DM. The molecular biology of childhood rhabdomyosarcoma. *Semin Diagn Pathol* 1994;11(1):39-46.
83. Slater RM, Mannens MMAM. Cytogenetics and molecular genetics of Wilms' tumor of childhood. *Cancer Genet Cytogenet* 1992;61(2):111-121.
84. Afify A, Mark HFL. Trisomy 8 in embryonal rhabdomyosarcoma detected by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 1999;108(2):127-132.
85. Dietrich CU, Jacobsen BB, Starkland H, et al. Clonal karyotypic evolution in an embryonal rhabdomyosarcoma with trisomy 8 as the primary chromosomal abnormality. *Genes Chromosomes Cancer* 1993;7(4):240-244.
86. Cavazzana AO, Schmidt D, Ninfo V, et al. Spindle cell rhabdomyosarcoma: a prognostically favorable variant of rhabdomyosarcoma. *Am J Surg Pathol* 1992;6(3):229-235.
87. Hotte SJ, Winquist EW, Lamont E, et al. Imatinib mesylate in patients with adenoid cystic cancers of the salivary glands expressing c-kit: a Princess Margaret Hospital phase II consortium study. *J Clin Oncol* 2005;23:585-590.
88. Strobel P, Hartmann M, Jacob A, et al. Thymic carcinoma with overexpression of mutated KIT and the response to imatinib. *N Engl J Med* 2004;350:2625-2626.
89. Atif A, Barness EG, Lacson A. Expression of c-kit in Ewing Family of Tumors: A Comparison of Different Immunohistochemical Protocols. *Pediatr Dev Pathol* 2004;7(4):342-347.
90. Landuzzi L, Strippoli P, De Giovanni C, Nicoletti G, Rossi I, Tonelli R, Frabetti F, Nanni P, Bagnara GP, Lollini PL. Production of stem cell factor and expression of c-kit in human rhabdomyosarcoma cells: lack of autocrine growth modulation. *Int J Cancer* 1998;78(4):441-445.
91. Ricci C, Landuzzi L, Rossi I, De Giovanni C, Nicoletti G, Astolfi A, Pupa S, Menard S, Scotlandi K, Nanni P, Lollini PL. Expression of HER/erbB family of receptor tyrosine kinases and induction of differentiation by glial growth factor 2 in human rhabdomyosarcoma cells. *Int J Cancer* 2000;87(1):29-36.
92. Hughes DP, Thomas DG, Giordano TJ, Baker LH, McDonagh KT. Cell surface expression of epidermal growth factor receptor and Her-2 with nuclear expression of Her-4 in primary osteosarcoma. *Cancer Res* 2004;64(6):2047-2053.
93. Cooke T. What is HER2? *Eur J Oncol Nursing* 2000;4(1):2-9.
94. Ricci C, Polito L, Nanni P, Landuzzi L, Astolfi A, Nicoletti G, Rossi I, De Giovanni C, Bolognesi A, Lollini PL. HER/erbB receptors as therapeutic targets of immunotoxins in human rhabdomyosarcoma cells. *J Immunother*. 2002;25(4):314-323.
95. Somers GR, Ho M, Zielenska M, Squire JA, Thorner PS. HER2 amplification and overexpression is not present in pediatric osteosarcoma: a tissue microarray study. *Pediatr Dev Pathol* 2005;8(5):525-532.

96. Onda M, Matsuda S, Higaki S, Lijima T, Fukushima J, Yokokuro A, Kojima T, Horiuchi H, Kurokawa T, Yamamoto T. ErbB2 Expression is correlated with poor Ppognosis for patients with osteosarcoma. *Cancer* 1996;77:71-78.
97. Scotlandi K, Manara MC, Hattinger CM, Benini S, Perdichizzi S, Pasello M, Bacci G, Zanella L, Bertoni F, Picci P, Serra M. Prognostic and therapeutic relevance of HER2 expression in osteosarcoma and Ewing's sarcoma. *Eur J Cancer* 2005;41(9):1349-1361.
98. Foster CS, Gosden CM, Ke Y. HER2/neu expression in cancer: the pathologist as diagnostician or prophet? *Hum Pathol* 2003;34(7):635-638.
99. Merimsky O, Issakov J, Schwartz I, Dadia S, Kollender Y, Bickels J, Inbar M, Meller I. Lack of ErbB-2 oncogene product overexpression in soft tissue sarcomas. *Acta Oncol* 2002;41(4):366-368.
100. Anninga JK, van de Vijver MJ, Cleton-Jansen AM, Kristel PM, Taminiau AH, Nooij M, Egeler RM, Hogendoorn PC. Overexpression of the HER-2 oncogene does not play a role in high-grade osteosarcomas. *Eur J Cancer* 2004;40(7):963-970.
101. Foster H, Knox S, Ganti AK, Hebert BJ, Koch M, Tendulkar K, Levitt R, Potti A. HER-2/neu overexpression detected by immunohistochemistry in soft tissue sarcomas. *Am J Clin Oncol* 2003;26(2):188-191.
102. Gorlick R, Huvoş AG, Heller G, Aledo A, Beardsley GP, Healey JH, Meyers PA. Expression of HER2/erbB-2 correlates with survival in osteosarcoma. *J Clin Oncol* 1999 ;17(9):2781-2788.
103. Ferrari S, Bertoni F, Zanella L, Setola E, Bacchini P, Alberghini M, Versari M, Bacci G. Evaluation of P-glycoprotein, HER-2/ErbB-2, p53, and Bcl-2 in primary tumor and metachronous lung metastases in patients with high-grade osteosarcoma. *Cancer* 2004;100(9):1936-1942.
104. Akatsuka T, Wada T, Kokai Y, Kawaguchi S, Isu K, Yamashiro K, Yamashita T, Sawada N, Yamawaki S, Ishii S. ErbB2 expression is correlated with increased survival of patients with osteosarcoma. *Cancer* 2002;94(5):1397-1404.
105. Thomas DG, Giordano TJ, Sanders D, Biermann JS, Baker L. Absence of HER2/neu gene expression in osteosarcoma and skeletal Ewing's sarcoma. *Clin Cancer Res* 2002;8(3):788-793.
106. Picci P. Osteosarcoma (osteogenic sarcoma). *Orphanet J Rare Dis* 2007;23:2-6.
107. Ateş LE. Osteosarkomlarda p-glikoprotein, p53, NM23 ve HSP90 Ekspresyonunun Prognoz Üzerine Etkileri. Uzmanlık tezi. İstanbul 2003;p.13-15.
108. Sulzbacher I, Birner P, Toma C, Wick N, Mazal PR. Expression of c-kit in human osteosarcoma and its relevance as a prognostic marker. *J Clin Pathol* 2007 Jul;60(7):804-807.
109. Sabah M, Leader M, Kay E. The problem with KIT: clinical implications and practical difficulties with CD117 immunostaining. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003;11(1):56-61.
110. Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, Mirlacher M, Schraml P, Mangialaio S, Dimitrijevic S, Kononen J, Lugli A, Simon R, Sauter G. Prevalence of KIT expression in human tumors. *J Clin Oncol* 2004;22(22):4514-4522.
111. Bond M, Bernstein ML, Pappo A, Schultz KR, Krailo M, Blaney SM, Adamson PC. A phase II study of imatinib mesylate in children with refractory or relapsed solid tumors: a Children's Oncology Group study. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50(2):254-258.

112. Do I, Araujo ES, Kalil RK, Bacchini P, Bertoni F, Unni KK, Park YK. Protein expression of KIT and gene mutation of c-kit and PDGFRs in Ewing sarcomas. *Pathol Res Pract* 2007;203(3):127-134.
113. Bozzi F, Tamborini E, Negri T, Pastore E, Ferrari A, Luksch R, Casanova M, Pierotti MA, Bellani FF, Pilotti S. Evidence for activation of KIT, PDGFRalpha, and PDGFRbeta receptors in the Ewing sarcoma family of tumors. *Cancer* 2007;109(8):1638-1645.
114. Ye D, Maitra A, Timmons CF, Leavey PJ, Ashfaq R, Ilaria RL Jr. The epidermal growth factor receptor HER2 is not a major therapeutic target in Ewing sarcoma. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25(6):459-466.
115. Armistead PM, Salganick J, Roh JS, Steinert DM, Patel S, Munsell M, El-Naggar AK, Benjamin RS, Zhang W, Trent JC. Expression of receptor tyrosine kinases and apoptotic molecules in rhabdomyosarcoma: correlation with overall survival in 105 patients. *Cancer* 2007;110(10):2293-2303.
116. Potti A, Ganti AK, Foster H, Knox S, Hebert BJ, Tendulkar K, Sholes K, Koch M, Kargas S. Immunohistochemical detection of HER-2/neu, c-kit (CD117) and vascular endothelial growth factor (VEGF) overexpression in soft tissue sarcomas. *Anticancer Res* 2004;24(1):333-337.
117. Hornick JL, Fletcher CD. Immunohistochemical staining for KIT (CD117) in soft tissue sarcomas is very limited in distribution. *Am J Clin Pathol* 2002;117(2):188-193.
118. Ganti R, Skapek SX, Zhang J, Fuller CE, Wu J, Billups CA, Breitfeld PP, Dalton JD, Meyer WH, Khoury JD. Expression and genomic status of EGFR and ErbB-2 in alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma. *Mod Pathol* 2006:1213-1220.