

YUMUŞAK DOKU TÜMÖRLERİNDE DNA ANALİZİ VE PROLİFERASYON İNDEKSİNİN TANIDAKİ YERİ VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

Doç. Dr. Sergülen DERVİŞOĞLU

Yumuşak doku tümörlerinin tanısı ve evrelemesi karmaşık bir problemdir. Bu konuda deneyimli patoloğların bile tanı ve grade konusunda zorlandığı vakalar bulunmaktadır. Özellikle yumuşak doku sarkomları için kabul edilmiş bir evreleme sistemi yoktur. Bu da göreceli olarak sarkomların düşük insidansı, kendilerine özgü önceden kestirilemeyen davranışı, histogenez ve gradelemeye ilişkin belirgin görüş ayrılıkları ile açıklanabilir. Ayrıca bu konuda çeşitli prognostik faktörlerin değerini belirleyici bir ortak kanı da yoktur (1,2,3).

Son yıllarda prognostik faktörlerin pek çok tümörde uygulanabilirliği, sarkomlar için de bir umut ışığı olmuş, çalışmacılar dikkatlerini bu yönde yoğunlaştırarak özellikle hücre bölünmesi ile ilgili teknikleri ve DNA analizlerini uygulamaya başlamışlardır. Bazı solid tümörlerde hücre DNA'sının kantitatif olarak saptanması ve hücre siklus fraksiyonlarının belirlenmesi tanı, prognoz ve tedavi yaklaşımını yönlendirmede yardımcı olabilmektedir (4,5). Ancak, bu konuda yaklaşık 10 yılı aşan, aktif klinik araştırmanın sonucunda oluşan tartışmalı bir yaklaşım, tekniğin objektif, tekrarlanabilir veriler oluşturduğunun kabul edilmesi ve bağımsız prognostik faktör olarak düşünülmesidir (5).

Seksenli yıllarda tıpta kullanımı yoğunlaşmaya başlayan flow sitometrik DNA analizlerinin yumuşak doku tümörlerinde uygulanımını literatürde 1984 yılından itibaren görmekteyiz (6). 1989 yılında Washington DC'de yapılan flow sitometri ve klinik uygulanım ile ilgili workshopda yumuşak doku tümörlerinde DNA anormalliklerinin tam olarak çözülmediği, ancak çalışmaların prospektif ve retrospektif olarak sürdüğü, özellikle takipli serilerle soruna çözüm bulunabileceği kanısına varılmıştır. Bu workshop sonuçlarına göre, bu tümörlerde DNA analizinin seçilmiş tümör tiplerinde uygulanabildiği, anaploid içeriğin sağ kalımı etkilediği ancak henüz rutin uygulanımın mümkün olmadığı ortaya çıkmıştır (7).

1989'dan sonra bu konuda yoğunlaşan araştırmalara göre çeşitli yumuşak doku tümörü serisinde DNA ploidi ve proliferatif aktivite ile grade ve boyut arasında korelasyon bulunmuş (2,10,12,13,14), genel sarkomlarla (2,4,9,137, uterus leiomyosarkomları (14), gastrointestinal düz kas tümörleri (15, 16), sinovyal sarkom (17), berrak hücreli sarkom (18), boyun ve yumuşak dokunun paragangliomaları (19) ve malign fibröz histiyositomlar (20) için olası prognostik önem belirlenmiştir. El-Naggar ve ark. (21) epitelioid sarkomda düşük S fazı fraksiyonunu prognostik faktör olarak belirlemişler, ancak ploidi durumunun sağ kalımı etkilemediğini gözlemlemişlerdir. Kuratsu ve ark. (22) 151 yumuşak doku sarkomu üzerinden flow sitometrik analize paralel olarak Ag-NOR tekniğini uygulamışlar, ploidi paterni, hücre siklus dönemi ve proliferatif indeks ile NOR sayısı arasında ilişki saptamışlardır. Yazarlar bu bulgunun Ag-NOR'un proliferatif aktiviteyi belirlemedeki nispeten kaba görevini destekler nitelikte olduğunu öne sürmüşlerdir. Ayrıca çok değişkenli analizde sadece Ag-NOR

sayısı prognostik anlamlılık göstermiştir. Bizim de uyguladığımız bir çalışmada çocukluk çağı nöroblastomlarında proliferatif aktivite ile evre, yerleşim yeri ve histopatoloji arasında anlamlı ilişki bulunmuş, anaploid ve düşük proliferatif aktiviteye sahip vakalarda uzun sağ kalım saptanması nedeni ile nöroblastomda DNA analizinin prognostik belirleyici olabileceği düşünülmüştür (23). Sinovyal sarkomlar üzerinde yaptığımız preliminer bir çalışmada ise vakaların % 61'i anaploid olup, proliferatif aktiviteyle birlikte prognostik bazı ipuçları olacağı yönünde izlenim alınmıştır (24). Ancak serilerinde ploidi paterni ve S+G₂M fazı fraksiyonu ile prognostik ilişki saptanmış yazarlar da vardır (25,26,27).

Çeşitli serilerde flow sitometrik DNA analizi yapılmış toplam 354 adet yumuşak doku sarkomunun sonuçlarının irdelenmesinde, araştırılan bu heterojen sarkom materyali içinde birinci sırayı malign fibröz histiyositom almaktadır. Sonra sırası ile fibrosarkom, liposarkom, leiomyosarkom ve sinovyal sarkom gelmektedir. Serilerde gözlenen ortak bulgu artan tümör grade'i ile korele anaploidik DNA içeriğidir. Proliferatif indeks de yüksek grade ile paralellik göstermektedir (5). Tümör grade'i ve yerleşim yerini kontrol ederek çoğunluğu malign fibröz histiyositom olmak üzere değişik tip sarkomlarda flow sitometrik analiz uygulayan Alvegard ve ark. (13) çok değişkenli analizle anaploidinin metastatik yayılımın artışı gösteren bağımsız bir prognostik belirleyici olduğunu bildirmiştir. Bauer ve ark. (12) da 102 vakalık serilerinde diploid tümörlerin metastazsız yaşam şanslarını anlamlı bir şekilde yüksek bulmuştur.

Yumuşak doku sarkomlarının çoğunda anormal anaploid karyotipler mevcut olup, sıklığı ile ilişkili olarak histolojik grade'in yükseldiği bildirilmekle birlikte güvenilir bir analiz için multipl örnekleme şarttır (28,29). İnce iğne aspirasyonu ile alınan materyalde de DNA indeks ile habis ve selim tümör ayrımı ve S fazı fraksiyonunun grade belirlemede kullanılabileceği bildirilmektedir (30). Fakat anaploidinin bulunmayışının her zaman düşük grade'e işaret etmeyeceği, anjiosarkom ve rabdomyosarkom gibi yüksek gradeli, ağırsif tümörün sıklıkla diploid olabileceği de başka bir araştırıcı tarafından vurgulanmaktadır (31,32). Öte yandan schwannom, psödosarkomatöz fasciitis ve reparatif granülom gibi selim neoplastik ya da reaktif yumuşak doku lezyonunda saptanan anaploidi nedeniyle DNA analizlerinin yumuşak doku tümörlerinde habaset kriteri olarak kullanılabilirliği kısıtlanmaktadır (28,33).

Bazı araştırmacılar yumuşak doku sarkomlarında parafin bloğa gömülü dokuya uygulamada % 14'lük hata oranı nedeniyle flow sitometrik analiz sonuçlarının tedavinin planlanmasında limitli bir kullanım oluşturduğunu belirtmektedir (34).

Günümüze kadar yumuşak doku tümörleri üzerinde yapılan flow sitometrik DNA analizleri en sık görülen tümörlerle, seyrek ve sıra dışı tümörler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu grup tümörlerin nadir oluşu nedeni ile seriler daha çok karışık sarkom gruplarından oluşmaktadır. Liposarkom, fibrosarkom, malign schwannom gibi nispeten daha sık görülen tümörler üzerinde yeterli veri yoktur (5).

DNA analizleri, sınırlı sayıda çalışmanın sonuçlarına ba-

karak tedaviyi değerlendirmede ve hastalığın seyrini takipte prognostik indikatör olabileceği izlenimi vermekle birlikte selim ve habis lezyonları birbirinden ayırmada ve tümörlerin alt gruplamasında her zaman yardımcı değildir. Metastaz şansını belirttiği konusunda çelişkili veriler vardır. Bu da yumuşak doku tümörlerinde tanı ve prognostik belirleyici amaçlı DNA analiz kullanımının henüz sınırlı olduğunu düşündürmektedir (28,29,31,32).

Bu konuda klinik anlamlılık açısından daha güvenilir verilerin oluşması için DNA parametreleri klinik evreleme ve histopatolojik bulgular gibi yerleşmiş özelliklerle kıyaslanmalıdır. Günümüze değin, sarkomların özel tipleri için, multiparametrik analizler, yerleşim yeri, tümör evresi, histolojik grade ve cerrahi sınırlar açısından kontrollü serileri de içeren araştırmalar henüz tam olarak uygulanmamıştır (5). Öte yandan, hücre siklus ve proliferasyon ölçümleri insan tümörlerinde umut verici gözükmeyle birlikte, şu an için standardizasyonun olmayışı, pek çok teknik ve metodolojik kaynağın bulunuşu, klinik kullanımı sınırlamaktadır. Ekim 1992'de Avrupa ve Kuzey Amerika'dan 32 çalışmayıcı bir araya getiren Flow Sitometri Konsensus Konferansı'nda her laboratuvarın kendi S fazı referans değerini geliştirmesi yönünde alınan standardizasyon kararının, nispeten nadir görülen yumuşak doku tümörlerine uygulanması zorluğu da ayrı bir dezavantaj oluşturmaktadır. Daha büyük çalışma grubu, taze doku kullanımı ve detaylı histograma dayalı bilgisayar analiz modelleri ile yumuşak doku tümörlerinde saptanan erken bulguların anlamlılığı ve prognostik belirleyiciliği tartışılabilir. Özellikle birden fazla hücre popülasyonuna sahip tümörlerde hücre süspansiyonu heterojen olacağından işaretleme ve imaj analizlerinin gerekliliği öne çıkmaktadır (5).

KAYNAKLAR

- Brooks JSJ, Fisher S. Seminars in Diagnostic Histopathology-Soft Tissue Tumours. Seminar Notları 1991; November 29: 1-3.
- Matsuno T, Gebhardt MC et al. The use of flow cytometry as a diagnostic aid in the management of soft tissue tumors. *J Bone Joint Surg Am* 1988; 70 (5): 751-759.
- Peabody TD, Simon MA. Principles of staging of soft tissue sarcomas. *Clin Orthop* 1993; Apr (289): 19-31.
- Budach W, Budach V, Socha B, Stuschke M, Streffer C, Sack H. DNA content as a predictor of clinical outcome in soft tissue sarcoma patients. *Eur J Cancer* 1994; 30 A (12): 1815-1821 (Abstr).
- Zarbo RJ. DNA analysis of soft tissue tumors. In: Enzinger FM, Weiss SW, editors. *Soft Tissue Tumors*. 3rd ed. Mosby-Year Book, 1995: 119-30.
- Kusuzaki K, Takeshita H et al. DNA cytofluorometry of soft tissue tumors. *Gan No Rinsho* 1984; 30 (15): 1904-1912 (Abstr).
- Riley RS, Mahin EJ. Flow cytometry-clinical applications ASCP National Meeting Fall, 1989, Washington DC, ASCP Workshop No. 9072, 971.
- Li-S. Flow cytometric analysis of DNA from 98 cases of soft tissue tumors and its clinical significance. *Chung Hua Wai Ko Tsa Chih* 1990; 28 (5): 281-284 (Abstr).
- Kroese MC, Rutgers DH et al. The relevance of the DNA index and proliferation rate in the grading of benign and malignant soft tissue tumors. *Cancer* 1990; 65 (8): 1782-1788.
- Kreicbergs A, Tribukait B et al. DNA flow analysis of soft tissue tumors. *Cancer* 1987; 59: 128-133.
- Wang Y, Shi D, Shen Z. A study of proliferative activity of soft tissue sarcomas. *Chung Hua Chung Liu Tsa Chih* 1995; 17 (3): 183-186 (Abstr).
- Bauer HC, Kreicbergs A, Tribukait B. DNA content prognostic in soft tissue sarcoma. 102 patients followed for 1-10 years. *Acta Orthop Scand* 1991; 62 (3): 187-194.
- Alvegard TA, Berg NO et al. Cellular DNA content and prognosis of high grade soft tissue sarcoma: The Scandinavian sarcoma group experience. *J Clin Oncol* 1990; 8 (3): 538-457.
- Tsushima K, Stanhope CR, Gaffey TA, Leiber MM. Uterine leiomyosarcomas and benign smooth muscle tumors: Usefulness of nuclear DNA patterns studied by flow cytometry. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 248-255 (Abstr).
- El-Naggar AK, Ro JY et al. Gastrointestinal stromal tumors: DNA flow cytometric study of 58 patients with at least 5 years of follow-up. *Mod Pathol* 1989; 2: 511-515 (Abstr).
- Kiyabu MT, Bishop PJ et al. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. Flow cytometric quantitation of DNA and nuclear antigen content and correlation with histologic grade. *Am J Surg Pathol* 1988; 12: 954-960.
- El-Naggar AK, Ayala AG et al. Synovial sarcoma: a DNA flow cytometric study. *Cancer* 1990; 65: 2295-2300.
- El-Naggar AK, Ordóñez NG et al. Clear cell sarcomas and metastatic soft tissue melanomas: A flow cytometric comparison and prognostic implications. *Cancer* 1992; 67: 2173-2179.
- Sauter ER, Hollier LH, Farr GH Jr. The value of flow cytometric analysis in multicentric glomus tumors of the head and neck. *Cancer* 1992; 69: 1452-1456.
- Radio SJ, Wooldridge TN, Linder J. Flow cytometric DNA analysis of malignant fibrous histiocytoma and related fibrohistiocytic tumors. *Hum Pathol* 1988; 19: 74-77.
- El-Naggar AK, Garcia Gm. Epithelioid sarcoma: Flow cytometric study of DNA content and regional DNA heterogeneity. *Cancer* 1992; 69: 1721-1728.
- Karatsu S, Tomita Y et al. DNA Ploidy pattern and cell cycle stage of tumor cells in soft tissue sarcomas: Clinical implications. *Oncology* 1995; 52 (5): 363-370 (Abstr).
- İlvan Ş, Dervişoğlu S, Aksoy F, Yıldız İ: Flow cytometric DNA analysis in neuroblastoma. "XXIII Semaine Medicale Balkanique" Özel Kitabı 1994; s. 46.
- Dervişoğlu S, Erdamar S, Yalçınar A, Hız M, Girişken G. Sinovyal sarkomda hücresel DNA içeriğinin flow sitometrik olarak incelenmesi - klinikopatolojik korelasyon. *Türk Onkoloji Dergisi* 1995; 10 (3): 48-51.
- Eto H, Toriyama K et al. Flow cytometric DNA analysis of vascular soft tissue tumors, including African endemotype Kaposi's sarcoma. *Hum Pathol* 1992; 23: 1055-1060.
- Pastel-Levi C, Bell DA et al. DNA flow cytometry of epithelioid sarcoma. *Cancer* 1992; 70: 2823-2826.
- Oda Y, Hashimoto H, Takeshita S, Tsuneyoshi M. The prognostic value of immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen in synovial sarcoma. *Cancer* 1993; 72: 478-485.
- Koss LG, Czerniak B, Herz F, Wersto RP. Flow cytometric measurements of DNA other cell components in human tumors: A critical appraisal. *Hum Pathol* 1989; 20: 528-548.
- Enzinger FM, Weiss SW. General Considerations. In: *Soft Tissue Tumors* 2nd ed. The C.V. Mosby Company, 1988: 11-8.
- Bodensteiner D, Reidinger G et al. Flow cytometry of needle aspirates from bone and soft tissue tumors. *South Med J* 1991; 84 (12): 1451-1454 (Abstr).
- Brooks JJ. Disorders of soft tissue. In: Sternberg SS, editor. *Diagnostic Surgical Pathology Vol. I*. 2nd ed. Raven Press Ltd., 1994: 147-229.
- Calanje E, Fletcher CD. Immunohistochemistry and DNA flow cytometry in soft tissue sarcomas. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995; 9 (3): 657-675 (Abstr).
- Agarwal V, Greenebaum E, Wersto RP, Koss LG. DNA ploidy of spindle cell soft tissue tumors and its relationship to histology. *Arch Path Lab Med* 1991; 115: 558-562.
- Zalupski MM, Maciowski Z et al. DNA content parameters of paraffin-embedded soft tissue sarcomas: Optimization of retrieval technique and comparison to fresh tissue. *Cytometry* 1993; 14 (3): 327-333 (Abstr).