

Periferal Nöroepitelyoma ve İskelet-Dışı Ewing Tümörü*

(İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi ile Tanı konulan 2 Olgu Nedeniyle)

Dr. Şafak Atahan¹, Dr. Özhan Aksu¹, Dr. Cemil Ekinci¹

ÖZET

Primitif nöroektodermal tümörler (PNET) çocuk ve genç erişkinleri tutan, pluripotent nöral krest hücrelerinden köken alan, sık rekürrens ve metastaz ile ağırsif klinik gidişli, tedaviye yanıtları düşük bir grup neoplazmdır. Yumuşak dokuda PNET'i temsil eden antite "periferal nöroepitelyoma (PN)" olarak kabul edilmektedir. PN ile iskelet-dışı Ewing tümörü (İDET) arasındaki biyolojik ve histogenetik ilişki hala tartışmalıdır. PN ve İDET'nde sitolojik özelliklerle ilgili ise az sayıda çalışma mevcuttur.

Bu çalışmada, İDET ve PN tanısı alan iki olguda klinik, sitolojik ve histopatolojik bulgular tanımlanmıştır. Ayrıca diğer yuvarlak hücreli malign tümörler ile sitolojik ayırıcı tanı kriterleri tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler : Periferal nöroepitelyoma, İskelet-dışı Ewing tümörü, İnce iğne aspirasyonu biyopsisi.

GİRİŞ

Pirimitif nöroektodermal tümör (PNET) terimi yumuşak dokunun beyin, spinal kord ve sempatik sinir sistemi dışı nöral krest orjinli tümörlerini tanımlamak için kullanılmaktadır^(1,2,3,4). Birçok araştırmacı PNET terimi ile periferal nöroepitelyoma'yı (PN) eşanlamlı olarak kabul etmektedir^(2,3,4,5,6). Bazıları ise PNET başlığı altında nöroblastom ve ilişkili tümörler, PN ve iskelet-dışı Ewing tümörünün (İDET) incelemektir^(3,7,8,9).

PN ile İDET arasındaki biyolojik ve histogenetik ilişki tartışmalıdır. PN'lara benzer şekilde İDET'nde de nöral marker pozitifliği, nöroektodermal fenotiple ilişkili t(11;22) translokasyonunun varlığı ve ultrastrüktürel bulgular İDET'nün nöroektodermal orjinli olduğunu, PNET'in indifferansiye bir varyantı olarak kabul edilmesi gerektiğini göstermektedir^(5,7,8,9,10,11).

PN ve İDET ile metastatik nöroblastom, embriyonel rabdomyosarkom, andifferansiye small cell karsinom ve malign lenfoma gibi yuvarlak hücreli malign tümörlerin histopatolojik olarak ayrımı oldukça zordur ve immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik çalışmalar gerektirmektedir⁽⁸⁾. Buna karşılık, optimal bir materyalde, iyi tanımlanmış sitolojik kriterler ile bu antitelerin ayrımı mümkün olabilmektedir^(1,2,12,13,14).

Nöroblastomların sitolojik özellikleri ile ilgili küçük seriler

PERIPHERAL NEUROEPITHELIOMA AND NON-SKELETAL EWING SARCOMA

Primitive neuroectodermal tumor (PNET) constitute a group of neoplasms in children and young adults which arise from pluripotential neural crest cells, showing high biological aggressiveness with elevated recurrence rate and tendency to metastasize; and with a poor response to therapy. The soft tissue representation of PNET is "peripheral neuroepithelioma (PN)". The histogenetic and biological relationship between PN and extraskeletal Ewing's tumor (EET) is still a matter of controversy. There are few studies on the cytologic features of PN and EET.

In this study, we report two cases of EET and PN, including the clinical, cytologic and histopathologic findings. In addition, the cytologic differential diagnosis with the other small round cell tumors has been discussed.

Key words : Peripheral neuroepithelioma, Extraskeletal Ewing's tumor, Fine needle aspiration biopsy.

halinde yayınlar olmasına karşılık, daha nadir görülen PN ve İDET'lerinin sitolojik olarak tanımlanmaları literatürde birkaç olgu sunumu şeklindedir^(1,2,6,13,15,16). Bölümümüzde 1991-1996 yılları arasında ince iğne aspirasyonu ile toplam beş PN ve bir İDET tanısı verilmiştir. Bu çalışmamızda biyopsi materyalleri elde edilen ve immunohistokimyasal çalışma ile tanıların kesinleştirdiği PN ve İDET tanılı birer olguda sitomorfolojik özellikler, histopatolojik ve immunohistokimyasal bulgular tanımlanmıştır. Ayrıca diğer yuvarlak hücreli malign tümörler ile ayırıcı tanı kriterleri tartışılmıştır.

1. OLGU

35 yaşında hasta, Kasım 1995'de sol bacakta ağrı yakınması ile hastaneye başvurdu. Abdominal ultrasonografide sol alt kadranda yumuşak doku orjinli kitle tanısı ile hastanemiz ortopedi kliniğine sevk edildi. Bilgisayarlı tomografide sol iliak fossa yerleşimli, iliak kemikte harabiyet oluşturan, gluteal kasları infiltre eden 12 cm çapında solid kitle görüldü. Bu kitleden yapılan ince iğne aspirasyon biyopsi materyalinin incelenmesi ile

¹ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD / Klinik sitoloji BD

* Bu çalışma XII Ulusal Patoloji Kongresi'nde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

malign mezankimal tümör tanısı verildi. Tümör, ön planda periferik nöroepitelyoma ile uyumlu olarak yorumlandı. Daha sonra gönderilen rezeksiyon materyalinin histopatolojik incelenmesi ile "high grade round cell sarkom, periferik nöroepitelyoma" ile uyumlu tanısı verildi. İmmünohistokimyasal olarak histopatolojik tanı desteklendi.

Rezeksiyon sonrası hastaya Ifosfamid ve Adriamicin ile kemoterapi başlandı. (Ifosfamid 1.8g/m²x3 gün, Adriamicin 60mg/m²x 1 gün). Hasta 6. kür kemoterapiyi aldı ve kemoterapi sonrası sistemik taramada metastaz mevcut değildi.

2. OLGU

33 yaşındaki erkek hastanın anamnezinden Ağustos 1995'de sol uylukta şişlik yakınması ile hastaneye başvurduğu, nonspesifik tedavi almasına rağmen kitlenin giderek büyümesi nedeniyle yapılan cerrahi operasyon sonucu hastaya Haziran 1996'da Ewing tümörü tanısı verilerek hastanemiz ortopedi kliniğine sevk edildiği öğrenildi. Burada yapılan muayenede sol uyluk üst iç kısmında, kemikle ilişkisiz 10x8 cm. boyutlarında kitle ve sol bacadaki ödem saptandı. Bu kitleden yapılan ince iğne aspirasyon biyopsi materyali bölümümüze nüks tümör ön tanısı ile gönderildi. Sitolojik inceleme ile Ewing tümörü tanısı verildi. Daha sonra yapılan açık cerrahi biyopsi materyalinde immünohistokimyasal çalışma da yapılarak İDET tanısı verildi.

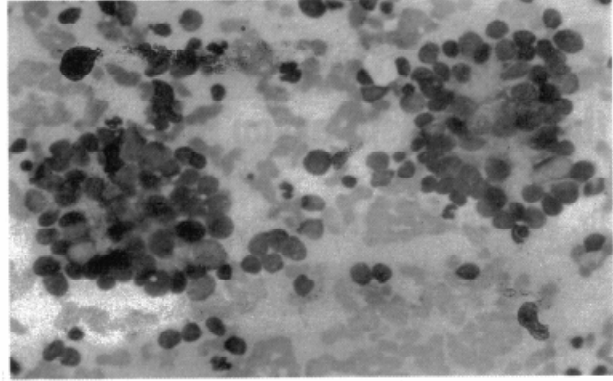
Olguda biyopsi sonrası geniş rezeksiyon yapılmadı ve kemoterapi (Ifosfamid 2g/m² x10 gün, Adriamicin 100mg/m² x 2 gün) başlandı. Halen hastalığın 13. ayında olan hastanın 2. kür kemoterapi tamamlandı ve fizik muayenesinde palpasyonla kitlenin kaybolduğu gözlemlendi. Kemoterapi sonrası yapılan toraks ve abdominopelvik bilgisayarlı tomografide metastaz saptanmadı.

GEREÇ VE YÖNTEM

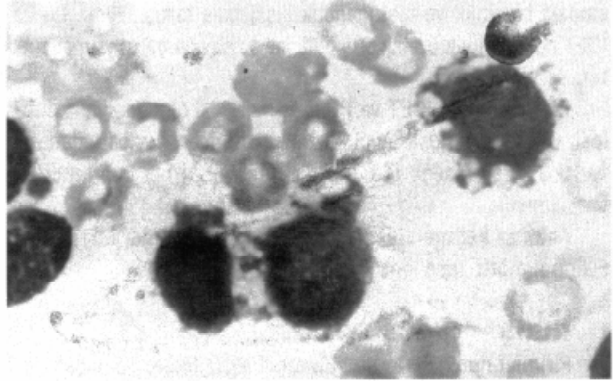
Birinci olgudan bir, ikinci olgudan iki ince iğne aspirasyon materyali ve ikinci olgudan imprint örnekleri olmak üzere toplam dört sitolojik materyal değerlendirildi. Aspirasyon 22-gauge iğnelerle 20 ml.lik enjektörler kullanılarak yapıldı ve May Grünwald-Giemsa ile boyanarak değerlendirildi. Histopatolojik inceleme ise formalin fiksasyonunu takiben parafin kesitlere hematoksilin-eosin ve periodic acid-schiff (PAS) uygulanarak yapıldı. İmmünohistokimyasal olarak streptavidin-biotin metoduyla vimentin (Dako), neuron-specific enolase (NSE) (Dako), chromogranin A (Dako), desmin (Dako) ve S-100 protein (Dako) antikorları ile boyama yapıldı. Enzim olarak alkaline phosphatase, kromojen olarak Fast red kullanıldı. Antikorlar kullanıma hazır monoklonal mouse idi.

BULGULAR

1. Olgu : İki aspirasyon materyalinde de selülarite düşük olup, periferik kan ile dilue halde izlendi. Malign hücreler dar sitoplazmalı, küçük, yuvarlak hücrelerdi. Yaymalarda az sayıda hücre olmasına rağmen koheziv gruplarda nükleer molding ve



Resim 1 : Periferik nöroepitelyomada rozet formasyonları (MGG, x200)



Resim 2 : İDET'nde sınırları düzensiz, vakuollü sitoplazmalı hücreler (MGG, x1000).

Homer-Wright rozet formasyonları saptandı. Bu formasyonlar imprint preparatlarda daha net olarak izlendi (Resim 1). Hücrelerde hafif irregüler nükleus ve ince granüler kromatin paterni mevcuttu. Birçok hücrede belirgin olmayan küçük bir nüleol görüldü. Sitoplazma açık bazofilikti. Bazı hücrelerde sitoplazmada vakuol izlendi. Ancak sitoplazmada vakuol ikinci olguya göre daha az hücrede saptandı ve sitoplazma sınırları vakuol üzerinde düzgün olarak seçiliyordu. Yaymaların hiçbirinde multinükleer tümör hücresi veya ganglionik differansiasyon gösteren hücre, zeminde lenfoglandüler body, mikzoid ve fibriler materyal görülmedi.

Daha sonra gönderilen rezeksiyon materyali topluca 9 cm. çapında, ortası nekrotik, kanamalı ve bazı alanlarda kistik hal almış tümöral doku parçaları ve 12x7x4 cm. boyutlarında, orta kısmında aynı şekilde tümöral doku bulunduran iliak kemiği içeriyordu. Mikroskopik incelemede geniş nekroz alanları arasında yuvarlak, hiperkromatik nükleuslu, dar sitoplazmalı atipik hücrelerden oluşan tümöral yapı izlendi. Tümör hücreleri yer yer so-

lid kümeler oluşturmakta, birçok alanda ise Homer-Wright ve Flexner-Wintersteiner rozet yapılan göstermekteydi. Uygulanan PAS histokimyasal boyamada tümör hücrelerinin sitoplazmalarında boyanma izlenmedi.

İmmunhistokimyasal çalışmada NSE, chromogranin A ve S-100 protein ile pozitif, vimentin ve desmin ile negatif sonuç alındı.

2. Olgu : Aspirasyon materyalinde hipersellülarite dikkati çekti. Birçok alanda tek tek, arada küçük gruplar halinde, nükleus/sitoplazma oranı belirgin artmış, küçük yuvarlak hücreler izlendi. Gruplarda nadir rozet formasyonları görüldü. Tümör hücreleri oldukça uniform olup, ince granüler bir kromatine sahipti. Bazı hücrelerde küçük ve 1-3 adet nükleol görüldü. Dar, soluk, birçoğunda vakuolize sitoplazma mevcuttu ve sitoplazmik sınırlar vakuolizasyon nedeniyle düzensizmiş izlenimi vermektedir. (Resim 2). Yaymalarda multinükleer hücre görülmedi. Ayrıca zeminde mikzoid ya da fibriler bir materyal mevcut değildi.

Biyopsi materyali 3 cc. hacminde koyu sarı renkte düzensiz, yumuşak doku örneklerinden oluşmaktaydı. Kesitlerin incelenmesinde fibroadipöz dokuyu infiltrate eden tümöral gelişim izlendi. Tümör hücrelerinin solid adalar oluşturduğu, arada ince, dar bir stromanın varlığı görüldü. Hücreler sitolojik materyaldeki benzer şekilde küçük, yuvarlak, uniform nükleusluydu. Hücre sitoplazmalarında diastaza duyarlı PAS pozitif boyanma izlendi.

İmmunohistokimyasal olarak vimentin ve S-100 protein ile kuvvetli, NSE ile zayıf boyanma saptandı. Chromogronin A ve desmin ise negatifti.

TARTIŞMA

İDET ve PNA, ortalama 20 yaşında daha sık görülmekle birlikte her yaşda tanımlanmış yumuşak dokunun nadir tümörleridir. Morfolojik olarak da birçok özelliğin benzer olması bu iki tümörün birbirinden ayrımını güçleştirmektedir^(2,5,7,8,9,10,11,17). PN'lar özellikle kalça ve üst uylukta (%32 oranında), ikinci sıklıkta ise omuz ve üst kolda yerleşim gösterirler. İDET ise sıklıkla paravertebral bölge, retroperiton ve alt ekstremitte tutulumuyla karakterlidir^(3,17). Dokuda belirgin rozet formasyonları, iki veya daha fazla nöral marker pozitifliği ve elektron mikroskopide nöral differansiyasyon pozitifliği var ise PN lehine düşünülmektedir⁽³⁾.

Sitolojik incelemede her iki tümör de dar sitoplazmalı, küçük yuvarlak hücrelerden oluşmaktadır. Ancak İDET'nde hücreler çok daha uniform görünümündedir. Hücrelerde nükleer molding ve grup yapma özelliği ise PN'da belirgindir. Rozet formasyonları da PN'da daha sık izlenir. İDET'nde pseudorozet görülebilir^(2,14,16). Her iki tümörde de kromatin yapısı ince granüler olarak bildirilmiştir^(1,2,6,12,13,14,16). Olgularımızda da benzer özellikte kromatin yapısı gözlemledik. Ancak iki olguya karşılaştırmalı olarak bakıldığında PN'da kromatinin biraz daha yoğun olduğu saptandı.

İDET olgumuzda soluk vakuollü bir sitoplazma mevcuttu. Vakuoller sitoplazmanın periferinde olup genellikle açılmış vakuoller nedeniyle sitoplazma sınırları düzensiz olarak izlendi. PN'da da soluk bir sitoplazma mevcuttu. Ancak burada sitoplazma biraz daha bazofilikti. Vakuol daha az hücrede görüldü ve farklı olarak vakuol çevreleyen korunmuş bir sitoplazma izlendi. Silverman ve ark.⁽²⁾ bu sitoplazmik özelliklerin Diff-Quik ve May-Grünwald-Giemsa boyalarında izlenip, daha yaygın olarak kullanılan Papanicolaou ile boyanmada görülmeyeceğini bildirmişlerdir. Literatürde her iki tümörü oluşturan hücrelerde vakuolizasyonu varlığı belirtilmiş, ancak sitoplazma ve vakuoller arasındaki ayırd edici farklara değinilmemiştir^(1,2,16).

İDET ve PN'nın çocuk ve genç erişkinlerde lenfoma/lösemi, rabdomyosarkom ve nöroblastomla, adultlerde ise özellikle akciğer ve derinin küçük hücreli nöroendokrin karsinom metastazı ile ayırımı gerekmektedir.

Sitolojik incelemede nöroblastomda da benzer şekilde küçük, yuvarlak, dar sitoplazmalı hücreler tabloya hakimdir. Ancak nöroblastomda rozet formasyonu ve nükleer molding çok daha belirgindir^(1,2,13,18). Ayrıca, hücrelerde boyut farkı çarpıcıdır. Differensiyasyona bağlı olarak değişen 7-10 µm çapında hücreler, yuvarlak, hafif irregüler, veziküler nükleusludur. Sıklıkla bir veya birkaç belirgin nükleol içerirler⁽¹⁸⁾. PN'da arada dağınık olarak daha büyük hücreler izlenebilir, ancak multinükleer ganglion hücreleri nöroblastomda görülür⁽²⁾. Sitoplazma ise birçok olguda seçilemez, korunmuş olanlarda ise dar, açık mavi bir sitoplazma izlenir. Sitoplazmik vakuolizasyon nadirdir^(13,19). Diğer bir önemli fark zeminde ince fibriler materyal (nöropil) varlığıdır⁽²⁾. Nadir olguda yalnızca sitomorfolojik bulgularla tanıya gidilemez. Bu durumda yaş, lokalizasyon, kromozom translokasyonu ve katekolamin düzeyleri gibi bulgular önem taşımaktadır^(1,2,13,16).

Malign lenfomalarla ayırıcı tanı ise daha kolaydır. Öncelikle, lenfomada hücreler tek tek dağılmıştır, nükleer molding görülmez. Ayrıca, zeminde yoğun ve büyük boyutlarda lenfoglomerüller body'ler izlenir. Burkitt lenfomada sitoplazmik lipid vakuolleri mevcuttur. Ancak İDET'nün aksine sitoplazma koyu bazofiliktir ve sitoplazmik sınır net olarak izlenir^(2,13,14).

Rabdomyosarkomlarda yaymalarda tümör hücreleri genelde tek tek dağılım gösterir, nadiren küçük gruplaşmalar izlenir. Hücreler çok çeşitli şekil ve büyüklükte olabilir. Binükleer ve multinükleer hücreler bulunur. Bazı hücrelerde sitoplazmik glikojen nedeniyle vakuolizasyon görülür. Ancak İDET'ndeki gibi vakuol sitoplazmik sınırı belirlemez⁽¹⁴⁾. Sitoplazma PN ve İDET'ne göre daha bazofiliktir. Bazı olgularda görülen rabdomyoblastlar ayırıcı tanıda yardımcıdır. Bazan sitoplazmada çizgilenme görülebilir. Ayrıca, zeminde mikzoid matriks olguların büyük kısmında mevcuttur⁽²⁾.

Metastatik küçük hücreli nöroendokrin karsinomlarla özellikle erişkinlerde ayırım gerekmektedir. Bu tümörlerde zeminde nekrotik materyal ve arada çok sayıda nekrobiyotik

hücre dikkat çekicidir. Hücrelerin büyük kısmında sitoplazma görülmez. Mevcut olanlarda ise dar, bazofilik bir sitoplazma izlenir. Nukleuslar hiperkromatiktir, pleomorfizm dikkat çekicidir. Hücrelerde biraraya geliş, fasetleşme ayırıcı tanıda önemlidir⁽¹⁹⁾.

Akhtar ve ark.⁽¹⁴⁾ çocukluk çağı yuvarlak hücreli malign tümörlerinde sitolojik materyalde ışık ve elektron mikroskopik inceleme yaparak tanı verdiklerini, ancak olguların büyük kısmında yalnızca ışık mikroskopinin yeterli olduğunu, seçilmiş bazı olgularda ultrastrüktürel çalışmaya gereksinim duyduklarını belirtmişlerdir. Yetmişaltı olguluk serilerinde 4 olguda ayırıcı tanıya gidememişlerdir. Bu 4 olgudan ikisine biyopsi, birinde ise

elektron mikroskopik çalışma yapılmasına karşın ayırıcı tanının mümkün olmadığını, bunun nedenin, tümör hücrelerinin andifferansiye natürde olmalarına bağlandığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmamızda İDET ve PN tanısı alan iki olgumuzun sitomorfolojik özelliklerini tanımladık. Ayrıca bu iki tümörün birbirleri ve diğer yuvarlak hücreli malign tümörler ile ayırıcı tanısında kullandığımız sitomorfolojik kriterleri özetledik. Sonuç olarak, biyopsiye göre çok daha noninvaziv ve ucuz bir yöntem olan ince iğne aspirasyon biyopsisi ile PN ve İDET'nde tanıya gidilebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Silverman JF, Dabbs DJ, Ganick DJ, Geisinger KR. Fine needle aspiration cytology of neuroblastoma, including peripheral neuroectodermal tumor, with immunohistochemical and ultrastructural confirmation. *Acta Cytol* 1988; 32: 367-376.
2. Silverman JF, Berns LA, Holbrook CT, Neill JSA, Joshi VV. Fine needle aspiration cytology of primitive neuroectodermal tumors. A report of three cases. *Acta Cytol* 1992; 36: 541-550.
3. Enzinger FM, Weiss SW. Soft tissue tumors. Third edition. St Louis, CV Mosby, 1995; 929-964
4. Marina NM, Etcubanas E, Parham DM, Bowman LC, Green A. Peripheral primitive neuroectodermal tumor (peripheral neuroepithelioma) in children. *Cancer* 1989; 64: 1952-1960.
5. Ushigome S, Shimoda T, Takaki K, Nikaido T, Takakuwa T, Ishikawa E, et al. Immunocytochemical and ultrastructural studies of the histogenesis of Ewing's sarcoma and putatively related tumors. *Cancer* 1989; 64: 52-62.
6. Neuhold N, Artlieb V, Wiimmer M, Krisch I, Schratte M. Aspiration cytology, immunohistochemistry and electron microscopy of a malignant peripheral neuroectodermal tumor. *Acta Cytol* 1986; 33: 74-79.
7. Llombart-Bosch A, Lacombe MJ, Contesso G, Peydro-Olaya A. Small round cell sarcoma of bone mimicking atypical Ewing's sarcoma with neuroectodermal features. *Cancer* 1987; 60: 1570-1582.
8. Llombart-Bosch A, Carda C, Peydro-Olaya A, Noguera R, Perez-Bacete M, Pellin A, et al. Soft tissue Ewing's sarcoma. *Cancer* 1990; 66: 2589-2601.
9. Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer-Kuntschik M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration. *Cancer* 1991; 67: 1886-1893.
10. Swanson PE, Jasczc W, Nakhleh RE, Kelly DR, Dehner LP. Peripheral primitive neuroectodermal tumors. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 1202-1208.
11. Stepenson CF, Bridge JA, Sandberg AA. Cytogenetic and pathologic aspects of Ewing's sarcoma and neuroectodermal tumors. *Hum Pathol* 1992; 23: 1270-1277.
12. Gonzalez-Campora R, Munoz-Arias G, Otal-Salaverri C, Jorda-Heras M, Garcia-Alvarez E, Gomez-Pascual A, et al. Fine needle aspiration of primary soft tissue tumors. Morphologic analysis of the most frequent types. *Acta Cytol* 1992; 36: 905-917.
13. Gonzalez-Campora R, Otal-Salaverri C, Panea-Flores P, Hevia-Vasquez A, Gomez-Pascual A, San Martin Diez V. Fine needle aspiration of peripheral neuroepithelioma of soft tissues. *Acta Cytol* 1992; 36: 152-158.
14. Akhtar M, Ashraf Ali M, Sabbah R, Bakry M, Nash JE. Fine needle aspiration biopsy diagnosis of round cell malignant tumors of children. *Cancer* 1985; 55: 1805-1817.
15. Auger M, Bedard YC, Keating S. Diagnosis of a peripheral neuroectodermal tumour by fine needle aspiration. *Cytopathology* 1990; 1: 243-249.
16. Brehaut LE, Anderson LH, Taylor DA. Extraskletal Ewing sarcoma. *Acta Cytol* 1986; 30-683-687.
17. Dehner LP. Primitive neuroectodermal tumor and Ewing sarcoma. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 1-13.
18. Akhtar M, Ashraf Ali M, Sabbah R, Bakry M, Sackeey K, Nash JE. Aspiration cytology of neuroblastoma. Light and electron microscopic correlations. *Cancer* 1986; 57: 797-803.
19. Gray W. Benign and malignant soft tissue tumors. In: Akerman M, editors. *Diagnostic Cytopathology*. First ed. Churchill Livingstone, 1995; 864-865.