

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Taner AKALIN

MDM2, CDK4 ve p16 BELİRLEYİCİLERİNİN
LİPOSARKOM TANISINA KATKISI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hamed JAFARZADEH ANDABİL

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Banu YAMAN

İZMİR 2019

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca insani değerleri ile de örnek edindiğim, patoloji bilimine dair deneyim ve bilgilerini cömertçe paylaşan, öncelikle Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr.Taner Akalın olmak üzere eğitimime katkıda bulunan tüm hocalarıma ve uzmanlarıma,

Başta insani ve akademik yönden olmak üzere pek çok alanda bana ışık tutan, daima hoşgörölü ve sabırlı, birlikte çalışmaktan onur duyduğum aynı zamanda istatistiksel değerlendirmede ve yorumlamada da yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Banu Yaman'a ve bu süreçteki katkılarından ötürü Prof. Dr. Taner Akalın'a

Ekipçe zevkle çalıştığımız, tanışmaktan ve sıcak dostluklarını paylaşmaktan dolayı kendimi çok şanslı hissettiğim, başta Betül Geroğlu ve Güldidar Basmacı olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Başta tez vakalarımın laboratuvar hazırlık aşamasında olmak üzere tüm uzmanlık eğitimim süresince yardım ve destek sağlayan arşiv, kesit, döküm, immünohistokimya laboratuvarı ve idari bölüm görevlilerimize,

Projemize verdikleri destekten ötürü Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu'na

Doğduğum günden beri her türlü fedakârlık, sevgi ve ilgi ile yanımda olan, bu günlere gelmemi sağlayan, dört yıldır hasretleçekteğim sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Eğitim ve tez hazırlama sürecim boyunca, sabır, ilgi, hoşgörü ve desteğiyle daima yanıbaşımdaya varlığını hissettiren, can yoldaşım, kıymetli eşim Nahid Bagherzadeh ve biricik kızım, şans meleğim Selva Jafarzadeh'ye teşekkür ederim.

Dr. Hamed Jafarzadeh Andabil

İZMİR -2019

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
RESİMLER DİZİNİ	XII
KISALTMALAR LİSTESİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yumuşak Doku Tümörleri	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji.....	4
2.1.3. Tanı ve Histopatolojik Değerlendirme	5
2.2. Yağ Dokusu	11
2.3. Benign Lipomatöz Tümörler	11
2.3.1. Benign Lipomatöz Tümörlerde Sitogenetik ve Moleküler Değişiklikler	15
2.4. Liposarkom	16
2.4.1. Atipik Lipomatöz Tümör/İyi Diferansiye Liposarkom	19
2.4.2. Dediferansiye Liposarkom	21
2.4.3. Atipik Lipomatöz Tümör/İyi Diferansiye Liposarkom ve Dediferansiye Liposarkomda Genetik Değişiklikler	23
2.4.3.1. MDM2	24
2.4.3.2. Siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4).....	26
2.4.3.3. p16 (CDKN2A, INK4a).....	27
2.4.4. Miksoid Liposarkom	30
2.4.5. Pleomorfik Liposarkom.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Olgu Seçimi	35
3.2. Etik Kurul Onayı.....	35
3.3. Histopatolojik Değerlendirme	35
3.4. İmmunohistokimyasal İnceleme	36
3.5. İmmunohistokimyasal Boyama Değerlendirmeleri	38
3.6. Biyoistatistiksel Analiz	40

4. Bulgular	41
4.1. Tümör Tipleri.....	41
4.2. Cinsiyet	41
4.3. Yaş	42
4.4. Lokalizasyon.....	43
4.5. Tümör Boyutu.....	44
4.6. Tümör Evresi	45
4.7. Tümör Derecesi.....	47
4.8. İmmunohistokimyasal İnceleme Bulguları	47
4.8.1. MDM2	47
4.8.2. CDK4	51
4.8.3. p16.....	55
4.9. İyi Diferansiye Liposarkom ve Dediferansiye Liposarkomlarda İmmunreaktivite Karşılaştırması	63
4.10. İmmunohistokimyasal Belirleyicilerin İyi Diferansiye ve Dediferansiye Liposarkom Ayırıcı Tanısındaki Rolü	64
5. TARTIŞMA	66
İmmunohistokimyasal İnceleme Bulguları	72
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	82
7. KAYNAKLAR	84
8. EKLER.....	93
8.1. ETİK KURUL ONAY BELGESİ	93
8.2. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU	95
8.3. OLGU RAPOR FORMU ÖRNEĞİ.....	98
7.1. TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU.....	99

ÖZET

Yumuşak doku (YD) sarkomları, 50'den fazla histolojik alt tiple, tüm yetişkin kanserlerinin sadece %1'ini oluştururlar. Liposarkom (LiSa), YD sarkomlarının en sık görülen alt tipi olup tüm sarkomların %15'ini oluşturmaktadır. Liposarkom tanısında histopatolojik incelemede lipoblast varlığının gösterilmesi altın standart olmakla birlikte dediferansiye liposarkom (DDLs) ve iyi diferansiye liposarkomda (İDLS) lipoblast varlığını histopatolojik düzeyde ortaya koyabilmek her zaman mümkün olmayabilir. Son yıllarda tanımlanmaya başlanan sitogenetik değişikliklerin floresan in situ hibridizasyon (FISH), PCR gibi moleküler yöntemlerle ortaya konması tanıya yardımcı yöntemlerdendir. Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye LiSa'da moleküler düzeyde ring kromozomlar, dev veya farklı yapısal anomaliler gösteren kromozom formları yanı sıra MDM2, CDK4, HMGA2 ve CHOP genlerini kodlayan 12q13-15 bölgesinde amplifikasyonlar tanımlanmıştır. MDM2 amplifikasyonlarının olguların tama yakınında, CDK4 amplifikasyonunun %90'ında saptandığı belirtilmektedir. Çok sayıda tümörde kaybı ya da mutasyonu tespit edilen p16 geninin LiSa'lar açısından anlamı tam bilinmemekle birlikte yakın dönemde ALT/İDLiSa'larda p16 eksprese edildiği, lipomların ise büyük kısmında olmadığı gösterilmiştir.

İmmunhistokimyasal inceleme yukarıda tanımlanan moleküler yöntemlere göre hızlı ve kolay uygulanabilmesi ve düşük maliyetli olması nedeni ile tercih edilmektedir. Literatürde immunohistokimyasal olarak MDM2, CDK4 ve p16 belirteçlerinin liposarkom tanısına katkısının araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Çalışmamızda 2008-2018 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda "Liposarkom" tanısı alan 57 olgu yanısıra ayırıcı tanıları arasına giren lipom, içsi hücreli lipom gibi benign yağ doku tümörü tanısı alan 28 olgu ve diğer pleomorfik sarkomları içeren 10 olgu olmak üzere toplam 95 olguya ait tümörde immunohistokimyasal yöntemle MDM2, CDK4 ve p16 protein ekspresyonunun araştırılması amaçlandı. İmmunhistokimyasal belirleyicilerin liposarkom tanısına katkıları yanısıra yaş, tümör boyutu, tümör derecesi, tümör yerleşim yeri gibi klinikopatolojik verilerle ilişkisinin karşılaştırıldı.

Çalışmamızda yer alan 95 olgunun 28'i (%29,4) benign lipomatöz tümör, 22'si (%23,15) İDLS, 21'i (%22,10) DDLs, 6'sı (%6,31) MLS, 8'i (%8,42) PLS ve 10'u (%10,52) PHS idi. Olguların 55'i (%57,9) erkek ve 40'ı (%42,1) kadın olup Erkek:Kadın oranı 1,37 idi. İyi diferansiye LiSa olgularının yaş ortalaması $65 \pm 11,3$, DDLs grubunda $63 \pm 12,1$ ve pleomorfik sarkom grubunda ise $6,5 \pm 16$ idi. Tümör lokalizasyonlarına bakıldığında

retroperiton ve batin içinde en sık DDLS saptandı. Çalışmamızda ortalama tümör boyutu $13,7 \pm 9,1$ cm (2-47 cm) idi. Dediferansiye liposarkom olgularında (medyan tümör boyutu $20 \pm 10,3$ cm) tümör boyutları, diğer tümör gruplarına göre istatistiksel olarak da daha yüksek idi ($p=0,001$). Dediferansiye LiSa olgularının %57,1'i derece II, %42,9'u derece III, MLS'un yarısı derece II ve derece III, PLS olgularının tümü derece III ve PHS grubunun ise %10'u derece II, %90'ı derece III idi. Demografik bulgularımız literatür verileri ile uyumlu bulundu.

MDM2, ALT/İDLS'ların %68,2'sinde ($n:15/22$); DDLS'ların %90,5'inde ($n:19/21$) ve PHS'ların %10'unda ($n:1/10$) pozitif iken lipom, MLS ve PLS olgularında boyanma saptanmadı. MDM2'nin ALT/İDLS ve DDLS tanısında duyarlılığı %79, özgüllüğü %98, pozitif prediktif değeri (PPD) %97 ve negatif prediktif değeri (NPD) %85 olarak hesaplandı.

CDK4, ALT/İDLS olgularının 19/22'sinde (%86,4) ve DDLS olgularının 15/21'inde (%71,4), benign lipomatöz tümörlerin ise altısında (%21,4) nükleer immunreaktivite gösterirken, MLS, PLS ve PHS'lerin hiçbirinde boyanma saptanmadı. CDK4'ün ayırıcı tanıdaki duyarlılığı %79, özgüllüğü %92, PPD %89 ve NPD'i %83 olarak hesaplandı.

p16; ALT/İDLS olgularının %86,4'ünde ($n:19/22$), DDLS olgularının %71,4'ünde (15/21), benign lipomatöz tümörlerin ikisi (%7,1) yanısıra bir PLS (%12,5) ve bir PHS (%10) olgusunda nükleer immunreaktivite gösterirken, MLS olgularında boyanma görülmedi. p16'nın ALT/İDLS ve DDLS tanısında duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %77 ve %92, PPD %89 ve NPD %83 olarak hesaplandı. Çalışmamızdaki MDM2, CDK4 ve p16 boyanma oranları literatür verileri ile genel olarak uyumlu bulunmuştur.

Sonuç olarak MDM2, CDK4 ve p16 immunhistokimyasal belirleyicilerinin ALT/İDLS ve DDLS ayırıcı tanısında güvenilirlikle kullanılabilecek tarama testleri olduğu görülmektedir. Çalışmamızda MDM2, CDK4 ve p16 İHK sonuçlarının üçünün birarada kullanımı durumunda, tanı duyarlılığının %58, özgüllük ve PPD'inin ise belirgin şekilde artarak %100 olduğunu saptadık. Farklı ikili kombinasyonlarda da benzer sonuçlar elde ettik.

İmmunhistokimyasal belirleyicilerin makrofaj gibi nontümöral hücreleri boyayabilmeleri; benign lipomatöz tümörler ve az sayıda da olsa diğer sarkomlarda pozitiflikler görülebilmesi nedeni ile tümörlerde birden fazla immunhistokimyasal belirleyici kullanılması önerilebilir. Ancak tek bir belirleyici ile çalışılacaksa CDK4 ve p16'nın nükleer boyanma yanısıra sitoplazmik boyanmalar da gösterebilmeleri nedeni ile özellikle ALT/İDLS olgularında değerlendirme zorlukları yaşanabileceği akılda tutulmalı ve MDM2'nin tercih edilmesi uygun olacaktır.

ABSTRACT

Soft tissue (ST) sarcomas constitute only 1% of all adult cancers with more than 50 histological subtypes. Liposarcoma (LiSa) is the most prevalent subtype of ST sarcomas and forms 15% of all sarcomas. Although the appearance of lipoblasts in the histopathological analysis is gold standard in the determination of liposarcoma, it might not always be possible to recognize the presence of lipoblast at the histopathological level in dedifferentiated liposarcoma (DDLs) and well-differentiated liposarcoma (IDLS). Molecular approaches such as fluorescence in situ hybridization (FISH) and PCR are the diagnostic approaches for the detection of cytogenetic diversity in tumors in recent years. In atypical lipomatous tumor/well differentiated LiSa ring chromosomes, chromosome forms showing giant forms or different structural anomalies, as well as amplifications in region 12q13-15 encoding MDM2, CDK4, HMGA2 and CHOP genes have been identified at molecular studies. It is stated that MDM2 amplifications are detected in nearly all cases and CDK4 in 90% of cases. Although the p16 gene, whose loss or mutation was detected in a large number of tumors, is not fully understood at LiSa, it has recently been shown that p16 was expressed in ALT/IDLS, but not in the majority of lipomas.

The immunohistochemical examination according to the molecular methods described above is additionally favored because of its rapid and easy application and low cost. There are several studies in the literature investigating the contribution of MDM2, CDK4 and p16 markers to liposarcoma diagnosis immunohistochemically.

In our research, 57 cases diagnosed as liposarcoma in Ege University Faculty of Medicine Pathology Department within 2008-2018 years, 28 cases diagnosed as benign fat tissue tumors such as lipoma, spindle cell lipoma and 10 cases including other pleomorphic sarcomas were investigated. The purpose of this study was to study the expression of MDM2, CDK4 and p16 protein by immunohistochemical methods in 95 patients. The contribution of immunohistochemical markers to the diagnosis of liposarcoma as well as the relationship between clinicopathological data such as age, tumor size, tumor grade, and tumor location was compared.

Twenty-eight (29.4%) benign lipomatous tumors, 22 (23.15%) IDLS, 21 (22.10%) DDLs, 6 (6.31%) myxoid liposarcomas (MLS) and 95 (95%) of the 95 cases have been covered in our research. Eight (8.42%) cases were pleomorphic liposarcoma (PLS) and 10 (10.52%) were undifferentiated pleomorphic sarcoma (UPS). Fifty-five (57.9%) patients were male and 40 (42.1%) were female. Male:Female ratio was 1.37. Mean age of the well-differentiated LiSa cases was 65 ± 11.3 years, 63 ± 12.1 in the DDLs group, and 6.5 ± 16 in the

pleomorphic sarcoma group. Tumor localization revealed the most common tumor type was DDLS in the retroperitoneum and abdomen. In our study, the mean tumor size was 13.7 ± 9.1 cm (2-47 cm). In DDLS (median tumor size 20 ± 10.3 cm), tumor size was statistically higher than other tumor groups ($p=0.001$). 57.1% of dedifferentiated Lipo cases were grade II, 42.9% were grade III, half of MLS was grade II and grade III, all PLS cases were grade III and 10% of UPS group were grade II, 90% was in grade III. Our demographic findings were compatible with the literature.

MDM2 was observed in 68.2% (n: 15/22) of ALT/IDLS; in 90.5% (n: 19/21) of DDLS and in 10% (n: 1/10) of UPS as positive. No staining was observed in lipoma, MLS and PLS cases. MDM2 had a sensitivity of 79%, a specificity of 98%, positive predictive value (PPV) of 97% and negative predictive value (NPV) of 85% in the diagnosis of ALT/IDLS and DDLS.

CDK4 showed nuclear immunoreactivity in 19/22 (86.4%) of ALT/IDLS cases and in 15/21 (71.4%) of DDLS cases, and in six (21.4%) of benign lipomatous tumors, while MLS, PLS and no staining were observed in any of the UPSs.

Sensitivity specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) of CDK4 in the differential diagnosis of lipomatous tumors was calculated as %79, %92, %89, and %83, respectively.

p16 stained in 86.4% (n: 19/22) of ALT/WDLS cases, 71.4% (15/21) of DDLS cases, two (7.1%) benign lipomatous tumors and one PLS (12.5%) and one UPS (10%) case, while staining was not observed in MLS cases. The sensitivity and specificity values of p16 for ALT/WDLS and DDLS were 77% and 92%, and PPV and NPV was 89% and 83%, respectively. MDM2, CDK4 and p16 staining rates in our study were consistent with the literature data.

In conclusion, it is observed that MDM2, CDK4, and p16 immunohistochemical markers are reliable screening tests for differential diagnosis of ALT/WDLS and DDLS. In the scope of our study, we noticed the diagnostic sensitivity as 58%; the specificity and PPV as 100%, when three IHC markers applied together. Similar results in different binary combinations were obtained.

Multiple immunohistochemical markers can be used by the differential diagnosis of lipomatous tumors, due to immunohistochemical staining of rare non-tumoral cells such as macrophages or some benign lipomatous tumors and a few numbers of other sarcomas. However, if the research be concluded by only a single determinant, it should be kept in mind that CDK4 and p16 may exhibit nuclear staining as well as cytoplasmic staining, mainly in ALT/WDLS cases and evaluation difficulties may be preferred and MDM2 should be favored.

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Abernethy'nin sarkom sınıflandırılması	3
Tablo 2: Yumuşak Doku Tümörleri Sınıflandırması DSÖ 2013'e göre.....	6
Tablo 3: FNCLCC derecelendirme sistemi	9
Tablo 4: Yumuşak Doku Tümörlerinde American Joint Committee on Cancer (AJCC) Evreleme Sistemi	10
Tablo 5: Benign lipomatöz tümörlerde saptanabilen moleküler değişiklikler.....	15
Tablo 6: Liposarkom Alt Tipleri	16
Tablo 7: Olguların tanı grupları.....	36
Tablo 8: Olguların tanı grupları ve oranları.....	41
Tablo 9: Tümör alt tiplerindeki olgu sayıları ve cinsiyet dağılımı	42
Tablo 10: Tümör alt tiplerindeki olguların yaş dağılımları	43
Tablo 11: Tümör gruplarında saptanan tümör boyutları.....	45
Tablo 12: Lipom dışı tümör gruplarının tümör evresi dağılımları	46
Tablo 13: Tümör alt tiplerinin tümör dereceleri dağılımı.....	47
Tablo 14: Tanı gruplarında MDM2 nükleer boyanması oranları dağılımı	48
Tablo 15: Tümör alt tiplerinin MDM2 ile boyanma oranları dağılımları.....	49
Tablo 16: Dediferansiye liposarkom olgularında farklı tümör derecelerindeki MDM2 boyanma yoğunlukları	50
Tablo 17: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma dağılımları	52
Tablo 18: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma yoğunlukları	53
Tablo 19: Lokalizasyonlara göre CDK4 Boyanma Oranları	54
Tablo 20: Dediferansiye LiSa olgularında Tümör Derecesi ile CDK4 Boyanma Yoğunluğu Karşılaştırması	55
Tablo 21: p16'nın tümör tipleri arasındaki nükleer boyanma dağılımları.....	56
Tablo 22: p16 antikorunun tümör tipleri arasındaki boyanma yoğunlukları dağılımı.....	57

Tablo 23: Lokalizasyonlara göre p16 boyanma oranları	60
Tablo 24: Dediferansiye LiSa olgularında tümör derecesi ile CDK4 boyanma yoğunluğu karşılaştırması	61
Tablo 25: Her üç primer antikorun tümör alt tiplerindeki boyanma oranları dağılımları	62
Tablo 26: İDLS ve DDLS grubunda MDM2, CDK4 ve p16 immunreaktivitesi	63
Tablo 27: İmmunhistokimyasal belirleyicilerin İDLS ve DDLS ayırıcı tanısındaki rolleri	64
Tablo 28: İmmunhistokimyasal belirleyicilerin birarada kullanılması durumunda İDLS ve DDLS ayırıcı tanısındaki rolleri	65
Tablo 29: Literatürde farklı çalışmalarda tümör gruplarında MDM2 boyanması.....	74
Tablo 30: Liposarkom tanısında MDM2 ve CDK4 immün boyanması	75
Tablo 31: Literatürde farklı çalışmalarda tümör gruplarında CDK4 boyanması	76
Tablo 32: Literatürde farklı çalışmalara göre CDK4'ün duyarlılık ve özgüllük değerleri	77
Tablo 33: Literatürde farklı çalışmalarda tümör gruplarında p16 boyanması.....	78
Tablo 34: Literatürde farklı çalışmalarda p16'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri.....	79
Tablo 35: Çalışmalarda immün belirleyicilerin kombine kullanılması durumunda sunulan duyarlılık ve özgüllük değerleri.....	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Liposarkomda ring kromozom.....	23
Şekil 2: MDM2 ve p53 dü ve p53 düzenlenimi.	24
Şekil 3: MDM2 ve p53'ün düzenleyici olayları.	25
Şekil 4: Siklin bağımlı kinaz CDK4 etki mekanizması (88).....	26
Şekil 5: CDK4'ün hücre döngüsünde aktivasyonu ve regülasyonu (92)	28
Şekil 6: G1/S geçişinin Cdk4/6-cyclin D/INK4/Rb yolağı ile düzenlemesi (86)	29
Şekil 7: p16 proteininin etki mekanizması (107)	29
Şekil 8: Miksoid / yuvarlak hücreli liposarkomun spesifik translokasyonlarında yer alan breakpoint'un şematik gösterimi	32
Şekil 9: Olguların cinsiyet oranları	42
Şekil 10: Tümörlerin lokalizasyon dağılımları	43
Şekil 11: Tümör alt tiplerinin lokalizasyonlara göre dağılımı	44
Şekil 12: Lipom dışı tümör gruplarının tümör evresi dağılımları	46
Şekil 13: Tanı gruplarında MDM2 nükleer boyanması oranları dağılımı.....	48
Şekil 14: Tümör alt tiplerinin MDM2 ile boyanma yoğunlukları dağılımları	49
Şekil 15: İyi diferansiye LiSa ve DDLS gruplarında farklı tümör lokalizasyonlarındaki MDM2 immunreaktivitesi	50
Şekil 16: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma dağılımları.....	51
Şekil 17: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma yoğunlukları.....	53
Şekil 18: Lokalizasyonlara göre CDK4 Boyanma Oranları.....	54
Şekil 19: p16'nın tümör tipleri arasındaki nükleer boyanma dağılımları	56
Şekil 20: p16 antikorunun tümör tipleri arasındaki boyanma yoğunlukları dağılımı	58
Şekil 21: p16 antikorunun İDLS ve DDLS gruplarındaki boyanma oran ve yoğunluk dağılımları	59
Şekil 22: Lokalizasyonlara göre p16 boyanma oranları.....	60
Şekil 23: Her üç primer antikorun tümör alt tiplerindeki boyanma oranları dağılımları	62
Şekil 24: İDLS ve DDLS grubunda MDM2, CDK4 ve p16 immunreaktivitesi	63

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Lipom histopatolojik görüntüsü.....	12
Resim 2: İyi hücreli lipom ve pleomorfik lipom histopatolojik görünümü	13
Resim 3: Lipoblastom histopatolojik görüntüsü	14
Resim 4: Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkomda lipoblast görünümü	17
Resim 5: Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkom histopatolojik görüntüsü	20
Resim 6: Dediferansiye liposarkom histopatolojik görüntüsü.....	22
Resim 7: Miksoid Liposarkomda histopatolojik görüntü	31
Resim 8: Pleomorfik liposarkomda histopatolojik görüntü	34
Resim 9: MDM2 ile farklı yoğunluktaki immunreaktivite	38
Resim 10: CDK4 ile farklı yoğunluktaki immunreaktivite.....	39
Resim 11: p16 ile farklı yoğunluktaki immunreaktivite	39

KISALTMALAR LİSTESİ

ALT/İDLS	: Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkom
CDK4	: Siklin bağımlı kinaz 4
CDK6	: Siklin bağımlı kinaz 6
DDLS	: Dediferansiye liposarkom
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FİSH	: Floresan in situ hibridizasyon
FNCLCC	: French Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer
İHK	: İmmünohistokimyasal
MDM2	: Murine double minute 2
MLS	: Miksoid liposarkom
NPD	: Negatif prediktif değer
PHS	: Pleomorfik Hücreli Sarkom
PLS	: Pleomorfik liposarkom
PPD	: Pozitif prediktif değer
Rb	: Retinoblastom
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences

1. GİRİŞ

Yumuşak doku tümörleri, mezenkimal dokudan gelişen iskelet dışı tümörlerdir(1). Vücudumuzun %75'ini yumuşak dokular oluşturmalarına karşın, bu dokulardan gelişen tümörler epitelyal tümörlere oranla oldukça nadir olarak izlenmektedir. Tüm erişkin kanserlerinin %1'den azını, 15 yaş altı döneminde ise %6,5-15'ini oluşturan yumuşak doku tümörleri, 50'den fazla histolojik alt tipte olağanüstü çeşitlilik gösterirler (2,3).

Benign mezenkimal tümörler yumuşak doku sarkomlarına göre 100 kat daha fazla görülür (4). Benign ve malign yumuşak doku tümörleri tümörün yerleşim yeri, hasta yaş ve cinsiyeti, klinik bulguları açısından farklılıklar gösterir. Etiyopatogeneizde travma, kronik inflamasyon, radyasyon, kimyasal ajanlar, çeşitli virüsler suçlanmaktadır. Bazı alt tiplerde tanımlanan farklı moleküler değişiklikler de söz konusudur (1). Klinik bulgusu sıklıkla ağrısız büyüyen kitle şeklinde olan yumuşak doku sarkomlu olguların yaklaşık %10'unda primer tümör tanısı sırasında metastaz saptanır (2).

Yumuşak doku sarkomlarında sıklık sırasına göre en sık izlenen tümör tipleri liposarkom, undiferansiye pleomorfik sarkom [eski adı ile malign fibröz histiyositom (MFH)], leiomyosarkom ve miksofibrosarkomdur.

Liposarkom (LiSa), yumuşak doku sarkomlarının en sık görülen alt tipidir (5,6). liposarkomlar tüm sarkomların %15'ini oluşturmaktadır (6). Histopatolojik olarak heterojen bir tümör grubu olan LiSa, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2013 yumuşak doku tümörleri sınıflamasına göre atipik lipomatöz tümör/ iyi diferansiye liposarkom (ALT/İDLS), Dediferansiye liposarkom (DDLs), Miksoid liposarkom ve Pleomorfik liposarkom olarak dört alt gruba ayrılmaktadır (7). Liposarkom tanısı için histopatolojik incelemede lipoblast varlığının gösterilmesi altın standart olmakla birlikte lipoblast varlığını histopatolojik düzeyde ortaya koyabilmek her zaman mümkün olmayabilir. Klinik-radyolojik bulgular eşliğinde histopatolojik bulguların değerlendirilmesi önemlidir.

Liposarkom alt tipleri, morfolojik çeşitliliğini yansıtan farklı klinik gidiş sergilemektedir. Hem miksoid liposarkom, hem de ATL/İDLS metastazdan çok lokal rekürrens gösterme eğiliminde iken, pleomorfik liposarkom ve dediferansiye liposarkom akciğer metastazı ve nadiren yaygın metastaz yapabilirler (8). İyi diferansiye liposarkom olgularının beş yıllık sağkalım oranı %70 iken, dediferansiye liposarkom olgularında ise %30 civarındadır (9,10).

Son yıllarda liposarkom patogenezi üzerine yapılan çalışmalarda alt tipler arasında farklı moleküler değişiklikler ortaya konmaya başlanmıştır. MDM2 ve CDK4 amplifikasyonları, p16 gen mutasyonları tanımlanan moleküler değişikliklerden olup özellikle iyi diferansiye liposarkom ve dediferansiye liposarkomlarda tanımlanmaktadır (11,12).

Tümörlerin ayırıcı tanısında yer alan benign lezyonlar ve daha kötü prognoz verilerine sahip yüksek dereceli malign tümörler nedeni ile özellikle ilk tanı sırasında alınan küçük boyutlu biyopsilerde ayırıcı tanının yapılabilmesi, hastanın tedavi planlamasında önemli rol oynamaktadır. Liposarkomlarda tanı histopatolojik incelemede lipoblast varlığının gösterilmesi altın standart olmakla birlikte dediferansiye liposarkom ve iyi diferansiye liposarkomda lipoblast varlığını histopatolojik düzeyde ortaya koyabilmek her zaman mümkün olmayabilir. Son yıllarda tanımlanmaya başlanan sitogenetik değişikliklerin floresan in situ hibridizasyon (FISH), PCR gibi moleküler yöntemlerle ortaya konması tanıya yardımcı yöntemlerdendir. İmmunohistokimyasal inceleme de hızlı ve kolay uygulanabilmesi ve düşük maliyetli olması nedeni ile tercih edilmektedir.

Literatürde immunohistokimyasal olarak MDM2, CDK4 ve p16 belirteçlerinin liposarkom tanısına katkısının araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu belirteçlerin kullanımının bir arada değerlendirildiği yayın sayısı ise oldukça nadirdir (12,13).

Çalışmamızda 2008-2018 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında “Liposarkom” tanısı alan 57 olgu ve ayırıcı tanıları arasına giren lipom, iğsi hücreli lipom gibi benign yağ doku tümörü tanısı alan 28 olgu ve diğer pleomorfik sarkomları içeren 10 olgu olmak üzere toplam 95 olguya ait tümörde immunohistokimyasal yöntemle MDM2, CDK4 ve p16 protein ekspresyonunun araştırılması, liposarkom tanısına katkıları yanısıra yaş, tümör boyutu, tümör derecesi, tümör yerleşim yeri gibi klinikopatolojik verilerle ilişkisinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yumuşak Doku Tümörleri

2.1.1. Tarihçe

İlk kez Ebers papirüslerinde (MÖ 1500) yumuşak doku tümörlerine ait bir bilgiye rastlanmıştır. Sarkom ifadesi de Yunanca ‘etli şişlik’ anlamına gelen “sarkos” kelimesinden gelmekte olup ilk kez Galen (MS 131-200) tarafından kullanılmıştır (14–16). Yüzyıllar boyu sarkomların tedavisinde cerrahi eksizyondan kaçınılmış ve tümörlere dokunulmamaya 1700’lü yıllara kadar devam edilmiştir. Ancak 1800’lü yıllarla birlikte bu tümörlerin cerrahi eksizyon ile tedavisi uygun görülmüş ve yapılmaya başlanmıştır. İngiliz cerrah Hey 1803’de ekstremitelerde mantar gibi büyüyen tümörler için “fungus haematodes” terimini kullanmış, Edinburgh’lu cerrah Wardrop (1782-1869) ise fungus haematodes’i “yumuşak kanser” olarak tanımlamıştır. Abernethy (1809) yumuşak doku tümörlerinin anatomik yapısına göre adlandırılması gerektiğini söylemiş ve ilk sarkom sınıflandırmasını önermiştir (14). (Tablo 1)

Tablo 1: Abernethy’nin sarkom sınıflandırılması

I.	Vasküler sarkom
II.	Yağ dokusu sarkomu
III.	Kistik sarkom
IV.	Tüberküler sarkom
V.	Medüller sarkom
VI.	“Mammary” sarkom
VII.	Pankreatik sarkom
VIII.	Karsinomatöz sarkom

Samuel Gross 1879 yılında sarkomların cerrahi tedavilerinde amputasyonun en uygun tedavi şekli olduğunu belirtmiştir (14,17). 1940-1970 yılları arasında ise ekstremiteler koruyucu tedaviler gündeme gelmeye başlamıştır (14,18).

2.1.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Yumuşak dokular, kas, sinir, tendon gibi yapılar, fibröz doku, yağ doku ve sinovyal doku gibi destek dokuları içeren mezenkimal dokulardır. Vücut ağırlığının büyük kısmını oluşturan mezenkimal dokulardan oluşan tümörlerin insidansı diğer tümörlere göre oldukça düşüktür. Yumuşak doku tümörleri tüm kanserlerin %1'inden azını oluşturmaktadır. Yıllık insidans benign yumuşak doku tümörleri için bir milyonda 3000 iken, yumuşak doku sarkomlarının insidansı yaklaşık bir milyonda 50'dir (2,19). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 8700 yeni olgunun tanı aldığı bildirilmektedir.

Benign ve malign yumuşak doku tümörleri tümörün yerleşim yeri, hasta yaş ve cinsiyeti, klinik bulguları açısından farklılıklar gösterir. Benign yumuşak doku tümörlerin %99'u yüzeysel yerleşimli olup %95'i beş (5) cm'den küçüktür. Farklı alt tipler farklı yaşlarda görülebilmekte olup genellikle genç erişkinlerde izlenmektedir. Buna karşılık yumuşak doku sarkomları her yaş grubunda görülebilir. Genel olarak görülme yaşı 40-60 olarak bildirilmekle birlikte olguların %11 kadarı çocukluk çağında izlenir (21). Yumuşak doku sarkomlarının görülme sıklıkları farklı yaş gruplarında değişkenlik göstermektedir: embriyonel rabdomyosarkom genellikle çocuklarda izlenirken sinovyal sarkom genç erişkinlerde daha sık görülmektedir. Erişkin olgularda sık izlenen yumuşak doku sarkomları ise liposarkom, andiferansiye pleomorfik sarkom, leiomyosarkom ve miksofibrosarkomdur. Diğer malignansilere benzer şekilde yumuşak doku sarkomlarının sıklığı yaş arttıkça artar (2). Erkeklerde hafifçe daha sıktır.

Etiyopatogeneizde çeşitli faktörler suçlanmakla birlikte net bir bilgi mevcut değildir. Çok sayıda çevresel ve herediter faktörün etkisi olduğu düşünülmektedir (1,21). Travma, kronik inflamasyon, çeşitli kimyasal ajanlar, radyasyon, Epstein Barr virüs (EBV) ve İnsan Herpes virüsü-8 (HHV-8) gibi onkogenik virüsler suçlanan faktörler arasındadır. Farklı yumuşak doku tümör tiplerinde çeşitli moleküler değişiklikler de tanımlanmıştır. Örneğin, gastrointestinal stromal sarkomda platelet kaynaklı büyüme faktör alfa reseptörü (PDGFR), desmoid tümörde adenomatöz poliposis coli (APC) gen kayıpları ve beta-katenin (CTNNB1) mutasyonları gibi. Tp53 ve RB1 mutasyonları da yumuşak doku sarkomlarında tanımlanan moleküler değişiklikler arasında yer alır (22-24).

Sarkomların %75'i ekstremitelerde (daha sıklıkla uyluk) izlenirken göğüs duvarı, retroperiton ve baş-boyun bölgesinde görülme oranı %10'dur. 4207 olguluk bir çalışmada YD sarkomlarının %34'ünün alt-, %14'ünün üst ekstremiteler, %15'inin ise retroperiton yerleşimli olduğu belirtilmiştir (25). Ekstremiteler ve göğüs duvarı yerleşimli tümörlerin %30'u yüzeysel yerleşimli olup ortalama beş cm çapa sahiptir. Derin yerleşimli tümörlerin ise ortalama çapları dokuz cm'dir. Retroperitoneal tümörler daha geç dönemde klinik bulgu verebildiklerinden tanı öncesi daha büyük çaplara ulaşmaktadır (2). Klinik bulgusu sıklıkla ağrısız büyüyen kitle şeklinde olan yumuşak doku sarkomlu olguların yaklaşık %10'unda primer tümör tanısı sırasında metastaz mevcuttur.

2.1.3. Tanı ve Histopatolojik Değerlendirme

Tanıda klinik bulgu ve radyolojik görüntüleme çok değerlidir (26). Radyolojik görüntüleme yöntemleri ile yumuşak doku sarkomlarının değerlendirilmesi, tümörün yerleşimi, evrelemesi, biyopsi ve cerrahi planlamasında yol gösterici rol oynar (27). Biyopsi uygulaması tanı ve tedavideki en önemli adımdır. Minimal invaziv yöntem kullanılarak cerrahi tedavi aşamasını etkilemeyecek şekilde histopatolojik tanı için yeterli örnekleme yapılmalıdır. Tümörlerin heterojen özellikler gösterebilmesi nedeniyle biyopsi öncesi tüm sarkomlar radyolojik açıdan dikkatle değerlendirilmeli ve biyopsi uygulamaları için tümörün uygun alanları belirlenmelidir. Gerekğinde farklı komponentler aynı anda örneklenmelidir (28,29).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yumuşak doku tümörleri sınıflandırılması 2013 yılında güncellenmiştir. Histopatolojik açıdan 12 ayrı grupta değerlendirilen tümörlerde 60'dan fazla alt tip bulunmaktadır (27,30). Yumuşak doku sarkomlarında sıklık sırasına göre en sık izlenen tümör tipleri liposarkom, andiferansiye pleomorfik sarkom [eski adı ile malign fibröz histiyositom (MFH)], leiomyosarkom, miksofibrosarkom, sinovyal sarkom ve malign periferik sınır kılıfı tümörleri olup bu grup tümörler tüm yumuşak doku tümörlerinin yaklaşık 3/4'ünü oluşturmaktadır (2) (Tablo 2).

Tablo 2: Yumuşak Doku Tümörleri Sınıflandırması DSÖ 2013'e göre *(2)

Adipositik Tümörler	
Benign Lipom Lipomatozis Sinirin lipomatozisi Lipoblastom/lipoblastomatozis Anjiyolipom Yumuşak dokuların myolipomu Kondroid lipom Ekstrarenal anjiyomyolipom Ekstraadrenal myelolipom İğsi hücreli/pleomorfik lipom Hibernom	Intermediate (Lokal Agresif) Atipik lipomatoz tümör / İyi diferansiye liposarkom Malign Dediferansiye liposarkom Miksoid liposarkom Pleomorfik liposarkom Liposarkom, sınıflandırılmayan
Fibroblastik / Myofibroblastik Tümörler	
Benign Nodüler fasiit Proliferatif fasiit Proliferatif myozit Myozit osifikan Parmakların fibroosseöz psödotümörü İskemik fasiit Elastofibrom Bebeklik çaının fibröz hamartomu Fibromatozis kolli	Juvenil hyalin fibromatozis İnkluzyon cisim fibromatozisi Tendon kılıfının fibromu Dezmoplastik fibroblastom Meme tipi myofibroblastom Kalsifiyan aponörotik fibrom Anjiomyofibroblastom Hücreli anjiyofibrom Nuckal tip fibrom Gardner fibromu Kalsifiye fibröz tümör
Intermediate (lokal agresif) Palmar/plantar fibromatozis Dezmoid tip fibromatozis	Lipofibromatozis Dev hücreli fibroblastom
Intermediate (nadir metastaz yapan) Dermatofibrosarkom protuberans Fibrosarkomatöz dermatofibrosarkom protuberans Pigmentli dermatofibrosarkom protuberans Soliter fibröz tümör Soliter fibröz tümör, malign İnflamatuar myofibroblastik tümör Düşük dereceli myofibroblastik sarkom Miksoinflamatuar fibroblastik sarkom /Atipik miksoinflamatuar fibroblastik tümör İnfanil fibrosarkom	Malign Yetişkin fibrosarkomu Miksofibrosarcom Düşük dereceli fibromiksoid sarkom Skleroan epitelioid fibrosarkom
Fibrohistiyositik Tümörler	
Benign Tenosinovial dev hücreli tümör Lokalize tip Diffüz tip Malign Derin benign fibröz histiyositom	Intermediate (nadir metastaz yapan) Pleksiform fibrohistiyositik tümör Yumuşak dokunun dev hücreli tümörü

Düz Kas Tümörleri	
Benign Derin yumuşak doku leiomyomu	Malign Leiomyosarkom (cilt hariç)
Perisitik (Perivasküler) Tümörler	
Glomus tümörü (ve varyantları) Glomanjiomatozis Malign glomus tümörü	Myoperisitom Myofibrom Myofibromatozis Anjiyoleiomyomu
İskelet Kası Tümörleri	
Rabdomyom Embriyonal rabdomyosarkom Alveoler rabdomyosarkom Pleomorfik rabdomyosarkom İğsi hücreli / Sklerozan rabdomyosarkom	
Vasküler Tümörler	
Benign Hemanjiom Sinovyal Venöz Arteriovenöz hemanjiom/malformasyon Epitelioid hemanjiom Anjiomatozis Lenfanjiom Intermediate (lokal agresif) Kaposiform hemanjiendoetelyom	Intermediate (nadir metastaz yapan) Retiform hemanjiendoetelyom Papiller intralenfatik anjiendoetelyom Kompozit hemanjiendoetelyom Psödomyojenik (epitelioid sarkom benzeri) hemanjiendoetelyom Kaposi sarkomu Malign Epitelioid hemanjiendoetelyom Yumuşak dokuların anjiosarkomu
Kondro-osseöz Tümörler	
Yumuşak dokuların kondromu Ekstraskletal mezenkimal kondrosarkom Ekstraskletal osteosarkom	
Gastrointestinal Stromal Tümörler	
Benign gastrointestinal stromal tümör Gastrointestinal stromal tümör, malignite potansiyeli belirsiz Gastrointestinal stromal tümör, malign	
Sinir Kılıfı Tümörleri	
Benign Schwannom (değişkenler dahil) Melanotik schwannom Nörofibrom (varyantları dahil) Pleksiform nörofibrom Perineuriom Malign perineriom Granüler hücreli tümör Dermal sinir kılıfı miksoması Soliter sınırlı nörom	Ektopik meningiom Nazal glial heterotopi Benign Triton tümörü Hibrid sinir kılıfı tümörleri Malign Malign periferik sinir kılıfı tümörü Epitelioid malign sinir kılıfı tümörü Malign Triton tümörü Malign granüler hücreli tümör Ektomezenkimom

Diferansiyasyonu Belirsiz Tümörler	
Benign Akral fibromiksom İntramüsküler miksom (hücrel varyant dahil) Juxta-artiküler miksom Derin (“agresif”) anjiomiksom Pleomorfik hyalinize anjiektatik tümör Ektopik hamartomatöz timoma Intermediate (lokal olarak agresif) Hemosiderotik fibrolipomatoz tümör Intermediate (nadir metastaz yapan) Atipik fibroksantom Anjiomatoid fibröz histiyositom Ossifiye fibromiksoid tümör Ossifiye fibromiksoid tümör, malign Mikst tümör, sınıflandırılmayan	Mikst tümör, sınıflandırılmayan, malign myoepitelyom Myoepitelyal karsinom Fosfatürik mezenkimal tümör, benign Fosfatürik mezenkimal tümör, malign Malign Sinovyal sarkom; içsi hücreli-bifazik Epitelioid sarkom Alveoler soft part sarkomu Yumuşak dokunun berrak hücreli sarkomu Ekstrasketal miksoid kondrosarkom Ekstrasketal Ewing sarkomu Dezmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör Ekstrarenal rabdoid tümör Epitelioid hücre diferansiyasyonu ile perivasküler neoplazmalar (PEComa) PEComa, benign-malign İntimal sarkom
İndiferan/Sınıflandırılmayan Sarkomlar	
İndiferan içsi hücreli sarkom İndiferan pleomorfik sarkom İndiferan yuvarlak hücreli sarkom İndiferan epitelioid sarkom İndiferan sarkom, sınıflandırılmayan	

Bazı sarkomlar dışında, tümörün histopatolojik tiplendirmesi hastalığın klinik davranışı hakkında yeterli bilgi vermemektedir. Bu nedenle tümörlerde derecelendirme ve evreleme gereklidir. *Federation Nationale des Centers de Lutte Contre le Cancer (FNCLCC)* derecelendirme sistemi yumuşak doku sarkomlarının derecelendirmesinde en yaygın kullanılan sistemdir (2). Yumuşak doku sarkomlarının en önemli prognostik faktörlerindendir (20,26). Derecelendirmede tümörün diferansiyasyon derecesi, mitoz sayısı ve nekroz oranı değerlendirilmektedir (Tablo 3).

Tablo 3: FNCLCC derecelendirme sistemi

Tümör Diferansiasyonu	
Skor 1	Sarkom normal erişkin mezenkimal dokuya çok benzer (örn. iyi diferansiye liposarkom, iyi diferansiye leiomyosarkom)
Skor 2	Histolojik tipi kesin olarak belirlenebilen sarkomlar (örn. miksoid liposarkom, miksofibrosarkom)
Skor 3	Embriyonel ve andiferansiye sarkomlar, sinovyal sarkomlar ve diferansiasyonu belirsiz sarkomlar
Mitotik figür (10 BBA'da; her BBA 0,1734 mm² yi değerlendirmektedir)	
Skor 1	0–9 mitoz / 10 BBA
Skor 2	10–19 mitoz / 10 BBA
Skor 3	≥20 mitoz / 10 BBA
Tümör nekrozu	
Skor 0	Nekroz yok
Skor 1	<%50 tümör nekrozu
Skor 2	≥%50 tümör nekrozu

*(2) Kısaltmalar: FNCLCC = Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre Le Cancer; BBA = Büyük Büyütme Alanı

Yumuşak doku sarkomlarında evrelendirmede American Joint Committee on Cancer (AJCC) evrelendirme sistemi genel kabul gören sistemdir (Tablo 4).

Tablo 4: Yumuşak Doku Tümörlerinde American Joint Committee on Cancer (AJCC) Evreleme Sistemi

Tümör Derecesi (Grade)
Gx: tümör derecesi değerlendirilemiyor
G1: iyi diferansiye
G2: orta derecede diferansiye
G3: kötü diferansiye
G4: andiferansiye
Primer tümör
Tx: primer tümör değerlendirilemiyor
T0: primer tümöre ilişkin kanıt yok
T1: En büyük çapı ≤5 cm
T1a: yüzeysel tümör
T1b: derin tümör
T2: En büyük çapı >5 cm
T2a: yüzeysel tümör
T2b: derin tümör
Bölgesel lenf nodülleri
Nx: bölgesel lenf nodülleri değerlendirilemiyor
N0: bölgesel lenf nodülü metastazı yok
N1: bölgesel lenf nodülü metastazı var
Uzak metastaz
Mx: uzak metastaz değerlendirilemiyor
M0: uzak metastaz yok
M1: uzak metastaz

*(31)

EVRE GRUPLARI				
Evre IA:	GX-G1	T1	NO	M0
Evre IB:	G1-GX	T2-T3-T4	NO	M0
Evre II:	G2-G3	T1	NO	M0
Evre IIIA:	G2-G3	T2	NO	M0
Evre IIIB:	G2-G3	T3-T4	NO	M0
Evre IV:	G	T	N1	M0
	G	T	N	M1

Genel olarak, yumuşak doku sarkomlu hastalarda ölümlerin yaklaşık 1/3'ü tümör ilişkilidir (çoğu akciğer metastazı nedeni). Metastazlar yüksek dereceli sarkomlarda %50 oranında izlenirken, düşük dereceli sarkomlarda metastaz saptanma oranı %10 civarındadır. En sık metastaz yolu hematojendir. Ekstremiteler yerleşimli tümörler daha sıklıkla akciğer metastazı yaparken gövde yerleşimlilerde karaciğer metastazları izlenir. En sık metastaz potansiyeline sahip sarkom tipleri pleomorfik sarkom, leiomyosarkom ve liposarkomdur (32–34).

2.2. Yağ Dokusu

Yağ dokusu enerji kaynağı olmakla birlikte vücut ısısının korunması yanısıra travma ve yaralanmalara karşı mekanik bir koruyucu olarak da bir çok fonksiyon gösterir (35). Ancak yine de yağ dokusunun birçok fonksiyonu ve vücudumuzdaki önemi tam olarak aydınlatılamamıştır. Literatürde son yıllarda yağ dokusunda birçok sitokin ve adipokinin sentezlediği de belirtilmektedir. Bu sebeple yağ dokusu, endokrin bir organ olarak da değerlendirilmektedir (36). Adipöz doku iki tipten oluşmaktadır:

Beyaz Yağ Dokusu: Başlıca subkutanöz doku, mediasten, abdomen ve retroperiton yerleşimli olup lipositlerden oluşur. Oval veya yuvarlak hücrelerdir, sitoplazmalarında genellikle tek büyük yağ damlacığı vardır ve yarımay şekilli nükleusu periferite itilmiştir.

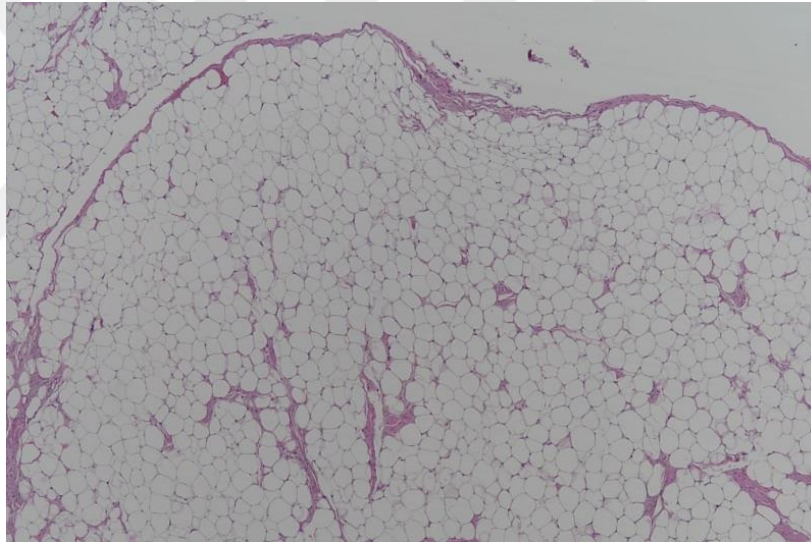
Kahverengi Yağ Dokusu: İnterskapuler bölge, boyun, mediasten, aksilla ve retroperiton (özellikle perirenal alan) yerleşimlidir. Kahverengi yağın temel fonksiyonu ısı üretimi olup infant ve çocuklarda çok daha belirgindir. Kahverengi yağ hücreleri, beyaz yağ hücrelerine göre daha küçüktür, asidofilik multivakuollü sitoplazmaları ve santral yerleşimli küçük çentiklenmeleri olan nükleusları bulunur. Ultrastrüktürel seviyede çok sayıda mitokondrileri bulunur (5).

2.3. Benign Lipomatöz Tümörler

Yumuşak doku tümörleri içinde, benign lipomatöz tümörler en sık rastlanan tümör grubudur. Benign lipomatöz tümörler, yağ dokusunun olağan olarak bulunduğu herhangi bir lokalizasyonda oluşabilir. Özellikle gövde ve boyun olmak üzere çoğunluğu vücudun üst yarısında oluşur. Çoğu lipom subkutan yerleşimlidir. Bu özellik hemen her zaman derin yerleşimli olan liposarkomlarla ayırıcı tanıda önemli bir özelliktir. Ancak bazı lipomlar da derin yerleşimli olabilir; intramuskuler (sıklıkla gövdede) ve intermuskuler (en sık anterior

abdominal duvarda) (37). Hastaların çoğu 5. ve 6. dekadadır ancak nadiren çocuklarda da izlenebilir. Lipomlar tek veya multipl olabilir. Multipl lipomlar kadınlarda daha sık izlenir; çoğu ailesel geçişlidir. Bazıları nörofibromatozisli ve ya multipl endokrin neoplazili hastalarda ortaya çıkar (5). Yüzeyel lipomların çapları genellikle 5 cm'den küçüktür (2) ancak lipomlar büyük çaplara ulaşabilirler. Genellikle yüzeyel yumuşak dokularda bulundukları zaman düzgün sınırlıdır, ancak daha derin yapılarda ortaya çıktıklarında zayıf şekilde sınırlanma eğilimindedirler. Makroskopik olarak lipomlar, ince lifli trabeküllerle ayrılan parlak sarı yağ dokusundan oluşur (5).

Mikroskopik olarak, sellüler atipi içermeyen matür adipöz dokudan oluşur (Resim 1). Sitolojik ve immünohistokimyasal olarak (S-100 ve kalretinin pozitifliği) normal yağ dokudan ayırt edilemez (38). Yağ nekrozu, enfarkt ve kalsifikasyon alanları mevcut olabilir. Yağ nekrozu ile ilişkili histiyositlerin lipoblastlarla karıştırılmaması önemlidir.

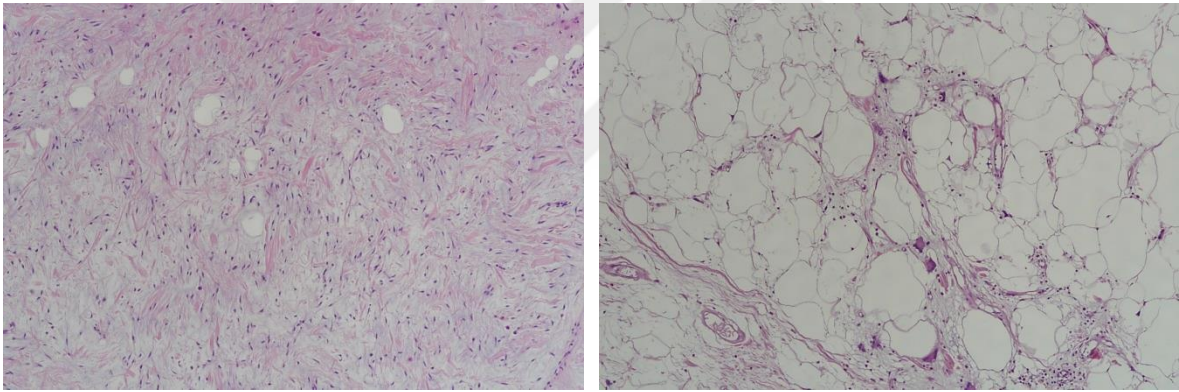


Resim 1: Lipom histopatolojik görüntüsü

Anjiolipom: Anjiolipomlar matür yağ hücreleri yanısıra değişen oranlarda küçük damar yapılarından oluşan lezyondur. Tipik olarak subkutanöz yerleşimli, kapsüllü ve küçük boyutlu nodül şeklindedir. Klinik olarak hassas veya ağrılı ve sıklıkla çoğul lezyonlardır. En sık genç erişkin dönemde ön kolda görülür ve erkeklerde daha sıktır. Histopatolojik olarak, matür yağ hücreleri yanısıra değişen oranlarda ince duvarlı küçük damar yapılarından oluşur. Anjiolipom benign karakterde olup malign transformasyon göstermez (2).

Myolipom : Matür adiposit ve düz kastan oluşan ekstraüterin benign bir tümördür. Çok nadir olan bu tümör erişkinlerde ve kadınlarda daha sık ortaya çıkar. Myolipom batın içi, retroperiton ve inguinal bölge gibi derin yerleşimli olan tümörler büyük çaplara (10-25 cm) ulaşabilir. Histopatolojik olarak düz kas demetleri yanısıra adipositlerden oluşmaktadır. Mitotik aktivite, atipi izlenmez (2).

İğ Hücreli Lipom/ Pleomorfik Lipom: Matür yağ hücreleri ve kollagen üreten iğsi hücre komponenti ile karakterli benign yağ dokusu tümörüdür. Ortalama görülme yaşı 55 yaş olup tipik olarak boyun arkası, omuz ve sırt bölgesinde subkutanöz yerleşiminde görülür. Genelde düzgün sınırlı veya kapsüllüdür. Histopatolojik olarak değişen oranlarda matür yağ dokusu ve iğsi hücre komponenti ve odunsu-kaba kollagen izlenir. Kollagen ile iç içe geçmiş iğsi hücrelerde atipi kriterleri yoktur. Pleomorfik lipomda arada çelenk benzeri multinükle dev hücreler bulunur (2) (Resim 2).



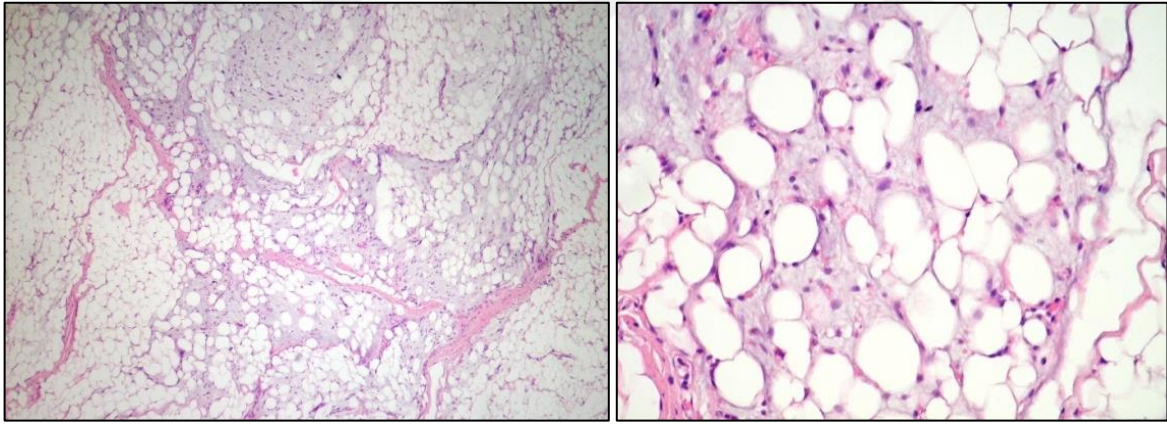
Resim 2: İğ hücreli lipom ve pleomorfik lipom histopatolojik görünümü

Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkom grubunda sıklıkla saptanan “ring kromozom” anormalliğinin iğ hücreli/pleomorfik lipomda saptanmaması pleomorfik lipomun ALT/İDLS’den farklı bir tümör olduğunu ortaya koyan bir bulgudur. Sonuç olarak pleomorfik lipom, benign yağ dokusu tümörüdür ve total eksize edildiğinde nüks etmesi beklenmemektedir (2). Özellikle sklerozan tip İDLS ile ayırıcı tanısı morfolojik açıdan güç olabilmekle birlikte pleomorfik lipomun yüzeysel yerleşimi ve düzgün sınırlı olması ayırıcı tanıda önemli bir bulgudur.

Lipoblastom: Fetal beyaz yağ dokusu ile benzerlik gösteren iyi sınırlı benign, lobüler lipomatöz neoplazmdır. İnfiltratif sınırları olan derin tümörler "yaygın lipoblastom" veya "lipoblastomatozis" olarak tanımlanabilir. Nadir olan bu tümör erkeklerde daha sık olmakla birlikte %90'ı yaşamın ilk 3 yılında ortaya çıkar (2). Büyük çocuklarda ve ergenlerde nadirdir. Gövde ve ekstremitelerde en sık olmak üzere baş, boyun bölgesinde, mediasten, retroperiton, mezenter ve iç organlar da ortaya çıkabilir. Subkutan doku (en sık) veya derin/kas içi (yaygın lipoblastom/lipoblastomatozis) yerleşimli olabilir (39,40).

Makroskopik olarak değişken miksoid veya jelatinöz görünümde soluk sarı veya ten rengi yüzeye sahiptir (2). Genellikle 2-5 cm çapta olup nadiren 10 cm'e ulaşabilir (40).

Fibrovasküler septumlar ile ayrılan, adiposit tabakaların oluşturduğu lobüler arşitektür, lipoblastom için karakteristik özelliştir (40). Yağ hücreleri bir matürasyon spektrumu sergiler; yıldız benzeri, iğsi primitif mezenkimal hücrelerden, multivakuoler veya küçük taşlı yüzük benzeri lipoblastlardan matür adipositlere kadar. Sıklıkla mast hücrelerine rastlanılır. Bazı alanlarda miksoid stroma ve pleksiform damar ağı görülebilir. Mitoz çok nadir olup anormal mitotik figür beklenmemektedir (2) (Resim 3).



Resim 3: Lipoblastom histopatolojik görüntüsü

Adipositler immünohistokimyasal olarak S100 proteini ve CD34 ile primitif mezenkimal hücreler ise desmin ile pozitif reaksiyon verir (40).

Kromozom sekiz aberasyonu (en sık 8q11-13) lipoblastomların tamamına yakınında saptanmıştır. COL1A2/PLAG1 ve HAS2/PLAG1 içeren PLAG1 yeniden düzenlenimi sonucu oluşan füzyon genleri tanımlanmıştır(2).

Lipoblastomda prognoz çok iyidir. Total eksizyon edilemeyen olgularda tümör nüks oranı %13-46'dır. Malign transformasyon ya da metastaz riski yoktur (2,40).

2.3.1. Benign Lipomatöz Tümörlerde Sitogenetik ve Moleküler Değişiklikler

Olguların yaklaşık %55-75'inde kromozomal değişiklikler gösterilmiştir. Hasta yaşı ile orantılı olarak sitogenetik değişiklikler artmaktadır. Tablo 5'de en sık görülen genetik değişiklikler gösterilmiştir (2,35).

Tablo 5: Benign lipomatöz tümörlerde saptanabilen moleküler değişiklikler

12q13-15 aberasyonu (olguların %65'inde)
13q delesyonu (olguların %10'unda)
6p21-23(olguların %5'inde)
t(3;12)(q27-28;q13-15)
1p36, 1p32-34, 2p22-24, 2q35-37, 5q33, 11q13, 12p11-12, 13q11-12, 12q22-24 aberasyonu
t(3;6)(q27-28;p21-23)
13q11-12 ve 6p21-23 rearanjmanı
HMGA2 geni (12q14.3) rekombinasyonu; en sık HMGA2-LPP; t(3;12), NFIB (9p22.3), LHFP (13q13.3), CXCR7 (2q37.3), EBF1 (5q33.3)
PLAG1 rearanjmanı
MDM2 kazanımı

2.4. Liposarkom

Liposarkom (LiSa), yumuşak doku sarkomlarının en sık görülen alt tipidir (5,6). Liposarkomlar tüm sarkomların %15'ini oluşturmaktadır. Ekstremitelerde yerleşimli yumuşak doku sarkomlarının %24'ünü, retroperitoneal sarkomların ise %45 gibi oldukça büyük bir kısmını oluşturmaktadır (6). Ülkemizden yapılan bir çalışmada incelenen tüm lipomatöz tümörlerin %5'i liposarkom olarak bildirilmiştir (41).

Histopatolojik olarak heterojen bir tümör grubu olan LiSa, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2013 yumuşak doku tümörleri sınıflamasına göre atipik lipomatöz tümör/ iyi diferansiye liposarkom (ALT/İDLS), Dediferansiye liposarkom (DDLiSa), Miksoid liposarkom ve Pleomorfik liposarkom olarak dört alt gruba ayrılmaktadır (7) (Tablo 6). Yapılan bir çalışmada LiSa alt tiplerinin %23,4'ünün ALT/İDLS; %32,9'unun miksoid LiSa olduğu belirtilmiştir (42). Kim HS ve ark. (43) ise %52,3 ALT/İDLS, %23,4 miksoid LiSa, %16 (DDLiSa), %5,3 yuvarlak hücreli LiSa ve %2,1 pleomorfik LiSa olarak bildirmişlerdir. Liposarkom malign tümör grubunda olmakla birlikte, DSÖ 2013 sınıflamasında ALT/İDLS, lokal agresif biyolojik davranış gösteren intermedier grupta ele alınmaktadır (44).

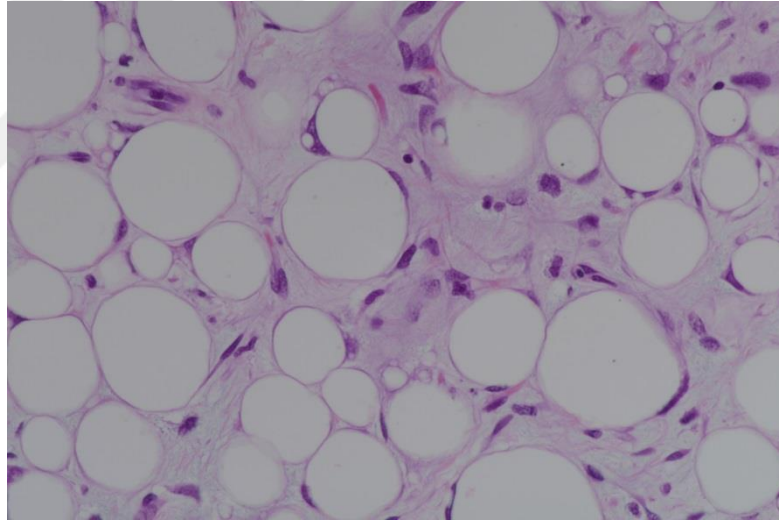
Tablo 6: Liposarkom Alt Tipleri *(2)

I.	Atipik Lipomatöz tümör/ İyi Diferansiye Liposarkom
II.	Dediferansiye Liposarkom
III.	Miksoid Liposarkom
IV.	Pleomorfik Liposarkom

Liposarkomlar sıklıkla 6. dekada izlenir. İnfantlarda hemen hiç görülmez, çocuk ve ergenlerde ise oldukça nadirdir (45). Miksoid/yuvarlak hücreli LiSa diğer alt tiplere göre daha genç erişkinlerde izlenmektedir (42,45). Bir çalışmada yerleşim yerleri sırasıyla alt ekstremitelerde (%64), gövde (%20), üst ekstremitelerde (%10) ve baş-boyun olarak belirtilmektedir (41). Liposarkomlarda farklı histopatolojik alt tipler farklı anatomik lokalizasyonlar gösterme eğilimindedir: ALT/İDLS sıklıkla ekstremitelerde ve retroperitonda yerleşirken, miksoid/yuvarlak hücreli ve pleomorfik LiSa ekstremitelerde yerleşimlidir. Dediferansiye LiSa ise sıklıkla retroperitonda izlenir (46).

Klinik olarak beş (5) cm'den küçük yüzeysel LiSa'lar daha sıklıkla benign iken, derin yerleşimli ve beş (5) cm'den büyük tümörlerin malign özellikler gösterme olasılığı daha yüksektir (48,50). Genel olarak büyük boyutlu, düzgün sınırlı, multilobüle sarı-ten renkli kitleler şeklindedir. Tümör alt tipi ve derecesine göre matür yağ dokuya benzer ATL/İDLS örnekleri olabileceği gibi miksoid, solid ten-gri renkli nonlipomatöz alanlar yanı sıra nekroz alanları içeren yüksek dereceli liposarkom örnekleri de izlenebilir (4,44).

Liposarkom tanısında histopatolojik incelemede boyut ve şekil farklılığı gösteren lipositler ve sitoplazmik yağ vakuelleri tarafından çentiklenen hiperkromatik nukleuslu atipik stromal hücreler izlenir. Lipoblast, tek veya multinükle, sitoplazmasında bir veya daha fazla yağ vakuolü bulunan atipik hücrelerdir (Resim 4). Lipoblast varlığının gösterilmesi altın standart olmakla birlikte lipoblast varlığını histopatolojik düzeyde ortaya koyabilmek her zaman mümkün olmayabilir (2,4). Klinik-radyolojik bulgular eşliğinde histopatolojik bulguların değerlendirilmesi önemlidir.



Resim 4: Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkomda lipoblast görünümü

Liposarkom alt tipleri, morfolojik çeşitliliğini yansıtan farklı klinik gidiş sergilemektedir. Hem miksoid liposarkom, hem de ATL/İDLS metastazdan çok lokal rekürrens gösterme eğiliminde iken, pleomorfik liposarkom ve dediferansiye liposarkom akciğer metastazı ve nadiren yaygın metastaz yapabilirler (8). İyi diferansiye liposarkom olgularının beş yıllık sağkalım oranı %70 iken, dediferansiye liposarkom olgularında ise %30 civarındadır (9,10).

Morfolojik alt tiplerde izlenen histopatolojik farklılıklar yanısıra moleküler değişikliklerde de farklılıklar söz konusudur. Son yıllarda liposarkom patogenezi üzerine yapılan çalışmalarda alt tipler arasında farklı moleküler değişiklikler ortaya konmaya başlanmıştır. Liposarkom alt tiplerinden ALT/İDLS ve DDLS'a benzer moleküler değişiklikler tanımlanmıştır. Miksoid liposarkomda ise özel bir translokasyon bildirilmektedir. Bu üç alt tip aksine pleomorfik liposarkom için daha kompleks sitogenetik değişiklikler belirtilmekte olup bu alt tipin pleomorfik sarkomlarla moleküler düzeyde benzerlikler gösterdiği vurgulanmaktadır. Çeşitli kromozom kazanımları ve kayıpları tanımlanmıştır. TP53 ve NF1 mutasyonları da bildirilmektedir (48,49).

Tümörlerin ayırıcı tanısında yer alan benign lezyonlar ve daha kötü prognoz verilerine sahip yüksek dereceli malign tümörler nedeni ile özellikle ilk tanı sırasında alınan küçük boyutlu biyopsilerde ayırıcı tanının yapılabilmesi, hastanın tedavi planlamasında önemli rol oynamaktadır. Tedavide eksizyon sonrası klinik-radyolojik takibin yeterli olduğu ALT/İDLS'nın aksine yüksek dereceli liposarkom alt tiplerinde cerrahi eksizyon yanısıra neoadjuvan ve adjuvan tedavilere gereksinim duyulmaktadır. Yukarıdaki sebeplerle bu olgularda doğru tanı ve tiplendirmenin yapılmasının hem hastanın tedavi sürecini yönlendirmede hem de prognoz değerlendirmesinde oldukça önemli olduğu anlaşılmaktadır (50,51). Son yıllarda literatürde bazı liposarkom alt tiplerinde hedefe yönelik tedavi seçeneklerini araştıran az sayıda çalışmaya rastlanması da bu konudaki gereksinimi ortaya koymaktadır (48,52).

Liposarkomlarda tanı histopatolojik incelemede lipoblast varlığının gösterilmesi altın standart olmakla birlikte dediferansiye liposarkom ve iyi diferansiye liposarkomda lipoblast varlığını histopatolojik düzeyde ortaya koyabilmek her zaman mümkün olmayabilir. Klinik-radyolojik bulgular eşliğinde histopatolojik bulguların değerlendirilmesi önemlidir. Son yıllarda tanımlanmaya başlanan sitogenetik değişikliklerin moleküler yöntemlerle ortaya konması da tanıya yardımcı yöntemlerdendir. Moleküler yöntemlerden floresan in situ hibridizasyon (FISH), PCR gibi moleküler yöntemlerle MDM2-CDK4 amplifikasyonunun gösterilmesi tanısal düzeyde oldukça anlamlı yöntemler olarak sunulmaktadır. Ancak özellikle benign lezyonlarla ayırıcı tanı zorluğu yaratan lipomatöz tümörlerin oldukça hiposellüler olması nedeni ile histopatolojik olarak tümör dokusunun aynı anda değerlendirilemediği bu tarz tümörlerde FISH ve PCR incelemelerinde zorluklar yaşanması kaçınılmazdır. FISH ve PCR uygulamaları oldukça maliyetli olması yanısıra özel ekipman gerekliliği ve konusunda uzman patoloğlar tarafından değerlendirilmesi gerekliliği de rutin kullanımda kısıtlılıklar yaratmaktadır.

İmmunhistokimyasal inceleme, tümör dokusunun mikroskop altında aynı anda değerlendirilebilmesi, hızlı ve kolay uygulanabilmesi ve düşük maliyetli olması nedeni ile moleküler yöntemlere alternatif bir yöntemdir (50).

Literatürde immunohistokimyasal olarak MDM2, CDK4 ve p16 belirteçlerinin liposarkom tanısına katkısının araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu belirteçlerin kullanımının bir arada değerlendirildiği yayın sayısı ise oldukça nadirdir (12,13).

2.4.1. Atipik Lipomatöz Tümör/İyi Diferansiye Liposarkom

Atipik lipomatoz tümör / iyi diferansiye liposarkom intermediyer (lokal agresif) bir malign mezenkimal neoplazmdır. Adipositlerin tamamı veya bir kısmında belirgin boyut değişikliği ve fokal de olsa adipositler ve stromal hücrelerde nükleer atipi göstermektedir (2). ALT/İDLS en sık görülen liposarkom tipidir (2,12,39). "Atipik lipomatoz tümör" ve "iyi diferansiye liposarkom" terimleri aynı neoplazmanın eş anlamlıları olmakla birlikte "İyi diferansiye liposarkom" sadece vücut boşluklarında (retroperiton, mediasten, abdominopelvik bölgeler) veya paratestiküler bölgede meydana gelen tümörler için kullanılması önerilmektedir. (39) Somatik yumuşak dokularda ortaya çıkan tümörler için uygun bir terminoloji olarak görülmemektedir (2).

ALT / İDLS, tüm liposarkomların yaklaşık %40-45'ini oluşturur ve bu nedenle agresif adipositik neoplazilerin en büyük alt grubunu temsil eder. Bu lezyonlar çoğunlukla orta yaşlı erişkinlerde (6. dekad pik) görülür. Çocuklukta oldukça nadirdir. Erkekler ve kadınlarda eşit oranda izlenir (2,53,54).

ALT / İDLS en sık ekstremitelerin derin yumuşak dokularında, özellikle uylukta ortaya çıkar; bunu retroperiton, paratestiküler alan ve mediasten takip eder. Bu tümörler deri altı dokular gibi yüzeysel yerleşimde nadiren saptanır, yine seyrek olarak ciltte de ortaya çıkabilir (39,55).

ALT/İDLS genellikle yavaşça çok büyük bir boyuta ulaşabilen (özellikle retroperiton yerleşimlilerde) derin yerleşimli, ağrısız bir kitle olarak ortaya çıkar.

Makroskopik olarak genellikle büyük, düzgün sınırlı ve lobüle kitle şeklinde gözlenir. İnfiltratif patern beklenmez. Tümör rengi adipositik, miksoid ve fibröz alanların oranına göre sarıdan beyaza değişebilir.

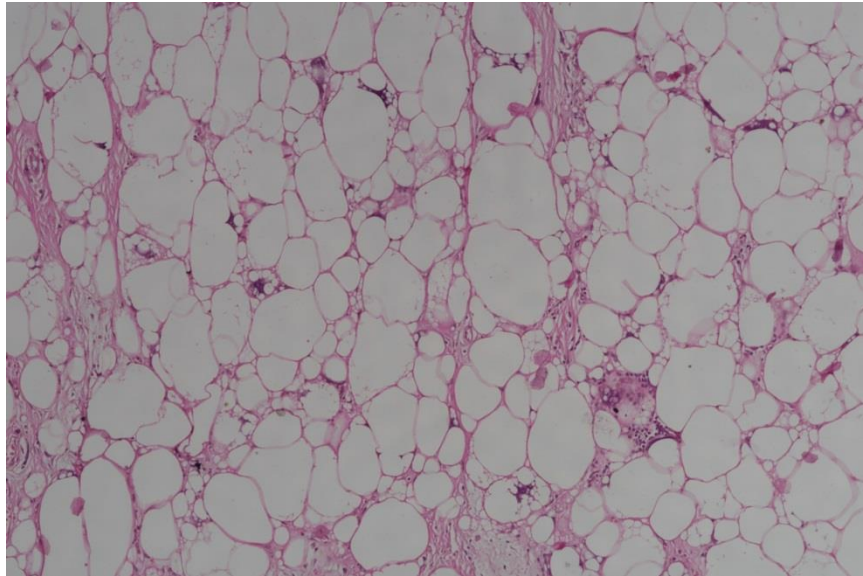
Atipik Lipomatöz Tümör/İyi Diferansiye Liposarkomda Histopatolojik Özellikler: ALT/İDLS morfolojik olarak üç ana alt tipte incelenmektedir: adipositik (lipom benzeri), skleroz ve inflamatuvar (2,56) (Resim 5). Aynı lezyonda birden fazla morfolojik paternin bulunması, özellikle retroperitoneal tümörlerde sık görülen bir bulgudur.

Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkomun histopatolojik incelemesinde lipom benzeri matür adipositik proliferasyonda hücreler arası boyut farkı dikkat çekicidir. Mikroskopik olarak, ALT/İDLS nispeten olağan bir adipositik proliferasyondan oluşur ancak lipomun aksine, hücre büyüklüğündeki belirgin değişkenlik kolayca fark edilebilir.

Fokal adipositik nükleer atipi ve hiperkromazi, dağınık hiperkromatik ve çok çekirdekli stromal hücreler sıklıkla görülür. Hiperkromatik stromal hücreler, fibröz septa içerisinde daha fazla sayıda olma eğilimindedir. Lipoblastlar değişken bir sayıda izlenebilir, ancak tanı için lipoblast varlığı gerekli değildir (39).

Sklerozan liposarkom ikinci en sık alt tiptir; genellikle retroperiton veya paratestiküler bölgede görülür. Geniş bir fibriler kollajenöz stroma içinde belirgin nükleer hiperkromazisi olan bizar stromal hücrelerin varlığı ve nadir multivakuole lipoblast varlığı en önemli histolojik bulgudur (2).

İnflamatuvar liposarkom nadir görülen bir ALT/İDLS varyantını olup genellikle retroperitonda ortaya çıkar. Tümörün adipositik yapısının gizlenebildiği ölçüde belirgin kronik bir inflamatuvar infiltrat izlenebilir (57).



Resim 5: Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkom histopatolojik görüntüsü

İmmunhistokimyasal incelemede adipositik hücreler genellikle S-100 protein immünoreaktivitesi gösterir (58). MDM2 veya CDK4 nükleer pozitifliği çoğu olguda saptanır. MDM2 pozitifliği yağ nekrozuna uğramış olan lipomlarda da görülebildiği akılda tutulmalıdır (59).

Ayırıcı tanıda lipom, hibernom ve iç hücreli lipom gibi benign lipomatöz tümörler yer almakta olup, ayırıcı tanının morfolojik düzeyde yapılmasının zor olduğu olgular da bulunmaktadır (2,12).

ALT / İDLS düşük metastatik bir potansiyel gösterir, ancak lokal agresif bir mezenkimal neoplazmdır. En önemli prognostik faktör anatomik lokalizasyondur. Cerrahi tedavi ile salim marjinlerle geniş eksizyonlardan sonra nüks görülmez ancak derin yerleşimli (retroperiton, mediasten ve spermatik kord gibi) tümörler tekrarlayan nüksler eğilimindedir (60,61).

2.4.2. Dediferansiye Liposarkom

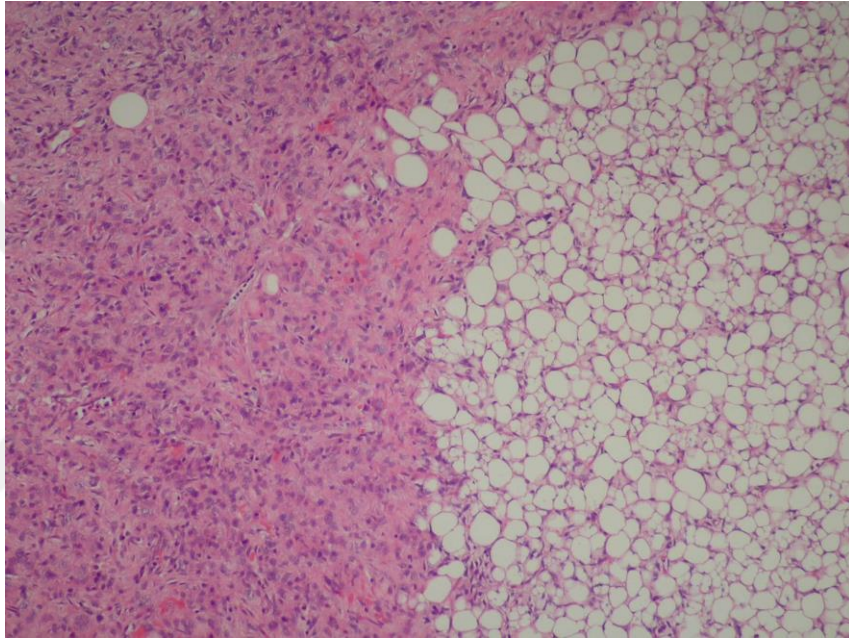
Primer veya rekürrens gösteren ALT/İDLS içinde (genellikle nonlipogenik) farklı histolojik derecelerde sarkoma progresyon gösteren bir liposarkom alt tipidir (2).

Dediferansiye liposarkom, liposarkomların sık görülen alt tiplerinden biridir. Dediferansiasyon, ALT/İDLS'ların %10'una kadar meydana gelir. Derin yerleşimli (özellikle retroperitoneal) lezyonlarla dediferansiasyon riskinin daha yüksek olduğu ve ekstremitelerde önemli ölçüde daha az olduğu saptanmıştır. Dediferansiye LiSa'ların %10'u ALT/İDLS'ların nükslerinde gelişirken yaklaşık %90'ı "de novo" ortaya çıkmaktadır (4). Dediferansiye liposarkom non-lipojenik görünümlü bir sarkom morfolojisinde olup, %90'ı de novo gelişmesi sebebi ile özellikle diğer sarkom tiplerinden ayırımında zorluklar yaratmaktadır.

Retroperiton, en sık görülen bölgedir (ekstremitelerin yumuşak dokularına göre en az 5:1 oranında daha fazla). Görüldüğü diğer yerler, spermatik kord ve daha nadiren baş-boyun ve gövde olarak sıralanabilir. Dermal yerleşim oldukça nadirdir. Dediferansiye liposarkom özellikle retroperitonda büyük ağrısız kitle şeklinde ortaya çıkar (2).

Dediferansiye Liposarkomda Histopatolojik Özellikler: Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkomdan çoğu durumda yüksek dereceli olan herhangi bir tipteki nonlipojenik sarkoma geçiş, DDLiSa'nın histolojik özelliğidir. Dediferansiasyon derecesi değişkendir, ancak belirgindir. Geçiş genellikle aniden gerçekleşir, bazı durumlarda bu daha

aşamalı olabilir ve istisnai olarak düşük dereceli ve yüksek dereceli alanların birbirine geçtiği görülebilir. Dediferansiye alanlar değişken bir histolojik tablo sergiler. Andiferansiye pleomorfik sarkom görünümlü alanlar, pleomorfik görünümlü karsinom benzeri alanlar yanı sıra düşük dereceli dediferansiasyon alanlarında fibromatozis, düşük dereceli fibromiksoid sarkom gibi düşük dereceli içsi hücreli sarkom alanları ve hipertorfik skar ya da fibrozis benzeri nontümöral lezyon benzeri alanlar izlenebilir (2). Çoğu olguda andiferansiye pleomorfik sarkom veya orta-yüksek dereceli miksofibrosarkom histolojisindedir (54,61,62) (Resim 6).



Resim 6: Dediferansiye liposarkom histopatolojik görüntüsü

Dediferansiye liposarkom vakalarının yaklaşık %5-10'unda heterolog diferansiasyon görülür. En sık heterolog diferansiasyon miyojenik veya osteo/kondrosarkomatöz diferansiasyondur, ancak anjiyosarkomatöz elemanlar da bildirilmiştir. Heterolog diferansiasyon komponentlerinin klinik prognoz üzerine bir etkisi saptanmamıştır (2).

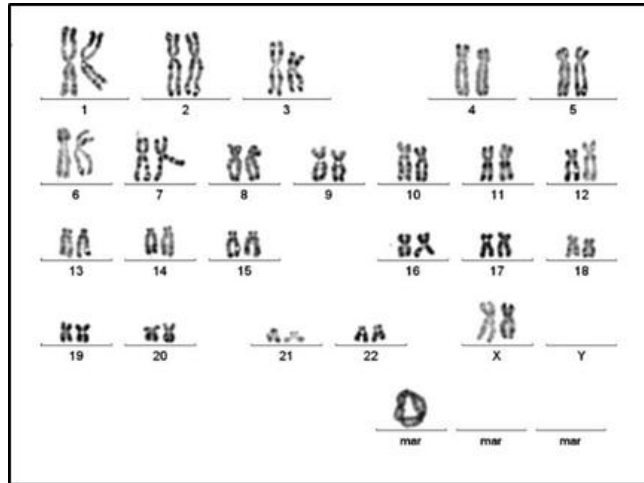
İmmunohistokimyasal inceleme farklı diferansiasyon alanlarının tanınmasında ve diğer tümör tiplerinin dışlamasında ana rol oynar. MDM2 ve/veya CDK4 ile güçlü nükleer boyanma değişmeyen bir özelliktir (63) ve DDLiSa ve pleomorfik LiSa arasında ayırt etmeye yardımcı olur (64).

Dediferansiye liposarkom vakaların en az %40'ında lokal nüksetme eğilimi ile karakterizedir. Bununla birlikte, hastaların 10-20 yıl boyunca takip edilmesi durumunda,

neredeyse tüm retroperitoneal örnekler lokal olarak nüks etmektedir. Beş yıllık takipte olguların mortalite oranı %28-30 arasında ve uzak metastaz oranı %15-20 olarak gözlenmiştir (2,9,44,61,62). Dediferansiye liposarkomlar, lokal rekürrens ve %10-15 oranında akciğer metastazı yapabilmekle birlikte, diğer yüksek dereceli pleomorfik sarkomlara göre daha iyi prognoz göstermektedir (2,44,65).

2.4.3. Atipik Lipomatöz Tümör/İyi Diferansiye Liposarkom ve Dediferansiye Liposarkomda Genetik Değişiklikler

Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye liposarkom ve dediferansiye liposarkom, 12q13-15 bölgesinin amplikonlarını içeren ring ve/veya dev kromozomlar (Şekil 1) veya farklı yapısal anomaliler gösteren kromozom formları ile karakterizedir. Bu değişiklikler MDM2 ve CDK4, HMGA2 ve CPM dahil olmak üzere birçok genin amplifikasyonuna neden olur (12,66–72). MDM2 amplifikasyonu olguların tama yakınında; CDK4 amplifikasyonlarının da %90'ında saptandığı belirtilmektedir (48). Bir çalışmada CDK4 amplifikasyonu ALT/İDLS'da %58,9; Dediferansiye liposarkomda %88,2 oranında saptanmış ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuş olmakla birlikte bu değişikliklerin prognoz ile ilişkisini araştıran literatür verisi oldukça nadirdir (73). Bugüne kadarki kanıtlar MDM2, CDK4, HMGA2 ve TSPAN31 için İDLS/DDLiSa'de onkojen bir rol olduğunu göstermektedir (48). İyi diferansiye liposarkomlarda izlenen amplifikasyonlara ek olarak 12q13-21 gen bölgesinde amplifikasyonlar; 1p32 ve 6q23'de lokalize JUN ve ASK1 genlerinde koamplifikasyonlar tanımlanmakta ve bu amplifikasyonların dediferansiasyonda rol oynadığı düşünülmektedir(48).



Şekil 1: Liposarkomda ring kromozom

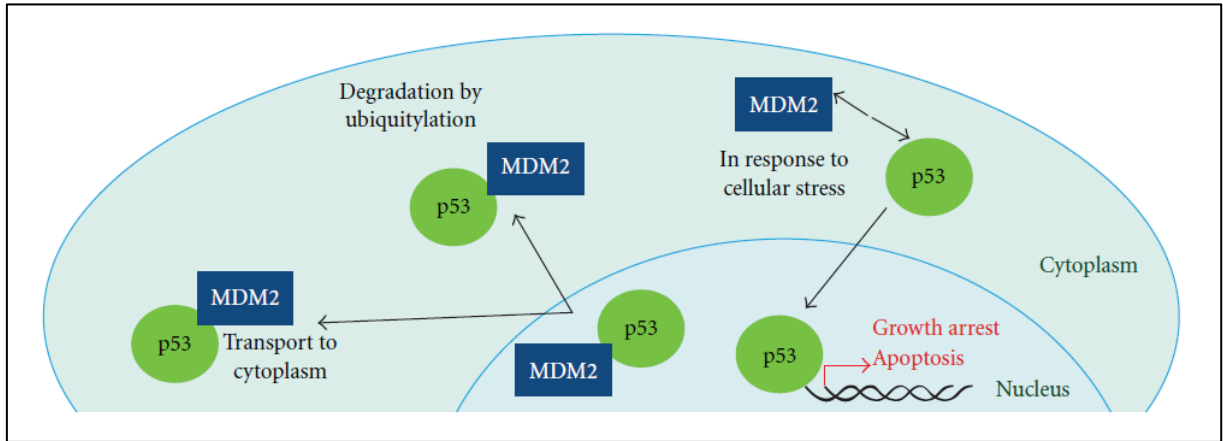
Dediferansiye liposarkomda moleküler düzeyde, MDM2 geni, en sık amplifiye olan gendir (10,48). MDM2 amplifikasyonunun, p53'e bağlanarak p53'ün degradasyonuna sebep olduğu bildirilmektedir. (48).

Tümör supresör genlerden olan p16, siklin bağımlı kinazlara bağlanarak hücre siklusunu inhibe edici etki göstermektedir. Çok sayıda tümörde kaybı ya da mutasyonu tespit edilen p16 geninin liposarkomlar açısından anlamı tam bilinmemekle birlikte yakın dönemde ALT/İDLS'larda p16 eksprese edildiği, lipomların ise büyük kısmında olmadığı gösterilmiştir (11,12).

2.4.3.1. MDM2

MDM2, tümör supresör gen olan p53'ün negatif bir regülatörünü kodlar. MDM2, bir N-terminal hidrofobik cebin içindeki p53'ün transkripsiyon aktivasyon alanına bağlanır ve p53'e bağlı transkripsiyonu bloke eder (74–77).

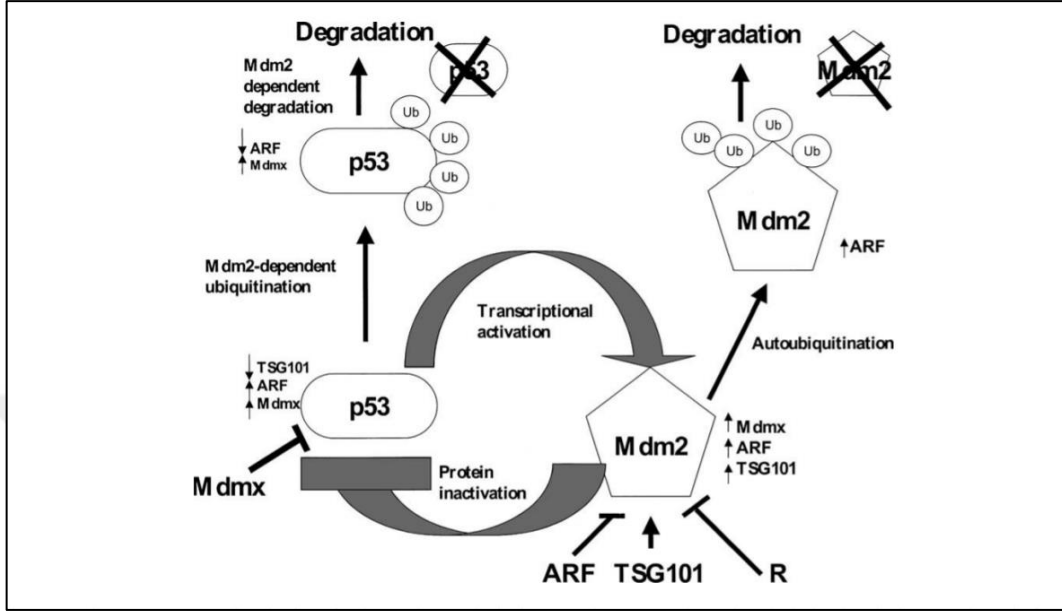
MDM2 ayrıca hem sitoplazmik hem de nükleer proteazomlarda proteazomal parçalanma için p53'ü hedefleyen ubiquitin ligaz olarak görev yapar (78,79). MDM2, hücrel stres zamanlarında p53 ile birlikte hücre içerisinde çekirdekte birikerek p53'ün degradasyonunu indüklemektedir (80). Böylece MDM2, çoklu mekanizmalar yoluyla hücrel p53 seviyeleri üzerinde sıkı kontrol sağlar (81,82)(Şekil 2).



Şekil 2: MDM2 ve p53 dü ve p53 düzenlenimi.

(MDM2, p53'ün transkripsiyonel aktivasyon alanına bağlanıp, p53'ün transkripsiyonu bloke eder. MDM2, ubiquitin ligaz olarak işlev görür ve p53'ün proteazomal bozulmasını kolaylaştırır. MDM2, hücrel strese cevap olarak p53'ü serbestleştirerek nükleus içine yer değiştirmesine, hücre büyümesinin durmasına ve apoptozis için bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapmasına yol açar (48).

Tedavi açısından bu önemlidir, çünkü MDM2 inhibitörleri p53'ü yeniden aktive etmeyi amaçlar ve böylece uygun stresörlere cevap olarak aktif olarak hücre ölümünü indüklemelerine izin verir (83) (Şekil 3).



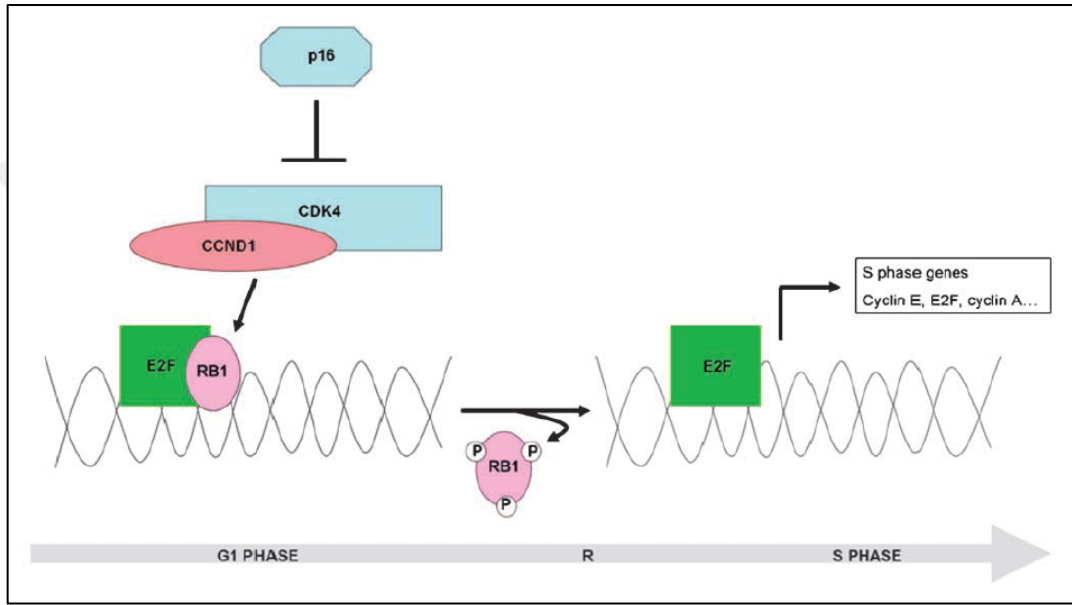
Şekil 3: MDM2 ve p53'ün düzenleyici olayları.

Temel p53 – Mdm2 otoregülasyon döngüsü altta gösterilmiştir. Bu döngünün ana özellikleri, p53'ün bir yandan mdm2 geninin transkripsiyonel bir aktivatörü olarak hareket etmesi ve bir yandan Mdm2'nin p53'ün ubiquitination ve degradasyonunda oynadığı rollerdir. (82)

MDM2 amplifikasyonu, ALT/İDLS yanısıra DDLS'in temel bir özelliğidir (14, 91). Kammerer J ve ark. (13) MDM2 ekspresyonunu DDLS olgularının tümünde, İDLS'nin adipositik (lipom benzeri), sklerozan ve inflamatuvar alt tiplerinde ise sırasıyla %83,3, %100 ve %100 oranlarında saptamışlardır. Oda Y ve ark. (85) ise daha önceden retroperitoneal leiomyosarkom tanısı almış olgularda MDM2 immünekspresyonu ve FİSH ile MDM2 amplifikasyonunu tesbit ettiklerini; lipogenik komponent bulunmamasına karşın bu olguları tekrar sınıflandırıp DDLS olarak kabul ettiklerini belirttikleri çalışmalarının sonucunda retroperitoneal az diferansiye sarkomlarda MDM2 gen amplifikasyonunun araştırılmasını önermektedirler. Dolayısıyla lipogenik komponent bulunmasa bile bazı retroperitoneal sarkomlarda MDM2 amplifikasyonunun araştırılmasının ayırıcı tanı için önemli gözükmektedir. Ancak bazı çalışmalarda da az sayıda andiferansiye PHS, miksofibrosarkom ve malign periferik sinir kılıfı tümörlerinde nadir MDM2 amplifikasyonunun ve ekspresyonunun gösterildiğini bildiren yayınlar da bulunmaktadır (13,83).

2.4.3.2. Siklin bağımlı kinaz 4 (CDK4)

Onikinci kromozomun üzerinde yer alan CDK4 geni, G1-S geçişini sağlamak için siklin D ailesi ile kompleksler oluşturan 33-kD'luk bir proteini kodlar (86). CDK4 proteini çoğu hücre tarafından sentezlenir ve tüm D-tip siklinlerle (D1, D2 ve D3) etkileşim içerisinde bulunurlar (87). Bu CDK4/Siklin D kompleksi, RB1 tarafından kodlanan pRb'yi fosforile eder ve sonuçta E-tipi siklinler dahil olmak üzere E2F hedef genleri aktive olur (88–91). Serbest olan E2F transkripsiyon faktörü G'den S fazına geçiş ve replikasyonu sağlar (92,93).



Şekil 4: Siklin bağımlı kinaz CDK4 etki mekanizması (88)

CDK4/6 aktivitesi INK4 (p16 INK4A, p15 INK4B , p18 INK4C, p19 INK4D), Cip ve Kip (p21CIP1, p27 KIP1) ailesine ait proteinler tarafından düzenlenir. INK4 proteinleri CDK'ye bağlanarak, siklinD-CDK4/6 kompleksin aktivitesini doğrudan inhibe eder. Tümör supresyonu için özellikle p16 INK4A proteini çok önemlidir. p21CIP1 ve p27 KIP1 proteinleri hücre içi bağli olarak siklin D-CDK4/6 komplekslerinin bir inhibitörü ve aktivatörü olarak etki edebileceğini göstermektedir (92,94). Ayrıca MDM2 ve CDK4'ün koamplifikasyonu p53 ve hücre siklusu üzerindeki kombine etkiler sonucu proliferasyona neden olabilir (95,96).

MDM2, ALT/İDLS ve DDLiSa'da tama yakınında saptanan en sık amplifikasyon olarak bildirilirken CDK4 amplifikasyonu ise olguların %90'ından fazlasında gösterilmiştir (66,97). Ancak MLS ve PLS olgularında boyanma nadirdir (12).

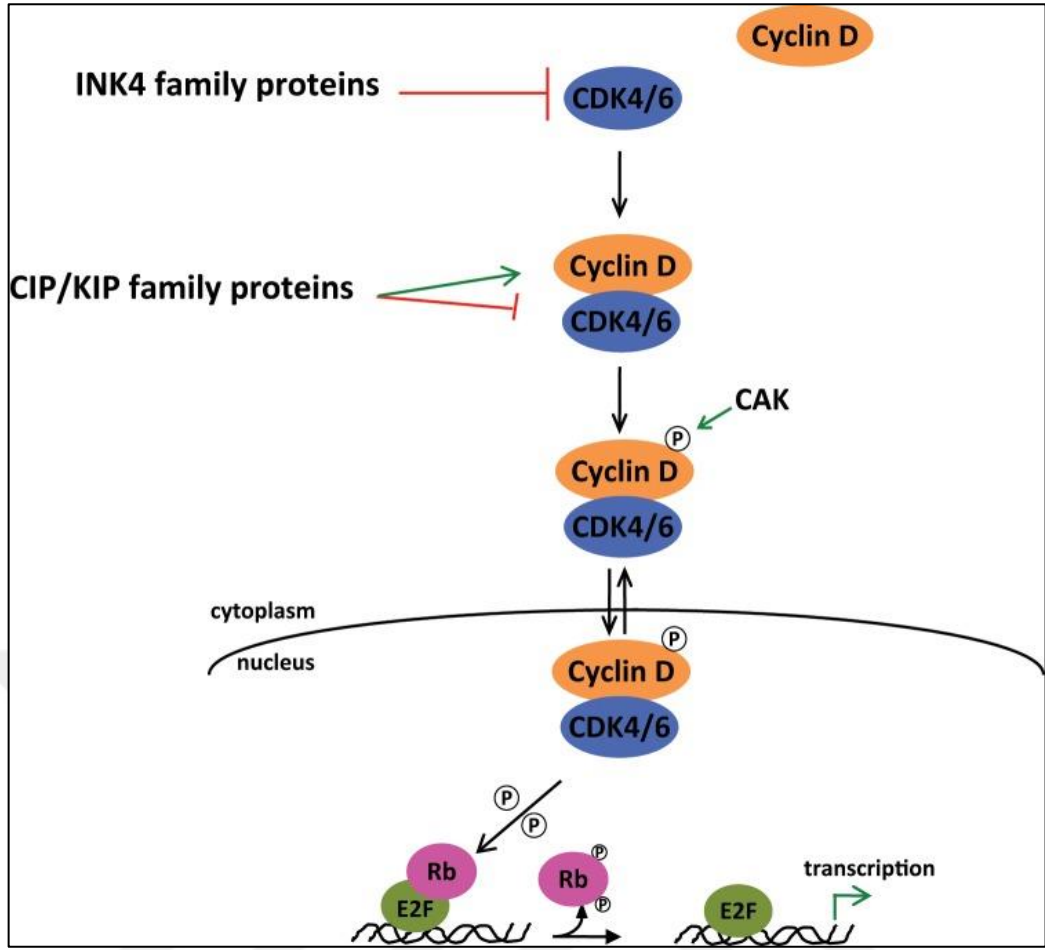
Floresan in situ hibridizasyon ve kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) daha etkili olmasına rağmen, bazı çalışmalar (51,63,98,99) hem CDK4 hem de MDM2 için immünohistokimyasal boyamanın yararlı bir tanı belirleyicisi olabileceğini ileri sürmektedir. Her ne kadar MDM2 ve CDK4, tanıda yardımcı olmak için yararlı belirteçler olsa da, bu belirteçlerin aşırı ekspresyonu sadece ALT/İDLS ve DDLS'ya özgü değildir (66,67,98–100) MDM2 ve CDK4 immunekspresyonu benign lipomatöz tümörler ve bazı non-adipositik sarkomlarda da gösterilmiştir. Aleixo P ve ark. (99) çalışmalarında MDM2 ve CDK4'ü ALT/İDLS olgularında %100 ve %68,4 ve DDLS'da %90 ve 70 saptarken, benign lipomatöz tümörlerde %41,1 ve %11,7; non-adipositik mezenkimal tümörlerde (PHS, miksofibrosarkom gibi) %34,9 ve %3,6 oranında boyandığını göstermektedir.

2.4.3.3. p16 (CDKN2A, INK4a)

p16 geni, INK4 gen ailesine ait olup dört üyeden oluşmaktadır: p16INK4A, p15INK4B, p18INK4C ve p19INK4D, hepsinin biyolojik özellikleri hücre büyümesinin inhibisyonu ve tümör supresyondur. p53'ten sonra, p16 en yaygın ikinci tümör supresör genidir(101).

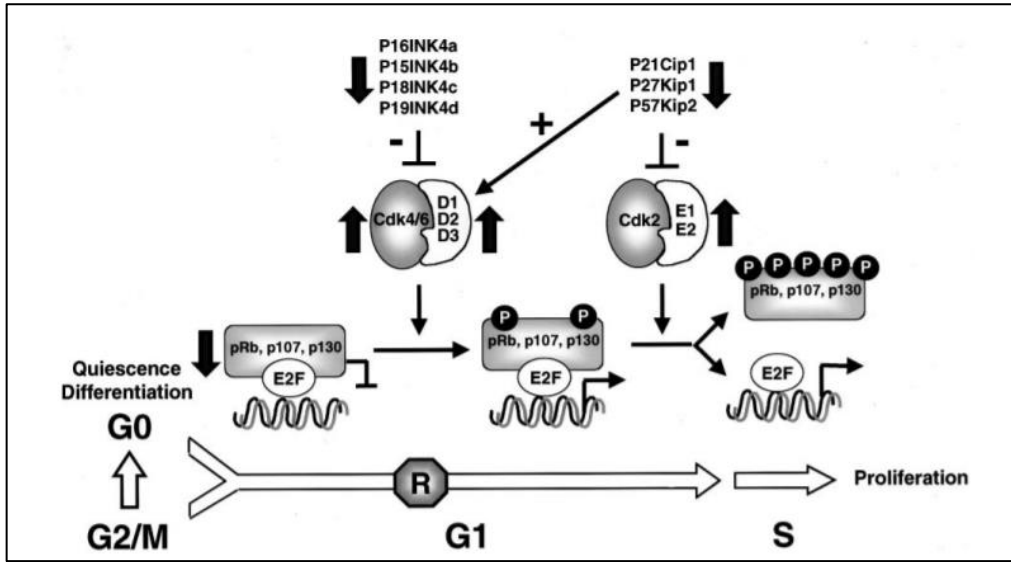
9p21'de yerleşimli p16 (diğer isimleriyle; MTS-1 (majör tümör baskılayıcı 1), INK4a (sikline bağımlı kinaz 4a inhibitörü) veya p16INK4 ve CDKN2A (sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A)) , bir tümör supresör gen olup hücre siklusunda önemli bir düzenleyici olarak rol oynar.

p16, hücre siklusunda pRb-E2F yolunu negatif olarak düzenler. G0 ve ilk G1'de, pRb hipofosforile edilir ve E2F transkripsiyon faktörleriyle birleşir, E2F transkripsiyon faktörlerinin proliferasyona katılan genlerin promotörleri ile etkileşime girmesini önler (siklin B1, dihidrofolat redüktaz, JUNB ve diğerleri). Hücre proliferasyonunda, pRb, G1 fazının sonunda CDK4 ve CDK6 ile fosforilasyona uğrar ve S fazına geçmesine neden olur. P16'nın CDK4 ve CDK6'ya bağlanması, pRb'nin hipofosforilasyonuna neden olur (Şekil 5).

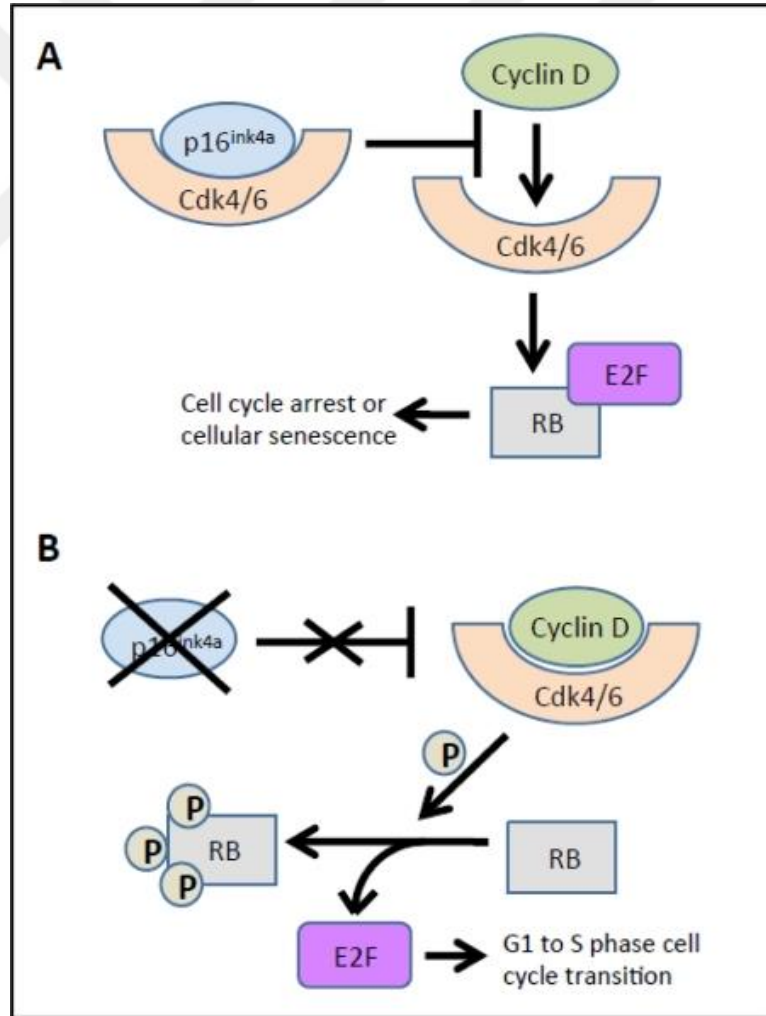


Şekil 5: CDK4'ün hücre döngüsünde aktivasyonu ve regülasyonu (92)

Ek olarak, p16, CDK6/4 ve non-p16 inhibitörler arasındaki kompleksleri bozabilir, non-p16 inhibitörlerin mevcudiyetini artırabilir, CDK2 aktivitesinin inhibisyonunu ve hipofosforile edilmiş pRb'nin artışına sebep olabilir. Bütün bu olaylar, G1/S limitinde hücre proliferasyonun durdurulmasına neden olur (101,102). Birçok kanserde mutasyon, delesyon veya hipermetilasyon yoluyla p16 inaktivasyonu gösterilmiştir (66,67). p16'nın inaktivasyon sonucu hücre G1'den S fazına geçip proliferasyona uğrar. p16 ekspresyon eksikliğinde siklin D1-CDK4 kompleksi Rb proteinini fosforile ederek E2F'nin serbest kalmasına neden olup siklus ilerletici etkisi olan E2F hücrenin S fazına geçişini sağlar (105). p16 mutasyonu genellikle p53 tümör supresör gen mutasyonu olmayan hastalarda saptanmıştır. p16'nın homozigot delesyonu durumu da yüksek Ki67 proliferasyon indeksi ile ilişkili bulunmuştur (104). Ayrıca, p16'nın yaşlanma ile anormal şekilde arttığı ve yüksek p16 seviyelerinin progenitör hücreler ve premalign tümör hücrelerinin yaşlanmasına neden olduğu bildirilmiştir (106) (Şekil 6, Şekil 7).



Şekil 6: G1/S geçişinin Cdk4/6-cyclin D/INK4/Rb yoluyla düzenlenmesi (86)



Şekil 7: p16 proteininin etki mekanizması (107)

2.4.4. Miksoid Liposarkom

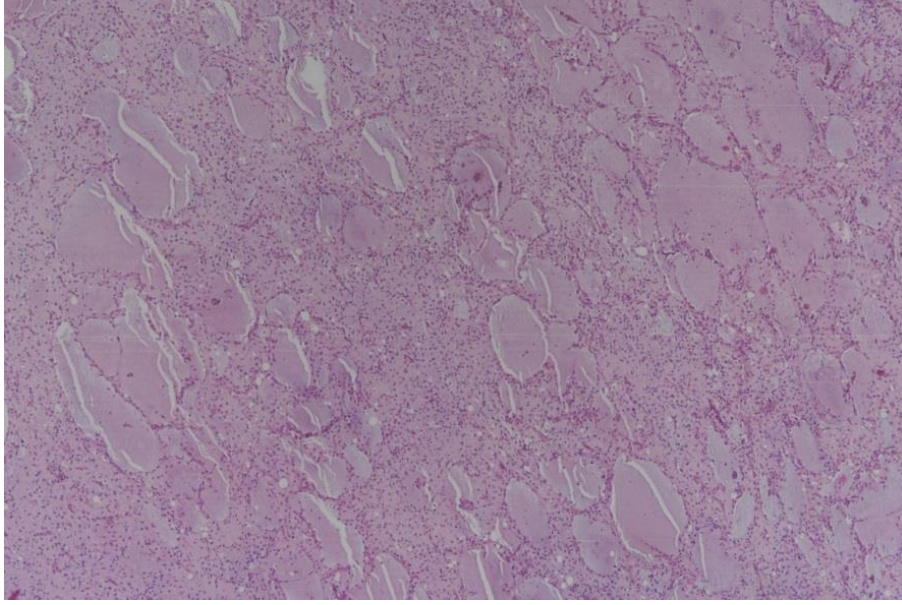
Miksoid LiSa, liposarkomların yaklaşık %15-20'sini ve yumuşak doku sarkomlarının %5'ini oluşturmaktadır. Miksoid LiSa genç erişkinlerin bir tümörü olup, liposarkomun diğer histolojik alt tipleri ile karşılaştırıldığında on yıl daha gençlerde ve en sık 4. ve 5. dekadlarda ortaya çıkar. Erkek/kadın oranı eşittir (2). Miksoid LiSa, ekstremitelerin derin yumuşak dokularında gelişir ve olguların üçte ikisinden fazlasında uyluk kasları içinde ortaya çıkar. Derin yumuşak dokularda büyük ağrısız kitle şeklinde belirti verir. Miksoid LiSa, nadiren primer retroperiton veya subkutan dokuda izlenir.

Makroskopik olarak düşük dereceli miksoid LiSa'lar kesit yüzü bronz, jelatinimsi, iyi sınırlı, multinodüler kas içi tümörlerdir. Yüksek dereceli alanları, beyaz etsi ve solid görünümündedir. Nekroz sık görülmez.

Histopatolojik olarak karakteristik dallanan ince vasküler paternine sahip olan belirgin bir miksoid stromadaki değişken yuvarlak-oval şekilli primitif nonlipojenik mezenkimal hücreler ve değişken sayıda küçük taşlı yüzük benzeri lipoblastlardan oluşan malign bir tümördür. Bu tümörler genellikle FUS-DDIT3 veya EWSR1-DDIT3 gen yeni düzenlenimi sergilerler. Pleomorfizm ve mitotik aktivite beklenmeyen miksoid liposarkomda sellülaritenin arttığı, yuvarlak hücreli alanlar izlenebilir. Eskiden yuvarlak hücreli liposarkom olarak bilinen tümör grubu DSÖ 2013 yumuşak doku tümörleri sınıflamasında miksoid LiSa kategorisine dahil edilmiştir (2). Kesitlerde %5'den daha fazla yuvarlak hücreli komponent içeren miksoid LiSa yüksek dereceli liposarkom olarak kabul edilir (2,10,44).

Miksoid LiSa olgularının üçte birinde uzak metastaz gelişir. Diğer liposarkom tiplerine veya ekstremitelerin diğer miksoid sarkomlarının aksine, miksoid LiSa, akciğerden önce sıradışı yumuşak dokulara (retroperiton, karşı ekstremita, aksilla vb.) veya kemik gibi lokalizasyonlara metastaz yapma eğilimindedir. Çok sayıda olguda, miksoid LiSa klinik olarak senkron veya metakron multifokal hastalık gösterir (108).

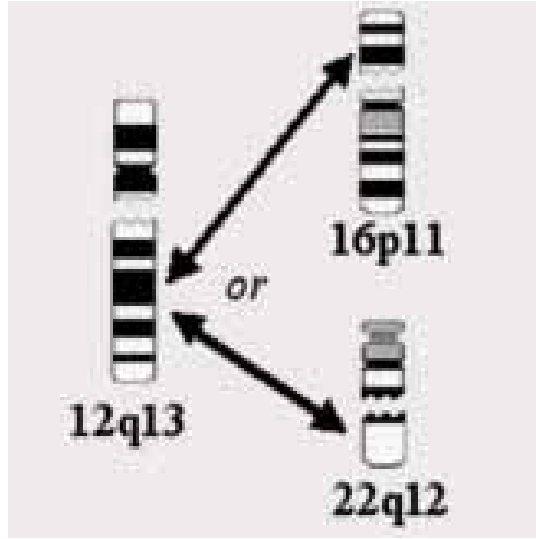
Miksoid Liposarkomda Histopatolojik Özellikler: Miksoid LiSa, lobüllerin çevresinde artan sellülerite ile nodüler bir büyüme paterne sahiptir. Belirgin bir miksoid stroma içinde yuvarlak-oval şekilli üniform primitif nonlipojenik mezenkimal hücreler ve küçük taşlı yüzük lipoblastlar izlenir. İnce dallanan kapiler damarların bulunması karakteristik bir özelliktir (chicken wire pattern). Çoğunlukla hücre dışı mûsin, büyük birleşik alanlar oluşturur ve interstisyel kanama yaygındır. Tipik olarak, miksoid LiSa'da nükleer pleomorfizm, tümör dev hücreleri, belirgin iğsileşme veya mitotik aktivite beklenmez (2,5,39) (Resim 7).



Resim 7: Miksoid Liposarkomda histopatolojik görüntü

Miksoid LiSa'nın bir alt grubu daha kötü prognozu olan hipersellüler veya yuvarlak hücreli morfoloji sergiler. Bu grupta yuvarlak hücreli alanlarda, miksoid stroma ve vasküler bağ doku bulunmaksızın tabakalar halinde belirgin nükleollu, yüksek nükleer/sitoplazmik oranlı yuvarlak hücreler görülür. Miksoid ve hipersellüler/yuvarlak hücreli alanları arasında aşamalı geçişin varlığı, miksoid LiSa'da sıkça gözlenir. Miksoid ve yuvarlak hücreli LiSa'da izlenen bu özellik miksoid LiSa'nın histolojik spektrumunu temsil ettiğine dair güçlü bir kanıttır. Yanısıra her iki tümörde aynı translokasyonun varlığı buna ayrıca bir kanıt sunar. Tanı için genellikle immunhistokimyasal (İHK) inceleme gerekli değildir, ancak bazen diğer yuvarlak hücreli sarkomlardan ayırt etmek için S100 pozitifliği yardımcıdır. MDM2 ve CDK4 genellikle negatiftir.

Miksoid LiSa'nın karakteristik moleküler genetik değişikliği miksoid LiSa'nın tanısında da kullanılan t(12;16)(q13;p11) bölgesinin tekrarlayan translokasyonudur (2,109,110).



Şekil 8: Miksoid / yuvarlak hücreli liposarkomun spesifik translokasyonlarında yer alan breakpoint'un şematik gösterimi; (t (12; 16) (q13; p11) ve t (12; 22) (q13; q12). (2))

Bu translokasyon sonucu FUS-CHOP/DDIT3 anormal füzyon geni ortaya çıkar. Kalan diğer olgularda, başka bir translokasyonun t(12;22)(q13;q12), EWS ve CHOP arasında bir füzyon gen düzenlemesi ile sonuçlandığı bildirilmektedir (7,77,78). Her iki füzyon transkriptinin normal adipositik diferansiyasyonun inhibisyonunda rol aldığı ve immatür adipositlerin proliferasyonuna yol açtığı bildirilmektedir (10). FUS-DDIT3 füzyonunun varlığı miksoid LiSa için oldukça sensitif ve spesifiktir. Retroperitonda baskın olarak miksoid görünümlü ALT/İDLS, DDLiSa ve miksofibrosarkomlar gibi diğer morfolojik taklitçilerinde saptanmamaktadır (111).

RET, IGF1R ve IGF2, miksoid LiSa'da yüksek miktarda eksprese olup PI3K/Akt veya RAS-RAFERK/MAPK yolları aracılığı ile hücre yaşam süresini uzatır (112,113). PIK3CA aktive edici mutasyonlar miksoid LiSa olgularının %14-18'inde saptanmıştır (114,115). Diğer bir alt grupta PTEN'in homozigot kaybı alternatif yoldan PI3K/Akt aktivasyonuna sebep olur (2).

Yapılan bir çalışmada 5 yıllık genel sağkalım yuvarlak hücrelerden fakir miksoid LiSa'da %90 iken yuvarlak hücrelerden zengin olgularda %50 olarak saptanmıştır. Genellikle yüksek histolojik derece (%5'den fazla yuvarlak hücreli komponent), nekroz varlığı ve Tp53 ve CDKN2A değişiklikleri lokalize miksoid LiSa olgularında olumsuz prognostik parametrelerdir (108,116–118). FUS-DDIT3 füzyon transkriptleri histolojik derece veya klinik prognoz ile ilişkili bulunmamıştır (110). Diğer translokasyon ile ilişkili sarkomların

aksine, TLS-CHOP füzyon transkript yapısının moleküler değişkenliğinin miksoid LiSa'aeki klinik gidiş üzerinde önemli bir etkisi olmadığı görülmektedir (108).

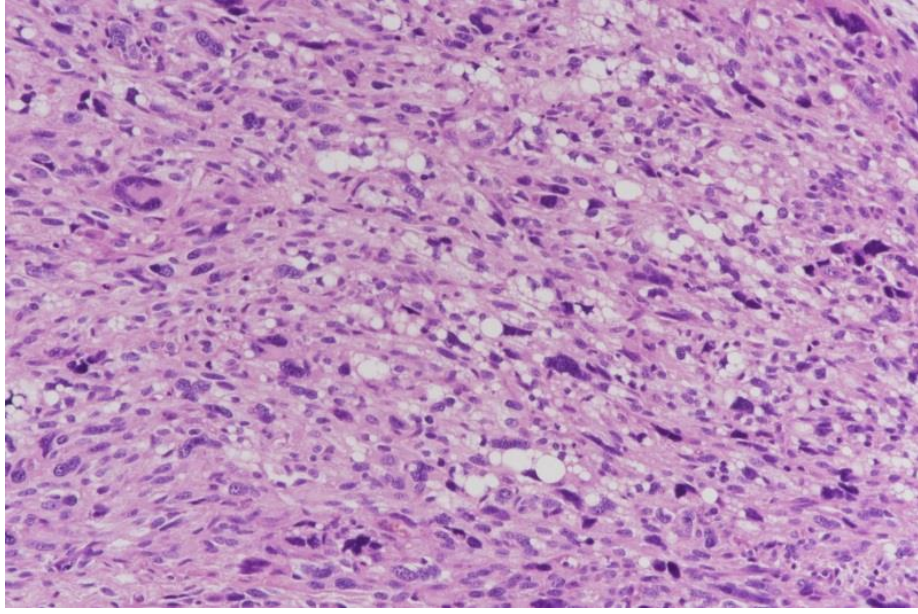
2.4.5. Pleomorfik Liposarkom

Pleomorfik liposarkom, liposarkomlar içerisinde en nadir alt tip olup tüm liposarkomların yaklaşık %5'ini oluşturmaktadır. Çok sayıda pleomorfik lipoblast ile karakterli tümör liposarkom alt tipleri arasında en agresif gidişli olandır (2,10,44). Değişken miktarda pleomorfik lipoblastlar içeren ve kompleks genomik profile sahip olan yüksek dereceli bir sarkomdur (119,120). Çoğu olgu ileri yaşlarda (7. dekad) olup erkeklerde hafifçe daha sık ortaya çıkar (8,121,122).

Pleomorfik liposarkomların 2/3'ü ekstremitelerde ortaya çıkar (alt>üst ekstremiteler). Gövde, retroperiton ve spermatik kordda daha az sıklıkta izlenir (8,122). Nadir tutulum bölgeleri arasında mediasten, kalp, plevra, meme, skalp, kolon ve orbita da bulunmaktadır (122,123). Çoğu olgu derin yumuşak dokularda ortaya çıkar, %25 olguda subkutan yağ dokuda gelişir (8,122) ancak tamamen dermal tümör çok nadirdir (2,8,122).

Olguların çoğu hızla büyüyen ağrısız kitle şikâyeti ile başvurur. Preoperatif dönem ortalama 3-6 aydır. Bazı hastalarda ağrı veya tümör yerleşim yerine bağlı semptomlar olabilir (8,122,124). Pleomorfik LiSa çoğu zaman büyük boyutludur (medyan çap 8-10 cm) (8,122). Tümör düzgün sınırlı ve kapsülsüzdür ancak infiltratif ve bazen multinodüler olabilir. Kesit yüzü beyaz-sarı renkte olup bazen nekroz odakları izlenebilir (2).

Pleomorfik Liposarkomda Histopatolojik Özellikler: Çoğu olgu infiltratif büyüme paterni gösterir ve tüm olgularda yüksek dereceli sarkom zeminde değişken oranlarda pleomorfik lipoblastlar mevcuttur. Bu zemindeki sarkom genelde andiferansiye pleomorfik sarkom morfolojisindedir. Olguların %50'inde fokal de olsa miksofibrosarkom benzeri alanlar görülebilir (8,122). Kütü diferansiye karsinom benzeri pleomorfik LiSa'ların 1/4'ünde epiteloid morfoloji gözlenir (125). Yeterli miktarda örnekleme doğru tanı için gereklidir, çünkü lipoblastlar oranı olgudan olguya ve bir olguda alandan alana çok değişebilir. Mitoz değişkendir ancak ortalama 10 büyük büyütme alanında (BBA) 19-25 mitoz saptanır. Olguların yarısından çoğunda nekroz gözlenmektedir (2) (Resim 8).



Resim 8: Pleomorfik liposarkomda histopatolojik görüntü

İmmunhistokimyasal incelemede S100, %50'den az olguda pozitifdir. Düz kas aktini (DKA) ve CD34 yarı olguda fokal pozitif boyanabilir. EMA, desmin ve HMGA2 pozitif olabilir (8,122,126). Tipik olarak MDM2 ve CDK4 negatiftir (97).

Pleomorfik LiSa %30-50 rekürrens ve metastaz yapmak riski ve %60'lık 5 yıllık sağkalım oranı ile agresif bir tümördür. Metastazlar en sık akciğer ve plevrada gözlenir. Santral yerleşim, tümör çapı, tümör derinliği ve mitoz kötü prognoz ile ilişkilidir (8,122).

Pleomorfik Liposarkomda Genetik Değişiklikler: Pleomorfik liposarkom için daha kompleks sitogenetik değişiklikler belirtilmektedir (48,49). Pleomorfik LiSa'nın genetik profili ALT/İDLS, DDLiSa ve miksoid LiSa'dan farklı olarak daha çok diğer pleomorfik sarkomlara benzerik göstermektedir (127). Pleomorfik LiSa, kazançlar ve kayıplar dahil olmak üzere kromozom düzenlemelerine sahip karmaşık bir karyotip gösterir. Sonuç olarak, patogenezi, genom amplifikasyonlarını ve delesyonlarını içeren karmaşık bir yapıdadır (49). Son çalışmalar, p14ARF metilasyonunun pleomorfik LiSa'nın kökenindeki ve büyümesindeki rolünü öne sürmektedir (128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2008-2016 yılları arasında liposarkom tanısı almış 57 olgu, iğsi hücreli lipom/ pleomorfik lipom/lipoblastom gibi benign lipomatöz tümörü olan 28 olgu ve diğer pleomorfik sarkomları içeren 10 olgu olmak üzere toplam 95 olgu dahil edildi.

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı rapor arşivleri gözden geçirilerek liposarkom tanısı almış olan 486 olgu içerisinde öncelikle cerrahi eksizyonu aynı merkezde yapılmış olanlar ve neoadjuvan tedavi uygulanmamış olgular tercih edildi. Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde materyali bulunan, klinikopatolojik verilerine ve immunohistokimyasal inceleme için parafin bloklarına ulaşılabilen olgular arasından rastgele belirlenen 22 İDLS ve 21 DDLS olgusu yanısıra diğer liposarkom alt tiplerine ait toplam 14 olgu çalışmaya dahil edildi. Liposarkom tanılı olgular yanısıra histopatolojik olarak liposarkom kuşkusu yaratabilecek klinik ve histopatolojik özellikler gösteren 28 benign lipomatöz tümör ve 10 pleomorfik (hücreli) sarkom olgusu çalışmaya alındı.

Klinikopatolojik verilerine ulaşılamayan, sadece insizyonel/açık biyopsi materyali olan ve parafin bloklarında küçük boyutlarda doku örneği kaldığı için seri kesitlerde kaybedilme riski olan biyopsi materyallerine sahip olgular çalışma kapsamına alınmadı.

Olguların yaş, cinsiyet tümör lokalizasyonu, tümör boyutu gibi klinikopatolojik verileri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bilgi Yönetim Sistemi'nden elde edildi.

3.2. Etik Kurul Onayı

Çalışmamıza Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 19.01.2019 tarihinde 19-1T/38 karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen olgulara ait arşiv materyalini oluşturan tüm hematoksilen ve eozin (H&E) boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek, morfolojik tanı DSÖ 2013 sınıflandırmasına göre revize edildi. Buna göre çalışmamıza dahil olan 95 olgu altı (6) grupta yerleşmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: Olguların tanı grupları

Tanı Grubu	Olgu Sayısı (n)
Benign adipositik tümör	28
İDLS	22
DDLs	21
MLS	6
PLS	8
PHS	10
Toplam	95

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLs= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Benign adipositik tümörler grubunda İDLS ile sıklıkta ayırıcı tanıya giren ve tanıda zorluk yaratan 25 lipom (iğ hücreli lipom, pleomorfik lipom, 10 cm üzerinde olan büyük çaplı lipomlar, derin yerleşimli lipomlar, atipik lipomlar ve travmatize olan lipomlar) yanısıra üç (3) lipoblastom olgusu çalışmaya dahil edildi.

3.4. İmmunohistokimyasal İnceleme

Tümörlerde immunohistokimyasal olarak araştırılan MDM2, CDK4 ve p16 protein ekspresyon özelliklerinin hasta yaşı, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu ve tümör derecesi gibi klinikopatolojik veriler ile ilişkisi değerlendirildi.

Olgulara ait hematoksilen-eosin ve immunohistokimyasal boyalı preparatları arşivden çıkarılarak yeniden değerlendirildi. Seçilen uygun preparatlara ait bloklardan, immunohistokimyasal boyamalar için boş kesitler hazırlandı. Olgulara ait formolin tespitli parafin bloklardan hazırlanan 3-5 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü lamalar (ThermoScientific/Menzel J1800AMNZ, pozitif şarjlı) üzerine alındı. Bu preparatlar bir gece boyunca 52°C etüvde bekletilerek kurutuldu. Preparatlar Ventana Medical System-Benchmark XT/ISH Staining (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) modüle yerleştirildi. Ultraview Universal DAB kiti ve primer antikorlar kullanılarak aşağıdaki prosedürler uygulanarak immunohistokimyasal boyamalar gerçekleştirildi.

<i>Antikor</i>	<i>Marka</i>	<i>Clone</i>	<i>Dilüsyon</i>	<i>Uygulama</i>
MDM2	SantaCruz	SMP14	1/150	Ventana
CDK4	Epitomics	EP180	1/300	Ventana
P16	GenimeMe	IHC116	1/100	Ventana

İmmunohistokimyasal boyama prosedürü: İmmunhistokimyasal boyama işlemi bölümümüzde kurulu olan Ventana Benchmark XP marka immunhistokimya boyama cihazında aşağıda belirtilen sıra ile yapıldı:

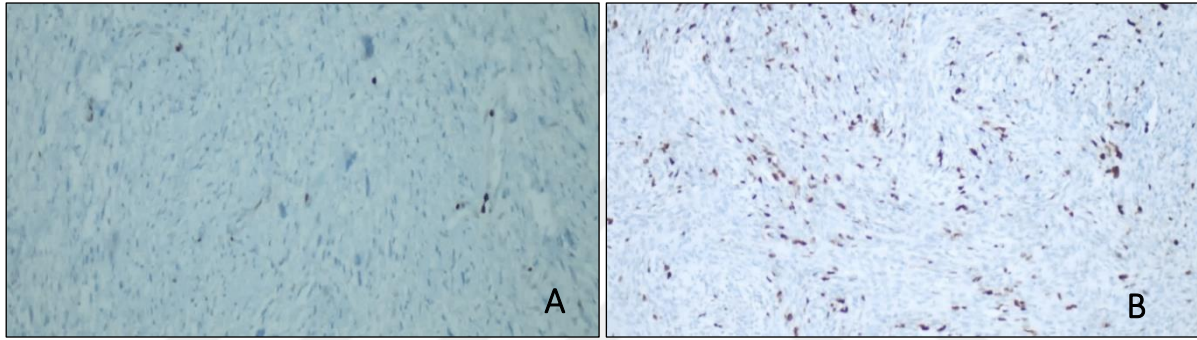
1. Kesitler ksilol ile deparafinize edildi.
2. Preparatlar sırası ile saf, %96, %80, %70'lik alkol solüsyonlarından geçirildi.
3. 10 dakika %5'lik endojen peroksidaz/hidrojen peroksidaz/methanol ile nötralize edildi.
4. Distile su ile yıkandı.
5. Sitrat tamponu (pH:6) ile yüksek basınç altında 1 dakika kaynatıldı.
6. Beş (5) dakika Tris buffer-salin (TBS) ile yıkandı.
7. Kesitler 10 dakika dilue normal serum içinde bekletildi.
8. Aşağıda her primer antikor için verilen optimum dilüsyondaki antikorlar kesit yüzeyine damlatılarak kesitler aşağıdaki sürelerde inkübe edildi:
 - MDM2 (klon: SMP14) için 32 dakika primer antikor inkübasyonu
 - CDK4 (klon: EP180) için 20 dakika primer antikor inkübasyonu
 - P16 (klon: IHC116) için 32 dakika primer antikor inkübasyonu
9. Beş (5) dakika TBS ile yıkandı.
10. Kesitler uygun biotinize sekonder antikor ile bekletildi.
11. İki (2) kez beş (5) dakika TBS ile yıkandı.
12. Kesitler Avidin/Biotin kompleks-Horseradish peroksidaz (ABC-HRP) içinde bekletildi.
13. İki (2) kez beş (5) dakika TBS ile yıkandı.
14. Kesitler 3,3' Diaminobenzidine tetrahidraklorid (DAB) içinde bekletildi.
15. Distile su ile yıkandı.
16. Bir (1) dakika hematoksilin ile nukleus boyaması yapıldı.
17. Ksilol ile şeffaflandırması yapılarak lamel ile kapatıldı.

Pozitif kontrol örnekleri olarak MDM2 için memenin invaziv duktal karsinomu, CDK4 için kolon adenokarsinomu p16 için serviks skuamöz hücreli karsinomu seçildi.

Pozitif kontrol için seçilen ancak primer antikorun damlatılmadığı örnekler ise negatif kontrol olarak kabul edildi

3.5. İmmunohistokimyasal Boyama Değerlendirmeleri

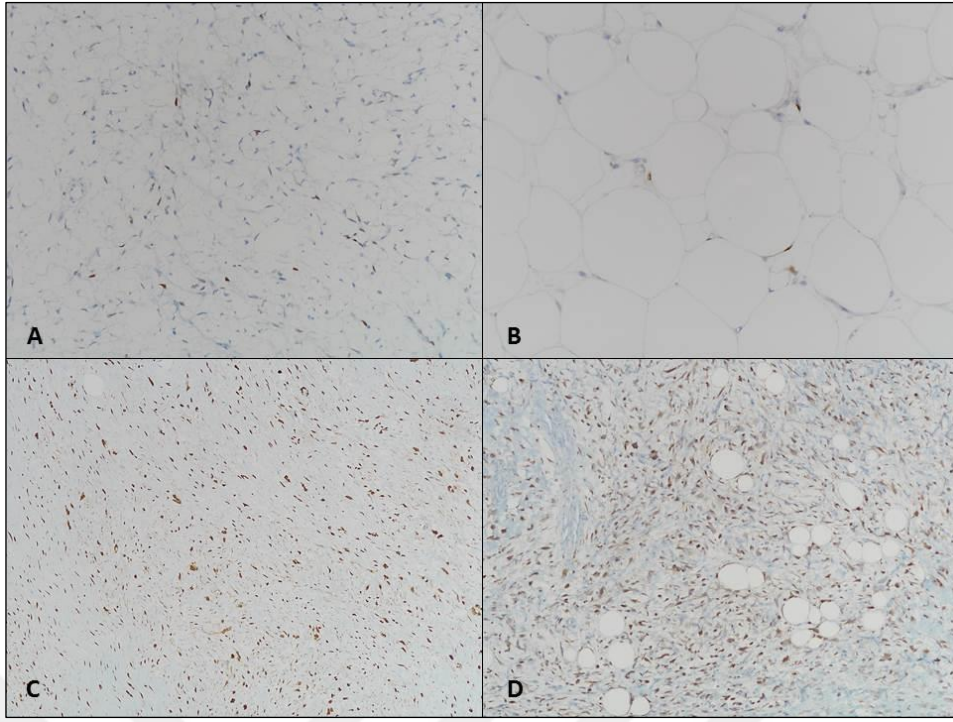
İmmunohistokimyasal incelemede MDM2 primer antikoru için tüm kesit alanında en az bir tümör hücresinde nükleer pozitiflik gösteren tümör immun pozitif olarak değerlendirildi (12,98,99,129). Ancak farklı tümörlerde boyanma yaygınlığı nadir tek hücre boyanmasından yoğun ve yaygın boyanmaya kadar değişken idi (Resim 9). İmmunoreaktivite iki patolog (BY, HA) tarafından değerlendirildi.



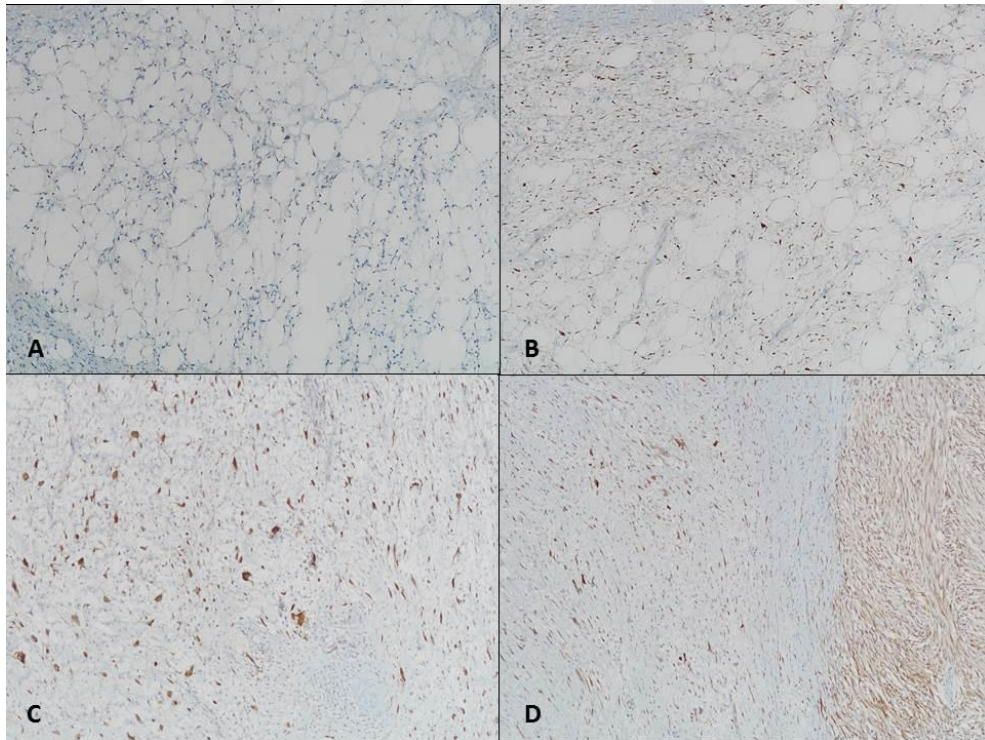
Resim 9: MDM2 ile farklı yoğunluktaki immunreaktivite **A:** Nadir tek hücre boyanması, **B:** Yaygın boyanma

CDK4 ve p16 primer antikorları tümörlerde hem sitoplazmik hem nükleer boyanma göstermektedir. Literatür verilerinde de tanımlanan bu sitoplazmik ve nükleer boyanma özelliklerinden sadece nükleer boyanmaların anlamlı kabul edildiği görülmektedir (12,98,99,129). Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olarak her iki antikor için nükleer boyanmalar pozitif kabul edildi (Resim 10, Resim 11).

MDM2, CDK4 ve p16 immunohistokimyasal belirleyicileri için ayrıca semikantitatif değerlendirme olarak belirleyicilerin boyanma yoğunlukları açısından %5'den daha az tümör hücresi boyanması, %5-10 arası boyanma ve %10'dan daha fazla tümör hücresi boyanmalarının histopatolojik parametreler ile ilişkileri değerlendirildi.



Resim 10: CDK4 ile farklı yoğunluktaki immunreaktivite. **A-B:** Seyrek nükleer boyanma, **C:** Yaygın nükleer boyanma, **D:** Yaygın sitoplazmik + nükleer pozitiflik



Resim 11: p16 ile farklı yoğunluktaki immunreaktivite. **A:** Tek tük nükleer boyanma, **B:** Seyrek nükleer boyanma, **C:** Yaygın nükleer boyanma, **D:** Yaygın sitoplazmik + nükleer boyanma

3.6. Biyoistatistiksel Analiz

İmmunhistokimyasal belirleyicilerin tanısal değerini belirlemek amacı ile her bir belirleyicinin tanısal duyarlılık (sensitivite), özgüllük (spesifite), pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve tahmini rölatif risk değerleri hesaplandı.

Diğer istatistiksel analizler için bilgisayar ortamında çalışan SPSS IBM (Sürüm 25.0) paket programı kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırmasında “Pearson Ki-kare” ve “Fisher’s Exact” testleri; numerik değişkenlerin ise normal dağılım gösteren değişkenler için “Student’s T”; diğer değişkenler için “Mann-Whitney U” testi ve “One-way Anova” testi kullanıldı. Tüm analizlerde p değeri 0,05’in altında olanlar anlamlı olarak kabul edildi. One-way Anova testi için gruplara göre düzeltilmiş p değerleri esas alındı.



4. BULGULAR

4.1. Tümör Tipleri

Çalışmamıza 95 olgu dahil edilmiştir. Bu olguların 2013 WHO Yumuşak Doku Tümörleri Klasifikasyonuna göre üçü (3) lipoblastom olmak üzere 28'i (%29,4) benign lipomatöz tümör, 22'si (%23,15) İDLS, 21'i (%22,10) DDLS, 6'sı (%6,31) MLS, 8'i (%8,42) PLS ve 10'u (%10,52) PHS idi (Tablo 8).

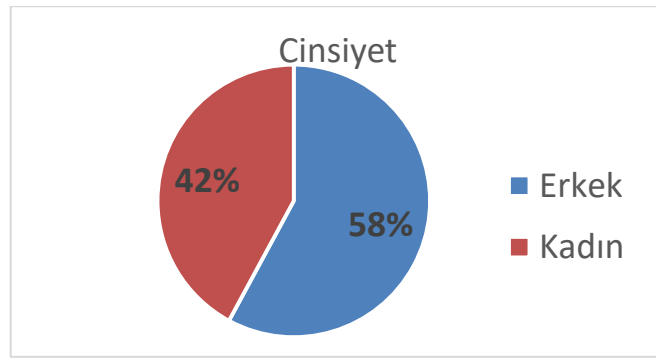
Tablo 8: Olguların tanı grupları ve oranları

Tanı Grubu	Olgu Sayısı	
	(n)	(%)
Benign Lipomatöz Tümör	28	29,47
İDLS	22	23,16
DDLS	21	22,11
MLS	6	6,32
PLS	8	8,42
PHS	10	10,53
Toplam	95	100

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

4.2. Cinsiyet

Olguların 55'i (%57,9) erkek ve 40'ı (%42,1) kadın olup Erkek:Kadın oranı 1,37 idi (Şekil 9). Olguların tümör alt tiplerine göre cinsiyet dağılımları Tablo 9'da verilmiştir. Tümör alt tipleri ile cinsiyet arasında istatistiksel bir anlam saptanmadı ($p=0,871$).



Şekil 9: Olguların cinsiyet oranları

Tablo 9: Tümör alt tiplerindeki olgu sayıları ve cinsiyet dağılımı

Tanı Grubu	Olgu Sayısı (n)	Cinsiyet	
		Erkek	Kadın
Benign lipomato tm	28	17	11
İDLS	22	13	9
DDLS	21	10	11
MLS	6	3	3
PLS	8	5	3
PHS	10	7	3
Toplam	95	55	40

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

4.3. Yaş

Olguların ilk tanı aldıkları yaş aralığı 1 ile 86 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması $61,0 \pm 16,7$ idi. İyi diferansiye LiSa, DDLS ve pleomorfik sarkom olgularının yaşları diğer gruplara göre istatistiksel olarak da daha yüksek idi (sırasıyla medyan yaş: $65 \pm 11,3$; $63 \pm 12,1$; $66,5 \pm 16$) ($p=0,014$) (Tablo 10). Doğum sonrası ilk yaşta saptanan üç (3) lipoblastom olgusu dışında bebeklik ve çocukluk çağında olgu bulunmamakta idi. Miksoid liposarkomların görülme yaşı, diğer liposarkomlara göre en az on yıl kadar daha erken idi.

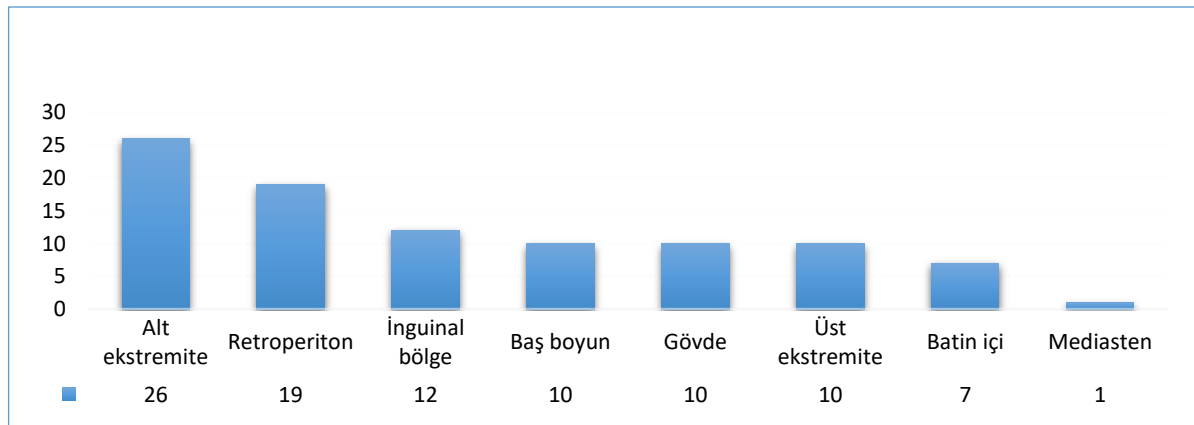
Tablo 10: Tümör alt tiplerindeki olguların yaş dağılımları

Tanı	Olguların Yaşları				
	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	Minimum	Maksimum
Benign lipomatö tümör	49,5	54,5	19,4	1	77
İDLS	63,3	65	11,3	43	83
DDLS	60,5	63	12,1	37	83
MLS	44,3	41,5	18,3	18	68
PLS	52,1	53	19,1	29	86
PHS	59,4	66,5	16	27	77
Toplam	56,1	61,0	16,7	1	86

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

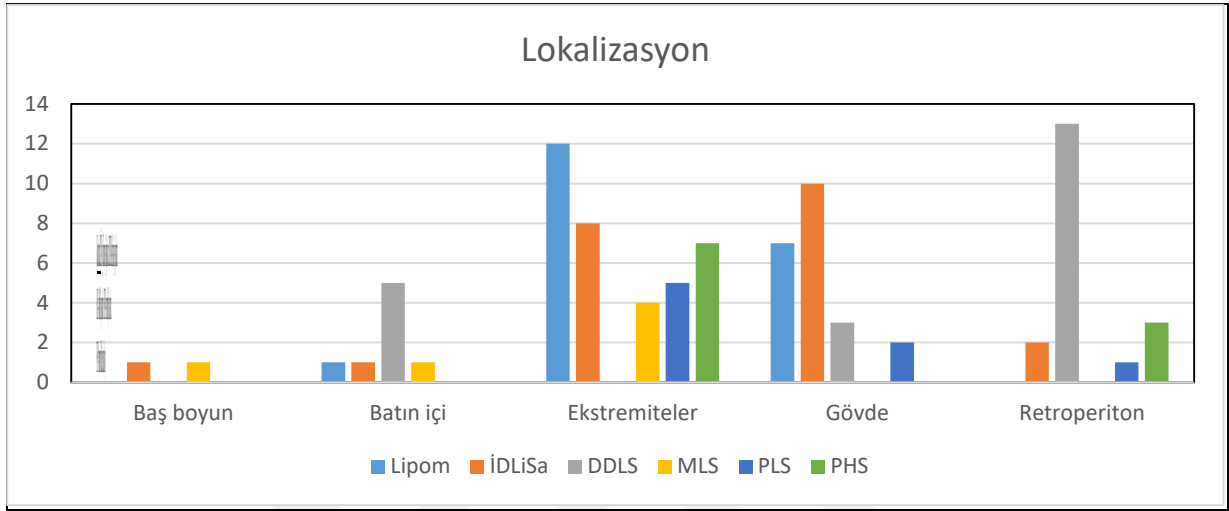
4.4. Lokalizasyon

Lokalizasyon dağılımı açısından değerlendirildiğinde tümörler 26 olguda (%27,4) alt ekstremité, 19 olguda (%20) retroperiton, 12 olguda (%12,6) inguinal bölge, 10'ar olguda (%10,5) baş-boyun, gövde ve alt ekstremité, yedi (7) olguda (%7,4) batin içi ve bir (1) olguda (%1,1) mediasten yerleşimdeydi (Şekil 10).



Şekil 10: Tümörlerin lokalizasyon dağılımları

En sık saptanan tümör tipi retroperiton ve batin içinde DDLS (saptanma oranları sırasıyla n=13/19-%68,4 ve n=5/8-%62,5), baş-boyun (n=8/10-%80) ve ekstremitelerde (n=12/36-%33,3) yerleşiminde lipomlar ve gövdede İDLS (n=10/22-%45,5) idi. İstatistiksel olarak tümör tipi ve tümör lokalizasyonu arasındaki ilişki güçlü anlam7lı olarak saptandı (p<0,001) (Şekil 11).



Şekil 11: Tümör alt tiplerinin lokalizasyonlara göre dağılımı

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

4.5. Tümör Boyutu

Tümör gruplarında izlenen tümör boyutlarının minimum-maksimum değerleri, ortalama/ortanca değerleri ve standart sapma değerleri aşağıdaki **Tablo 11**'de verilmiştir. Ameliyat materyallerinde birden fazla parçası olan tümörlerde en büyük parçanın boyutu tümör boyutu olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda ortalama tümör boyutu 13,7±9,1 cm (2-47 cm) olarak saptandı. Dediferansiye liposarkom olgularında tümör boyutları (medyan 20±10,3 cm), diğer tümör gruplarına göre istatistiksel olarak da daha yüksek idi (p=0,001). Diğer tümör gruplarında saptanan tümör boyutları sırasıyla İDLS'de (15,7±10,1 cm), PHS'de (13,1±6,5 cm), MLS'de (12±8,4 cm), PLS'de (11,6±4,9 cm) ve lipomlarda (8,36±5,87 cm) idi (Tablo 11).

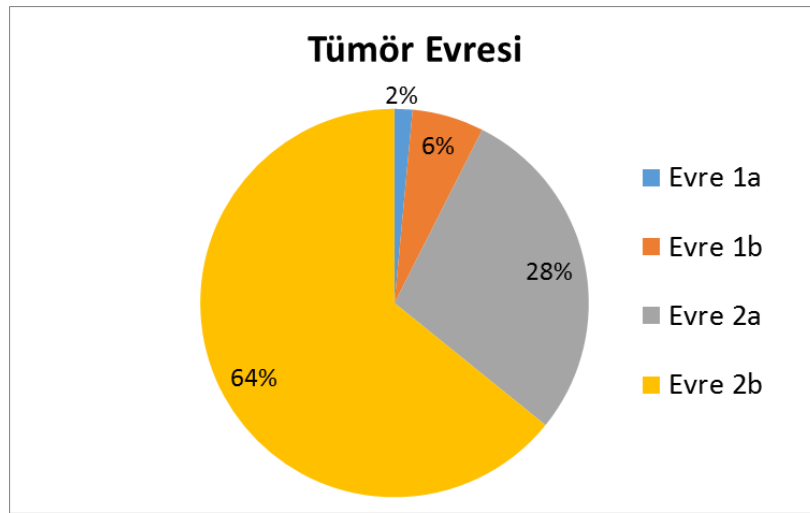
Tablo 11: Tümör gruplarında saptanan tümör boyutları

Tanı	Çap (cm)				
	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	Minimum	Maksimum
Benign lipomatöz tümör	8,36	7	5,87	2	25
İDLS	15,7	12,5	10,1	5	47
DDLS	19,7	20	10,3	4	42
MLS	12	8	8,4	5	25
PLS	11,6	9,5	4,9	6	20
PHS	13,1	12	6,5	4	27
Toplam	13,7	10,0	9,1	2	47

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

4.6. Tümör Evresi

Benign lipomatöz tümör dışı diğer tümörlerde bir (1) olguda (%1,1) tümör evresi 1a, dört (4) olguda (%4,2) evre 1b, 18 olguda (%20,0) evre 2a ve 43 olguda (%45,3) evre 2b idi (Şekil 12). Tümör alt tiplerinin tümör evrelerine göre dağılımlarına bakıldığında DDLS olgularının büyük kısmının (%81,0) Evre IIb ve İDLS olgularının büyük kısmının ise (%63,6) Evre IIa olgular olduğu görüldü (Tablo 12). Dediferansiye LiSa olgularında tümörün büyük boyut ve derin yerleşimli olması istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p=0,008$).



Şekil 12: Lipom dışı tümör gruplarının tümör evresi dağılımları

Tablo 12: Lipom dışı tümör gruplarının tümör evresi dağılımları

			Tümör Evresi				Toplam
			1a	1b	2a	2b	
TANI	IDLS	n	1	-	14	7	22
		%	4,5	-	63,6	31,8	100
	DDL5	n	-	2	2	17	21
		%	-	9,5	9,5	81,0	100
	MLS	n	-	1	1	4	6
		%	-	16,7	16,7	66,7	100
	PLS	n	-	-	2	6	8
		%	-	-	25,0	75,0	100
	PHS	n	-	1	-	9	10
		%	-	10,0	-	90	100
Toplam		n	1	4	19	43	67
		%	1,5	6,0	28,4	64,2	100

Kısaltmalar: IDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

4.7. Tümör Derecesi

Lipomlar ve iyi diferansiye liposarkom dışındaki diğer tümör alt tiplerinin tümör dereceleri Tablo 13’de gösterilmiştir.

Tablo 13: Tümör alt tiplerinin tümör dereceleri dağılımı

			Tümör Derecesi		Toplam
			2	3	
TANI	DDL S	n	12	9	21
		%	57,1	42,9	100
	MLS	n	3	3	6
		%	50	50	100
	PLS	n	-	8	8
		%	-	100	100
	PHS	n	1	9	10
		%	10	90	100
Toplam		n	16	29	45
		%	35	64,4	100

Kısaltmalar: DDL S= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

4.8. İmmunohistokimyasal İnceleme Bulguları

4.8.1. MDM2

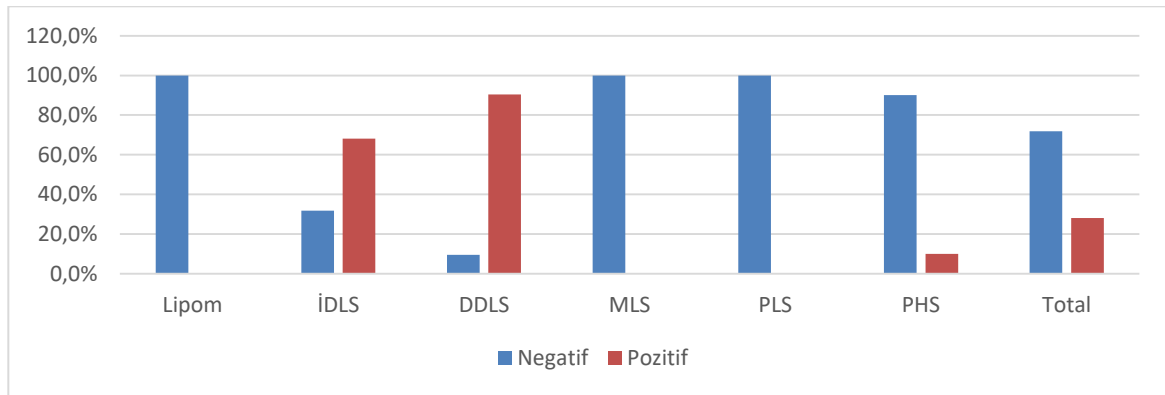
MDM2 tüm boyanma oranlarını dikkate aldığımızda tüm olguların 35’inde (%36,8) pozitif ve 60’ında (%63,2) negatifti. MDM2 ile boyanma İDLS ve DDL S olgularında oldukça belirgin iken lipom, MLS ve PLS olgularında boyanma izlenmedi. Pleomorfik sarkom olgularından ise sadece birinde (%10) seyrek tümör hücresinde pozitif boyanma elde edildi (Tablo 14, Şekil 13). MDM2 ile pozitif ve negatif boyanan tümör alt tipleri arasında istatistiksel olarak oldukça güçlü anlamlı ilişki saptandı ($p<0,001$).

MDM2'nin İDLS veya DDLS ayırıcı tanısındaki duyarlılığı (*sensitivitesi*) %79, özgüllüğü (*spesifitesi*) %98, *pozitif prediktif değeri* (PPD) %97 ve *negatif prediktif değeri* (NPD) %85 olarak hesaplandı.

Tablo 14: Tanı gruplarında MDM2 nükleer boyanması oranları dağılımı

			MDM2 Boyanması		
			Negatif	Pozitif	Toplam
Tanı	LİPOM	n %	28 100	- -	28 100
	IDLS	n %	7 31,8	15 68,2	22 100
	DDLS	n %	2 9,5	19 90,5	21 100
	MLS	n %	6 100	- -	6 100
	PLS	n %	8 100	- -	8 100
	PHS	n %	9 90	1 10	10 100
Toplam		n %	60 63,2	35 36,8	95 100

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom



Şekil 13: Tanı gruplarında MDM2 nükleer boyanması oranları dağılımı

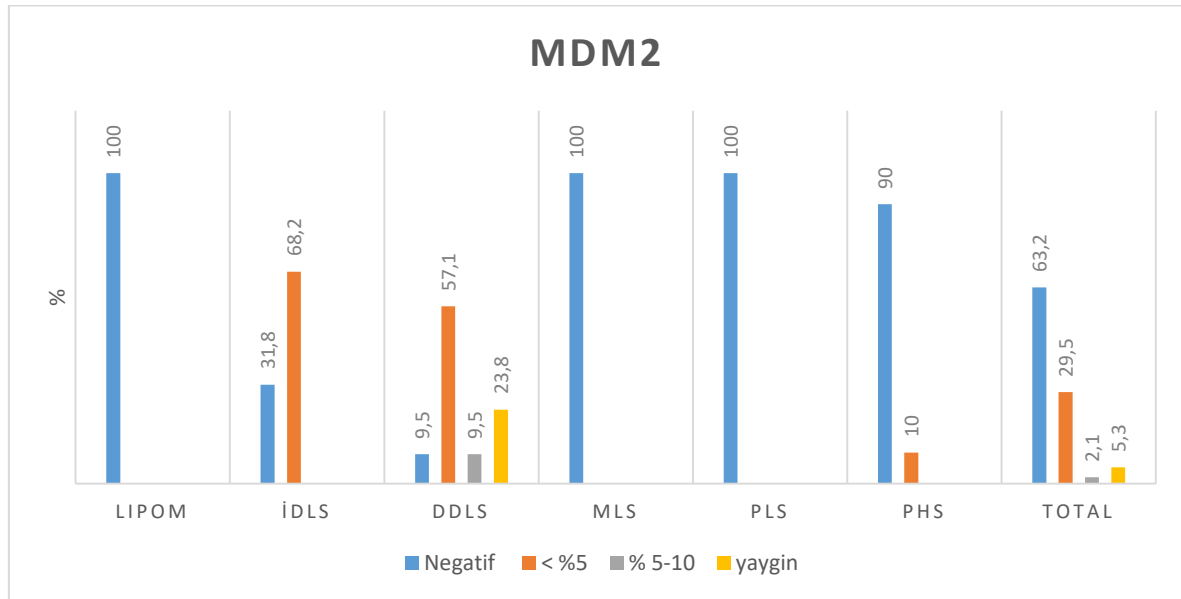
Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Tümör alt tiplerindeki MDM2 ile boyanma yoğunlukları incelendiğinde İDLS olgularında izlenen MDM2 pozitifliğinin tümü %5 tümör hücresinden az idi. Dediferansiye LiSa olgularında ise olguların 12'sinde (%57,1) %5'ten az tümör hücresinde boyanma izlenirken, iki (%9,5) olguda %5-10 oranında; beşinde (%23,8) ise tümör hücrelerinin %10'dan fazlasında boyanma saptandı. İyi diferansiye LiSa ve DDLS arasındaki bu boyanma yoğunluğu farkı istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (p=0,018). Tümör alt tiplerine göre MDM2 ile boyanma oranları Tablo 15 ve Şekil 14'de verilmiştir.

Tablo 15: Tümör alt tiplerinin MDM2 ile boyanma oranları dağılımları

Tanı	Boyanma Oranları (%)			
	Negatif	<%5	%5-10	>%10
DDLS	9,5	57,1	9,5	23,8
İDLS	31,8	68,2	-	-
Lipom	100	-	-	-
MLS	100	-	-	-
PHS	90	10	-	-
PLS	100	-	-	-
Toplam	63,2	29,5	2,1	5,3

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom



Şekil 14: Tümör alt tiplerinin MDM2 ile boyanma yoğunlukları dağılımları

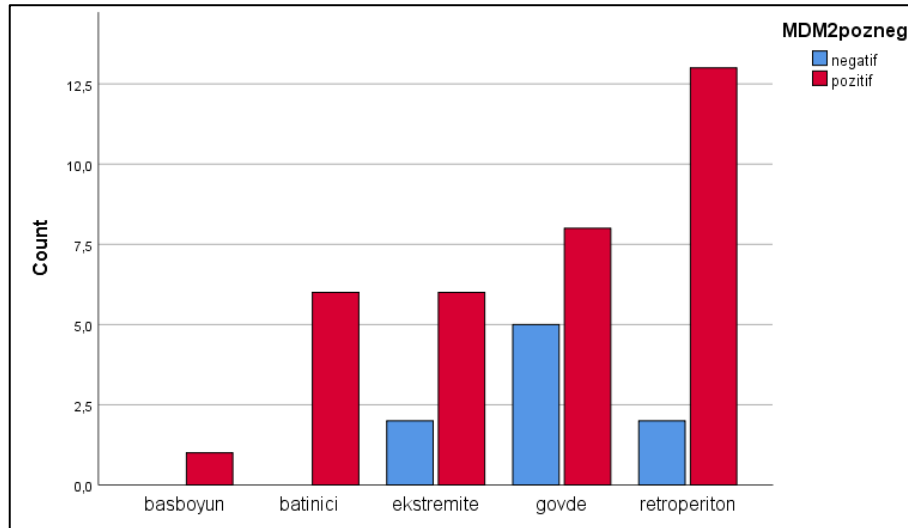
Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Dediferansiye LiSa olgularında tümör derecesi ile MDM2 boyanma yoğunluğu karşılaştırıldığında derece II tümörlerin 9/12'si (%75) %5 hücreden daha az boyanma gösterirken derece III tümörlerin 3/9'u (%33,3) %5 hücreden az, 4/9'u (%44,4) ise %10 hücreden daha fazla MDM2 pozitifliği göstermekte idi (Tablo 16). Ancak bu boyanma farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,216$).

Tablo 16: Dediferansiye liposarkom olgularında farklı tümör derecelerindeki MDM2 boyanma yoğunlukları

			MDM2 Boyanma Yoğunlukları				Toplam
			Negatif	<%5	%5-10	>%10	
Tümör Derecesi	2	n %	1 8,3	9 75,0	1 8,3	1 8,3	12 100
	3	n %	1 11,1	3 33,3	1 11,1	4 44,4	9 100
Toplam		n %	2 9,5	12 57,1	2 9,5	5 23,8	21 100

MDM2 boyanmasını İDLS ve DDLS olgularında tümör lokalizasyonları ile karşılaştırdığımızda lokalizasyon ile MDM2 boyanması arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,301$) (Şekil 15).



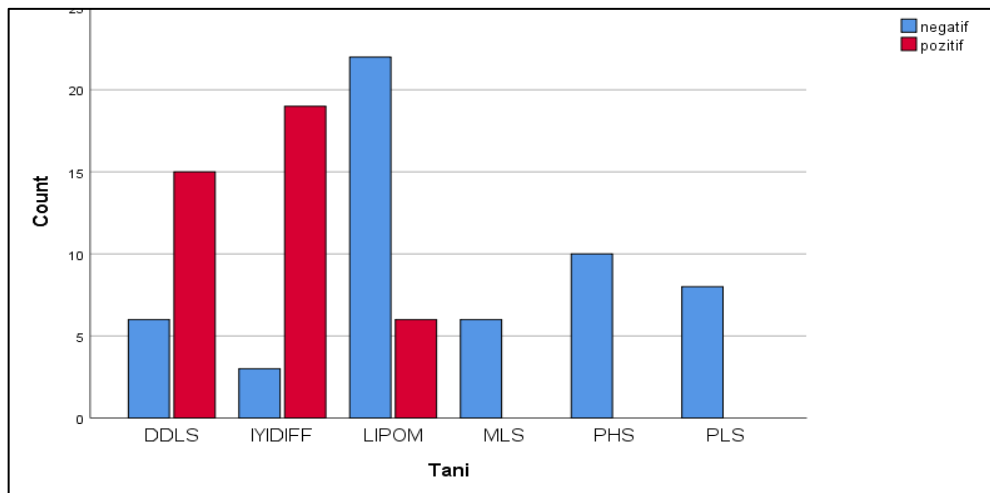
Şekil 15: İyi diferansiye LiSa ve DDLS gruplarında farklı tümör lokalizasyonlarındaki MDM2 immunreaktivitesi

4.8.2. CDK4

Çalışmamızda CDK4 ile tümör hücrelerinde hem nükleer hem sitoplazmik boyanmalar olduğu görüldü. Literatür bilgisi ışığında CDK4'ün nükleer boyanmaları dikkate alındığında CDK4 primer antikoru ile tüm tümörlerin 40'ında (%42,1) pozitif boyanma izlendi; 55 (%57,9) tümör ise CDK4 ile negatif idi. Tümör alt tipleri açısından değerlendirdiğimizde İDLS olgularının 19/22'sinde (%86,4) ve DDLS olgularının 15/21'inde (%71,4) seyrek tümör hücresi boyanmasından yaygın boyanmaya kadar değişen oranlarda nükleer immunreaktivite saptandı. Benign lipomatöz tümörler içerisinde altı (%21,4) olguda izlenen CDK4 pozitifliği, MLS, PLS ve PHS'lerin hiçbirinde saptanmadı (Şekil 16, Tablo 17). CDK4 ile pozitif ve negatif boyanan tümör alt tipleri arasında istatistiksel olarak oldukça güçlü anlamlı ilişki saptandı ($p<0,001$).

Lipomlardaki boyanmalar değerlendirildiğinde pozitiflik saptanan altı olgunun ikisinin (%33,3) lipoblastom olduğu (çalışmamızda bulunan üç lipoblastom olgusunun ikisi), birinin travmatik yağ nekrozu bulguları içerdiği görüldü. İki lipom olgusunda ise nadir tek hücre boyanmaları şeklinde immunpozitiflik izlendi. Lipoblastom olgularında sitoplazmik CDK4 boyanması izlenmez iken, lipom olgularında nükleer CDK4 boyanmalarına sitoplazmik boyanmaların da eşlik ettiği görüldü.

CDK4'ün İDLS veya DDLS ayırıcı tanısındaki duyarlılığı (*sensitivitesi*) %79, özgüllüğü (*spesifitesi*) %92, *pozitif prediktif değeri* (PPD) %89 ve *negatif prediktif değeri* (NPD) %83 olarak hesaplandı.



Şekil 16: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma dağılımları

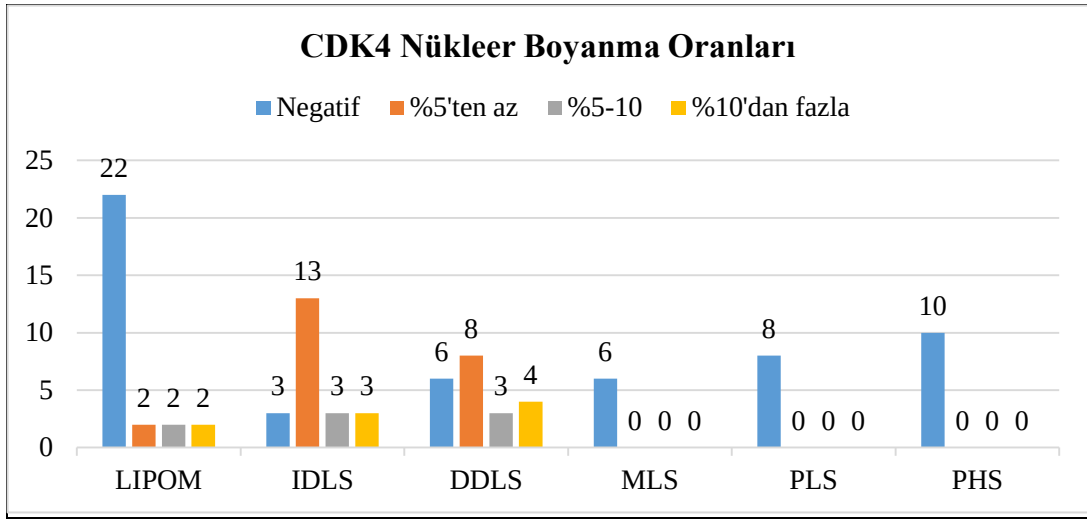
Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Tablo 17: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma dağılımları

			CDK4 Nükleer Boyanması		
			Negatif	Pozitif	Toplam
Tanı	LIPOM	n	22	6	28
		%	78,6	21,4	100
	IDLS	n	3	19	22
		%	13,6	86,4	100
	DDLS	n	6	15	21
		%	28,6	71,4	100
	MLS	n	6	-	6
		%	100	-	100
	PLS	n	8	-	8
		%	100	-	100
	PHS	n	10	-	10
		%	100	-	100
Toplam		n	55	40	95
		%	57,9	42,1	100

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Tümör alt tiplerindeki CDK4 ile boyanma yoğunlukları incelendiğinde İDLS olgularında izlenen CDK4 pozitifliğinin büyük kısmı (%59,1) %5'in altında idi. Dediferansiye LiSa olgularında ise olguların sekizinde (%38,1) %5'ten az oranda boyanma izlenirken, üç (%14,3) olguda %5-10 oranında; dördünde (%19,1) ise tümör hücrelerinin %10'dan fazlasında boyanma saptandı. İyi diferansiye LiSa ve DDLS arasındaki bu boyanma yoğunluğu farkı istatistiksel olarak da anlamlı bulunmakla birlikte (p=0,018) sadece CDK4 ile boyanma gösteren lipom, İDLS ve DDLS grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde boyanma yoğunluğu açısından istatistiksel olarak bir fark saptanmadı (p=0,711). Tümör alt tiplerine göre CDK4 ile boyanma oranları Şekil 17 ve Tablo 18'de verilmiştir.



Şekil 17: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma yoğunlukları

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Tablo 18: Tümör alt tiplerinde CDK4 boyanma yoğunlukları

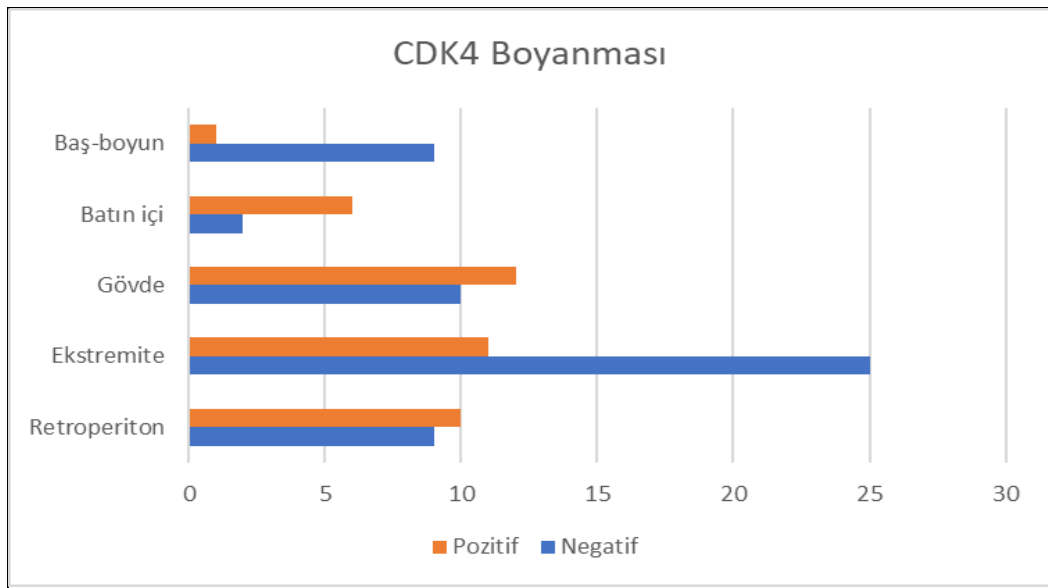
			CDK4 Nükleer Boyanma Yoğunlukları				
			Negatif	<%5	%5-10	>%10	Toplam
TANI	LIPOM	n	22	2	2	2	28
		%	78,6	7,1	7,1	7,2	100
	IDLS	n	3	13	3	3	22
		%	13,6	59,1	13,6	13,6	100
	DDLS	n	6	8	3	4	21
		%	28,6	38,1	14,3	19,1	100
	MLS	n	6	-	-	-	6
		%	100	-	-	-	100
	PLS	n	8	-	-	-	8
		%	100	-	-	-	100
	PHS	n	10	-	-	-	10
		%	100	-	-	-	100
Toplam		n	55	23	8	9	95
		%	57,9	24,2	8,4	9,5	100

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

CDK4'ün nükleer boyanması tek başına tümör lokalizasyonu ile karşılaştırıldığında retroperiton ve gövde yerleşimli tümörlerde diğer lokalizasyonlara göre daha fazla CDK4 boyanması olduğu saptanmış (Tablo 19, Şekil 18) ve bu sonuç istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p=0,17$).

Tablo 19: Lokalizasyonlara göre CDK4 Boyanma Oranları

			CDK4 Nükleer Boyanması		
			Negatif	Pozitif	Toplam
Lokalizasyon	Retroperiton	n %	9 47,4	10 52,6	19 100
	Ekstremitte	n %	25 69,4	11 30,6	36 100
	Gövde	n %	10 45,5	12 54,5	22 100
	Batın içi	n %	2 25	6 75	8 100
	Baş-boyun	n %	9 90	1 10	10 100
Toplam		n %	55 57,9	40 42,1	95 100



Şekil 18: Lokalizasyonlara göre CDK4 Boyanma Oranları

Dediferansiye LiSa olgularında tümör derecesi ile CDK4 boyanması karşılaştırıldığında derece II tümörlerin 5/12'si (%41,7) %5 hücreden daha az boyanma gösterirken 3/12'si (%25) %10 hücreden daha fazla boyanma göstermekte idi. Derece III tümörlerin ise 3/9'u (%33,3) %5 hücreden az, sadece biri (%11,1) ise %10 hücreden daha fazla CDK4 pozitifliği göstermekte idi (Tablo 20).Ancak karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,698).

Tablo 20: Dediferansiye LiSa olgularında Tümör Derecesi ile CDK4 Boyanma Yoğunluğu Karşılaştırması

			CDK4 Boyanma Yoğunluğu				
			Negatif	<%5	%5-10	>%10	Toplam
Tümör Derecesi	2	n	3	5	1	3	12
		%	25	41,7	8,3	25	100
	3	n	3	3	2	1	9
		%	33,3	33,3	22,2	11,1	100
Toplam		n	6	8	3	4	21
		%	28,6	38,1	14,3	19	100

4.8.3. p16

Çalışmamızda p16 primer antikoru ile tümör hücrelerinde hem nükleer hem sitoplazmik boyanmalar saptandı. Literatür bilgileri ışığında p16 boyanmalarında sadece nükleer pozitiflikler istatistiksel değerlendirmeye alındı.

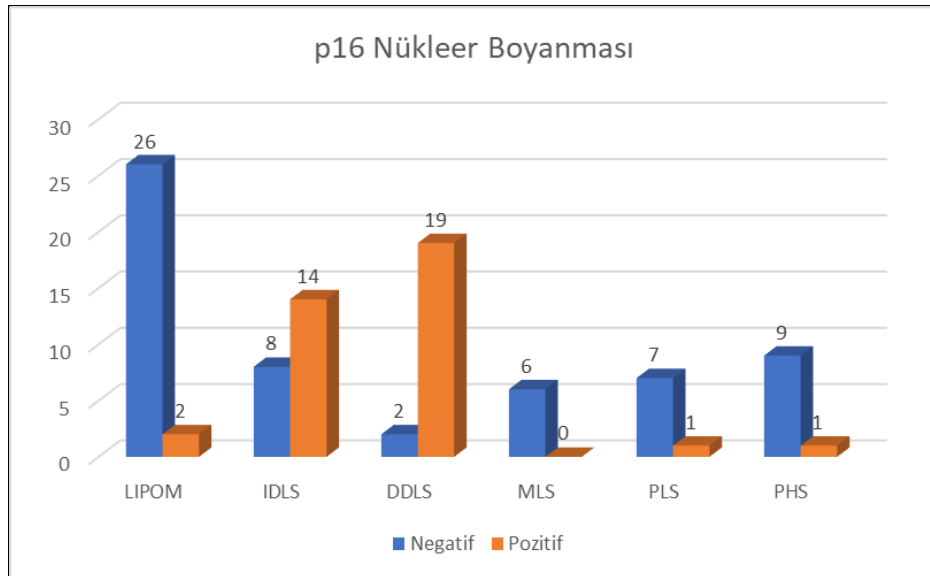
p16 primer antikoru ile tüm tümörlerin 37'inde (%38,9) pozitif boyanma görüldü; 58 (%61,1) tümör ise p16 ile negatif idi. Tümör alt tipleri açısından değerlendirdiğimizde İDLS olgularının 19/22'sinde (%86,4) ve DDLS olgularının 15/21'inde (%71,4) seyrek tümör hücresi boyanmasından yaygın boyanmaya kadar değişen oranlarda nükleer immunreaktivite saptandı (Tablo 21, Şekil 19). Benign lipomatöz tümörler içinde iki (%7,1) olguda ve bir PLS (%12,5) olgusunda seyrek nükleer p16 pozitifliği izlendi. Ayrıca bir PHS (%10) olgusunda fokal nükleer p16 pozitifliği saptandı. Miksoid LiSa'ların hiçbirinde p16 boyanması görülmedi. p16 primer antikoru ile pozitif ve negatif boyanan tümör alt tipleri arasında istatistiksel olarak oldukça güçlü anlamlı ilişki saptandı (p<0,001).

p16'nın İDLS veya DDLS ayırıcı tanısındaki duyarlılığı (*sensitivitesi*) %77, özgüllüğü (*spesifitesi*) %92, *pozitif prediktif değeri* (PPD) %89 ve *negatif prediktif değeri* (NPD) %83 olarak hesaplandı.

Tablo 21: p16'nın tümör tipleri arasındaki nükleer boyanma dağılımları

			p16 Nükleer Boyanması		
			Negatif	Pozitif	Toplam
TANI	LIPOM	n %	26 92,9	2 7,1	28 100
	IYIDIFF	n %	8 36,4	14 63,6	22 100
	DDLS	n %	2 9,5	19 90,5	21 100
	MLS	n %	6 100,0	- -	6 100
	PLS	n %	7 87,5	1 12,5	8 100
	PHS	n %	9 90	1 10	10 100
Toplam		n %	58 61,1	37 38,9	95 100

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom



Şekil 19: p16'nın tümör tipleri arasındaki nükleer boyanma dağılımları

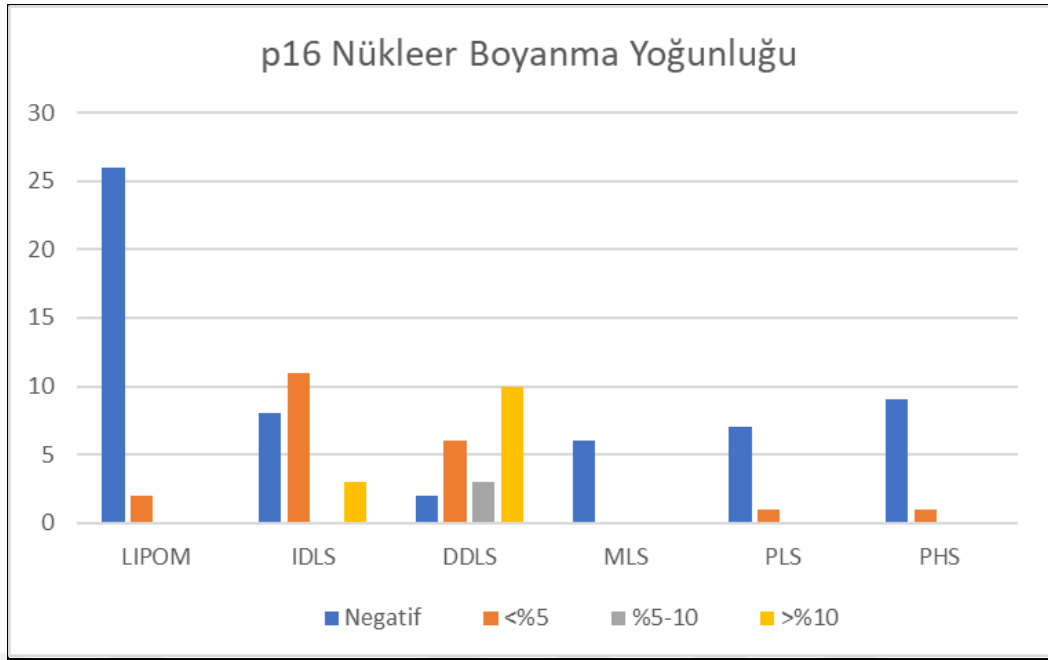
Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Tümör alt tiplerindeki p16 ile boyanma yoğunlukları incelendiğinde İDLS olgularında izlenen p16 pozitifliğinin büyük kısmı (%50) %5 tümör hücresinden az idi. Dediferansiye LiSa olgularında ise olguların altısında (%28,6) %5'ten az tümör hücresinde boyanma izlenirken, üç (%14,3) olguda %5-10 oranında; 10 olguda (%47,7) ise tümör hücrelerinin %10'dan fazlasında boyanma saptandı. Benign lipomatöz tümörlerin ikisinde %5 hücreden daha azında p16 pozitifliği izlendi. İyi diferansiye LiSa ve DDLS arasındaki bu boyanma yoğunluğu farkı istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p<0,001$). Tümör alt tiplerine göre p16 ile boyanma yoğunluklarının dağılımları Tablo 22 ve Şekil 20'de verilmiştir.

Tablo 22: p16 antikorunun tümör tipleri arasındaki boyanma yoğunlukları dağılımı

			p16 Nükleer Boyanma Yoğunlukları				
			Negatif	<%5	%5-10	>%10	Toplam
TANI	LIPOM	n	26	2	-	-	28
		%	92,9	7,1	-	-	100
	IDLS	n	8	11	-	3	22
		%	36,4	50	-	13,6	100
	DDLS	n	2	6	3	10	21
		%	9,5	28,6	14,3	47,7	100
	MLS	n	6	-	-	-	6
		%	100	-	-	-	100
	PLS	n	7	1	-	-	8
		%	87,5	12,5	-	-	100
	PHS	n	9	1	-	-	10
		%	90	10	-	-	100
Toplam		n	58	20	4	13	95
		%	61,1	21,1	4,2	13,7	100

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

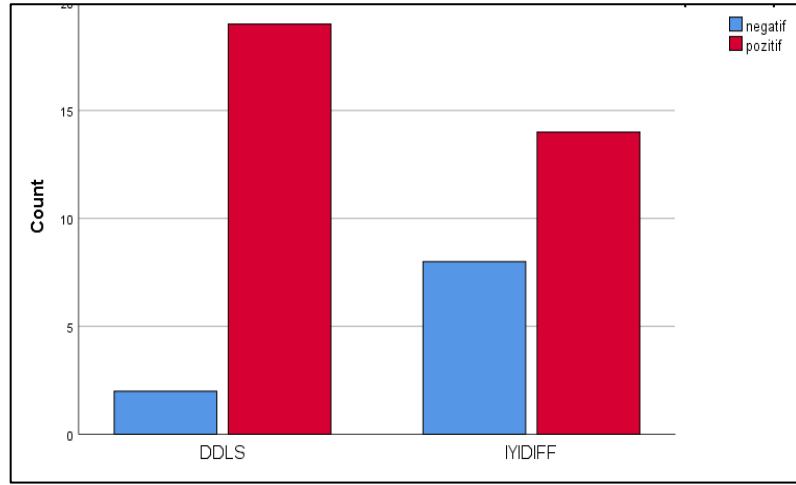


Şekil 20: p16 antikorunun tümör tipleri arasındaki boyanma yoğunlukları dağılımı

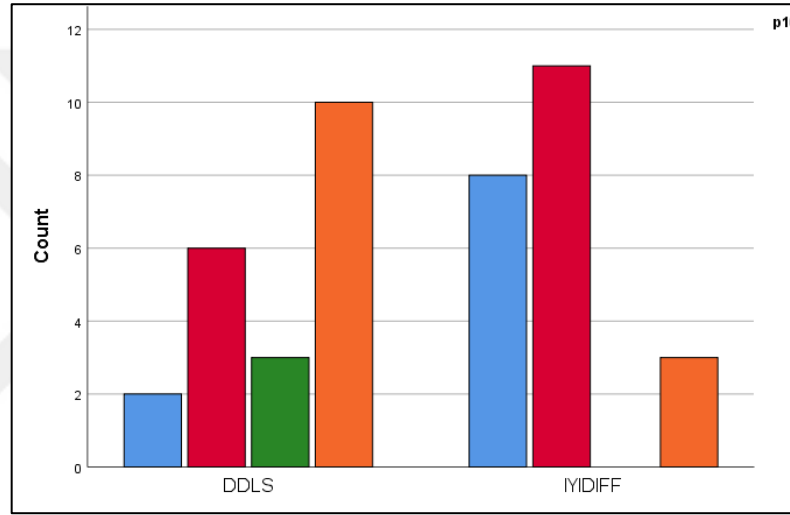
Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom,

MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom

Bununla birlikte p16 ile anlamlı boyanma gösteren İDLS ve DDLS grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde boyanma oranları ve boyanma yoğunlukları açısından da istatistiksel olarak bir fark saptandı ($p=0,041$ ve $p=0,008$). Dediferansiye LiSa'da (19/21, %90,5) İDLS'a (14/22, %63,6) göre belirgin olarak p16 boyanması fazla idi. İyi diferansiye LiSa grubunda p16 ile nükleer boyanma %50 olguda (11/22) %5 tümör hücresinden daha az iken, DDLS grubunda tümörlerin %47,7'sinde (10/21) %10 tümör hücresinden daha fazlasında p16 ile pozitif boyanma olduğu görüldü (Şekil 21).



■ pozitif, ■ negatif



■ negatif ■ %5'den az, ■ %5-10, ■ %10'dan fazla

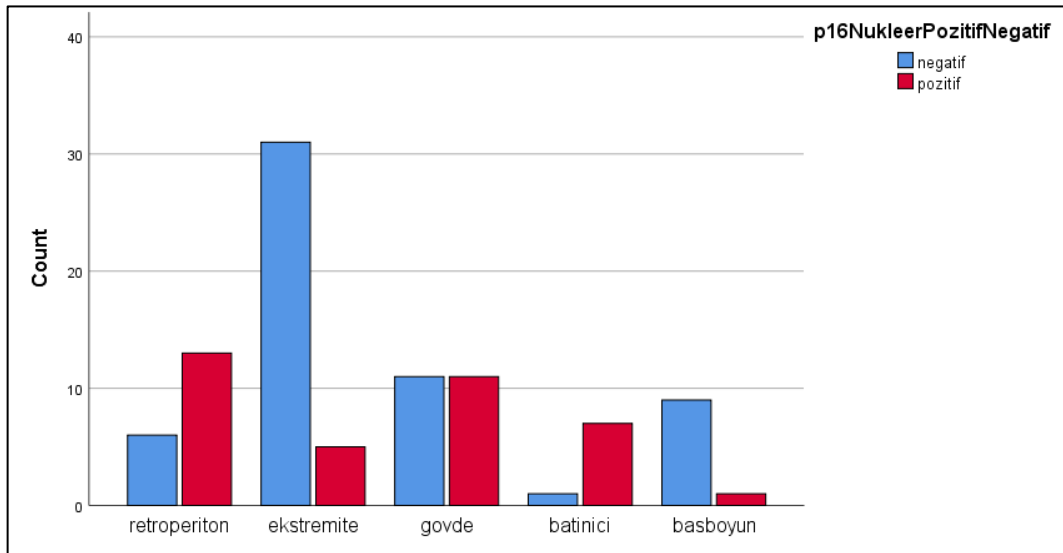
Şekil 21: p16 antikorunun İDLS ve DDLS gruplarındaki boyanma oran ve yoğunluk dağılımları

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom

p16 nükleer boyanması tek başına tümör lokalizasyonu ile karşılaştırıldığında retroperiton ve batin içi yerleşimli tümörlerde diğer lokalizasyonlara göre daha fazla p16 boyanması olduğu saptandı (Tablo 23, Şekil 22) ve bu sonuç istatistiksel olarak da güçlü anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

Tablo 23: Lokalizasyonlara göre p16 boyanma oranları

		,p16 Nükleer Boyanması		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Lokalizasyon	Retroperiton	6 31,6	13 68,4	19 100
	Ekstremitte	31 86,1	5 13,9	36 100
	Gövde	11 50	11 50	22 100
	Batın içi	1 12,5	7 87,5	8 100
	Baş-boyun	9 90	1 10	10 100
Toplam		58 61,1	37 38,9	95 100

**Şekil 22:** Lokalizasyonlara göre p16 boyanma oranları

Dediferansiye LiSa olgularında tümör derecesi ile p16 boyanması karşılaştırıldığında derece II tümörlerin 4/12'si (%33,3) %5 hücreden daha az boyanma gösterirken aynı oranda derece II DDLS'da (4/12, %33,3) %10'dan fazla tümör hücresinde pozitif boyanma görüldü. Derece III tümörlerin ise 2/9'u (%22,2) %5 hücreden az, biri (%11,1) ise %5-10 hücre, altısı (%66,7) ise %10'dan fazla tümör hücresinde p16 pozitifliği göstermekte idi (Tablo 24). Ancak DDLS grubunda tümör dereceleri ile yapılan istatistiksel karşılaştırmada anlamlı fark saptanmadı (p=0,387).

Tablo 24: Dediferansiye LiSa olgularında tümör derecesi ile CDK4 boyanma yoğunluğu karşılaştırması

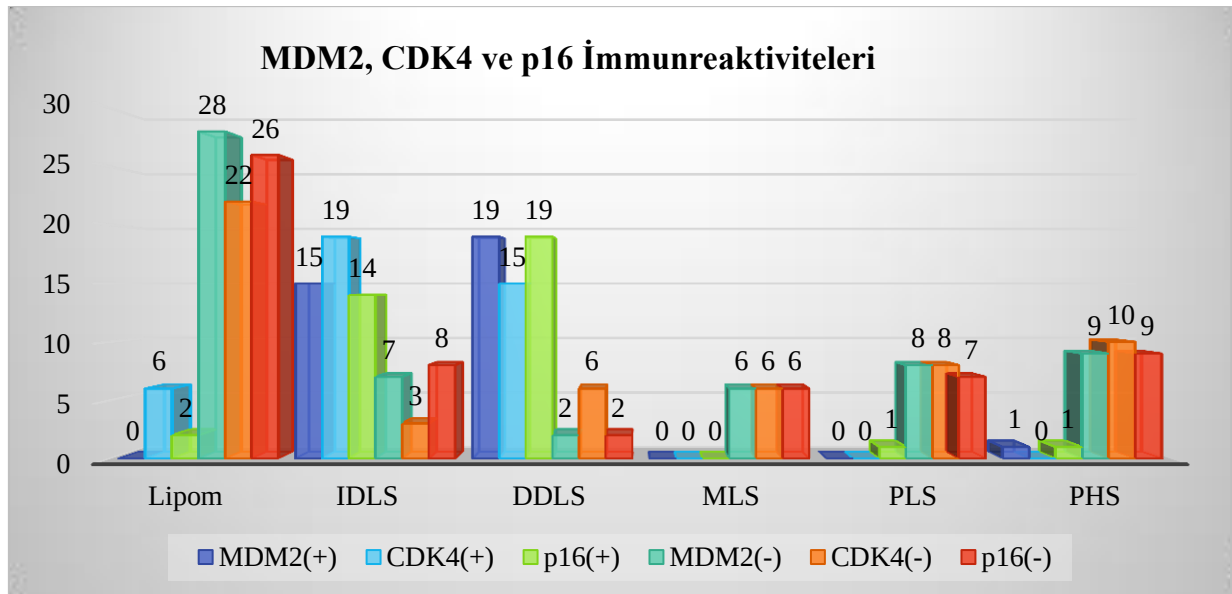
			p16 Boyanma Yoğunluğu				
			Negatif	<%5	%5-10	>%10	Toplam
Tümör Derecesi	2	n %	2 16,7	4 33,3	2 16,7	4 33,3	12 100
	3	n %	- -	2 22,2	1 11,1	6 66,7	9 100
Toplam		n %	2 9,5	6 28,6	3 14,3	10 47,6	21 100

Yapılan her üç immunohistokimyasal incelemenin tümü bir arada değerlendirildiğinde tümör alt tiplerine göre boyanma oranları Tablo 25 ve Şekil 23'deki gibidir.

Tablo 25: Her üç primer antikorun tümör alt tiplerindeki boyanma oranları dağılımları

Tanı		Negatif			Pozitif		
		MDM2	CDK4	p16	MDM2	CDK4	p16
Lipom	n	28	22	26	-	6	2
	%	100	78,6	92,9	-	21,4	7,1
İDLS	n	7	3	8	15	19	14
	%	31,8	13,6	36,4	68,2	86,4	63,6
DDLs	n	2	6	2	19	15	19
	%	9,5	28,6	9,5	90,5	71,4	90,5
MLS	n	6	6	6	-	-	-
	%	100	100	100	-	-	-
PLS	n	8	8	7	-	-	1
	%	100	100	87,5	-	-	12,5
PHS	n	9	10	9	1	-	1
	%	90	100	90	10	-	10
Total	n	60	55	58	35	40	37
	%	63,2	57,9	61,1	36,8	42,1	38,9

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLs= Dediferansiye liposarkom, MLS= Miksoid liposarkom, PLS= Pleomorfik liposarkom, PHS= Pleomorfik hücreli sarkom



Şekil 23: Her üç primer antikorun tümör alt tiplerindeki boyanma oranları dağılımları

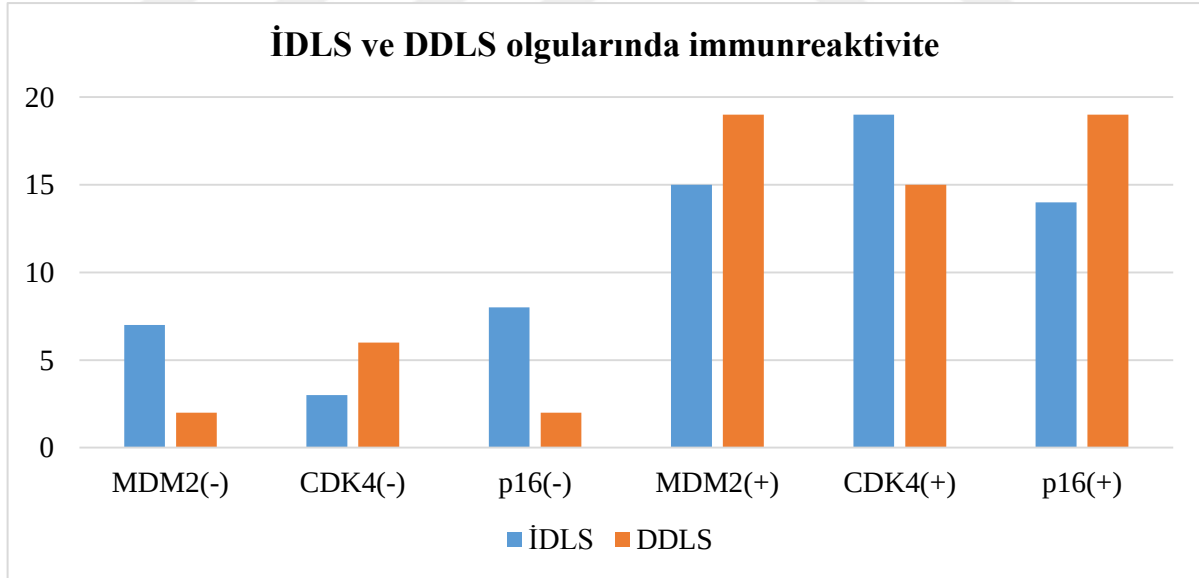
4.9. İyi Diferansiye Liposarkom ve Dediferansiye Liposarkomlarda İmmunreaktivite Karşılaştırması

Sadece İDLS ve DDLS grupların ele alındığında DDLS grubunda MDM2 ve p16'nın CDK4'e göre daha yüksek oranda boyandığı, İDLS grubunda ise CDK4'ün daha yüksek oranda pozitiflik verdiği görüldü (Tablo 26 ve Şekil 24).

Tablo 26: İDLS ve DDLS grubunda MDM2, CDK4 ve p16 immunreaktivitesi

		Negatif			Pozitif		
Tanı		MDM2	CDK4	p16	MDM2	CDK4	p16
İDLS	n	7	3	8	15	19	14
	%	31,8	13,6	36,4	68,2	86,4	63,6
DDLS	n	2	6	2	19	15	19
	%	9,5	28,6	9,5	90,5	71,4	90,5

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom



Şekil 24: İDLS ve DDLS grubunda MDM2, CDK4 ve p16 immunreaktivitesi

Kısaltmalar: İDLS= İyi diferansiye liposarkom, DDLS= Dediferansiye liposarkom

4.10. İmmunhistokimyasal Belirleyicilerin İyi Diferansiye ve Dediferansiye Liposarkom Ayırıcı Tanısındaki Rolü

Çalışmamızda yer alan üç immunohistokimyasal belirleyicinin İDLS ve DDLS gruplarında güçlü pozitiflik oranları göz önüne alındığında ayırıcı tanıda kullanılabilecek değerli belirleyiciler oldukları sonucuna varılabilir. Her üç belirleyicinin İDLS ve DDLS tanısına katkılarını ortaya koymak amacı ile duyarlılık (sensitivite), özgüllük (spesifite), pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) ve tahmini rölatif risk (Odds ratio) değerleri hesaplandı. Bu değerler Tablo 27’de sunulmuştur.

Tablo 27: İmmunhistokimyasal belirleyicilerin İDLS ve DDLS ayırıcı tanısındaki rolleri

	Duyarlılık (Sensitivite)	Özgüllük (Spesifite)	Pozitif Prediktif Değer	Negatif Prediktif Değer	Odds Ratio (Göreceli olasılıklar oranı) (Tahmini rölatif risk)
MDM2	%79	%98	%97	%85	192,7
CDK4	%79	%92	%89	%83	42,5
p16	%77	%92	%89	%83	39,6

Üç immunohistokimyasal belirleyicinin farklı kombinasyonlar ile kullanılması durumunda ayırıcı tanıdaki değerinin artabileceği öngörüsü ile ikili ve üçlü kombinasyon değerlendirmeleri araştırıldı. İkili ve üçlü kombinasyon değerlendirmelerinde tümörler yalnızca tüm belirleyiciler ile boyanmalarını durumunda immunoreaktif olarak kabul edildi. Sadece bazı belirleyiciler ile boyanan tümörler negatif kabul edilerek duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değerleri (NPD) hesaplandı (Tablo 28).

Tablo 28’den de görülebileceği gibi MDM2, CDK4 ve p16 immunohistokimyasal belirleyicilerinin bir arada kullanılması durumunda İDLS ve DDLS ayırıcı tanısındaki özgüllük ve pozitif prediktif değerlerini arttırmakta ve %100’e ulaşmaktadır. İkili kombinasyonlar ve üçlü kombinasyon arasında bu anlamda belirgin bir fark gözlenmemiştir.

Tablo 28: İmmunhistokimyasal belirleyicilerin birarada kullanılması durumunda İDLS ve DDLS ayırıcı tanısındaki rolleri

	Duyarlılık Sensitivite	Özgüllük Spesifite	Pozitif Prediktif Değer	Negatif Prediktif Değer
MDM2 + CDK4	%67	%100	%100	%79
MDM2 + p16	%67	%100	%100	%79
CDK4 +p16	%63	%100	%100	%76
MDM2 + CDK4 + p16	%58	%100	%100	%74

5. TARTIŞMA

Liposarkom, yumuşak doku tümörleri arasında en sık izlenen malign tümör olup, erişkin sarkomlarının %9,8-16 kadarını oluşturmaktadır (35). Klinik seyirleri açısından bakıldığında düşük dereceli liposarkomların nüks potansiyelli oldukları ancak metastaz yapma ihtimallerinin düşük olduğu, yüksek dereceli liposarkomların ise daha agresif klinik gidiş gösterdikleri bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü 2013 sınıflamasında dört alt grupta incelenen liposarkomdan ATL/İDLS en sık izlenen alt tipi oluşturmaktadır. Diğer liposarkom alt tipleri DDLS, MLS ve PLS'dur.

Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye LiSa ve DDLS'nin ayırıcı tanısı, patoloğların günlük pratiklerinde karşılaştığı zorluklardan biridir. Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye LiSa'lar ile benign adipositik tümörler arasında veya DDLS'ler ve diğer sarkomlar arasındaki ayırıcı tanı, prognoz veya tedavideki farklılıklar nedeniyle oldukça önemlidir (14). Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye LiSa tanısında lipom benzeri matür adipositik proliferasyonda lipositler arası boyut farkı, yağ lobülleri arasındaki fibröz septumların kalınlaşması görülür. Tanıda histopatolojik incelemede lipoblast varlığının gösterilmesi altın standart olmakla birlikte lipoblast varlığını histopatolojik düzeyde ortaya koyabilmek her zaman mümkün olmayabilir. Klinik-radyolojik bulgular eşliğinde histopatolojik bulguların değerlendirilmesi önemlidir. ALT/İDLS'nin matür yağ dokuya benzeyebilmesi ve yine benign lipomatöz tümörlerdeki yağ nekrozu, granülomlar, travmaya sekonder değişiklikler gibi bazı morfolojik sapmalar nedeni ile tanıda zorluklar yaşanabilmesi kaçınılmazdır. Yine silikon granülomları, tümefaktif ekstramedüller hematopoez alanları, derin yerleşimli veya büyük çaplı lipomlar, fibrolipomlar yanısıra iç hücreli ve pleomorfik lipomlar da ALT/İDLS ile karıştırılabilir (130,131). Oysa ki ALT/İDLS düşük metastaz potansiyelli, lokal agresif gidiş gösteren bir tümördür. Dediferansiasyon riski ve metastaz potansiyeli de olması nedeni ile ALT/İDLS'nin lipomlardan ayırt edilmesi gereklidir.

Dediferansiye liposarkom ise en az %40 olguda lokal nüksetme eğilimi ile karakterizedir. Beş yıllık takiplerde olguların mortalite oranı %28-30 arasında ve uzak metastaz oranı %15-20 olarak gözlenmiştir (2,9,44,61,62). Dediferansiye LiSa morfolojik olarak non-lipojenik görünümlü bir sarkom morfolojisinde olup, %90'ı de novo gelişmesi sebebi ile özellikle diğer sarkom tiplerinden ayırımında zorluklar yaratmaktadır. Dediferansiye LiSa çoğu zaman dediferansiye bir iç hücreli/pleomorfik sarkom olarak ortaya çıkmakla birlikte çok çeşitli morfolojik görünümlere sahip olabilir. İndiferan

pleomorfik sarkom görünümlü alanlar, pleomorfik görünümlü karsinom benzeri alanlar yanısıra düşük dereceli dediferansiasyon alanlarında fibromatozis, düşük dereceli fibromiksoid sarkom gibi düşük dereceli işi hücreli sarkom alanları ve hipertorfik skar ya da fibrozis benzeri nontümöral lezyon benzeri alanlar izlenebilir. Andiferansiye pleomorfik sarkom, miksofibrosarkom ve ayrıca heterolog farklılaşma gösteren miyojenik sarkom, kondrosarkom ve osteosarkom ile karıştırılabilir. Diğer adipositik neoplazmlar arasında da prognostik açısından PLS'den ayırt etmek önemlidir. Dediferansiye LiSa, diğer pleomorfik sarkomlardan daha az agresif davranma eğilimindedir (67). Pleomorfik LiSa ise en nadir alt tip olup tüm LiSa'nın yaklaşık %5'ini oluşturmaktadır ve tüm LiSa alt tipleri arasında en agresif gidişli olanıdır.

Liposarkom alt tipleri, morfolojik çeşitliliğini yansıtan farklı klinik gidiş sergilemektedir. Hem MLS hem de ATL/İDLS metastazdan çok lokal rekürrens gösterme eğiliminde iken, PLS ve DDLS akciğer metastazı ve nadiren yaygın metastaz yapabilirler (8). İyi diferansiye LiSa olgularının beş yıllık sağkalım oranı %70 iken, dediferansiye LiSa olgularında ise %30 civarındadır (9).

Tümörlerin ayırıcı tanısında yer alan benign lezyonlar ve daha kötü prognoz verilerine sahip yüksek dereceli malign tümörler nedeni ile özellikle ilk tanı sırasında alınan küçük boyutlu biyopsilerde ayırıcı tanının yapılabilmesi, hastanın tedavi planlamasında da önemli rol oynamaktadır. Tedavide eksizyon sonrası klinik-radyolojik takibin yeterli olduğu ALT/İDLS'nın aksine yüksek dereceli LiSa alt tiplerinde cerrahi eksizyon yanısıra neoadjuvan ve adjuvan tedavilere gereksinim duyulmaktadır. Yukarıdaki sebeplerle bu olgularda doğru tanı ve tiplendirmenin yapılmasının hem hastanın tedavi sürecini yönlendirmede hem de prognoz değerlendirmesinde oldukça önemli olduğu anlaşılmaktadır (50,51). Son yıllarda literatürde bazı LiSa alt tiplerinde hedefe yönelik tedavi seçeneklerini araştıran az sayıda çalışmaya rastlanması da bu konudaki gereksinimi ortaya koymaktadır (48,52).

Son yıllarda liposarkom patogenezi üzerine yapılan çalışmalarda alt tipler arasında farklı moleküler değişiklikler ortaya konmaya başlanmıştır. Tanımlanan sitogenetik değişikliklerin moleküler yöntemlerle ortaya konması tanıya yardımcı yöntemler olarak kullanılabilir. LiSa alt tiplerinden ALT/İDLS ve DDLS'de benzer moleküler değişiklikler tanımlanmıştır. Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye LiSa'da moleküler düzeyde, 12q13-15 bölgesinin amplikonlarını içeren ring ve/veya dev kromozomlar veya farklı yapısal anomaliler gösteren kromozom formları tanımlanmıştır (10,12,48). Bu değişiklikler MDM2 ve CDK4, HMGA2 ve CPM dahil olmak üzere birçok genin amplifikasyonuna neden olur (13,14,72–

78). MDM2 amplifikasyonları, olguların tama yakınında; CDK4 amplifikasyonlarının da %90'ında saptandığı belirtilmektedir (48). Bir çalışmada CDK4 amplifikasyonu ALT/İDLiSa'da %58,9; Dediferansiye LiSa'da %88,2 oranında saptanmıştır (73).

Bu amplifikasyonlar, günümüzde altın standart yöntem olan floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi kullanılarak tespit edilebilir (106). Moleküler yöntemlerden FISH yanısıra polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler yöntemlerle MDM2-CDK4 amplifikasyonunun gösterilmesi tanısal düzeyde oldukça anlamlı yöntemler olarak sunulmaktadır. Ancak FISH ve PCR'ın oldukça amliyetli olması yanısıra inceleme için özel ekipman, denetimli teknisyenlere ihtiyaç duyulmaktadır. Konusunda uzman patoloğlar tarafından değerlendirilmesi gerekliliği de rutin kullanımda kısıtlılıklar yaratmaktadır. Ayrıca benign lezyonlarla ayırıcı tanı zorluğu yaratan lipomatöz tümörlerin oldukça hiposellüler olması nedeni ile histopatolojik olarak tümör dokusunun aynı anda değerlendirilemediği bu tarz tümörlerde FISH ve PCR incelemelerinde zorluklar yaşanması kaçınılmazdır. Alternatif olarak, immünohistokimyasal inceleme tanıda yardımcı daha kolay bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. İmmunhistokimyasal inceleme, tümör dokusunun mikroskop altında aynı anda değerlendirilebilmesi, hızlı ve kolay uygulanabilmesi ve düşük maliyetli olması nedeni ile moleküler yöntemlere alternatif bir yöntemdir (9,10). Literatürde immünohistokimyasal olarak MDM2, CDK4 ve p16 belirteçlerinin liposarkom tanısına katkısının araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu belirleyicilerin kullanımının bir arada değerlendirildiği yayın sayısı ise oldukça azdır (12,13,63).

Çalışmamızda MDM2, CDK4 ve p16 immünohistokimyasal belirleyicilerinin liposarkom tanısına katkılarını araştırmak amacı ile liposarkom alt tiplerinde ve ayırıcı tanıda yer alan benign/malign lipomatöz tümörler ile pleomorfik sarkomlarda İHK'sal olarak tümör hücrelerinde MDM2, CDK4 ve P16'nin protein ekspresyonunu ve bunların klinik-histopatolojik parametreler ile ilişkisini araştırdık.

Çalışmaya 22 (%23,15) İDLS, 21 (%22,10) DDLS, altı (%6,31) MLS, sekiz (%8,42) PLS yanı sıra ayırıcı tanı zorluluğu yaratabilen 28 benign lipomato tümör (derin yerleşimli, büyük çaplı, travmatik veya atipik lipom) ve 10 PHS olgusu dahil edildi.

Cinsiyet

Olguların 55'i (%57,9) erkek ve 40'ı (%42,1) kadın olup Erkek:Kadın oranı 1,37 idi (erkeklerde hafif predominant). Bu bulgu literatür verileri ile benzerlik göstermekte idi (132–135). Atipik lipomatöz tümör/iyi diferansiye LiSa'larda erkek/kadın oranı eşit olmakla birlikte

bazı çalışmalarda hafif erkek üstünlüğü belirtilmektedir. Bizim çalışmamızda da erkeklerde hafifçe daha sık görülmekte idi.

Yaş

Ogura K. ve ark. (134) 2006-2012 arasında Japonya’da yumuşak doku sarkomu tanısı alan 8228 olgunun demografik verilerini, tedavi ve takip bilgilerini araştırdıkları yayınlarında olguların sarkom tanısını ort. 58,3 yaşında aldığını belirtmektedir. Hyo Song Kim ve ark. (133) da 94 liposarkom olgusunda ortalama tanı yaşını 56 olarak bulmuştur. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde ort. tanı yaşı 58,8 olarak saptandı.

Çalışmamızda ALT/İDLS, DDLS ve MLS grupları için ort. tanı yaşı sırasıyla 63,3, 60,5 ve 44,3 olarak saptadık. Ogura K. ve ark. (134) çalışmalarında sırasıyla 62,5, 64,7 ve 50,6 olarak belirtmişlerdir. Pleomorfik sarkom grubunda çalışmamızda saptanan ort. yaş 59,4 olup Ogura K. ve ark.’nın (134) çalışmasında ise 55,3 olarak bildirilmiştir. Agnieszka Harazin ve ark. (132) ise 54 liposarkom olgusunda ortalama tanı yaşını ALT/İDLS’larda 62, DDLS’larda 60,5, MLS’lerde 49 ve PLS’lerde 69 olarak bildirmiştir. Dünya Sağlık Örgütü SÖ 2013 yumuşak doku sarkomları sınıflandırması kitabında (2) liposarkom alt tiplerinde ort. yaş ALT/İDLS için 6. dekad, MLS için 5-6. dekad, PLS için ise 7. dekad olarak belirtilmektedir. Çalışmamızdaki olguların farklı tümör alt tiplerine ait gruplarda saptanan ort. tanı yaşları genel olarak literatür ile uyumlu bulgular göstermektedir.

Lokalizasyon

Ogura ve ark. (134) çalışmalarında 1594 ALT/İDLS olgusunda alt ekstremitte (%53,1) ve gövdeyi (%30,2) en sık yerleşim yeri olarak saptamıştır. Thway K ve ark.’nın (12) yaptığı çalışmada da ALT/İDLS’lerin %54,8’inin uyluk yerleşimli, %19,3’ünün retroperiton ve %19,3’ünün göğüs duvarı yerleşimli olduğunu bildirmişlerdir. Dünya Sağlık Örgütü 2013 yumuşak doku sarkomları sınıflandırması kitabına göre ALT/İDLS’lerin en sık yerleşim yerleri sırasıyla uyluk, retroperiton, paratestiküler alan ve mediasten olarak bildirilmektedir (2). Hyo Song Kim ve ark. (133) alt tipleri ayırmaksızın tüm liposarkomlarda retroperiton (%46,8) ve alt ekstremitteyi (%25,5) en sık lokalizasyon olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda saptadığımız bulgular da genel olarak literatür verileri ile uyum sağlamaktadır (2). Çalışmamızda yer alan bütün tümörler arasında en sık rastlanan lokalizasyon alt ekstremitte (%27,4) olup, retroperiton (%20) ikinci en sık yerleşim yeri olarak saptandı. Tümör alt tiplerinden ALT/İDLS en sık gövde (%45,5) ve ekstremitelerde (%36,6) izlendi.

Çalışmamızda DDLS en sık retroperiton (%61,9), batin içi (%23,8) ve gövdede (%14,3) saptandı. Ogura ve ark. (134) çalışmasında 333 DDLS olgusunda gövde-retroperiton

(%39,9) ve alt ekstremiteleri (%35,1) en sık yerleşim yerleri olarak belirtmektedirler. Thway K ve ark.'larının (12) yaptığı çalışmada ALT/İDLS ve DDLS'ların %77,1'inin retroperiton yerleşimli, %17,5'inin paratestiküler ve inguinal yerleşimli olduğunu bildirmişlerdir. Agnieszka Harazin ve ark. (132), 17 DDLS olgusunun tamamının retroperiton yerleşimli olduğunu bildirmişler, ancak bu yayındaki olgu seçimi veya olgu sayısı azlığından kaynaklı farklılık olabileceğini düşünmekteyiz. Dünya Sağlık Örgütü 2013 yumuşak doku sarkomları sınıflandırması kitabında da DDLS'ların retroperitonda diğer lokalizasyonlara göre beş kat daha sık ortaya çıktığı belirtilmektedir(2). Çalışmamızda saptadığımız bulgular birçok literatür ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda MLS en sık ekstremiteler (%66,7), batin içi (%16,7) ve baş-boyun lokalizasyonunda (%16,7) saptandı. Ogura ve ark.'nın (134) çalışmasında 775 MLS olgusunda, alt ekstremiteler (%64,8), gövde (%24,3) en sık yerleşim yerleri olarak saptanmıştır. Moreau ve ark.'larının (117) yaptığı çalışmada da 418 MLS olgusunda %90,4 tümör alt ekstremiteler ve %6,6 tümör üst ekstremiteler yerleşimli olarak bildirilmiştir. Agnieszka Harazin ve ark. (132) , 20 DDLS olgusunun %95'inin ekstremiteler yerleşimli olduğu saptanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü 2013 yumuşak doku sarkomları sınıflandırması kitabına göre de MLS'ların 2/3'ü uyluk yerleşimlidir (2). Çalışmamızdaki sınırlı sayıdaki MLS olgularımızın bulguları literatür ile uyum göstermektedir.

Çalışmamızda PLS'lar sırasıyla en sık ekstremiteler (%62,5), gövde (%25) ve retroperitonda (%12,5) saptandı. Gardner JM ve ark. (136) çalışmalarında ekstremiteler (%44,1), gövde (%20,58) ve baş-boyunu (%20,8) en sık saptanan lokalizasyon olarak bildirilmiştir. Gebhard ve ark.'nın (8) 63 PLS olgusu içeren çalışmalarında en sık lokalizasyonlar alt ekstremiteler (% 36,5), gövde (%20,5), üst ekstremiteler (%16) ve torakoabdominal (%9,5) duvardır. Dünya Sağlık Örgütü 2013 yumuşak doku sarkomları sınıflandırması kitabına göre PLS'ların 2/3'ü ekstremiteler yerleşimlidir ve göğüs duvarı, retroperiton ve spermatik kord diğer tutulum yerleri olarak bildirilmiştir (2). Bizim bulgularımız da sınırlı sayıdaki olgu sayısına rağmen literatür ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızdaki andiferansiye pleomorfik (hücreli) sarkomlar (PHS) en sık ekstremiteler (%70) ve retroperitonda (%30) saptandı. Ogura ve ark.'nın (134) çalışmasında da benzer şekilde 1613 PHS olgusunda, alt ekstremiteler (%52,8), gövde (%30,5) ve üst ekstremiteler (%11,6) en sık yerleşim yerleri olarak saptanmıştır.

Thway K ve ark.'nın (12) yaptığı çalışmada benign lipomatöz tümörlerin en sık lokalizasyonlarını sırasıyla gövde (%50,4), alt ekstremiteler (%22,6), üst ekstremiteler (%14,7) ve baş-boyun (%12,2) bildirmişlerdir. Çalışmamızda lipomlar en sık ekstremiteler (%42,9),

gövde (%25) ve baş-boyun (%28,6) yerleşimli saptandı. Ancak lipom olgularımızın liposarkom ile ayırıcı tanısı gerekli olan olgular arasından seçilmesi nedeniyle literatürdeki lipom lokalizasyonlarına benzerlik göstermesi beklenmemelidir.

Tümör boyutu

Çalışmamızda ortalama tümör boyutu lipomlar için 8,36 cm ve lipom dışı olgular için 15,7 cm saptandı. Ayrıca ALT/İDLS, DDLS, MLS, PLS ve PHS için sırasıyla 15,7 cm, 19,7 cm, 12 cm, 11,6 cm ve 13,1 cm olarak saptandı. Ogura ve ark.'nın (134) çalışmalarında tümör boyutları ALT/İDLS, DDLS, MLS ve PHS için sırasıyla 14,2 cm, 14,6 cm, 10,7 cm ve 9,2 cm olarak bildirilmiştir. Agnieszka Harazin ve ark. (132) ort. tümör boyutlarını sırasıyla 17,5 cm, 27,4 cm, 14,8 cm ve 18 cm (bir olgu) saptamışlardır. Hyo Song Kim ve ark. (133) alt tipleri ayırmaksızın tüm liposarkomlarda tümör boyutunu ort. 14 cm (2–48) bulmuşlardır. Gebhard ve ark. (8) ise PLS için ort. çapı 10 cm bildirmiştir. Çalışmamızda tümör alt tiplerinde saptanan tümör boyutları bu konuda elde edilen literatür bulguları ile uyum göstermektedir.

Evre ve Derece

Retroperitoneal tümörler, boyutu 20 cm'ye ulaşıncaya kadar klinik olarak bulgu vermeyebilirler. Tümör evresini belirleyen faktörler tümörün en büyük boyutu yanısıra yüzeysel ve derin yerleşimli olmasıdır. Dediferansiasyon ekstremiteler yerleşimli veya yüzeysel tümörlerde nadir görülürken retroperiton yerleşimli tümörlerde daha sık görülmektedir (9,62). Küçük boyutlu ve yüzeysel yerleşimli tümörlerin prognozu büyük boyutlu olanlara göre daha iyidir (137). ALT/İDLS ve DDLS olgularını karşılaştırdığımızda, İDLS olgularının sadece 15/22'si (%68,2) derin yerleşimli ve evre 2b olup 7/22'si (%31,8) yüzeysel yerleşimli saptandı. DDLS olgularının büyük kısmının (%81,0) Evre IIb ve İDLS olgularının büyük kısmının ise (%63,6) Evre IIa olgular olduğu görüldü. Dediferansiye LiSa olgularında tümörün büyük boyut ve derin yerleşimli olması istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p=0,008$). Ogura K ve ark. (134) İDLS'ların %31,1'ini yüzeysel yerleşimli ve %66,1'inin derin yerleşimli, DDLS'lerin ise %25,7'inin yüzeysel, %69,4'ünün derin yerleşimli olduğunu söylemektedir. Thway K ve ark. (12) çalışmalarında İDLS ve DDLS olgularının %77,2'sinin ($n:44/57$) derin yerleşimli ve %22,8'ini yüzeysel yerleşimli saptamışlardır. Bizim bulgularımız literatür ile genel olarak uyumlu bulunmuştur.

Saâda-Bouzid E ve ark. (77) 116 olgu içeren çalışmalarında 48 DDLS olgusunun %9'unun derece I, %57'sinin derece II ve %33'ün ise derece III tümör olduğunu bildirmişlerdir. Kammerer J ve ark. (14) 18 DDLS'un %66,7'sini derece II ve %33,3'ünü

derece III olarak bildirmişlerdir. Ayrıca 20 adet non-adipositik sarkom grubunda %30 derece II ve %70 derece III tümör saptanmıştır. Çalışmamızda tümör dereceleri literatür ile uyum sağlamaktadır.

İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları: Lipomatöz tümörlerin histopatolojik tanısında morfoloji oldukça önemli yer tutmakla birlikte özellikle ALT/İDLS ve DDLS’da tanımlanan moleküler değişikliklere yönelik ayırıcı tanıya destek olabilecek immunhistokimyasal belirleyiciler geliştirilmeye çalışılmaktadır. MDM2, CDK4 ve son yıllarda tanımlanan p16 bu belirleyiciler arasında sayılabilir.

MDM2, tümör supresör gen olan p53’ün negatif bir regülatörünü kodlar. MDM2, bir N-terminal hidrofobik cebin içindeki p53’ün transkripsiyon aktivasyon alanına bağlanır ve p53’e bağlı transkripsiyonu bloke eder (48,76).

Onikinci kromozomun üzerinde yer alan CDK4 geni, G1-S geçişini sağlamak için siklin D ailesi ile kompleksler oluşturan 33-kD’luk bir proteini kodlar (84). CDK4/Siklin D kompleksi pRb’yi fosforile ederek E2F hedef genleri aktive olur ve hücrenin G’den S fazına geçiş ve replikasyonu sağlar (90,91). Ayrıca MDM2 ve CDK4’ün ko-amplifikasyonu p53 ve hücre siklusu üzerindeki kombine etkileri sonucu hücre proliferasyona neden olabilir (88,92).

CDKN2A geninin bir kopyası olan p16Ink4A (p16), CDK4’e bağlanarak hücre döngüsü ilerlemesini inhibe eder. Atipik lipomatöz tümör/İDLS ve DDLS’de hem kantitatif bir yöntem olan ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu ile hem de İHK ile eksprese edildiği gösterilmiş ve sonuç olarak p16 da tanısal bir belirleyici olarak önerilmiştir (98,138).

MDM2 ve CDK4 immunekspresyonunun çalışmalarda gen çoğalması ile korele olarak belirtilmektedir. Ancak MDM2 ve CDK4 belirleyicilerinin ALT/İDLS ve DDLS yanısıra özellikle makrofajlar ve bazı kötü diferansiye sarkomlardaki polizomiler nedeni ile olduğu ileri sürülen immunreaktivitesi nedeni ile değerlendirmede zorluklar yaşanabileceği öne sürülmektedir (65,66,95,96,98). Ayrıca CDK4’ün İHK incelemesinde daha diffüz ve kuvvetli boyanmaya rağmen düşük hassasiyete sahip olduğu, bunun sebebinin bazı İDLS olgularında amplifikasyon saptanmamasına bağlı olabileceği de belirtilmektedir (51). Literatür verilerinde genel olarak MDM2 boyanmasının nükleer olduğu belirtilmektedir. Liposarkom ile ilgili yayınlarda CDK4 ve p16 immunreaktivite değerlendirmelerinde nükleer pozitiflikler kabul edilmektedir, ancak kaynaklarda CDK4 ve p16’nın bazı tümörlerde nükleer ve/veya sitoplazmik olarak eksprese olduğu belirtilmektedir (99,139). Arch V ve ark. (140), iskemik fasiitteki myofibroblastik hücrelerde MDM2, CDK4 ve p16’nın aşırı eksprese

elduğunu ve bu hücrelerin sıradışı proliferasyonuna yol açtığını göstermiştir. Bu çalışmada CDK4 ve p16'nın nükleer ve sitoplazmik boyanma gösterdiği bildirilmiştir. Goel S ve ark. da (138) skuamöz hücreli karsinomda daha yüksek olsa bile, oral liken planusta da sitoplazmik CDK4 ve p16'nın aşırı ekspresyonunu göstermiştir.

Ancak yumuşak doku tümörleri ve liposarkomlar açısından literatüre baktığımızda çoğu verinin sadece nükleer boyanmayı içerdiği ve saptanan sitoplazmik boyanmaların değerlendirme dışı bırakıldığı görülmektedir(51)(13,14,95,135).Biz de bu sebeple çalışmamızda CDK4 ve p16 ile sadece nükleer boyanmaları değerlendirdik.

MDM2: Thway K ve ark. (12) ALT/İDLS olgularında MDM2 ile %80,6 (n:25/31) oranında pozitif boyanma olduğunu ve %19,4 tümörün boyanmadığını göstermişlerdir. Dediferansiye LiSa'ların %76,9'unun (n:30/39) boyandığı; MLS ve PLS'larda ise boyanma olmadığını bildirmişlerdir. Benign lipomatöz tümörlerden lipomların %31'inin (n:18/58) fokal zayıf-orta şiddette boyandığını; fibrolipomların 1/5'inin, intramusküler lipomların 6/23'ünün, iğ hücreli lipomların 3/13'ünün ve pleomorfik lipomların 2/5'inin farklı şiddetlerde MDM2 ile immunreaktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Kammerer J ve ark. (13) MDM2 boyanmasını 19 ALT/İDLS olgusunda %89,4; 18 DDLS olgusunda %100 oranında göstermektedir. Lipomlarda çok düşük %2,2 (n:1/44) olan MDM2 ekspresyonu, diğer nonlipomatöz sarkom (14 PHS, dört miksofibrosarkom, bir malign periferik sinir kılıfı tümörü ve bir osteosarkom) grubunda ise oldukça yüksektir (%70). Bunun nedeni olarak MDM2 immunreaktivitesinin sadece MDM2 gen amplifikasyonunu göstermeyebileceği, aksine polizomi gibi diğer moleküler değişiklikleri de temsil edebileceği ve kesin tanı için FISH yönteminin gerekli olabileceği vurgulanmaktadır.

Binh MBN ve ark. (98), 105 ALT/İDLS ve DDLS olgusunda MDM2 boyanmasını %97 oranında, 49 benign lipomatöz tümörde %5 ve 405 nonlipomatöz tümörde ise %19 oranında bulmuştur. Clay M ve ark. (51) 56 ALT/İDLS olgusunun %45'inde, 125 lipom ve varyanlarının %0,8'inde MDM2 boyanmasını göstermiştir. Alexio F ve ark. (99) 19 ALT/İDLS olgusunun tümünde ve 10 DDLS olgusunun %90'ında bildirmektedir. Ayrıca benign adipositik tümörlerde %41,1 (n:7/17), diğer mezenkimal tümörlerde 29/83 (34,9%) oranında MDM2 pozitifliği saptanmıştır. Kang Y ve ark. da (129) 44 DDLS olgusunun tamamında MDM2 boyanmasını göstermiştir.

Literatür verileri (Tablo 29) ile karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda ALT/İDLS olgularında %68,18 ve DDLS olgularında %90,5 oranda boyandığı görülmektedir. Pleomorfik

sarkom olgularında %10 (n:1/10) boyanma saptanırken lipom, MLS ve PLS olgularında hiç boyanma saptanmadı. Bizim çalışmamızdaki MDM2 boyanma oranları literatür verileri ile uyumlu bulunmakla birlikte ALT/İDLS grubunda boyanma oranı (%68,18) literatüre göre biraz düşük saptandı. Olgu sayımızın azlığı, büyük tümör boyutlarına karşın İHK incelemede genel olarak seyrek hücre pozitifliği şeklinde bulgu veren MDM2'nin tek blokta çalışılması bu duruma neden olmuş olabilir. Bu bulgu ATL/İDLS olgularında ayırıcı tanıda net değerlendirme için FISH gibi ileri düzey moleküler yöntemlere ihtiyaç duyulabileceğinin bir göstergesi sayılabilir. Bizim bulgular literatürdeki çoğu veri ile uyum gösterirken, Alexio P. Ve ark. (99) ve Thway K ve ark.'nın (12) çalışmalarında diğer mezenkimal tümörler ile benign lipomatöz tümörlerde bizim çalışmamıza göre daha yüksek oranlarda MDM2 pozitifliği saptadıkları görülmektedir. Bu uyumsuzluğun söz konusu iki çalışmada kullanılan primer antikor klon farklılığından kaynaklanmış olabileceğini düşünüyoruz. Alexio P ve ark. (99) ve Thway K ve ark. (12) MDM2 Novocastra klon 1B10 kullanırken bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda MDM2, SantaCruz, klon SMP14 kullanılmıştır. Çalışmamızda ALT/İDLS açısından kuşku lipom olgularını almamıza rağmen bu grupta MDM2 ile pozitiflik saptamadık.

Tablo 29: Literatürde farklı çalışmalardaki tümör gruplarında MDM2 boyanması

	ALT/İDLS	DDLS	Lipom	Diğer
Thway K ve ark. (12)	%80,6	%76,9	%31,03	Lipom alt tipleri %14,11
Kammerer J ark. (13)	%89,4	%100	%2,2	Diğer sarkomlar %70
Binh MBN ve ark. (98)	%97	%97	%5	non ALT/İDLS/DDLS sarkomlar %19
Clay M va ark. (51)	%45	-	%0,8	-
Alexio F ve ark. (99)	%100	%90	benign adipositik tümörlerde %41	mezenkimal tümörlerde %34,9
Kang Y ve ark. (129)		%100		
Bizim Çalışmamız	%68,18	%90,5	%0	MLS ve PLS %0,0 PHS %10

Kammerer J ark. (14) MDM2 için ALT/İDLS ve DDLS tanısında sırasıyla %89,5-%97,7 duyarlılık; %100 ve %30 özgüllük değerleri olarak bildirmişlerdir. Liposarkom tanısında MDM2 ve CDK4 immün boyanmasının duyarlılık ve özgüllüğünün literatürdeki farklı çalışmalardaki verileri Tablo 30'da gösterilmektedir .

Tablo 30: Liposarkom tanısında MDM2 ve CDK4 immün boyanması*(51)

kaynak	olgular	olgu sayısı	MDM2		CDK4	
			Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Pilotti ve ark.	ALT/İDLS, derin yerleşimli lipomlar	40	86	100	100	100
Dei Tos ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	30	50	100	100	89
Binh ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler, DDLS, diğer mezenkimal tümörler	559	97	83	92	95
Binh ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	93	100	96	91	98
Sirvent ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler, DDLS, diğer mezenkimal tümörler	200	80	93	87	100
Sirvent ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	84	76	94	82	100
Brimo ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	13	100	60	100	60
Aleixo ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler, DDLS, diğer mezenkimal tümörler	129	97	64	69	95
Aleixo ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	36	100	59	68	88
Thway ve ark.	ALT/İDLS, DDLS, liposarkom variants, benign lipomatöz tümörler	216	86	74	86	89
Thway ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	146	84	71	87	88
Alshenawy	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	21	100	100	100	71
Clay ve ark.	ALT/İDLS, benign lipomatöz tümörler	183	45	98	41	92

Çalışmamızda MDM2 için ALT/İDLS ve DDLS tanısında %79 duyarlılık, özgüllük %98, PPD %97 ve NPD %85 olarak hesaplandı. MDM2'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri literatür verileri ile karşılaştırdığında uyumlu olduğu sonucuna varıldı.

CDK4: Thway K ve ark. (12) ALT/İDLS ve DDLS olgularında CDK4 ile %87,1 oranında (sırasıyla n:27/31 ve 34/39) oranında pozitif boyanma olduğunu ve MLS ve PLS olgularında boyanmadığını göstermişlerdir. Benign tümörlerde ise lipomların %17,2'sinde (n:10/58), fibrolipomda 1/5 olguda, intermusküler lipomda 3/23 olguda ve pleomorfik lipomda 1/5 olguda farklı şiddetlerde CDK4 boyanması izlemişlerdir.

Kammerer J ve ark. (13) CDK4 boyanmasını 19 ALT/İDLS olgusunun %68,4'ünde ve 18 DDLS olgusunun %83,3'ünde saptamışlardır. Bu oran lipomlarda %2,2 (n:1/44), diğer sarkom grubunda da %5'tir (n:1/20). Alexio F ve ark. (99) benzer şekilde CDK4 pozitifliğini ALT/İDLS olgularında %68,4; DDLS olgularında %78 oranında bulmuşlardır. Diğer mezenkimal tümörlerdeki %3,6 oranının aksine benign adipositik tümörlerde daha yüksek (%11,7) pozitiflik saptadıklarını belirtmektedirler. Binh MBN ve ark. (98) ise daha yüksek boyanma elde ettikleri çalışmalarında 105 ALT/İDLS ve DDLS olgusunda CDK4 immunreaktivitesinin %92; benign lipomato tümörde %2 ve non ALT/İDLS/DDLS

olgularında %6 olduğunu belirtmektedir. Bu çalışmaya benzer şekilde Sabah M ve ark. (141) alt tip belirtilmeden 16 liposarkom'da %93,8; Kang Y ve ark. (129) da DDLS olgularında %95 (n:42/44) CDK4 immunekspresyonunu bildirmektedir.

Bu verilerin aksine Clay M ve ark. (151) ise CDK4'ün 56 ALT/İDLS olgusunda %41; 125 lipom ve varyantlarında ise %8,5 oranında boyandığını belirtmektedir. Buna sebep olarak da önceki çalışmalardaki olgu seçimlerine bağlı olabileceğini vurgulamışlardır (Tablo 31).

Tablo 31: Literatürde farklı çalışmalardaki tümör gruplarında CDK4 boyanması

CDK4	ALT/İDLS	DDLS	Lipomlar	Non-İDLS/DDLS sarkomlar
Thway K ve ark. (12)	87,1	87,17	17,2	0,0
Kammerer J ve ark. (13)	68,4	83,3	2,2	5
Binh MBN ve ark. (98)	92	92	2	6
Clay M ve ark. (51)	41	-	8,5	-
Alexio F ve ark. (99)	68,4	78	11,7	3,6
Sabah M ve ark. (141)	Alt tip belirtmeden 16 LiSa olgusunda %93,8			
Kang Y ve ark. (129)	-	95	-	-
Bizim çalışma	86,4	71,4	21,4	0,0

Biz de çalışmamızda genel literatür verilerine uyumlu şekilde ALT/İDLS olgularının %86,4'ünde (n:19/22) ve DDLS olgularının %71,4'ünde (15/21) nükleer CDK4 immunreaktivitesi saptadık. MLS, PLS ve PHS'lerin tümü CDK4 ile negatif idi. Benign lipomatöz tümörlerde ise altı (%21,4) olguda saptadığımız daha yüksek CDK4 pozitifliği iki çalışmanın verilerine benzerlik göstermekte idi (12,99). Literatürde lipoblastomlarda CDK4 immunekspresyonunu araştıran çalışmaya rastlanmamıştır. CDK4 immunhistokimyasal incelemesinde nükleer boyanma yanısıra saptanan sitoplazmik boyanmalar değerlendirme güçlüğü yaratabilmektedir. Literatürdeki bu farklılıkların sebepleri arasında bu değerlendirme zorlukları olabilir. Bu sebeple olguların tek başına CDK4 ile taranmasının immunhistokimyasal inceleme açısından yeterli olmayabileceğini düşünmekteyiz.

CDK4'e duyarlılık ve özgüllük değerleri açısından bakıldığında literatürdeki sonuçlarla benzer sonuçlarımız olduğu görülmektedir. Kammerer J ve ark. (13) ALT/İDLS için %68,4 duyarlılık ve %97,7 özgüllük ve DDLS için %83,3 duyarlılık ve %95 özgüllük değerleri saptamışlardır. Ayrıca literatürde farklı çalışmalardaki verilere göre CDK4 için duyarlılık ve özgüllük değerleri Tablo 32'de gösterilmektedir.

Tablo 32: Literatürde farklı çalışmalara göre CDK4'ün duyarlılık ve özgüllük değerleri

CDK4	Duyarlılık (Sensitivite)	Özgüllük (Spesifite)	Pozitif Prediktif Değer	Negatif Prediktif Değer
Thway K ve ark. (12)	%86,4	%89,1	%84,8	%91,9
Kammerer J ark. (13)	İDLS %68,4 DDLS; %83,3	%97,7 %95		
Binh MBN ve ark. (98)	%92	%95		
Clay M ve ark. (51)	%41	%92		
Alexio F ve ark. (99)	%69	%95		
Bizim çalışmamız	%79	%92	%89	%83

p16: Thway K ve ark. (13) ALT/İDLS olgularında p16 ile %96,8 (n:30/31) oranında pozitif boyanma göstermişlerdir. DDLS olgularında %92,3 (n:36/39) olan boyanma, MLS'de %27,3 (n:3/11) iken PLS olgularının p16 ile boyanmadığını belirtmişlerdir. Benign tümörlerden intramusküler lipomda 3/23 olguda, iğ hücreli lipomda 2/13 olguda ve pleomorfik lipomda 2/5 olguda farklı oranlarda p16 boyanması izlemişler ancak klasik lipom ve fibrolipomlarda boyanma saptamamışlardır.

Kammerer J ve ark. (13) p16'yı 19 ALT/İDLS olgusunda %89,4; 18 DDLS olgusunda %94,4 oranında saptamışlar; lipom ve diğer sarkomlarda ise sırasıyla %31,8 (n:14/44) ve %30 (n:6/20) gibi yüksek oranda pozitifliğini bildirmişlerdir. Sabah M ve ark.'larının (141) çalışmasında, alt tip belirtilmeden 16 liposarkomda %50'sinde p16 pozitifliği bildirilirken; Kang Y ve ark. (129) diğer literatür verilerine benzer şekilde DDLS olgularında oldukça yüksek oranda (%98, n:43/44) p16 boyanmasını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise ALT/İDLS olgularının %63,6'sında (14/22) ve DDLS olgularının %90,5'inde (19/21) p16 primer antikoru ile nükleer immunreaktivite saptandı. Benign lipomatöz tümörler içinde iki (%7,1) olguda ve bir PLS (%12,5), bir PHS (%10) olgusunda p16 pozitifliği izlendi. Miksoid LiSa'ların hiçbirinde p16 boyanması görülmedi.

Literatürde yer alan farklı çalışmalardaki verilere göre p16'nın tümör alt tiplerindeki boyanma oranları Tablo 33'de gösterilmektedir.

Tablo 33: Literatürde farklı çalışmalardaki tümör gruplarında p16 boyanması

p16	ALT/İDLS	DDLS	Lipomlar	Non İDLS/DDLS sarkomlar
Thway K ve ark. (12)	%96,8	%92,3	0	MLS: %27,3
Kammerer J ve ark. (13)	%89,4	%94,4	%31,8	%30
Sabah M ve ark. (141)	Alt tip belirtmeden 16 LiSa olgusunda %50			
Kang Y ve ark. (129)		%98		
Bizim çalışmamız	%63,6	%90,5	%7,1	PHS: %10, PLS: %12,5

Bizim çalışmamızda p16'nın ALT/İDLS'larda literatüre göre biraz daha düşük boyanma oranı görülmektedir. Ancak bu antikorun da literatürde de belirtildiği gibi nükleer boyanma yanısıra sitoplazmik boyanmalar da göstermesi nedeniyle değerlendirme zorlukları yaşanmaktadır. Güçlü pozitif boyanmaların daha kolay değerlendirilebildiği DDLS grubunun aksine daha az boyanma oranlarının izlendiği ALT/İDLS grubunda zorluklar daha belirgindir. Bu sebeplerle CDK4'e benzer şekilde p16'nın da özellikle benign-malign lipomatöz tümör ayırıcı tanısında immunhistokimyasal incelemede tek başına kullanılmasının uygun olmayacağını düşünüyoruz. Kuşku durumunda incelemenin birden fazla blokta yapılması da uygun olacaktır.

p16 immunhistokimyasal incelemesi için farklı çalışmalarda bildirilen duyarlılık ve özgüllük oranları Tablo 34'de verilmiştir. Thway ve ark.'larının (12) yüksek duyarlılık (%93,2) ve özgüllük (%92,2) değerlerine karşın Kang Y ve ark. Da (129) p16'nın retroperitoneal DDLS için oldukça duyarlı bir belirteç olduğunu ve negatif bir sonucun tanıyı büyük ölçüde dışladığını göstermiştir. Bununla birlikte MDM2 ve CDK4 ile

karşılaştırıldığında, özgüllüğünün düşük saptanmış olması nedeniyle çoğu durumda tek başına tanıda yeterli olmayacağı vurgulanmaktadır.

Tablo 34: Literatürde farklı çalışmalardaki p16'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri

p16	Duyarlılık (Sensitivite)	Özgüllük (Spesifite)	Pozitif Prediktif Değer	Negatif Prediktif Değer
Thway K ve ark. (12)	%93,2	%92,2	%89,1	%95,2
Kammerer J ark. (13)	İDLS %89,5 DDLS; %94,4	%68,2 %70		
Kang Y ve ark. (129)	%98	%49	%46	%97
Bizim çalışmamız	%77	%92	%89	%83

Çalışmamızda p16 primer antikor için ALT/İDLS ve DDLS olgularında duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %77 ve %92, PPD %89 ve NPD %83 olarak hesaplandı. Çalışmamızda saptanan duyarlılık oranının literatüre göre daha düşük olması özellikle daha az oranda nükleer pozitifliğin izlendiği ancak sitoplazmik boyanmaların da gözlemlendiği ALT/İDLS olgularındaki değerlendirme güçlüğü nedeni ile olabilir. Bunun dışında saptadığımız özgüllük değeri, PPD ve NPD literatür verileri ile uyum sağlamaktadır.

Literatürde yazarlar, İDLS/DDLS'un diğer yumuşak doku neoplazmlarından ayırt edilmesinde MDM2, CDK4 ve p16 İHK sonuçlarının birlikte kullanmasının, bu sonuçların ayrı ayrı kullanılmasına göre daha duyarlı ve özgül olabileceği bildirilmektedir (12,51,133).

Thway K ve ark. (12) CDK4, MDM2 ve p16 İHK'nın üçlü kullanımının İDLS/DDLS'un tanısında ve diğer adipositik neoplazmlardan ayırt edilmesine yardımcı olduğunu göstermişler. Bu çalışmada üçlü pozitifliğin %70,5 duyarlılık ve %97,7 özgüllük, %95,4 PPV ve %82,8 NPV değerine sahip olduğu saptanmıştır. Kammerer J ve ark. (13) üçlü pozitifliği %83,3 duyarlı ve %100 özgül bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda üçlü pozitiflik için %100 özgüllük ve %100 PPD değeri saptadık. Duyarlılık değerimiz %58 ile daha düşük görülmekle birlikte sadece her üç belirleyici ile net pozitif boyanan tümörleri pozitif kabul ettiğimiz değerlendirmede NPD'i de %74 olarak saptadık. Literatürde farklı çalışmalardaki bu üç immun belirleyicinin birlikte kullanılması durumunda ortaya çıkan duyarlılık ve özgüllük değerleri Tablo 35'de verilmiştir.

Bu verilere göre MDM2, CDK4 ve p16 belirteçlerinin birlikte ikili veya üçlü kombinasyonlarda kullandığında duyarlılıkları düşerken, ayırt edilmesi gereken ve bu belirteçler ile boyanabilen diğer benign ve malign tümörlerden ayırırda daha önemli olan özgüllük %100'e kadar yükselmektedir. Bizim çalışmamızda da literatüre benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 35: Çalışmalardaki immün belirleyicilerin kombine kullanılması durumunda sunulan duyarlılık ve özgüllük değerleri

Çalışma	MDM2+CDK4 (%)		MDM2+p16 (%)		CDK4+p16 (%)		MDM2+CDK4+p16 (%)	
	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük
Krammer (13) (İDLS + DDLS)	68,4	100	78,9	100	68,4	97,7	68,4	100
	83,3	95	94,4	95	83,3	100	83,3	100
Thway (12) (İDLS + DDLS)	76,1	89,1	77,3	95,3	83	97,7	70,5	97,7
Kang (129) (DDLS)	95	96					93	99
Aleixo (99) (İDLS + DDLS)	62	100						
Binh (98) (İDLS + DDLS)								
Bizim çalışmamız	67	100	67	100	63	100	58	100

Sonuç olarak çalışmamızdan elde ettiğimiz bulguları değerlendirdiğimizde MDM2, CDK4 ve p16 immunhistokimyasal belirleyicilerinin ALT/İDLS ve DDLS ayırıcı tanısında güvenilirlikle kullanılabilecek tarama testleri olduğu görülmektedir. Bu belirteçler ile negatif saptanan olgularda birden fazla blokta inceleme yapılmalı ve/veya FISH gibi ileri düzey moleküler incelemelere başvurulmalıdır. İmmunhistokimyasal belirleyicilerin makrofaj gibi nontümöral hücreleri boyayabilmeleri ve benign lipomatöz tümörler ve az sayıda da olsa diğer sarkomlarda pozitiflikler görülebilmesi nedeni ile birden fazla immunhistokimyasal belirleyici

ile inceleme yapılmasının IHK'nın özgüllük (spesifite) ve PPD'ni belirgin bir şekilde arttırdığı görülmektedir. Ancak tek bir belirleyici ile çalışılacaksa CDK4 ve p16'nın nükleer boyanma yanısıra sitoplazmik boyanmalar da gösterebilmesi nedeni ile tümörlerde, özellikle ALT/İDLS olgularında değerlendirme zorlukları yaşanabileceği akılda tutulmalı ve MDM2'nin tercih edilmesi uygun olacaktır. Çalışmamızın sonuçları bu üç primer antikorun farklı şekillerde ikili kombinasyonlarının kullanımının birbirlerine net bir üstünlüğü olmadığını da göstermektedir.



6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

- Çalışmamızda yer alan 95 olgunun 28'i (%29,4) benign lipomatöz tümör, 22'si (%23,15) İDLS, 21'i (%22,10) DDLS, 6'sı (%6,31) MLS, 8'i (%8,42) PLS ve 10'u (%10,52) PHS idi.
- Olguların 55'i (%57,9) erkek ve 40'ı (%42,1) kadın olup Erkek:Kadın oranı 1,37 idi.
- Olguların ilk tanı aldıkları yaş aralığı 1 ile 86 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması $61,0 \pm 16,7$ idi. İyi diferansiye LiSa ($65 \pm 11,3$), DDLS ($63 \pm 12,1$) ve pleomorfik sarkom ($66,5 \pm 16$) olgularının yaşları literatüre de uyumlu şekilde diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p=0,014$).
- Tümör lokalizasyonlarına bakıldığında retroperiton ve batin içinde en sık DDLS saptandı.
- Çalışmamızda ortalama tümör boyutu $13,7 \pm 9,1$ cm (2-47 cm) idi. Dediferansiye liposarkom olgularında (medyan tümör boyutu $20 \pm 10,3$ cm) tümör boyutları, diğer tümör gruplarına göre istatistiksel olarak da daha yüksek idi ($p=0,001$). Bulgularımız literatür ile uyumlu idi.
- Tümör alt tiplerinin tümör evrelerine göre dağılımlarına bakıldığında DDLS olgularında tümörün büyük boyut ve derin yerleşimli olması istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p=0,008$).
- Tümör dereceleri DDLS olgularının %57,1'inde derece II, %42,9'unda derece III, MLS'in yarısında derece II ve derece III, PLS olgularının tümünde derece III ve PHS'un ise %10'un derece II, %90'ında derece III idi. Bulgularımız literatür ile uyum sağlamaktadır.
- MDM2 ile tüm olguların 35'inde (%36,8) pozitif ve 60'ında (%63,2) negatif boyanma saptandı. ALT/İDLS olgularının ise %68,2'si ve DDLS olgularının %90,5'i boyanma göstermekte idi. PHS olgularında %10 (n:1/10) boyanma saptanırken lipom, MLS ve PLS olgularında hiç boyanma saptanmadı. MDM2 için ALT/İDLS ve DDLS tanısında duyarlılık %79, özgüllük %98, PPD %97 ve NPD %85 olarak hesaplandı. Çalışmamızdaki MDM2 boyanma oranları literatür verileri ile uyumlu bulunmuştur.
- İyi diferansiye LiSa grubunda MDM2 ile boyanma oranı (%68,18) literatüre göre düşük saptandı. Olgu sayımızın azlığı, büyük tümör boyutlarına karşın İHK incelemede genel olarak seyrek hücre pozitifliği şeklinde bulgu veren MDM2'nin tek blokta çalışılmasının bu duruma neden olmuş olabileceğini düşünmekteyiz. Bu bulgu ATL/İDLS olgularında ayırıcı tanıda net değerlendirme için FISH gibi ileri düzey moleküler yöntemlere ihtiyaç duyulabileceğinin bir göstergesi de sayılabilir.
- CDK4, ALT/İDLS olgularının 19/22'sinde (%86,4) ve DDLS olgularının 15/21'inde (%71,4) nükleer immunreaktivite saptandı. Benign lipomatöz tümörler içerisinde altı

(%21,4) olguda CDK4 pozitifliği izlenirken, MLS, PLS ve PHS'lerin hiçbirinde saptanmadı. CDK4'ün ayırıcı tanıdaki duyarlılığı %79, özgüllüğü %92, PPD %89 ve NPD'i %83 olarak hesaplandı.

- Çalışmamızdaki CDK4 boyanma oranları literatür verileri ile uyumlu bulunmuş, DDLS grubunda boyanma oranı (%71,4) literatüre göre hafifçe daha düşük saptanmıştır. CDK4 immunhistokimyasal incelemesinde nükleer boyanma yanısıra saptanan sitoplazmik boyanmalar değerlendirme güçlüğü yaratabilmektedir. Literatürdeki bu farklılıkların sebepleri arasında bu değerlendirme zorlukları olabilir. Bu sebeple olguların tek başına CDK4 ile taranmasının immunhistokimyasal inceleme açısından yeterli olmayabileceğini düşünmekteyiz.
- p16; ALT/İDLS olgularının %86,4'ünde (n:19/22), DDLS olgularının %71,4'ünde (15/21) pozitif bulundu. Benign lipomatöz tümörlerde iki (%7,1) olgu yanısıra bir PLS (%12,5) ve bir PHS (%10) olgusunda p16 pozitifliği izlendi. Miksoid LiSa'larda boyanma görülmedi. p16 için ALT/İDLS ve DDLS tanısında duyarlılık %77, özgüllük %92, PPD %89 ve NPD %83 olarak hesaplandı.
- Çalışmamızdaki p16 boyanma oranlarının literatür verileri ile genel olarak uyumlu olduğu ancak p16 ile ALT/İDLS'larda literatüre göre biraz daha düşük boyanma oranı olduğu görülmektedir. Literatürde belirtildiği gibi p16'nın nükleer boyanma yanısıra sitoplazmik boyanmalar da göstermesi nedeniyle değerlendirme zorlukları yaşanmaktadır. Güçlü pozitif nükleer boyanmaların daha kolay değerlendirilebildiği DDLS grubunun aksine daha az boyanma oranlarının izlendiği ALT/İDLS grubunda zorluklar daha belirgindir.
- Sonuç olarak MDM2, CDK4 ve p16 immunhistokimyasal belirleyicilerinin ALT/İDLS ve DDLS ayırıcı tanısında güvenilirlikle kullanılabilecek tarama testleri olduğu görülmektedir.
- Çalışmamızda MDM2, CDK4 ve p16 İHK sonuçlarının üçünün birarada kullanımı durumunda, tanı duyarlılığının %58, özgüllük ve PPD'inin ise belirgin şekilde artarak %100 olduğunu saptadık. Farklı ikili kombinasyonlarda da benzer sonuçlar elde ettik.
- İmmunhistokimyasal belirleyicilerin makrofaj gibi nontümöral hücreleri boyayabilmeleri ve benign lipomatöz tümörler ve az sayıda da olsa diğer sarkomlarda pozitiflikler görülebilmesi nedeni ile birden fazla immunhistokimyasal belirleyici kullanılabilir. Ancak tek bir belirleyici ile çalışılacaksa CDK4 ve p16'nın nükleer boyanma yanısıra sitoplazmik boyanmalar da gösterebilmeleri nedeni ile özellikle ALT/İDLS olgularında değerlendirme zorlukları yaşanabileceği akılda tutulmalı ve MDM2'nin tercih edilmesi uygun olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Goldblum JR, Andrew LF, Weiss SW, Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. 5th Ed., Philadelphia: Elsevier, 2014.
2. Fletcher CD, Bridge AJ, Hogendoom PC, Mertens F, eds. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon, France: IARC Press; 2013.
3. Linch M, Miah AB, Thway K, Judson IR, Benson C. Systemic treatment of soft-tissue sarcoma gold standard and novel therapies. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014;11(4):187–202.
4. Weiss SW, Goldblum JR (2008). Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. In: 5th ed. Mosby Elsevier :St Louis.
5. John R. Goldblum, Laura W. Lamps, Jesse K. McKenney, Jeffrey L. Myers. ROSAI AND ACKERMAN'S SURGICAL PATHOLOGY. Eleventh Edition. Philadelphia: Elsevier, 2018.
6. Crago AM, Singer S. Clinical and molecular approaches to well differentiated and dedifferentiated liposarcoma. *Curr Opin Oncol*. 2011 Jul;23(4):373–8.
7. Fletcher CDM. The evolving classification of soft tissue tumours - an update based on the new 2013 WHO classification. *Histopathology*. 2014 Jan;64(1):2–11.
8. Gebhard S, Coindre J-M, Michels J-J, Terrier P, Bertrand G, Trassard M, et al. Gebhard S, Coindre JM, Michels JM, Terrier P, Bertrand F, Trassard M, et al. Pleomorphic liposarcoma: clinicopathologic, immunohistochemical, and follow-up analysis of 63 cases: a study from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. *Am J Surg Pathol*. 2002 May;26(5):601–16.
9. Henricks WH, Chu YC, Goldblum JR, Weiss SW. Dedifferentiated liposarcoma: a clinicopathological analysis of 155 cases with a proposal for an expanded definition of dedifferentiation. *Am J Surg Pathol*. 1997 Mar;21(3):271–81.
10. Bongiovanni A, Miserocchi G, Recine F, Riva N, Amadori D, Spadazzi C, et al. Current classification, treatment options, and new perspectives in the management of adipocytic sarcomas. *Onco Targets Ther*. 2016;Volume 9:6233–46.
11. Gonzalez RS, McClain CM, Chamberlain BK, Coffin CM, Cates JMM. Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (p16) distinguishes well-differentiated liposarcoma from lipoma. *Histopathology*. 2013 Jun;62(7):1109–11.
12. Thway K, Flora R, Shah C, Olmos D, Fisher C. Diagnostic utility of p16, CDK4, and MDM2 as an immunohistochemical panel in distinguishing well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas from other adipocytic tumors. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(3):462–9.
13. Kammerer-Jacquet S-F, Thierry S, Cabillic F, Lannes M, Burtin F, Henno S, et al. Differential diagnosis of atypical lipomatous tumor/well-differentiated liposarcoma and dedifferentiated liposarcoma: utility of p16 in combination with MDM2 and CDK4 immunohistochemistry. *Hum Pathol*. 2017 Jan 1;59:34–40.
14. Hajdu SI. Soft tissue sarcomas. *Cancer*. 2007 May 1;109 (9):1697-704. 2014;
15. Skubitz KM, D'Adamo DR. Sarcoma. *Mayo Clin Proceedings*. 2007 Nov;82 (11):1409-32.

16. Hajdu SI. Greco-Roman thought about cancer. *Cancer*. 2004;100:2048–2051.
17. Er T. Kemik ve yumuşak doku tümörlerinin cerrahi tedavi prensipleri. *Türkiye Klinikleri J Surg Med SCI* 2006, 2 (52):49-57.
18. Enneking WF. Orthopaedic oncology past and present. In 2. *Türk ortopedik onkoloji kongre kitabı*. Ankara 1998:2-4.
19. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(1):7–34.
20. Singer S: Soft Tissue Sarcomas. In: Sabiston Textbook of Surgery (18th ed.) Townsend CM, Beauschamp RD, Evers BM, Mattox KL, eds. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA; 786-799, 2007. 2014;
21. Piscitelli D, Ruggeri E, Fiore MG. Undifferentiated high-grade pleomorphic sarcoma in a blind eye with a silicone prosthesis implant: a clinico-pathologic study. *Orbit* 2011;30(4):192–4.
22. Brennan MF, Antonescu CR, Alektiar KM, Maki RG. Management of Soft Tissue Sarcoma. 2nd Ed., Switzerland: Springer International Publishing, 2016.
23. Jenner RG and Boshoff C: The molecular pathology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Biochim Biophys Acta*, 1602(1):1-22, 2002.
24. Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, et al: Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science*, 266(5192):1865-9, 1994.
25. Olsson H. : An updated review of the epidemiology of soft tissue sarcoma. *Acta Orthop Scand Suppl*, 75(311):16-20, 2004.
26. Cormier JN and Pollock RE: Soft tissue sarcomas. *CA Cancer J Clin*, 54(2):94-109,2004.
27. Vanhoenacker FM, Parizel PM, Gielen JL. Imaging of Soft Tissue Tumors. 4th Ed. Switzerland: Springer International Publishing, 2017.
28. Malawer M, Sugarbaker PH. Musculoskeletal Cancer Surgery Treatment of Sarcomas and Allied Diseases. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001.
29. Hicks RJ, Toner CG, Choong PF. Clinical applications of molecular imaging in sarcoma evaluation. *Cancer Imaging*, 2005:66–7.
30. Jo VY, Fletcher CD. WHO classification of soft tissue tumours: an update based on the 2013 (4th) edition. *Pathology* 2014; 46(2):95-104.
31. Cates JMM. The AJCC 8th edition staging system for soft tissue sarcoma of the extremities or trunk: A Cohort study of the SEER database. Vol. 16, *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2018. p. 144–52.
32. Billingsley KG, Burt ME, Jara E, et al: Pulmonary metastases from soft tissue sarcoma: Analysis of patterns of diseases and postmetastasis survival. *Ann Surg*.; 229:602-12, 1999.
33. Gadd MA, Casper ES, Woodruff JM, et al: Development and treatment of pulmonary metastases in adult patients with extremity soft tissue sarcoma. *Ann Surg*.;218(6):705-12, 1993.
34. Coindre JM, Terrier P, Bui NB, et al: Prognostic factors in adult patients with locally controlled soft tissue sarcoma. A study of 546 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. *J Clin Oncol*, 14(3):869-77, 1996.
35. Tumors E and WST. Goldblum JR, Weiss SW, Folpe AL. Enzinger and Weiss's Soft

Tissue Tumors. In: 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014:484-520.

36. Booth A, Magnuson A, Fouts J, Foster MT. Adipose tissue: an endocrine organ playing a role in metabolic regulation. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016;26(1):25-42. doi:10.1515/hmbci-2015-0073.
37. Fletcher CD, Martin-Bates E. Intramuscular and intermuscular lipoma: neglected diagnoses. *Histopathology.* 1988;12(3):275-287.
38. Cates JMM, Coffing BN, Harris BT, Black CC. Calretinin expression in tumors of adipose tissue. *Hum Pathol.* 2006;37(3):312-321.
39. Lindberg MR. Diagnostic pathology. Soft tissue tumors / [edited by] Matthew R. Lindberg. In 2nd edition. Elsevier Saunders; 2016.
40. Coffin CM, Lowichik A, Putnam A. Lipoblastoma (LPB). *Am J Surg Pathol.* 2009 Nov;33(11):1705–12.
41. Üstündağ N, Dervişoğlu S. Lipomatöz tümör serimizin dağılımı ve yeni tanımlanan lipomatöz tümörler. *Cerrahpaşa J Med* 2003;34 (3):119-26.
42. Toro JR, Travis LB, Wu HJ, Zhu K, Fletcher CD, Devesa SS. Incidence patterns of soft tissue sarcomas, regardless of primary site, in the surveillance, epidemiology and end results program, 1978-2001: An analysis of 26,758 cases. *Int J Cancer* 2006;119 (12).
43. Kim HS, Lee J, Yi SY, Jun HJ, Choi YL, Ahn GH, et al. Liposarcoma: exploration of clinical prognostic factors for risk based stratification of therapy. *BMC Cancer* 2009; 9:205.
44. Yaman B, Akalın T. Yumuşak Dokunun Liposarkom ve Leiomyosarkomu. *Türkiye Klinikleri J Med Pathol-Special Topics* 2017;2(2):184-92.
45. Murray Peter M. Soft tissue sarcoma of the upper extremity. *Hand Clinics.* 2004;20:325–333.
46. Dei Tos AP, Mentzel T, Fletcher CD. Primary liposarcoma of the skin: a rare neoplasm with unusual high grade features. *Am J Dermatopathol* 1998;20 (4):332-8.
47. Simon MA, Finn HA. Diagnostic strategy for bone and soft-tissue tumors. *J Bone Joint Surg Am.* 1993;75:622-631.
48. Thomas DM, Conyers R, Young S, Thomas DM. Liposarcoma: Molecular genetics and therapeutics. *Sarcoma* 2011 p. 1–13.
49. Idbaih A, Coindre J-M, Derré J, Mariani O, Terrier P, Ranchère D, et al. Myxoid malignant fibrous histiocytoma and pleomorphic liposarcoma share very similar genomic imbalances. *Lab Invest.* 2005 Feb 20;85(2):176–81.
50. Clay MR, Martinez AP, Weiss SW, Edgar MA. MDM2 Amplification in Problematic Lipomatous Tumors Analysis of FISH Testing Criteria Michael. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(10):1433–9.
51. Clay MR, Martinez AP, Weiss SW, Edgar MA. MDM2 and CDK4 Immunohistochemistry: Should It Be Used in Problematic Differentiated Lipomatous Tumors? *Am J Surg Pathol.* 2016 Dec;00(00):1–6.
52. Dickson MA, Tap WD, Keohan ML, D'Angelo SP, Gounder MM, Antonescu CR, et al. Phase II Trial of the CDK4 Inhibitor PD0332991 in Patients With Advanced CDK4 - Amplified Well-Differentiated or Dedifferentiated Liposarcoma. *J Clin Oncol.* 2013 Jun;31(16):2024–8.
53. Fletcher CD (2000).Soft tissue tumours. In: *Diagnostic Histopathology of Tumors,*

Fletcher CD, ed. 2nd ed. Churchill Livingstone: London.No Title.

54. Coindre J-MM, Pédeutour F, Aurias A. Well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas. *Virchows Arch.* 2010 Feb 18;456(2):167–79.
55. Diagnostic pathology. Soft tissue tumors / [edited by] Matthew R. Lindberg. In 2nd edition. Elsevier Saunders; 2016.
56. Weiss SW (1994). Histologic Typing of Soft Tissue Tumours. World Health Organization Histological Classification of Tumours. Springer: Berlin.
57. Argani P, Facchetti F, Inghirami G, Rosai J. Lymphocyte-rich well-differentiated liposarcoma: report of nine cases. *Am J Surg Pathol.* 1997 Aug;21(8):884–95.
58. Dei Tos AP, Wadden C, Fletcher CD (1996). S-100 protein staining in liposarcoma. Its diagnostic utility in the high grade myxoid (round cell) variant. *Appl Immunohistochem* 4: 95-101.
59. Mentzel T, Palmedo G, Kuhnen C. Well-differentiated spindle cell liposarcoma ('atypical spindle cell lipomatous tumor') does not belong to the spectrum of atypical lipomatous tumor but has a close relationship to spindle cell lipoma: clinicopathologic, immunohistochemical and molecular analysis of six cases. *Mod Pathol.* 2010 May 12;23(5):729–36.
60. Lucas DR, Nascimento AG, Sanjay BK, Rock MG (1994). Well-differentiated liposarcoma. The Mayo Clinic experience with 58 cases. *Am J Clin Pathol* 102: 677-683.
61. Weiss SW, Rao VK. Weiss SW, Rao VK (1992). Well-differentiated liposarcoma (atypical lipoma) of deep soft tissue of the extremities, retroperitoneum, and miscellaneous sites. A follow-up study of 92 cases with analysis of the incidence of "dedifferentiation". *Am J Surg Pat. Am J Surg Pathol.* 1992 Nov;16(11):1051–8.
62. McCormick D, Mentzel T, Beham A, Fletcher CD. Dedifferentiated liposarcoma. Clinicopathologic analysis of 32 cases suggesting a better prognostic subgroup among pleomorphic sarcomas. *Am J Surg Pathol.* 1994 Dec;18(12):1213–23.
63. Sirvent N, Coindre J-M, Maire G, Hostein I, Keslair F, Guillou L, et al. Detection of MDM2-CDK4 Amplification by Fluorescence In Situ Hybridization in 200 Paraffin-embedded Tumor Samples: Utility in Diagnosing Adipocytic Lesions and Comparison With Immunohistochemistry and Real-time PCR. *Am J Surg Pathol.* 2009 Oct;31(10):1476–89.
64. Mariño-Enríquez A, Fletcher CDM, Cin PD, Hornick JL. Dedifferentiated Liposarcoma With "Homologous" Lipoblastic (Pleomorphic Liposarcoma-like) Differentiation: Clinicopathologic and Molecular Analysis of a Series Suggesting Revised Diagnostic Criteria. *Am J Surg Pathol.* 2010 Aug;34(8):1122–31.
65. Ghadimi MP, Al-Zaid T, Madewell J, Peng T, Colombo C, Hoffman A, et al. Diagnosis, Management, and Outcome of Patients with Dedifferentiated Liposarcoma Systemic Metastasis. *Ann Surg Oncol.* 2011 Dec 26;18(13):3762–70.
66. Dei Tos AP, Doglioni C, Piccinin S, Sciot R, Furlanetto A, Boiocchi M, et al. Coordinated expression and amplification of theMDM2,CDK4, andHMGI-C genes in atypical lipomatous tumours. *J Pathol.* 2000 Apr;190(5):531–6.
67. Pedeutour F, Forus A, Coindre JM, Berner JM, Nicolo G, Michiels JF, et al. Structure of the supernumerary ring and giant rod chromosomes in adipose tissue tumors. *Genes Chromosomes Cancer.* 1999 Jan;24(1):30–41.

68. Nilbert M, Rydholm A, Mitelman F, Meltzer PS, Mandahl N. Characterization of the 12q13-15 amplicon in soft tissue tumors. *Cancer Genet Cytogenet.* 1995 Aug;83(1):32–6.
69. Pedeutour F, Suijkerbuijk RF, Forus A, Van Gaal J, Van de Klundert W, Coindre JM, et al. Complex composition and co-amplification of SAS and MDM2 in ring and giant rod marker chromosomes in well-differentiated liposarcoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 1994 Jun;10(2):85–94.
70. Pilotti S, Della Torre G, Lavarino C, Sozzi G, Minoletti F, Vergani B, et al. Molecular abnormalities in liposarcoma: role of MDM2 and CDK4-containing amplicons at 12q13-22. *J Pathol.* 1998 Jun;185(2):188–90.
71. Italiano A, Bianchini L, Keslair F, Bonnafous S, Cardot-Leccia N, Coindre J-M, et al. HMGA2 is the partner of MDM2 in well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas whereas CDK4 belongs to a distinct inconsistent amplicon. *Int J cancer.* 2008 May 15;122(10):2233–41.
72. Erickson-Johnson MR, Seys AR, Roth CW, King AA, Hulshizer RL, Wang X, et al. Carboxypeptidase M: a biomarker for the discrimination of well-differentiated liposarcoma from lipoma. *Mod Pathol.* 2009 Dec 9;22(12):1541–7.
73. Saâda-Bouazid E, Burel-Vandenbos F, Ranchère-Vince D, Birtwisle-Peyrottes I, Chetaille B, Bouvier C, et al. Prognostic value of HMGA2, CDK4 and JUN amplification in well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas. *Mod Pathol.* 2015 Nov 4;28(11):1404–14.
74. Wade M, Wang Y V, Wahl GM. The p53 orchestra: Mdm2 and Mdmx set the tone. *Trends Cell Biol.* 2010 May;20(5):299–309.
75. Mendrysa SM, McElwee MK, Michalowski J, O’Leary KA, Young KM, Perry ME. mdm2 is critical for inhibition of p53 during lymphopoiesis and the response to ionizing irradiation. *Mol Cell Biol.* 2003 Jan;23(2):462–72.
76. Oliner JD, Pietenpol JA, Thiagalingam S, Gyuris J, Kinzler KW, Vogelstein B. Oncoprotein MDM2 conceals the activation domain of tumour suppressor p53. *Nature.* 1993 Apr 29;362(6423):857–60.
77. Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D, Levine AJ. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. *Cell.* 1992 Jun 26;69(7):1237–45.
78. Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature.* 1997 May 15;387(6630):296–9.
79. C.-Q. Hu and Y.-Z. Hu, “Small molecule inhibitors of the p53-MDM2,” *Current Medicinal Chemistry*, vol. 15, no. 17, 2008.
80. Stommel JM, Wahl GM. Accelerated MDM2 auto-degradation induced by DNA-damage kinases is required for p53 activation. *EMBO J.* 2004 Apr 7;23(7):1547–56.
81. Brooks CL, Gu W. p53 Ubiquitination: Mdm2 and Beyond. *Mol Cell.* 2006 Feb;21(3):307–15.
82. Michael D, Oren M. The p53-Mdm2 module and the ubiquitin system. *Semin Cancer Biol.* 2003 Feb;13(1):49–58.
83. Müller CR, Paulsen EB, Noordhuis P, Pedeutour F, Saeter G, Ola Myklebost. Potential for treatment of liposarcomas with the MDM2 antagonist Nutlin-3A. *Int J Cancer.* 2007 Jul 1;121(1):199–205.

84. Toledo F, Wahl GM. Regulating the p53 pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas. *Nat Rev Cancer*. 2006 Dec;6(12):909–23.
85. Oda Y, Yamamoto H, Kohashi K, Yamada Y, Iura K, Ishii T, et al. Soft tissue sarcomas: From a morphological to a molecular biological approach. *Pathol Int*. 2017 Sep;67(9):435–46.
86. Ortega S, Malumbres M, Barbacid M. Cyclin D-dependent kinases, INK4 inhibitors and cancer. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 2002;1602(1):73–87.
87. Grossel MJ, Hinds PW. Perspective From cell cycle to differentiation: An expanding role for Cdk6. *Cell Cycle*. 2006;5(3):266–70.
88. Italiano A, Bianchini L, Gjernes E, Keslair F, Ranchere-Vince D, Dumollard JM, Haudebourg J, Leroux A, Mainguene C, Terrier P, Chibon F, Coindre JM, Pedeutour F. Clinical and biological significance of CDK4 amplification in well-differentiated and dediffe.
89. Terrier P, Mainguene C, Keslair F, Leroux A, Pedeutour F, Coindre J-M, et al. Clinical and Biological Significance of CDK4 Amplification in Well-Differentiated and Dedifferentiated Liposarcomas. *Clin Cancer Res*. 2009;15(18):5696–703.
90. Harbour JW, Luo RX, Dei Santi A, Postigo AA, Dean DC. Cdk phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb functions as cells move through G1. *Cell*. 1999;98(6):859–69.
91. Day PJ, Cleasby A, Tickle IJ, O'Reilly M, Coyle JE, Holding FP, et al. Crystal structure of human CDK4 in complex with a D-type cyclin. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106(11):4166–70.
92. Baker SJ, Reddy EP. CDK4: A key player in the cell cycle, development, and cancer. *Genes and Cancer*. 2012 Nov 1;3(11–12):658–69.
93. Shapiro GI. Cyclin-Dependent Kinase Pathways As Targets for Cancer Treatment. *J Clin Oncol*. 2006 Apr 20;24(11):1770–83.
94. Paternot S, Bockstaele L, Bisteau X, Kookan H, Coulonval K, Roger PP. Rb inactivation in cell cycle and cancer: The puzzle of highly regulated activating phosphorylation of CDK4 versus constitutively active CDK-activating kinase. *Cell Cycle*. 2010;9(4):689–99.
95. Hisaoka M, Tsuji S, Morimitsu Y, Hashimoto H, Shimajiri S, Komiya S, et al. Detection of TLS/FUS-CHOP fusion transcripts in myxoid and round cell liposarcomas by nested reverse transcription-polymerase chain reaction using archival paraffin-embedded tissues. *Diagn Mol Pathol*. 1998 Apr;7(2):96–101.
96. Dei Tos AP, Piccinin S, Doglioni C, Vukosavljevic T, Mentzel T, Boiocchi M, et al. Molecular aberrations of the G1-S checkpoint in myxoid and round cell liposarcoma. *Am J Pathol*. 1997 Dec;151(6):1531–9.
97. Jukic DM. MDM2 and CDK4 Immunostainings Are Useful Adjuncts in Diagnosing Well-Differentiated and Dedifferentiated Liposarcoma Subtypes: A Comparative Analysis of 559 Soft Tissue Neoplasms With Genetic Data. *Yearb Pathol Lab Med*. 2007 Jan;2007:138–9.
98. Binh MBN, Sastre-Garau X, Guillou L, de Pinieux G, Terrier P, Lagacé R, et al. MDM2 and CDK4 immunostainings are useful adjuncts in diagnosing well-differentiated and dedifferentiated liposarcoma subtypes: a comparative analysis of 559 soft tissue neoplasms with genetic data. *Am J Surg Pathol*. 2005 Oct;29(10):1340–7.

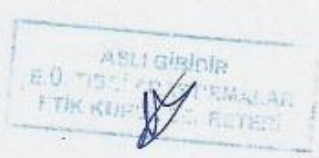
99. Aleixo PB, Hartmann AA, Menezes IC, Meurer RT, Oliveira AM. Can MDM2 and CDK4 make the diagnosis of well differentiated/ dedifferentiated liposarcoma? An immunohistochemical study on 129 soft tissue tumours. *J Clin Pathol*. 2009 Dec 1;62(12):1127–35.
100. Pilotti S, Della Torre G, Lavarino C, Di Palma S, Sozzi G, Minoletti F, et al. Distinct mdm2/p53 expression patterns in liposarcoma subgroups: implications for different pathogenetic mechanisms. *J Pathol*. 1997 Jan;181(1):14–24.
101. Serra S, Chetty R. *J Clin Pathol*. 2018 Oct;71(10):853–858. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205216. Epub 2018 Aug 3. 2018;1–6.
102. Fåhræus R, Paramio JM, Ball KL, Laín S, Lane DP. Inhibition of pRb phosphorylation and cell-cycle progression by a 20-residue peptide derived from p16CDKN2/INK4A. *Curr Biol*. 1996 Jan 1;6(1):84–91.
103. Singer S, Socci ND, Ambrosini G, Sambol E, Decarolis P, Wu Y, et al. Gene expression profiling of liposarcoma identifies distinct biological types/subtypes and potential therapeutic targets in well-differentiated and dedifferentiated liposarcoma. *Cancer Res*. 2007 Jul 15;67(14):6626–36.
104. Koh J, Enders GH, Dynlacht BD, Harlow E. Tumour-derived p16 alleles encoding proteins defective in cell-cycle inhibition. *Nature*. 1995 Jun 8;375(6531):506–10.
105. Stevaux O, Dyson NJ. A revised picture of the E2F transcriptional network and RB function. *Curr Opin Cell Biol*. 2002;14(6):684–691. doi:10.1016/S0955-0674(02)00388-5.
106. Li J, Poi MJ, Tsai MD. Regulatory mechanisms of tumor suppressor P16(INK4A) and their relevance to cancer. *Biochemistry* 2011.
107. Tripathy D, Bardia A, Sellers WR. Ribociclib (LEE011): Mechanism of Action and Clinical Impact of This Selective Cyclin-Dependent Kinase 4 / 6 Inhibitor in Various Solid Tumors. 2017;3251–63.
108. Antonescu CR, Tschernyavsky SJ, Decuseara R, Leung DH, Woodruff JM, Brennan MF, et al. Prognostic impact of P53 status, TLS-CHOP fusion transcript structure, and histological grade in myxoid liposarcoma: a molecular and clinicopathologic study of 82 cases. *Clin Cancer Res*. 2001 Dec;7(12):3977–87.
109. Narendra S, Valente A, Tull J, Zhang S. DDIT3 gene break-apart as a molecular marker for diagnosis of myxoid liposarcoma--assay validation and clinical experience. *Diagn Mol Pathol*. 2011 Dec;20(4):218–24.
110. Bode-Lesniewska B, Frigerio S, Exner U, Abdou MT, Moch H, Zimmermann DR. Relevance of translocation type in myxoid liposarcoma and identification of a novel EWSR1-DDIT3 fusion. *Genes, Chromosom Cancer*. 2007 Nov;46(11):961–71.
111. Antonescu CR, Elahi A, Humphrey M, Lui MY, Healey JH, Brennan MF, et al. Specificity of TLS-CHOP Rearrangement for Classic Myxoid/Round Cell Liposarcoma. *J Mol Diagnostics*. 2000 Aug;2(3):132–8.
112. Cheng H, Dodge J, Mehl E, Liu S, Poulin N, van de Rijn M, et al. Validation of immature adipogenic status and identification of prognostic biomarkers in myxoid liposarcoma using tissue microarrays. *Hum Pathol*. 2009 Sep;40(9):1244–51.
113. Negri T, Viridis E, Brich S, Bozzi F, Tamborini E, Tarantino E, et al. Functional mapping of receptor tyrosine kinases in myxoid liposarcoma. *Clin Cancer Res*. 2010 Jul 15;16(14):3581–93.

114. Barretina J, Taylor BS, Banerji S, Ramos AH, Lagos-Quintana M, Decarolis PL, et al. Subtype-specific genomic alterations define new targets for soft-tissue sarcoma therapy. *Nat Genet.* 2010 Aug 4;42(8):715–21.
115. Demicco EG, Torres KE, Ghadimi MP, Colombo C, Bolshakov S, Hoffman A, et al. Involvement of the PI3K/Akt pathway in myxoid/round cell liposarcoma. *Mod Pathol.* 2012 Feb 21;25(2):212–21.
116. Haniball J, Sumathi VP, Kindblom L-G, Abudu A, Carter SR, Tillman RM, et al. Prognostic Factors and Metastatic Patterns in Primary Myxoid/Round-Cell Liposarcoma. *Sarcoma.* 2011;2011:1–10.
117. Moreau L-CC, Turcotte R, Ferguson P, Wunder J, Clarkson P, Masri B, et al. Myxoid/round cell liposarcoma (MRCLS) revisited: An analysis of 418 primarily managed cases. *Annals of Surgical Oncology* Apr 4, 2012 p. 1081–8.
118. Oda Y, Yamamoto H, Takahira T, Kobayashi C, Kawaguchi K, Tateishi N, et al. Frequent alteration of p16INK4a/p14ARF and p53 pathways in the round cell component of myxoid/round cell liposarcoma: p53 gene alterations and reduced p14ARF expression both correlate with poor prognosis. *J Pathol.* 2005 Dec;207(4):410–21.
119. Italiano A, Garbay D, Cioffi A, Maki RG, Bui B. Advanced pleomorphic liposarcomas: clinical outcome and impact of chemotherapy. *Ann Oncol.* 2012 Aug 1;23(8):2205–6.
120. Azumi N, Curtis J, Kempson RL, Hendrickson MR. Atypical and malignant neoplasms showing lipomatous differentiation. A study of 111 cases. *Am J Surg Pathol.* 1987 Mar;11(3):161–83.
121. Oliveira AM, Nascimento AG. Pleomorphic liposarcoma. *Semin Diagn Pathol.* 2001 Nov;18(4):274–85.
122. Hornick JL, Bosenberg MW, Mentzel T, McMenamin ME, Oliveira AM, Fletcher CDM. Pleomorphic liposarcoma: clinicopathologic analysis of 57 cases. *Am J Surg Pathol.* 2004 Oct;28(10):1257–67.
123. Cai YC, McMenamin ME, Rose G, Sandy CJ, Cree IA, Fletcher CD. Primary liposarcoma of the orbit: a clinicopathologic study of seven cases. *Ann Diagn Pathol.* 2001 Oct;5(5):255–66.
124. Downes KA, Goldblum JR, Montgomery EA, Fisher C. Pleomorphic liposarcoma: a clinicopathologic analysis of 19 cases. *Mod Pathol.* 2001 Mar 1;14(3):179–84.
125. Miettinen M, Enzinger FM. Epithelioid variant of pleomorphic liposarcoma: a study of 12 cases of a distinctive variant of high-grade liposarcoma. *Mod Pathol.* 1999 Jul;12(7):722–8.
126. Dreux N, Marty M, Chibon F, Vélasco V, Hostein I, Ranchère-Vince D, et al. Value and limitation of immunohistochemical expression of HMGA2 in mesenchymal tumors: about a series of 1052 cases. *Mod Pathol.* 2010 Dec 10;23(12):1657–66.
127. Mertens F, Fletcher CD, Dal Cin P, De Wever I, Mandahl N, Mitelman F, et al. Cytogenetic analysis of 46 pleomorphic soft tissue sarcomas and correlation with morphologic and clinical features: a report of the CHAMP Study Group. *Chromosomes and Morphology. Genes Chromosomes Cancer.* 1998 May;22(1):16–25.
128. Davidović R, Sopta J, Mandušić V, Krajnović M, Stanojević M, Tulić G, et al. p14(ARF) methylation is a common event in the pathogenesis and progression of myxoid and pleomorphic liposarcoma. *Med Oncol.* 2013 Sep 6;30(3):682.

129. Kang Y, Horvai AE. p16 Immunohistochemistry is Less Useful Than MDM2 and CDK4 to Distinguish Dedifferentiated Liposarcomas From Other Retroperitoneal Mimics. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015 Jan;00(00):1–6.
130. Fisher C. Benign adipose tissue tumors. In: Fisher C, ed. *Biopsy Interpretation of Soft Tissue Tumors*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011:335–362.
131. Mentzel T. Atypical lipomatous tumor/well-differentiated liposarcoma. In: Fisher C, ed. *Diagnostic Pathology Soft Tissue Tumors: Amirsys*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
132. Harazin-Lechowska A, Ambroziak-Lackowska B, Ryś J, Kruczak A, Gruchała A, Jaszcz-Gruchała A, et al. The role of histology, grading, location of tumour and ploidy in evaluation of outcome in patients with liposarcoma. Vol. 68, *Polish Journal of Pathology*. 2017. p. 343–51.
133. Hyo Song Kim, Jeeyun Lee, Seong Yoon Yi, Hyun Jung Jun, Yoon-La Choi, Geung Hwan Ahn, Sung Wook Seo, Do Hoon Lim Yong Chan Ahn JOP and SJK. Liposarcoma exploration of clinical prognostic factors for risk.pdf.
134. Ogura K, Higashi T, Kawai A. Statistics of soft-tissue sarcoma in Japan: Report from the Bone and Soft Tissue Tumor Registry in Japan. *J Orthop Sci*. 2017;22(4):755–64.
135. Huh WW, Yuen C, Munsell M, Hayes-Jordan A, Lazar AJ, Patel S, Wang WL, Barahmani N, Okcu MF, Hicks J, Debelenko L, Spunt SL. Liposarcoma in children and young adults: a multi-institutional experience. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 Dec 15;57(7):1142-6. doi: 1.
136. Gardner JM, Dandekar M, Thomas D G. Cutaneous and subcutaneous pleomorphic liposarcoma: a clinicopathologic study of 29 cases with evaluation of MDM2 gene amplification in 26. *Am J Surg Pathol*. 2012 Jul;36(7):1047-51. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182517b96.
137. Grobmyer SR, Brennan MF. Predictive variables detailing the recurrence rate of soft tissue sarcomas. *Curr Opin Oncol*. 2003;15(4):319–326. doi: 10.1097/00001622-200307000-00007. No Title.
138. Goel S, Khurana N, Marvah A, Gupta S. Expression of cdk4 and p16 in Oral Lichen Planus. Vol. 6, *Journal of Oral and Maxillofacial Research*. 2015.
139. Chen Q, Luo G, Li B SL. Expression of p16 and CDK4 in oral premalignant lesions and oral squamous cell carcinomas: a semi-quantitative immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med*. 1999 Apr;28(4):158-64. [Medline: 10235368] [doi: 10.1111/j.1600-0714.1999.tb02016.x].
140. Arch V, Yamada Y, Kinoshita I, Kohashi K, Yamamoto H. HIF-1 α , MDM2, CDK4, and p16 expression in ischemic fasciitis, focusing on its ischemic condition Yuichi. 2017.
141. Sabah M, Cummins R, Leader M, Kay E. Aberrant expression of the Rb pathway proteins in soft tissue sarcomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2006;14(4):397-403.

8. EKLER

8.1. ETİK KURUL ONAY BELGESİ

 EGE ÜNİVERSİTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR Tel: 0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34 e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr						
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ						
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	MDM2, CDK4 ve p16 Belirleyicilerinin Liposarkom Tanısına Katkısı				
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Banu YAMAN				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Patoloji				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı				
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-				
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi				
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	-				
	BİLGİLENDİRME FORMU	-				
	VERİ İZLEME FORMU/ ANKET	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	DİĞER	☐				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 19-1T/38	Tarih: 19.01.2019				
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğu toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					
EGE ÜNİVERSİTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI	Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU					
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişkili (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU Başkan	Halk Sağlığı AD	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	 Toplantıya katılmadı
Doç. Dr. Şafak DAĞHAN Başkan Yardımcısı	Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Sadık AKŞİT Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD	E	☐ E ☒ H	☐ E ☐ H	
						
Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU	İMZA	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi			Sayfa	1/2



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	MDM2, CDK4 ve p16 Belirleyicilerinin Uposarkom Tanısına Katkısı
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 19-IT/38				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kabılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayhan DÖNMEZ Üye	İç Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Murat ULUKUŞ Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Ceyda KABAROĞLU Üye	Klinik Biyokimya BD.	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD. Klinik Biyokimya BD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Özen Önen SERTÖZ Raportör Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Günay YETİK ANACAK Üye	Farmakoloji	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. H. Oya TÜRKOĞLU ÇAKAL Üye	Periodontoloji	Ege Üniversitesi Diş Hek. Fakültesi Periodontoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Recai MESERİ Üye	Beslenme ve Diyetetik AD	Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Tahir ATİK Üye	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD Çocuk Genetik BD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU BAŞKANI

Etik Kurul Başkanı'nın Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aliye MANTARLI	İMZA	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
			22	28.09.2011/05	2/2

8.2. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Araştırmanın Adı : MDM2, CDK4 ve p16 Belirleyicilerinin Liposarkom Tanısına Katkısı

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Kötü huylu yağ doku tümörü olan liposarkomun doğası gereği, bazı iyi huylu ve diğer kötü huylu tümörler ile mikroskopik görüntülerdeki benzerlikleri patolojik tanı aşamasında zorluklar yaratabilmektedir. Tanı aşamasındaki bu zorlukları giderebilmek için bazı ek tetkiklere ihtiyaç duyulması söz konusu olsa da günümüz teknolojisindeki incelemelerin yeterli olamadığı olgular da görülebilmektedir. Son yıllarda liposarkom araştırmalarında bazı moleküler ve genetik değişiklikler tanımlanmıştır. Tanımlanan bu moleküler değişikliklerden bazıları MDM2, CDK4 ve p16 gen değişiklikleri olup, çalışmamızda bu moleküler belirleyicilerinin liposarkom tanısındaki rolü ve tümörünüze ilişkin patolojik verilerle ilişkisi araştırılacaktır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Tıbbi patoloji raporlarında "lipom, liposarkom veya pleomorfik sarkom" tanısı almış olmanız, tümörünüze ait parafin bloklarının EÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenmiş, blokların halen arşivde bulunması ve yeterli tümöral doku içermesi

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Çalışma için size ek bir işlem yapılmayacaktır. Tüm incelemeler sizden daha önce alınmış olan doku örneğinin parafin bloğunda gerçekleştirilecektir.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak rutin kontrollerinizi hastanemizde yaptırmanız ve sonuçları dosyanıza işletmeniz sizin sorumluluklarınızdır. Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 100'dür.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 18 aydır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırmada sizin için herhangi bir zarar yok olup, bu çalışmadan çıkarılan sonuçlarla size ve sizin hastalığınıza sahip kişilere nasıl yaklaşacağımıza, hangi tedaviyi izleyeceğimize ve hastalığının seyrini konusunda bir öngöründe bulunmamıza yardımcı olabileceksiniz. Ancak siz doğrudan yarar görmeyebilirsiniz ya da tedavinizin seyrini değiştirmeyebilir.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Çalışmamızda arşivde yer alan materyaliniz kullanılacağı için sizler açısından beklenen olası bir risk bulunmamaktadır.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Araştırılacak doku örneğinizin teknik olarak çalışmaya uygun olmaması durumunda sizin izniniz olmadan da sizi çalışmadan çıkarabiliriz.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Bu çalışmada sadece araştırma yapılmaktadır. Bu çalışmaya alınmanıza neden olan hastalığınızla ilgili bu çalışma kapsamında başka bir tedavi yapılmayacaktır.

Tarih/ Versiyon: 04.12.2018

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	1/3

Araştırmanın Adı : MDM2, CDK4 ve p16 Belirleyicilerinin Liposarkom Tanısına Katkısı

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu değildir. Tüm işlemler sizden daha önce alınmış olan doku örneğinden hazırlanmış parafin blok üzerinde yapılacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Bu çalışma ile ilgili bir sorun yaşamayacaksınız. Ancak yine de herhangi bir soru ya da düşünceniz olursa 232 3903709 no'lu telefondan Doç.Dr. Banu Yaman ile görüşebilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür inceleme ve diğer araştırma masrafları araştırma ekibi tarafından karşılanacak olup size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Çalışmayı destekleyen kurum Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğü'dür.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu size yapılacak işlemleri etkilemeyecektir. Araştırmacı, doku örneğinizin teknik olarak çalışmaya uygun olmaması durumunda isteğiniz dışında sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda hastalığınıza ilişkin diğer tedavi ve rutin kontrolleriniz etkilenmeyecektir.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren iki (2) sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermeme için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		

Tarih/ Versiyon: 04.12.2018

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu Form 17	Rev. Tarihi / No.su: 03.11.2010/EÜTF00	Sayfa 2/3
---	-----------------------	---	--------------

Araştırmanın Adı : MDM2, CDK4 ve p16 Belirleyicilerinin Liposarkom Tanısına Katkısı

TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Doç.Dr. Banu Yaman	
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

Tarih/ Versiyon: 04,12,2018

İlaç Dışı Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.suz	Sayfa
	Form 17	03.11.2010/EÜTF00	3/3

8.3. OLGU RAPOR FORMU ÖRNEĞİ

OLGU RAPOR FORMU ÖRNEĞİ

Tarih:

Çalışma Adı/Kodu: MDM2, CDK4 ve p16 Belirleyicilerinin Liposarkom Tanısına Katkısı

- Adı-Soyadı:
- Olgu numarası:
- Biyopsi No:
- Telefon/Adres:
- Yaş:
- Cinsiyet:
- Tanı:
- Tümör lokalizasyonu:
- Tümör boyutu:
- Tümör derecesi:
- Mitotik indeks:
- Nekroz varlığı:
- Eksizyon sınırı:
- Patolojik evre:
- İmmunohistokimyasal Yöntem ile:
 - MDM2 boyanması:
 - CDK4 boyanması:
 - P16 boyanması:
- Diğer:
- Notlar :

Doç. Dr. Banu Yaman
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

7.1. TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

MDM2, CDK4 ve p16 BELİRLEYİCİLERİNİN LİPOSARKOM TANISINA KATKISI

ORJİNALLİK RAPORU

%**6**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**3**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**3**

YAYINLAR

%**2**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	GÜLSEREN, Mehmet Onur, SAYLAM, Barış, GÜLDOĞAN, Cem Emir, ÜNAL, Devrim Tuba, POLAT DÜZGÜN, Arife and COŞKUN, Faruk. "Dev Retroperitoneal Dedifferansiye Liposarkom", Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2017. Yayın	% 1
2	onkder.org İnternet Kaynağı	% 1
3	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	zehirlenme.blogspot.com.cy İnternet Kaynağı	<% 1
5	cms.galenos.com.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	readgur.com İnternet Kaynağı	<% 1

7	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<%1
8	halksagligiokulu.org İnternet Kaynağı	<%1
9	YAĞTU, Mehmet, TURAN, Eren and TURAN ÖZTÜRK, Çiğdem. "Meme Kitlelerinin Ayrıcı Tanısında US Elastografinin Rolü ve Klasik Ultrasonografik Değerlendirmeye Katkısı", Meme Hastalıkları Araştırma ve Tedavi Derneği, 2014. Yayın	<%1
10	Ümit Gül. "The Diagnosis and Treatment of Retroperitoneal Mass", Üroonkoloji Bülteni, 2015 Yayın	<%1
11	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<%1
12	Submitted to Akdeniz University Öğrenci Ödevi	<%1
13	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
14	tel.archives-ouvertes.fr İnternet Kaynağı	<%1
15	docplayer.com.br İnternet Kaynağı	<%1

16	Submitted to Afyon Kocatepe University Öğrenci Ödevi	<%1
17	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<%1
18	"Pathologie", Springer Nature, 2009 Yayın	<%1
19	"Abstracts of selected papers from the current literature", Abdominal Imaging, 1995 Yayın	<%1
20	ZENGİN, Mehmet, DURSUN, Nevra, PAŞAOĞLU, Hüsnüye Esra and KOÇ, Oğuz. "Pankreatik duktal adenokarsinomlar ve ampüller bölge adenokarsinomlarında HSF-1 ve P53 ekspresyonlarının prognostik faktörlerle ilişkisi", DNT Ortadoğu Yayıncılık AŞ, 2017. Yayın	<%1
21	dergipark.ulakbim.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
22	Submitted to Bahcesehir University Öğrenci Ödevi	<%1
23	GEDÜK, Ayfer, CAN, Burak, DÜNDAR, Emine, SALİ, Mürsel, GEÇGEL, Fatma, KORKMAZ, Özge, BATMAN, Adnan and DENGELİK, Emrullah. "Akut Koroner Sendromların Komplikasyonları ile Ürik Asit Arasındaki İlişki",	<%1

Kocaeli Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
2015.

Yayın

24

Submitted to Izmir Katip Aalebi Aniversitesi
Öğrenci Ödevi

<%1

25

Gupta, Mukesh Kumar, Raj Kumar Rauniyar, Kaleem Ahmad, Sajid Ansari, and Ashok Raj Pant. "Incidental mucosal abnormalities of paranasal sinus in patients referred for MRI brain for suspected intracranial pathology in Eastern Nepal", Asian Journal of Medical Sciences, 2014.

Yayın

<%1

26

logosyayincilik.com
İnternet Kaynağı

<%1

27

Kammerer-Jacquet, Solène-Florence, Sixte Thierry, Florian Cabillic, Morgane Lannes, Florence Burtin, Sébastien Henno, Frédéric Dugay, Guillaume Bouzillé, Nathalie Rioux-Leclercq, Marc-Antoine Belaud-Rotureau, and Nathalie Stock. "Differential diagnosis of atypical lipomatous tumor/well-differentiated liposarcoma and dedifferentiated liposarcoma: utility of p16 in combination with MDM2 and CDK4 immunohistochemistry", Human Pathology, 2017.

Yayın

<%1

28	ŞEN, Sait, ALKANAT, Murat Bülent, AKALIN, Taner and ÖZSAN, Nazan. "Amiloidozis tanısında zorluklar: Böbrek iğne biopsisinden kaçınılabilir mi?", TUBITAK, 2002. Yayın	<%1
29	www.panafrican-med-journal.com İnternet Kaynağı	<%1
30	BÜYÜKKALE, Songül, ÇITAK, Necati, İŞGÖRÜCÜ, Özgür, KALAFAT, Cem Emrah, AKSOY, Yunus, CEMALLER, Çağrı, OBUZ, Çiğdem, AÇIKMEŞE, Barış, ULUKOL, Ayşe, BAKAN, Nur Dilek, DEMİR, Adalet and SAYAR, Adnan. "Yedikule Organ Nakli Merkezinin erken dönem akciğer nakli sonuçları: Üç yıllık deneyimimiz", Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Derneği, 2017. Yayın	<%1
31	www.turkcer.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
32	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi	<%1
33	kutup.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
34	SAVAŞÇI, Ümit and AVCI, İsmail Yaşar. "Kan ve Kan Bileşenleri ile Bulaşan Enfeksiyon	<%1

Etkenleri ve Nükleik Asit Amplifikasyon Test (NAT) Yönteminin Önemi", Logos Yayıncılık, 2016.

Yayın

35	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
36	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
37	eacem2018.org İnternet Kaynağı	<%1
38	Submitted to National postgraduate Medical College of Nigeria Öğrenci Ödevi	<%1
39	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	<%1
40	Submitted to Centro de Investigacion y Desarrollo de Educacion Bilingue Öğrenci Ödevi	<%1
41	SERTER, Mukadder, AKTOĞU, Serir, ERER, Onur Fevzi and YENİSEY, Çiğdem. "Plevral effüzyonların ayırlanmasında CA 125, CA 19,9 ve CA 15,3'ün kullanımı", TUBİTAK, 2004. Yayın	<%1
42	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1

43

YURDAKUL, Ahmet Selim. "Akciğer kanserinde yeni evreleme sistemi", Türk Toraks Derneği, 2010.

Yayın

<%1

Alıntıları çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

< 5 words

Bibliyografyayı Çıkart

üzerinde

