

ÇOCUKLUK ÇAĞI YUMUŞAK DOKU SARKOMLARINDA SİTOGENETİK MARKERLAR

Doç. Dr. Gönül OĞUR (*)

Kanser hücrelerinin içerdiği genetik bilgi, malign olmayan bir hücre içeriğinden önemli farklılıklar göstermektedir. Kanser hücreleri DNA'ları kapsamında nokta mutasyonlar, viral insersiyonlar, gen amplifikasyonları, delesyonlar, ya da kromozomal translokasyonlar taşırlar. Kromozomal değişikliklerin tanımlanması ve moleküler karakterizasyonu, hücre büyüme ve gelişmesi ile ilgili genlerin yapısı ve fonksiyonunu anlamakta yararlar sağladığı gibi, anormal hücre proliferasyonunun etyolojisine de ışık tutmakta ve pek çok neoplazi grubunun, klinik tanı ve tedavisine önemli katkılar sağlamaktadır (2, 12, 13, 25, 29, 32, 38).

Son yıllarda hızla gelişen genetik araştırmalar, tümör kromozom çalışmaları, moleküler sitogenetik araştırmalar (FISH), onkogen aktivasyon ve amplifikasyon analizleri ve tümör süpresör gen çalışmaları, pek çok malign hastalık grubunda, tanısal ve terapötik değer taşıyan veriler sağlamışlardır. Saptanan genetik değişiklikler, farklı fenotipik özellik gösteren kimi tümörlerde, ortak bir histogenezin varlığına işaret etmekte, aynı tümör grupları içinde ise alt grupların oluşturulması ve böylece tedavinin daha radikal planlanmasını sağlamaktadır (32, 37).

Yumuşak doku sarkomları son yıllarda geliştirilen sofistike histolojik tekniklere rağmen, tanısal güçlükler yaratan heterojen bir neoplazi grubudur. Konvansiyonel histolojik boyama yöntemleri ile boyandıklarında, pek çoğu hücre

farklılaşması göstermediğinden, tanı karmaşası yaşanabilmektedir. İndiferansiye, küçük, yuvarlak hücre görünümlü her sarkom, Ewing Sarkom (ES), periferik primitif nöroektodermal tümör (PPNET), alveolar rabdomyosarkom (A/RMS), lenfoma veya nöroblastom (NB) sanılabilmekte, benzer şekilde "spindle-cell" morfolojisine sahip indiferansiye bir sarkom, sinovial sarkom, leiomyosarkom, malign periferik sinir kılıfı tümörü veya rabdomyosarkom olarak tanılabilmektedir. Bu tür tanısal sorunlar, hücreye özgün antijenik markerlarla ve immünohistokimyasal boyalarla kısmen çözümlenebilir; ancak kimi indiferansiye sarkomlar immünohistokimyasal işaret de taşımadıklarından, tanı sorunu yine de yaşanabilmektedir.

Sitogenetik araştırmalar, pek çok neoplazi grubunda olduğu gibi, yumuşak doku sarkomunda da, tanısal önemi olan karakteristik kromozomal aberasyonlar saptamışlardır (2, 12, 13, 14). Bu yazımızda kromozomlarla ilgili kısa bir bilgiden sonra yumuşak doku sarkomlarında tanısal değeri olan "marker" kromozomlardan söz edilecektir.

KOMOZOMAL ÇALIŞMALARLA İLGİLİ TEMEL BİLGİLER

İnsan hücresi, bir çifti cinsiyet kromozomu ve 22 çifti otozomal kromozom olmak üzere 46 kromozom içerir. 1970 yıllarına dek sadece kaba morfolojik özelliklere dayanarak tanımlanan insan kromozomları, halen farklı bantlama ve

* GATA Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı

TABLO 1 : YUMUŞAK DOKU TÜMÖRLERİNDE KARAKTERİSTİK SİTOGENETİK DEĞİŞİKLİKLER

HİSTOLOJİ	SİTOGENETİK	TANISAL
EWING SARKOMU/PPNET	t(11;22) (q24;q12)	Evet
ALVEOLAR RMS	t(2;13) (q35-37;q14)	Evet
EMBRYONAL RMS	1q, 1p,+2q,+8,+13, +20, 3p14-21,11p-	Evet
SİNOVIAL SARKOM	t(X;18) (p11;q11)	Evet
MALİGN FİBRÖZ HİSTİOSİTOM	19p13,11p11,3p12,1q11	?
İNFAİL FİBRÖSARKOM	+11,+17,+20	Evet
LEİYOMYOSARKOM	1p-	?
LİPOSARKOM-MİKSOİD	t(12;16) (q13;p11)	Evet
"Clear Cell" SARKOM	t(12;22)	Evet
KONDROSARKOM-MİKSOİD	t(9;22) (q31;q12)	Evet
MEZOTELİOMA	1p-, 3p-, -22	Evet

boyama teknikleri aracılığı ile kesin olarak birbirlerinden ayırdedilebilmektedir (Şekil 1). Kromozom bantlama yöntemleri, pek çok neoplazik proliferasyonda, karakteristik sitogenetik değişikliklerin tanımlanmasını sağlamıştır. Sitogenetik ile ilgili sistematik çalışmalar, öncelikle lösemi ve lenfoma grubunda gerçekleştirilmiş, sonuçta pek çok hematolojik neoplazmada, klonal, yapısal ve sayısal kromozom değişiklikleri elde edilmiştir (21, 25). Bugün bu değişikliklerin pek çoğunun tanısı ve prognostik değeri vardır. Sitogenetik araştırmalar zaman içinde benign ve malign yumuşak doku tümörlerini de içermiş ve hemen tüm yumuşak doku tümörlerinin anlamlı kromozomal değişiklikler yansıttığı görülmüştür. Tanısal ve prognostik önemlerinin yanı sıra, kromozomal bozuklukların saptanmasının çok anlamlı bir yönü, moleküler çalışmaları yönlendirerek kanser genlerinin klonlanması ve tanımlanmasına olanak sağlamasıdır.

SİTOGENETİK YÖNTEMLER

Klasik sitogenetik yöntemler, mitozun rölatif olarak kısa bir fazı olan metafaz sırasında uygulanmaktadır. Metafazda kromozomların yoğun bir kontraksiyon göstermeleri, çeşitli boyalarla bantlanarak, tanınabilir hale gelmelerini sağlar. Tümör sitogenetiği çalışmalarında önemli olan tümör hücrelerinin karyotipini elde edebilmektir. Bu amaçla genellikle tümör kütlesinden alınan materyalden gerçekleştirilen kültürler kullanılır. Çalışma tümör hücreleri içeren kemik iliği (23), ya da ender olarak kan kültürleri şeklinde de gerçekleştirilebilir. Doku kültür sürecinde zaman zaman malign olmayan dokular, örneğin fibroblastlar kültür ortamına egemen olabilirler. Sitogenetik uzmanlarının, morfolojik olarak neoplazik hücreleri tanımları ve normal hücrelerden ayırdedebilmeleri gereklidir. Gerçek tümör karyotipinin elde edilmesi açısından bu deneyim son derece önemlidir.

Günlük olarak izlenen doku kültürlerinde, mitotik indeksin en uygun olduğu dönemde, hücre siklusu, mitotik içcik inhibitörleri ile bloke edilerek, hücre bölünmesinin metafaz evresinde durdurulması sağlanır. Böylece tümör dokusuna özgün metafaz plakları elde edilir.

Yumuşak doku sarkomu sitogenetik çalışmaları, taze, steril ve canlı hücre kapsayan dokuları gerektirmektedir. Diğer bir deyişle, kromozom çalışmaları, önceden fikse edilmiş doku parçalarında gerçekleştirilemez. Tümör dokusunun, elde edilmesini takiben en kısa süre içinde sitogenetik laboratuvarına götürülmesi son derece önemlidir, zira transport sırasında yüksek gradlı ya da nekrotik dokular, kısa sürede bozulma gösterebilirler. Kültür işlemi sırasında, nekrotik dokuların ortamdaki temizlenmesi, kültürün başarısı açısından son derece önemlidir.

Kromozomal değişiklikler sıklıkla translokasyonlar ya da sayısal bozukluklar şeklinde görülür. Örneğin 46, XX, t(11;22), 1. ve 22. kromozomlar arasında dengeli bir translokasyonu simgeleyen bir yazım biçimidir. Bu yapının sonuna kromozom kırık bölgeleri ile ilgili bilgi de eklenmek isterse, 46, XX, t(11;22)(q24;q12) ifadesini kullanmak gerekir. "q" kromozomda uzun kolu, "p" se kısa kolu simgeler. Yukarıda sözü edilen translokasyonda, 11. kromozomun uzun kolunda, 2. bölgenin 4. bandı (11q24) ile, 22. kromozomun uzun kolunda 1. bölgenin 2. bandı (22q12) arasında bir translokasyon olduğu belirtilmektedir. Total sayı 46'dır ve olgu bir dişidir (XX). Sayısal bozukluklarda fazla olan kromozomun önüne (+), eksik olanın önüne ise (-) ifadesi getirilir. Ör. 47, XX, +7 veya 45, XY, -20 gibi. "del" (delesyon) ifadesi kromozomlarda eksilen bir bölgeyi simgelemektedir.

YUMUŞAK DOKU SARKOMLARI VE SİTOGENETİK ÇALIŞMALAR

EWING SARKOMU VE PERİFERİK NÖROEKTODERMAL TÜMÖRLER

Santral ve periferik sinir sisteminde ve bazı sinir dokusu dışındaki dokularda, örneğin pigmente epitel ve kemikte, bir seri hücre, "embriyonik nöroektodermden" köken alır. Bu dokulardan kaynaklanan tümörler arasında ender görülen, kötü diferansiye, küçük yuvarlak hücreli, primitif nöroektodermal tümörlerde yer almaktadır. Ewing sarkomu, nörepi-telioma, Askin tümörü ve esthesionöroblastoma bunlar arasındadır. Bu tümörlerin konvansiyonel histopatolojik yaklaşımlarla sınıflandırılması, benzer morfolojik ve sitolojik özelliklere sahip olmalarından ötürü zordur. Bu tümörlerin, nöroblastom, embriyonel rabdomyosarkom (E/RMS), hematogen osteomyelit, küçük hücreli osteojenik sarkoma ve lenfomadan ayırdedilmesi de sorun yaratabilir (13, 25, 32).

Kromozomal ve moleküler genetik araştırmalar, bir yandan bu neoplasmların histogenezinin anlaşılmasına büyük yararlar sağlarken, bir yandan da yüksek tanısal değeri olan çok önemli "marker" ların tanımlanmasına olanak vermişlerdir.

PRİMER EWING SARKOMA VE KEMİK DIŞI EWING SARKOMA'DA SİTOGENETİK

Primer Sitogenetik Bulgular

Es, genç erişkinler ve adolesans ilgilendiren primer kemik tümörleri arasında ikinci sıklıkta görülür. Tümör sıklıkla ekstremitelerde uzun tübüler kemikleri etkiler. Olguların 2/3 si 20 yaşın altındadır. Erkeklerde görülme oranı bayanlardan biraz daha fazladır. İskelet dışı formu da tanımlanmıştır.

Sitogenetik analizler ES'da "marker" bir translokasyonun varlığını belirlemişlerdir: t(11;22)(q24;q12) (Şekil 2) (2, 12, 32, 35, 38). Bu resiprokal translokasyon, sadece 11. ve 22. kromozomları ilgilendiren "basit" bir translokasyon biçiminde olabildiği gibi, 11 ve 22'ye ek olarak diğer kromozomları da içeren "kompleks" bir translokasyon, ya da 22. kromo-

TABLO 2 : EWING SARKOMU, RABDOMYOSARKOM VE NOROBLASTOMA'DA TANISAL DEGERİ OLAN SİTOGENETİK, MOLEKÜLER GENETİK VE İMMÜNOSİTOKİMYASAL MARKERLAR

EWING SARKOMU/ PPNET PPNET	SİTOGENETİK t (11;22) (q24;q12)	MOLEKÜLER GENETİK c-myc +	İMMÜNOLOJİK MIC2 + W6/32 (HLA1)+ HBA 71 veya 12E7
RABDOMYOSARKOM Alveolar	t(2;13) (q35;q14)	c-myc + N-myc + Çocukluk çağı RMS de RB1 "intact"	Myo D +
Embriyonal1q ve 1p aber., +8, +13, +20, dellp, 3p14-21			
NÖROBLASTOM	del (1p) (p32-36) "homogeneously staining regions" (HSR) "double minutes" (DMS)	N-myc +	HSAN 1.2 + N-CAM +

aber.: aberasyon

zom ile 11. kromozom dışındaki kromozomların translokasyonunu ilgilendiren "**varyant**" bir yapı şeklinde olabilmektedir. Basit t(11;22) (q24;q12), yaklaşık % 78 olguda saptanmakta, olguların % 6-7 sinde kompleks translokasyon, % 7 sinde ise varyant translokasyon bildirilmektedir. % 8 lik grupta farklı bulgular bildirilmiştir.

Sekonder Sitogenetik Bulgular

t(1;22), ES u karakterize eden, primer bir değişikliktir. Tümörlerde primer koromozomal değişiklikler yanında, diğer tümörlerde de görülebilen sekonder kromozomal değişiklikler de olabilmektedir. Ek bulguların görülmesi genelde çok sayıda gen aktivasyon ve ekspresyonunu yansıttığından, tümör progressiyonu ile yakından ilgili gözükmektedir. ES da da sekonder sayısal ve yapısal değişiklikler gözlenebilir. Olguların % 46 sında **trisomi 8** mevcuttur. Trisomi 8 hematolojik malignansilerde de sık görülen bir bulgudur. Olguların % 18 inde trisomi **1q** görülmektedir. Bu sıklıkla 16. kromozomun uzun kolu ile ilgili translokasyonlardan kaynaklanmaktadır. 16. kromozomdaki kırık noktalar q11-24, 1. kromozomdaki kırık noktalar ise q1-32 arasındadır. En sık görülen form **der(16), t(1;16) (q21;q13)** dür (10, 32). 1q anomalileri, özellikle trisomi 1q, malignitelerde, türden bağımsız olarak en sık görülen sekonder kromozomal değişikliktir. Onkogeneze geç evre bulgusu olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle der(16), t(1;16) varlığı, tümörde progressiyon işareti olarak kabul edilebilir (10, 12, 25, 32). Sayısal değişiklikler arasında diğer sık görülenler, trisomi 2, 9 ve 7 dir.

PERİFERİK PRİMİTİF NÖROEKTODERMAL TUMÖRLER VE SİTOGENETİK

Ewing Sarkomu ve Periferik Primitif Nörektodermal Tümörler, histolojik olarak benzerlikler gösteren küçük, yuvarlak hücreli tümörlerdir. Bu tümörler arasındaki başlıca farklılık, Ewing sarkomunun indifferansiye bir tümör oluşu, oysa PPNET lerin, genelde immünohistokimyasal ve ultrastruktürel nöroektodermal farklılaşma özellikleri göstermeleridir.

Bugünkü bilgiler her iki tümörün, ilgili tümörler olduğu paralelindedir. Sitogenetik ve moleküler veriler bu görüşleri destekleyici niteliktedir (25, 32).

Ewing Sarkomu'nda tanımlanan sitogenetik marker "t (11;22) (q24; q12)", bir seri **periferik primitif nöroektodermal tümör**de de tanımlanmıştır. Periferik nöroepitelioma, periferik sinirlerle birliktelik gösteren ancak adrenal ve sempatik ganglion içermeyen bir neoplazidir. Ender görülür; morfolojik ve biyokimyasal olarak nöroblastoma benzer. t (11;22)q24;q12, PPNET için bir "marker" translokasyondur; nöroblastomadan ayırdedilmelerinde çok önemli bir kriterdir (2, 13, 14, 32).

t(11;22) (q24;q12), **Askin tümör**lerde de görülmektedir. Askin tümör, torakopulmoner duvarın malign ufak hücreli bir tümörü olmasına karşın, PPNET dekilere benzer nöronal element içerir. Esthesionöroblastoma, olfaktör epitelden köken alan, nöroektodermal hücre kaynaklı, ender bir neoplazidir. Bu tümör de t(11;22) (q24;q12) ile karakterizedir (12, 13, 14, 32).

Yumuşak doku sarkomaları ile ilgili sitogenetik ve moleküler genetik bulgular diğer kimi sarkomaların da ES ve PPNET ile histolojik ve genetik olarak ilgili olduklarını düşündürmektedir. Örneğin kimi **küçük hücreli osteosarkomalar**, karakteristik 11 ve 22 kromozom translokasyonunu taşımaktadırlar (20). Bu veriyi açıklamak pek de zor değildir, zira küçük hücreli sarkomaların bir alt grubu, histolojik olarak ES a benzemektedir, ancak intratümöral osteoid formasyon nedeni ile osteosarkom olarak sınıflandırılmışlardır. t(11;22) **pediatrik mezankimal kondrosarkomalı** bir olguda da bildirilmiştir. Bu bulgu oldukça ilginçtir zira PPNET'ler kondroid farklılaşma gösterebilmektedirler. Tüm bu veriler ES ve PPNET'lerin alışılmışın dışında farklılaşma gösterebildiklerini (osteoid veya kondroid) ve bunun ise tanı güçlüklerini arttıracaklarını göstermektedirler. Bu durumda t(11;22) yine son derece aydınlatıcı bir bulgudur (13, 14, 25).

Tüm bu verilere karşın, bir grup santral, primitif NET lerde, özellikle beynin posterior fossasında yerleşenlerde t (11;22) saptanamamıştır. Potluri ve ark. (1987) 5 santral PPNET olgusunun 3 ünde ek 1q materyali, trisomi 1 gibi, ya da i(1q) gibi bulgular tanımlamışlardır (28). Bunların 2 si (2/

5), 13. kromozom için monosomik bulunmuştur.

Son yıllarda hız kazanan moleküler çalışmalar, ES ve PPNET lere özgü t(11;22) (q24;q12) ile ilgili değerli bilgiler kazandırmışlardır. 22. kromozomun uzun kolunda 1. bölgenin 2. bandına (22q12) "EWS" geni haritalanmıştır (27). EWS geni, 40 Kb lık bir genir ve 17 ekzonu mevcuttur. Olguların çoğunda kırık noktaların 7. ve 8. intronda oldukları gösterilmiştir. t(11;22) (q24;q12) de, translokasyon, 22. kromozomun uzun kolu üzerindeki EWS geni ile, 11. kromozomun uzun kolu üzerindeki FLI-1 geni arasında bir füzyon ile sonuçlanmaktadır (19) 22. kromozomdaki EWS geninin N-terminal kodlayıcı bölgesi, 11 q 24 e lokalize FLI-1 genin DNA bağlayıcı karboksi terminal bölgesine bağlanmaktadır. Oluşan kimerik gen, **EWS/FLI-1**, FLI-1 in transkripsiyonel aktivasyon özelliğini değiştirmekte, sonuçta c-myc ekspresyonu artmaktadır. Bu nedenle c-myc gen "promoter" ları etkilenecek, c-myc ekspresyonu artmaktadır. Bu bulgular c-myc geninin "upregülasyonu"nda, EWS/FLI-1 füzyon geninin aktif rolü olduğunu düşündürmektedir (1, 4, 9).

Doku kültür denemeleri NIH 3T3 hücre soylarında EWS/FLI-1 kimerik geninin transforme edici etkisini göstermiştir. t(11;22) sonucu oluşan transkripsiyon faktörünün onkogenik etki gösterdiği, hem nöroektodermal hem de hematopoetik kökenli tümörlerde gösterildiğinden, insan karyogenezinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir (19). EWS/FLI-1 füzyon geni Ewing sarkomu ve PPNET ler için yararlı tanısal bir markerdir. PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) aracılığı ile çok az sayıdaki hücre gruplarında bile bu füzyon geninin saptamak olanaklıdır (9). PCR 1/1000 oranındaki hücre dilüsyonunda bile geni saptayabildiğinden, özellikle "minimal residüel hastalık" tanısında yarar getirmektedir. Bu tür çalışmalar mRNA üzerinde yürütmek durumundadır.

EWS/FLI-1 füzyon genleri, DNA'nın FLI-1 ve EWS ile işaretlendiği, floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) ile de saptanabilir. FISH, kromozoma özgün, işaretlenmiş problemler (kosmid klonlar), kromozomların direkt olarak tanımlanmasını sağlayan, son yıllarda popülerite kazanmış bir moleküler sitogenetik tekniktir (18). FISH yöntemi hücre dilüsyonu açısından PCR a göre daha dezavantajlı olmakla birlikte, tümör hedefi DNA olduğundan ve bu da mRNA ya göre daha stabil durumda bulunduğundan, daha pratik bir yöntem olarak kabul edilebilir. Selleri ve ark. (1991), bu tekniği kullanarak, ES daki t(11;22) nin moleküler lokalizasyonunu gerçekleştirmiş ve nöroepiteliomadaki translokasyonun ES ile aynı olduğunu göstermişlerdir (31).

Tüm bu veriler, ES- PPNET ler, Askin tümörü ve ENB da saptanan t(11;22) un, yanı kırık noktalara sahip idantik bir translokasyon olduğunu göstermekte, bu ise, bu tümörlerin ortak bir onkogeneze sonucu oluştuğunu düşündürmektedir. Olasılıkla bu neoplasmlar, ortak bir öncü hücre veya dokudan kaynaklanmakta, farklılaşma sırasında değişime uğramaktadırlar (13, 32). Bu tümörlerle ilgili ortak proto-onkogen ekspresyonları da bu görüşü desteklemektedir. Burada önemli bir nokta, ES ve sözü edilen diğer tümörlerde görülen "marker" t(11;22) nin, insanlarda konstitüsyonel olarak sık görülen t(11;22) den farklı olduğunun hatırlanması gereğidir. İnsanlarda konstitüsyonel olarak görülen resiprokal translokasyon (11;22)nin, kırık noktaları ES dakinden farklıdır (3).

EWİNG SARKOMU- PPNET'LER VE DİĞER YUVARLAK HÜCRELİ TÜMÖRLER

Pediyatrik tümörler içinde, küçük, yuvarlak, mavi hücre

neoplasmlarını yansıtan bir grup, örneğin embriyonel rabdomyosarkoma (E/RMS), Hodgkin dışı lenfoma (HDL) ve nöroblastoma, histolojik olarak Ewing sarkoma benzemektedirler. Bu tümörler özellikle diferansiyasyon nitelikleri taşımadıklarında ve ES a özgü anatomik bölgelerde yer aldıklarında ES dan ayırdedilmeleri oldukça güçtür (25).

Nöroblastoma, sempatik sinir sistemi nöral çatı hücrelerinden köken alır ve sıklıkla karında kitle ile, 2 yaşlarında ortaya çıkar. Kemik metastazı sıktır. Nöroblastoma'nın sitogenetik markerları ES dan farklıdır; ES'da görülen t(11;22), NB da yoktur. NB da yaklaşık % 66 olguda 1. kromozomun kısa koluna ait delesyon bildirilmiştir (del (1) (p32p36)); NB da ayrıca, HSR (Homogeneously Staining Regions) ve DMS (Double Minutes) gibi gen amplifikasyon ürünleri tanımlanmaktadır. Moleküler düzeyde tanımlanan N-myc amplifikasyon, ayırıcı tanı ve prognoz açısından önemli bir diğer kriterdir. Tüm bunların yanında "microtubule-associated protein" (MAP) adı verilen bir protein, NB da bulunduğu halde, ES da bulunmamaktadır. Daha da öte, NB da, dopamin, noradrenalin ve adrenalin kantitatif analizleri ve katekolamin histofloresans analizi pozitif olduğu halde, ES da tüm bu analizler negatiftir (13, 25, 32).

Embriyonel rabdomyosarkoma, metastazlar ya da komşuluk dolayısı ile iskelet sistemini etkilediğinde, ES yayılımı yaratabilir. t(11;22), E/RMS de hiç rapor edilmemiştir. Aksine E/RMS de, 1q ve/veya 1p, 3p14-21 ile ilgili yapısal değişiklikler, +2, +13 gibi sayısal değişiklikler sıktır. Ek olarak E/RMS de, tümör hücresinin sitoplazması boldur ve yoğun boya alır. Glukojen içermez ve desmin, aktin ve myoglobulin (+) dir (13, 25, 32).

Hodgkin Dışı Lenfoma (HDL) ender olarak, ES ile karışabilir. "CALLA" (common leukocyte antigen), yaş dağılımı ve sitogenetik, her ikisinin ayırdedilmesinde yararlı olabilir (2, 13, 25, 32, 38).

ES, "non-neoplastik" durumlarla örneğin, **osteomyelit** ile de karışabilir. Yaş ve lokalizasyon ayırdedici değildir. Histolojik olarak aşırı nekroz ve lökosit infiltrasyonlu kanama, altta yatan ES unu maskeleyebilir. Bazen X-ray bile ES yayılımı verebilir. ES daki t(11;22), yine yararlı bir ayırıcı tanı parametresidir (13, 32).

Tüm bu veriler göstermektedir ki t(11;22) nin ES ve diğer nöroektodermal tümörler ile birlikteliği, solid tümör sitogenetik çalışmaları içinde özel bir konuma sahiptir. Tanısal değeri yüksek bir veridir. Diğer tümörlerde de özgün değişiklikler saptanmıştır (Tablo 1) ancak hiçbirinin tümör ile birlikteliği, t(11;22) ve ES/NE kadar yüksek değildir. t(11;22)nin varlığı, ES/PPNET'ler için tanısal değere taşıdığı gibi, olmayışı da, ES tanısını ekarte edici olabilmektedir. Whang-Peng ve ark. (1986), iskelet dışı ES tanısı alan bir tümörde t(11;22) gösterememişler, olgu yeniden değerlendirilmiş ve ultrastrüktürel çalışmalar, tümörün vasküler kökenli olduğunu göstermiştir (25, 35).

t(11;22) varlığı, kimi tümörlerin klasifikasyon ve tedavisinde de farklı görüşler getirmeye başlamıştır. Örneğin, klasik yaklaşımda Askin tümörü ve nöroepitelioma atipik nöroblastoma olarak gruplandırılan tümörlerdendir ve tedavi de bu paralel de gerçekleştirilmektedir. Her iki tümörün de tedaviye yanıtı kötüdür. t(11;22) nin varlığı bu tümörleri ES una daha çok yaklaştırdığı kabul edilirse, tedavi de belki farklı bir boyut kazanabilir (13, 15, 29).

RABDOMYOSARKOMA

Rabdomyosarkoma (RMS), 21 yaşın altında en sık gö-

rülen yumuşak doku tümörüdür. Tüm çocukluk çağı kanserlerinin, % 5-8 ini kapsar. Önemi sık görülmesinden ve çok farklı anatomik bölgelerde yer almasından kaynaklanmaktadır (25, 26).

RMS lar, patoloğlar tarafından bir seri farklı histolojik alt-gruplara ayrılmışlardır. En sık rastlanan, embriyonel ve alveolar alt gruplardadır. Embriyonel RMS hücreleri, insan embriyosundaki, iskelet adelesi hücrelerini andırırlar; kimi zaman olgun adele hücrelerine benzer, çapraz çizgilenmeler gösterirler. Alveolar RMS ler ise indifferansiye, yüksek gradlı neoplazmlardır ve sıklıkla metastaz gösterirler; küçük yuvarlak hücre morfolojisine sahiptirler. ES, PNET, lenfoma veya lösemi ile karıştırılabilirler.

RMS lerin genetik bazını destekleyen pek çok literatür verisi söz konusudur. Konjenital akciğer kistlerine, Gorlin Nevoid Bazal Hücreli Karsinom Sendromu'na, Fetal Alkol Sendromu'na ve Nörofibromatozis'e eşlik ettiğini bildiren raporlar söz konusudur. Ayrıca Rubinstein-Taybi ve Roberts Sendromu'nda, izole RMS olguları bildirilmiştir. RMS li olgularda, merkezi sinir sistemi anomalileri ve genitöüner sistem anomalileri artmış oranlarda bildirilmektedir. Oğur ve ark. (1992), Klinefelter Sendromu olan bir olguda RMS asosiasyonunu rapor etmişlerdir (22).

Çocukluk çağı yumuşak doku sarkomunun, maternal meme kanseri ile birlikteliği, 1969'da Li ve Fraumeni tarafından tanımlanmıştır. Yumuşak doku sarkomu olan çocukların annelerinde meme kanseri görülme riskinin 13.5 kat arttığı bildirilmektedir (17, 25). RMS nin ayrıca, glioblastoma, meme karsinomu, akciğer kanseri ve adrenokortikal karsinom ile birlikteliği bildirilmiştir. Bu ailelerde yumuşak doku sarkomlarına otosomal dominant bir yatkınlıktan söz edilmektedir. Kimi Li-Fraumeni ailelerinde, 17. kromozomun kısa kolunda, p53 tümör süpresör geninde "germline mutasyon" (otosomal dominant) tanımlanmıştır (25).

Yumuşak doku sarkomu ile ilgili sitogenetik çalışmalar, kromozom bantlama tekniklerine paralel olarak 10-15 yıl önce başlatılmıştır. Elde edilen veriler, alveolar RMS lerin % 80 inden fazlasında özgün t(2;13) (q35-37;q14) tanımlanmıştır (11, 25, 36, 37). Tanısal değeri yüksek olan bu translokasyon, 2. kromozomdaki PAX3 geni ile, 13. kromozomdaki EKHR (ALV) geninin füzyonuna neden olmaktadır (PAX3/EKHR). Oluşan kimerik gen, bir DNA transkripsiyon faktörüdür. Potansiyel olarak tümörjenik bir özelliğindedir (16). Füzyon gen E/RMS lerde mevcut değildir. Tanısal değeri yüksek olan t(2;13), fibröz septaları olmadığı için, E/RMS olarak tanı alan bir solid RMS olgusunda da bildirilmiş, fibröz septaları olmasa da bu grubun alveolar RMS olarak sınıflandırılması gereğini doğrulamıştır (24, 33). A/RMS de varyant t (1;13) (p36;q14) varlığı da bildirilmiştir (4). Bu translokasyonda 1. kromozomdaki PAX3 geni, 13. kromozomdaki EKHR geni ile füzyon oluşturmada (PAX3/EKHR), sonuçta ortaya çıkan kimerik transkript, PAX3/EKHR füzyon transkriptine benzer biçimde, DNA bağlayıcı bölgeleri kodlamaktadır. Tümörjenik potansiyeli olan bu 2 translokasyonun, benzer kimerik transkripsiyon faktörü oluşturduğu ve bunların da ortak bir grup hedef genin ekspresyonunu değiştirdiği düşünülmektedir (4). A/RMS'de etkilenen 13. kromozom kırık bölgesi (13q14), retinoblastoma geniyle aynı lokusu simgelemektedir. Araştırmalar çocukluk çağı A/RMS'de Rb1 geninin "intact" olduğunu göstermiştir. RMS'larla ilgili "sitoflorimetrik" analiz sonuçları, embriyonel hücrelerde özellikle hiperdiploid tümör hücreleri varlığını ve bu grubun prognozunu iyi olduğunu bildirmektedir. A/RMS'de ise diploide yakın bir model bulunduğu, bunların kötü prognoza sahip oldukları belirtilmektedir (25, 33, 37).

E/RMS lerde bilinen tek bir kromozomal değişiklik söz konusu değildir. Olguların çoğunda ekstra 2q, 20. veya 13. kromozomlar ve 3p14-21 değişiklikleri bildirilmiştir. Dietrich ve ark., (1993) trisomi 8 in E/RMS de primer bir değişiklik olduğunu vurgulayan bir rapor yayınlamışlardır (8). E/RMS de yapısal 1q ve 1p aberasyonları da bildirilmektedir. Pek çok E/RMS olgusunda, 11. kromozomun kısa kolunda gen kaybından (LOH: Loss of Heterozygosity), söz edilmektedir. Aynı lokus Beckwith-Wiedemann Sendromunu da içerir. Beckwith-Wiedemann Sendromunda, RMS, Wilms tümörü ve hepatoblastoma'ya predispozisyonu bildirilmektedir. İlginci olan Wilms tümörü ve hepatoblastomadaki hücrelerin embriyonik böbrek ve karaciğeri taklit etmeleridir. Olasılıkla 11. kromozom üzerindeki aynı gen, bu "embriyonel tümörler" in genezisinde rol almaktadır. Normal iskelet adelesinin farklılaşması için gerekli olan MYO D geni de 11p ye lokalize edilmiştir. MYO D geni hem A/RMS de hem de E/RMS de ekspresse olmakta ve bu sarkomların tanısında potansiyel etki göstermektedir (7). ES da, PNET lerde, lenfomada ve diğer küçük hücreli tümörlerde MYO D ekspresse olmaz. MYO D ekspresyonu normal iskelet adelesinin farklılaşmasında rol aldığından, RMS lerin, özellikle alveolar tiplerinin, MYO D ekspresse ettikleri halde, bu tür bir farklılaşmadan nêden yoksun oldukları tam olarak bilinmemektedir. Bir "ko-faktör" eksikliğinden söz edilmektedir.

SİNOVİAL SARKOMA

Sinovial sarkoma erişkinlerdeki yumuşak doku sarkomalarının en sık görülenlerinden biridir. Sitogenetik olarak en sık rastlanan bulgu t(X;18)(p11;q11)'dir (Şekil 3) (6, 25). t (X;7) (q11-12;q32) ve t(7;14)(q22;q11) de bildirilmektedir. Henüz bu verilerin anlamı tam olarak açıklanmamıştır.

MALİGN FİBRÖZ HİSTİOSİTOM

MFH erişkin ekstremitelerde sarkomlarının % 25 ini oluşturmakla birlikte çocuklarda enderdir. St. Jude çocuk serisinde "non-RMS" yumuşak doku sarkomlarının % 8 ini oluşturmuştur. Sitogenetik veriler 19p13, 11p11, 3p12, ve 1q11 de yığılan kırılma bölgelerini göstermektedirler. 19p+ olgularda lokal ve sistematik rekürrens sıklıdır. Halka kromozomlar da bildirilmiştir (25).

MALİGN PERİFERİK SİNİR KILIF TÜMÖRLERİ

Bu grup tümörlerdeki sitogenetik veriler son derece azdır ve henüz tam olarak tanısal değerleri yoktur. Yüksek gradlı olanlarda sabit bir bulgu olarak 17p değişikliklerinden söz edilebilir. Kimi olgularda p53 deki kayıptan (Loss of p53), kimi olgularda ise von Recklinghausen NF1 genini ilgilendiren 17q değişikliklerinden söz edilebilir. Kimi olgularda p53 deki kayıptan (Loss of p53), kimi olgularda ise von Recklinghausen NF genini ilgilendiren 17q değişikliklerinden söz edilmektedir. Gerçekten, MPSKT lerinin % 50 si, von Recklinghausen NF li olgularda oluşmaktadır.

Benign Schwannoma'lar 22q kaybını ilgilendiren değişiklikler göstermektedirler. Bu tümörler sıklıkla nörofibromatozis tip 2 (santral tip NF) ile birliktelik göstermektedirler. İlginci olarak NF2 geni 22. kromozomun uzun koluna lokalizedir (25, 34). Ancak henüz iki tablonun (BS ve NF2) aynı genin kaybı ile oluşup oluşmadığı bilinmemektedir (25).

İNfANTİL FİBRosARKOM

İnfanıl fibrosarkomların çokazında karyotip elde edilebilmesine karşın, incelenenlerin hemen hepsinde benzer değişiklikler elde edilmiştir. Bu değişiklikler yapısal olmaktan çok sayısalıdır. Trisomi 11, 17 ve 20 en sık rastlananlardır (25, 30). Sayısal değişikliklere genelde düşük gradlı ya da benign tümörlerde rastlandığından, fibrosarkomlarla ilgili bu kromozomal sonuçlar ilginçtir. Yüksek gradlı sarkomlar sıklıkla yapısal kromozom anomalileri ile birliktelik gösterir. İnfanıl fibrosarkomlarda saptanan izole sayısal değişiklikler, bu neoplazmların bilinen iyi seyirli klinik gidişi ile korelasyon göstermektedir.

LEİYOMYOSARKOM

Erişkin YDS larının % 7 si, çocukluk çağı YDS larının % 2 sinden azını oluştururlar. Son yıllarda AIDS le artan oranlarda birliktelik tanımlanmıştır.

Leiyomyosarkomların pek çoğu, özellikle yüksek grad histolojisi gösterenler, kompleks sitogenetik değişikliklere sahiptirler. En sık rastlanan değişiklik, **1 nolu kromozomda kısa kol delesyonlarıdır**. Bu delesyon olguların % 75 inde saptanmaktadır. Leiyomyomalarda da 1p delesyonlar bildirilmiştir. Leiyomyosarkomların küçük bir grubunda **t(12;14)(q14-15;q23-24)** bildirilmiştir. Bu bulgu uterus leiomyomlarının % 20 sinde de mevcuttur (12, 13, 14, 25).

LİPOSARKOM

Erişkinde sık görülen YDS larındadır (% 5-18). Çocuklarda birinci dekadın erken dönemlerinde görülebilir. Miksoid liposarkomlarda sabit kromozomal değişiklik **t(12;16)(q13;p11)** dir (Şekil 4). Lipomalarda ise 12q13-14 değişiklikleri bildirilmektedir. Bu lokustaki değişiklik derecesi lipojenik tümörlerin büyümesi ile ilgili olabilir (12, 13, 14, 25).

"CLEAR CELL" SARKOM

Yumuşak doku "clear cell" sarkomları pek çok histolojik, immünohistokimyasal ve ultrastrüktürel özellikleri ile kütanöz malign melanom kriterleri taşıyan bir tümördür. Olguların pek çoğunda **12 ve 22. kromozomları** ilgilendiren translokasyonlar tanımlanmıştır. Bu değişikliklerin melanoma ya da diğer YDS larında tanımlanmayışı, "clear cell" sarkomların YDS ları içerisinde ayrı bir antite olarak algılanması görüşünü getirmektedir (13, 25).

MİKSOİD KONDROSARKOM

İskelet dışı miksoid kondrosarkomlar genelde düşük gradlı malign tümörlerdir. Diğer miksoid neoplazmlardan ayırdedilmeleri güçtür. Pek çok olguda tanımlanan **t(9;22)(q31;q12)** bu konuda tanı koydurucu niteliktedir (12, 13, 14, 25).

MEZOTELİOMA

Mezoteliomaların pek çoğu farklı kromozomlarda genetik materyal kaybı ile birliktedir. Bu değişiklikler daha çok 1 ve 3 nolu kromozomlarda kısa kol kaybı, 22. kromozomda ise uzun kol delesyonu şeklindedir. Çok sayıdaki delesyon mezotelioma oluşumunda pek çok genin rolünün olduğunu düşündürmektedir (25). Malign mezoteliomaların sitolojik

yöntemlerle tanınması güç olduğundan, plevral ya da peritoneal sıvıda, klonal kromozomal değişikliklerin saptanması tanı açısından son derece değerli olabilir (13, 25).

Yumuşak doku tümörlerinde tanı koydurucu nitelik taşıyan kromozomal değişiklikler Tablo-1 de belirtilmiştir.

Bugünkü bilgi birikimi göstermektedir ki pek çok malign dokuda olduğu gibi yuvarlak hücreli yumuşak doku tümörlerinde de sitogenetik, moleküler sitogenetik (FISH) ve moleküler genetik çalışmalar bu tümörlerin tanısı, sınıflandırılması, tedavilerinin planlanması ve klinik seyrin değerlendirilmesi açısından vazgeçilmez veriler oluşturmaktadır (Tablo-2).

KAYNAKLAR

- Bailly RA, Bosselut R, Zucman J, Cormier F, Delattre O, Roussel M, Thoms G, Ghysdael J: DNA-binding and transcriptional activation properties of the EWS-FLI-1 protein resulting from t(11;22) translocation in Ewing's Sarcoma. *Mol Cell Biol* 14:3230-3241, 1994.
- Bown NP, Reid MM, Malcolm AJ, Davison EV, Crat AW, Pearson AD.: Cytogenetic abnormalities of small Round cell tumors. *Med pediatr Oncol* 23:124-129, 1994.
- Budorf M, Sellinger B, Griffin C, Emanuel BS.: Comparative mapping of the constitutional and tumor-associated 11;22 translocations. *Am J Hum Genet* 45:128-39, 1989
- Davis RJ, D'Cruz CM, Lovell MA, Biegel JA, Barr EG: usion of Pax7 to EKHR by the variant t(1;13)(p36;q14) translocation in alveolar rhabdomyosarcoma. *Cancer Res* 54: 2869-2672, 1994
- De Chiara A, T'Ang A, Triche TJ.: Expression of the retinoblastoma susceptibility gene in childhood rhabdomyosarcomas. 85: 152-157, 1993.
- De Leeuw B, Bailemans M, Weghuis O, Suijkerbuijk RF, Sinke RJ, Ropers HH, Geurts van Kessel A.: Molecular Clonning of the Synovial Sarcoma-Specific t(X;18)(p11.2;q11.2) breakpoint. ESHG annual meeting. Paris France Book of Abstract. pp21, 1994
- Dias P, Parham DM, Shapir DN, Webber RL, Houghton J.: Myogenic regulatory protein (Myo D I) expression in childhood solid tumors: diagnostic utility in rhabdomyosarcoma. *Am J Pathol* 137: 283-1291, 1990
- Dietrich CM, Jacobsen BB, Starklint H, Heim S.: Clonal Karyotypic Evaluation in an Embryonal Rhabdomyosarcoma with Trisomy 8 as the Primary Chromosomal Abnormality. *Genes Chromosomes Cancer* 7: 240-244, 1993.
- Dockhorn-Downiczak B, Schafer KL, Dantcheva R, Blasius S, van-Valen F, Burdach S, Winkelmann W, Jurgens H, Booker W.: Molecular genetic detection of t(11;22)(q24;q12) translocation in Ewing sarcoma and malignant peripheral neuroectodermal tumors. *Pathologie* 15: 103-112, 1994.
- Douglass EC, Rowe ST, Valentine M, Parham D, Meyer WH, Thompson EI: A second nonrandom translocation, der(16), t(1;16)(q21;q13), in Ewing sarcoma and peripheral neuroectodermal tumor. *Cytogenet Cell Genet* 53: 87-90, 1990
- Douglass EC, Shapiro DN, Valentine M, Rowe ST- Carrol AJ, Raney Rb, Ragab AH, Abella SM, Parham DM.: Alveolar rhabdomyosarcoma with the t(2;13): cytogenetic findings and clinicopathologic correlations *Med Pediatr Oncol* 21: 83-87, 1993
- Fletcher JA, Kozokewich HP, Hoffer FA, Lage JM, Weidner N, Tepper R, Pinkus GS, Mortor CC, Corson JM: Diagnostic relevance of clonal cytogenetic aberrations in malignant soft-tissue tumors. *N Eng Med* 324:436-442, 1991
- Fletcher JA: Cytogenetics and experimental models of sarcomas. *Curr Opin Oncol*. 6: 367-371, 1994
- Fletcher JA.: Cytogenetics and experimental models o sarcomas. *Curr Opin Oncol*. 5: 63-666, 1993.
- Fletcher JA.: Cytogenetics in Vervel J, Pinedo HH, Suit HD (eds): Multidisciplinary treatment of soft tissue sarcomas. Kluwer Academic Publishers, pp:23-32, 1993.
- Gallili N, Davis RJ, Frederiks WJ, Mukhopadhyay S, Rauscher F 3d, Emanuel BS, Rovera G, Barr FG: Fusion of a fork head domain gene to PAX3 in the solid tmour alveolar rhabdomyosarcoma. *Nat Genet*. 5: 230-236, 1993
- Hartley AL, Birch JM, Blair V, Kelsey AM, Harris M, Jones PH.: Patterns of cancer in the families of children with soft tissue sarcoma. *Cancer* 72: 923-930 1993.
- Lee Wonbae, Han K, Harris CP, Meisner LF.: Detection of Aneuploidy and Possible deletion in Paraffin-Embedded Rhabdomyosarcoma Cells with FISH. *Cancer Genet Cytogenet* 68:99-103, 1993.
- May WA, Gishizky MC, Lessnick SL, Lnsford LB, Lewis BC, Delattre O, Zucman J, Thomas G, Denny CT.: Ewing sarcoma 1;22 translocation produces a chimeric transcriptin actor that requires the DNA-Binding do-

- main encoded by FLI 1 for transformation. *Proc Natl Acad Sci. USA* 90:5752-5756, 1993.
20. Noguera R, Navarro S, Triche TJ: Translocation t(11;22) in small cell osteosarcoma. *Cancer Genet Cytogenet* 45:121-124, 1990
 21. Oğur G, De Bsscher C, Ferster A, Vamos E: Malign Hastalıklarda Kemik İliğinde sitogenetik Çalışmalar. *Ankara Tıp Mecmuası*. 46:187-200 1993.
 22. Oğur G, Şengün Z, Arel-Kılıç G, De Busscher C, Başaran S, Özbek U, Ayn İ, Sriban E, Vamos E.: Clinical and cytogenetic studies of two cases will Kliefelter disease associated with hereditary retinoblastoma and rhabdomyosarcoma respectively. *Anti Cancer Res (Abs)*. 4 th Int. Cnf. 12, 1815, 1992.
 23. Olgun N, Irken G., Oren H, Oren B, Altungöz O, Ozen E, Sakzlı M, Çevik N: Alveolar rhabdomyosarcoma in a child with diffuse bone tumor involvement and chromosomal translocation (2;13). (letter) *Pediatr Hematol Oncol* 9: 385-387, 1992
 24. Parham DM, Shapiro DN, Downing JR, Webber BL, duglass EC: Solid alveolar rhabdomyosarcomas with the t(2;13). Report of two cases with diagnostic implications. *Am J Surg Pathol* 18: 474-478, 1994
 25. Pizzo PA, Poplack DG: Principles and Practice of Pediatric Oncology. Second Edition. Philadelphia, J.B. Lippincott Company 1993
 26. Parham DM: Rhabdomyosarcomas and other soft tissue sarcomas in pediatric patients. *Curr Opin Oncol*. 5 (4): 672-677, 1993
 27. Plaugastl B, Zuchman J, peter M, Thomas G, Delattre O.: Genomic structure of the EWS gene and its relationship to EWSR 1: a site of tumor associated chromosome translocation. *Genomics* 18: 609-65, 1993
 28. Potluri VR, Gilbert F, Hesen C et al.: Primitive neuroectodermal tumor cell lines: Chromosomal analysis of five cases. *Cancer Genet Cytogenet* 24:75-86, 1987
 29. Sainati L, Stella M, Montlidi A, Bolcato S, Guercini N, Bonan F, Ninfo V, Zanescol, Bosso G: Value of cytogenetics in the differential diagnosis of the small round cell tumors of childhood. *Med Pdiatr Oncol* 20: 130-135, 1992
 30. Santary S, Dickman PS, Wiener E, Rabiehaux W, Gollin SM: Consistent numerical chromosome aberrations in congenital fibrosarcoma. *Cancer Gent Cytogenet* 65: 152-156, 1993
 31. Sellar L, Hrmanson GG, Fubanks JH, Lewis KA, Evans GA: Molecular localization of the t(11, 22) (q24;q12) translocation of Ewing's Sarcoma by chromosomal in situ hybridisation. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 887-891, 1991
 32. Stephensn CF, Bridge JA, Sandberg A: Cytogenetic and Pathologic Aspects of Ewing's Sarcoma and Neuroectodermal tumors. *Hum Pathol* 23: 1270-1277, 1992
 33. Shapiro DN, Valentine MB, Sublett JE, Sinclair AE, Tereba AM, Schelfter H, Buys CHCM, Lok T.: Chromosomal sublocalization of the 2;13 translocation breakpoint in alveolar rhabdomyosarcoma. *Gens Chromosomes Cancer* 4: 241-249, 1992.
 34. Watson CJ, Gaunt L, Evans G, Patel K, Harris R, Strachan T.: A disease-associated germline deletion maps the type 2 neurofibromatosis (NF2) gn between the Ewingsarcoma region and the leukemia. Inhibitory factor locus. *Hum Mol Genet* 2: 701-704, 1993
 35. Whang-Peng J, Triche TJ, Kntsens T, Miser J, Douglas EC, Israel MA: Chromosome translocation in peripheral neuroepithelioma. *N Engl J Md* 311: 584-585, 1984
 36. Wang-Wuu S, oukup S, Ballard E, Gotwals B, Lmpkin B: Chromosomal analysis of sixteen human RMS. *Cancer Res* 48: 983-987, 1988
 37. Whang-Peng J, Knutsen T, Theil K, Horowitz ME, Triche T: Cytogenetic studies in subgroups o rhabdomyosarcomas. *Genes Chromosomes Cancer* 5: 299-310, 1992
 38. Whang-Peng J, Triche TJ, Knutsen T et al.: Cytogenetic characterization of selected small round cell tumors of childhood. *Cancer Genet Cytogenet* 21:85-208, 1986