

Yumuşak doku sarkomlarında epitelyal markerlarla boyanma özellikleri

Dr. Selda Seçkin* Dr. Kayhan Başak* Dr. Fehmi Aksoy* Dr. Sibel Orhun*

ÖZET

Yumuşak doku tümörlerinde çok farklı morfolojik ve histogenetik özellikler bulunabilmektedir. Sağlıklı ayırıcı tanıyı yapabilmek ve tümör tiplerinde hücresel özellikleri değerlendirebilmek amacıyla çeşitli immünohistokimyasal çalışmalar yapılmaktadır. 10 leiomyosarkoma, 8 rbdomyosarkoma, 5 liposarkoma, 4 sinovyal sarkoma ve 3 malign fibröz histiositomadan oluşan 30 sarkom olgusu vimentin, desmin, S100, cytokeratin, EMA ve CEA' i içeren antikor paneli ile incelenmiştir. Rutin yöntem ile sarkom tanısı alan olguların epitelyal markerlarla gözlenebilen (+) boyanma özellikleri değerlendirilmiştir. Bu durum teknik özelliklerden kaynaklanabileceği gibi tümör hücrelerinin farklı pekçok yönde diferansiye olabileceğini de akla getirmektedir. İmmünohistokimya standart histolojik değerlendirmeye yardımcıdır ve epitelyal ile mezenkimal hücreler arasında kesin bir ayırım her zaman mümkün olamamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Sarkom, immünohistokimya, epitelyal markerlar.

GİRİŞ

Yumuşak doku tümörleri geniş bir morfolojik ve histogenetik spektrumu kapsar. Spesifik tanının tedavi protokollerinin saptanmasında önemli yeri olmasına rağmen, kesin tiplendirme zaman zaman çok zor olabilmektedir. Çünkü özellikle bazı lezyonların ayırt edilmesinde belirli rolü olduğuna inanılan birtakım morfolojik bulgular saptanamayabilmektedir. Oysa bu tümörlerde klasifikasyonun doğru şekilde yapılabilmesi, hasta açısından olduğu kadar, epidemiyoloji ve araştırma bazında da önemlidir. Bu nedenle, hem konvansiyonel yöntemle ulaşılan tanıyı teyid etmek, hem de çeşitli tümör tiplerinde hücre natürünü değerlendirebilmek için pek çok immünohistokimyasal çalışma yapılmaktadır.

Bu çalışmada 5 farklı malign yumuşak doku tümör grubunu içeren 30 olguya, 6 antikor bulunan bir immünohistokimya paneli uygulanmış, sonuçlar tartışılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Rutin takipten sonra hematoksilien-eosin (HE) ile bo-

* Ankara Numune Hastanesi Patoloji Bölümü.

SUMMARY

Soft tissue tumors may exhibit diverse morphological and histogenetic specifications. Various immunohistochemical studies are performed for the accurate differential diagnosis and cellular nature of the tumor types. Thirty sarcoma cases consisted of 10 leiomyosarcomas, 8 rhabdomyosarcomas, 5 liposarcomas, 4 synovial sarcomas and 3 malignant fibrous histiocytomas have been stained by vimentin, desmin, S100, EMA, CEA immunohistochemically. The positive staining of these cases by epithelial markers, could be the result of technical artefacts or tumor cells could differentiate into various directions. Therefore immunohistochemistry is useful in standart histologic evaluation and it is not always possible to make an exact distinction between epithelial and mesenchymal cells.

Key Words: Sarcoma, immunohistochemistry, epithelial markers.

yanarak, ışık mikroskobu ile incelenen ve leiomyosarkoma (LMS) tanısı alan 10, rbdomyosarkoma (RMS) tanısı alan 8, liposarkoma (LS) tanısı alan 5, sinovyal sarkoma (SS) olarak belirlenen 4 ve malign fibröz histiositoma (MFH) olduğuna karar verilen 3 olgu bu çalışmaya alınmıştır. Bu olgulara ait tümöral materyelden immün boyama için yeniden kesit elde edilmiştir. Tüm olgular epitelyal markerlardan cytokeratin (CK), EMA, CEA, ile ve S100, desmin, vimentin ile boyanarak değerlendirilmiştir. Yaşları 2.5-77 arasında değişen, 15 kadın, 15 erkek hastanın tümör tipleri, lokalizasyonları ve uygulanan antikor panelinin sonuçları Tablo-1'de verilmiştir.

BULGULAR

Epitelyal markerlardan CK ile tümör gruplarında %13-66 arasında, EMA ile %0-50 arasında, CEA ile %13-50 arasında (+) boyanma saptanmıştır. Vimentin ile %13-100 arasında pozitivite belirlenmiştir. En düşük oran 8 olgunun sadece birinde olmak üzere RMS grubunda izlenen boyanmadır. LS ve SS da S100 ile hiçbir olguda boyanma saptanmazken, LMS da 10 olgunun 5 inde, MFH da 3 olgunun birinde boyanma vardır. Desmin LS ve

Yumuşak Doku Sarkomlarında Epitelyal Markerlerle Boyanma Özellikleri

Tablo I

Yaş/Cins	Tanı	Lokalizasyon	CK	EMA	CEA	VIM	S100	DESMIN
63/K	Leiyomyosarkoma	Ayak Bileği	-	+	+	+	+	-
60/E	Leiyomyosarkoma	Karın	+	+	-	-	-	+
60/E	Leiyomyosarkoma	Mesenter	-	-	-	-	+	-
17/K	Leiyomyosarkoma	Pelvis	-	-	+	+	-	-
57/K	Leiyomyosarkoma	Pelvis	-	-	-	-	-	+
46/E	Leiyomyosarkoma	Karın	-	-	+	+	+	+
60/K	Leiyomyosarkoma	Pelvis	+	-	+	+	+	+
14/E	Leiyomyosarkoma	Toraks Duvarı	+	-	+	+	+	+
70/K	Leiyomyosarkoma	Retroperiton	-	-	-	-	-	+
57/K	Leiyomyosarkoma	Bacak	-	+	-	-	-	+
62/E	Rabdomyosarkoma	Skalp	-	-	-	-	-	-
9/K	Rabdomyosarkoma	Orbita	-	-	+	-	+	+
25/K	Rabdomyosarkoma	Meme Metast	-	-	-	-	+	-
57/E	Rabdomyosarkoma	Nasofarenks	-	-	-	-	-	-
14/E	Rabdomyosarkoma	Redroperiton	-	+	-	-	-	+
60/K	Rabdomyosarkoma	Vagende Kitle	-	-	-	-	-	+
32/K	Rabdomyosarkoma	Int.Dur- EX.Med	+	-	-	+	-	+
2.5/E	Rabdomyosarkoma	Temporal	-	+	-	-	-	-
53/K	Liposarkoma	Retroperiton	-	-	-	-	-	-
60/E	Liposarkoma	Karın	-	+	-	+	-	-
55/K	Liposarkoma	Retroperiton	-	-	-	+	-	-
65/K	Liposarkoma	Inguinal	-	-	+	+	-	-
56/E	Liposarkoma	Inguinal	+	-	-	+	-	-
9/K	Sinovyal Sarkoma	Uyluk	+	-	-	+	-	+
9/E	Sinovyal Sarkoma	Bacak	-	+	+	-	-	-
20/E	Sinovyal Sarkoma	Bacak	+	+	-	+	-	-
55/E	Sinovyal Sarkoma	Bacak	-	-	-	+	-	-
50/E	Malign Fibröz Histiositoma	Skapula Altı	-	-	-	+	+	-
77/K	Malign Fibröz Histiositoma	Skapula Alt Uç	+	-	-	+	+	-
70/E	Malign Fibröz Histiositoma	Poplitea	+	-	+	+	-	-

CK: cytokeratin, EMA: epithelial membrane antigen, CEA: carcinoembryonic antigen, VIM: vimentin

Tablo II: İmmünohistokimyasal bulgular

TANI	CK		EMA		CEA		VIMENTIN		S100		DESMIN	
	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)
Leiyomyosarkoma	7(70)	3(30)	7(70)	3(30)	5(50)	5(50)	5(50)	5(50)	5(50)	5(50)	3(30)	7(70)
Rabdomyosarkoma	7(87)	1(13)	6(75)	2(25)	7(87)	1(13)	7(87)	1(13)	6(75)	2(25)	4(50)	4(50)
Liposarkoma	4(80)	1(20)	4(80)	1(20)	4(80)	1(20)	1(20)	4(80)	5(100)	-	5(100)	-
Sinovyal Sarkoma	2(50)	2(50)	2(50)	2(50)	3(75)	1(25)	1(25)	3(75)	4(100)	-	3(75)	1(25)
Malign Fibröz Histiositoma	1(33)	2(66)	3(100)	-	2(66)	1(33)	-	3(100)	1(33)	2(66)	3(100)	-

CK: cytokeratin, EMA: epithelial membrane antigen, CEA: carcinoembryonic antigen.

MFH da bulunmazken, SS da %25, RMS da %50, LMS da %70 oranında belirlenmiştir (Tablo-2).

TARTIŞMA

Yumuşak doku sarkomlarında immünohistokimya hücre natürü ve özellikle heterojenitesi ile ilgili bilgi toplama çok yararlıdır. Ancak bugün için immünohistokimyanın yardımcı bir teknik olarak kullanılması ve tüm değerlendirmelerin standart histolojik tetkikle elde edilen

sonuçlarla birlikte yapılması gerektiği belirtilmektedir.¹ Ayrıca, fiksasyon ve takip açısından materyalin optimal düzeyde olup olmaması da sonuçları etkilemektedir.² Bir grup antijen için, frozen section materyeli sonuçlar açısından daha üstün iken, bazı antijenler standart formaldehit fiksasyonu ve parafinde bloklanmış kesitlerde optimum sonucu vermektedirler. Çalışmada kullanılan materyalin tamamı %10'luk formaldehit fiksasyonu takiben parafinde bloklanmıştır.

Mezenkimal orijinli hücrelere sensitif olan vimentin tüm yumuşak doku sarkomlarında bulunabilmektedir. Ancak sarkomlara spesifik olmadığı bilinmektedir.^{1,3} Üç MFH'un hepsinde, 5 LS'un 4'ünde, 4 SS'un 3'ünde pozitive belirlenmiştir. Olguların tamamında boyanma izlenmemesi, formaldehit fiksasyonu yapıp, parafine gömülüş dokularda vimentinle saptanan parsiyel reaktiviteye bağlanabilir.^{1,2,3} Vimentin, non-müsküler sarkomlardaki tek intermediate filaman tipi olarak bilinir ve kas kökenli sarkomlarda daha düşük oranda saptanması beklenir. Sekiz RMS olgusunun yalnız birinde, 10 LMS olgusunun ise 5'inde (+) boyanma vardır.

S100 ile yapılan boyamada LS ve SS olgularında boyanma izlenmemiştir. RMS olgularının 2'sinde (%25), MFH olgularının yine 2'sinde (%66) ve LMS'ların 5'inde (%50) fokal olarak boyanma saptanmıştır. RMS'daki bu beklenmedik pozitif boyanma, normal iskelet kasındaki anti S100 proteinin bir miktar immün reaktivite göstermesi ile ilişkili olabilir.⁴ Ayrıca S100 pozitivitesi bildirilen RMS ve LMS olguları bulunmaktadır.¹ MFH'daki boyanma sitostrüktür farklılığını ve tümörün pleomorfik yapısını vurgulamaktadır.

Myojenik diferansiyasyon için spesifik olan desmin, RMS ve LMS tanılarında anlamlıdır, ancak tek kriter değildir. LMS olgularında %70, RMS olgularında %50 oranında (+) boyanma saptanmıştır. RMS olgularındaki desmin ile (-) boyanma, false negativiteye bağlı olabileceği gibi, olguların undiferansiyasyonla boyanma arasında paralellik olduğu vurgulanmaktadır.⁴ LMS için desmin pozitivitesinin %0-85 arasında saptanmış olduğu belirtilmektedir.⁵ Desminin kas dışı çok çeşitli hücrelerde saptanmış olduğu bilinmektedir;^{1,5} ayrıca kas yönünde diferansiyasyon ile ilişkiziz tümörlerde de pozitive saptanabilmektedir.⁵ Tümörlerde myofibroblastik reaksiyon olabilmekte ve dinamik bir hücre tipi olması nedeniyle myofibroblastlar, myoid ve fibroblastik durumlar arasında değişim gösterirken, belli bir aşamada desmin ile immün reaktivite verebilmektedirler.⁵ SS olgularımızın birinde (%25) saptanan boyanmayı bu şekilde açıklamak mümkün görünmektedir.

Epitelyal bir marker olarak ortaya çıkan CK'in herhangi bir dokuda saptanmasının, epitelyal diferansiyasyonu gösterip göstermediği kesin değildir.⁶ LMS olgularının %30'unda, RMS olgularının %13'ünde saptanan pozitive, literatürdeki sonuçlarla karşılaştırıldığında şaşırtıcı değildir.^{1,6,7} Bu tümörlerde CK pozitivitesi, bu antikorun nonspesifik olduğunu mu göstermektedir, bu durum kesin değildir.⁶ Ayrıca RMS'lar, kas yönünde diferansiyasyonun, diğer diferansiyasyon modaliteleri ile birlikte olduğu çok yönlü diferansiyasyon gösteren tümörler olarak kabul edilebilirler.⁶ Dört SS olgusunun 2'sinde CK ile boyanma vardır ve epitelyal alanlar yanında spindle hücrelerde de pozitive saptanmıştır. Monofazik spindle hücre-

li tümörlerde keratin pozitivitesi, bu tümörlerin sinovyal sarkom yönünde değerlendirilmesini sağlamaktadır.⁸ CK ile MFH'da %66(+) boyanma belirlenmiştir. Bu durum tümörün pleomorfik yapısını göstermektedir.⁹ İki MFH olgumuzdaki gibi, CK pozitivitesinin yanısıra bu olgularda vimentinin de (+) olması dikkat çekicidir ve neoplastik hücrelerin çok yönlü gelişim yeteneğini vurguladığı öne sürülmüştür.^{10,11} Bir LS olgusunda saptanan zayıf CK boyanması, optimal olmayan formaldehid fiksasyonlu, parafine gömülü dokuda çalışılması nedeniyle tekniğe bağlı false pozitive olarak değerlendirilebilir.

EMA ve CEA ile incelenen olgularda %0-50 arasında pozitive belirlenmiştir. SS için epitelyal marker pozitivitesi bilinmektedir ve EMA ve CEA boyanmalarının genellikle keratin boyanması ile birlikte olduğu belirtilmektedir.¹² Ayrıca az diferansiyasyon SS'da EMA pozitivitesi keratinlerden daha kolay demonstre edilebilmektedir.¹ CEA'nin de, (+) saptanan olgumuzdaki gibi zayıf boyanma göstermesi SS tanısı ile uyumlu olarak kabul edilmektedir.⁸ Bazı LMS olgularının keratin ve EMA ile (+) boyanma gösterdikleri bildirilmektedir.¹² On LMS olgusunun 3'ünde belirlenen pozitive çok şaşırtıcı bulunmamakla birlikte, SS ayırıcı tanıda düşünüldüğünde, epitelyal marker pozitivitesi SS yönünde yardımcı olmamaktadır.

Yumuşak doku sarkomlarında epitelyal markerlerin (+) olması kompleks sellüler diferansiyasyonu gösterir. Epitelyal markerlerden özellikle keratin epitelyal diferansiyasyon için çok önemli olmasına ve tanı aşamasında diğer immün boyalar ve tanı araçları ile birlikte kullanıldıklarında oldukça anlamlı kabul edilmelerine rağmen, HE ile yapılan morfolojik değerlendirmenin hala ilk sırada geldiği savunulmaktadır.¹³ Son yıllarda epitelyal markerlerin saptanmasının fenotipik olarak epitelyal hücrelerle sınırlı olmadığı anlaşılmıştır. İncelediğimiz toplam 30 yumuşak doku sarkomunda CK ile %66'ya, EMA ve CEA ile %50'ye varan pozitive saptanmıştır. Yorum yapabilmek için bazı tümör gruplarında olgu sayısı azdır ve boyanmalar her ne kadar fokal ve bir kısım olguda zayıf olarak belirlenmişse de, hücre heterojenitesi hakkında fikir vermektedir.

Ayrıca immün boya değerlendirmelerinde, kullanılan fiksatif ve tekniğin yanısıra, sonuçları yorumlamak da önem kazanmaktadır. Çeşitli markerlarla yapılan incelemelerde bazı nonmalign hücrelerdeki boyanmaya bağlı olarak false + değerlendirmeler olabilmektedir. Tümörlerde bulunabilen çok sayıdaki makrofaj ve fagosite ettikleri materyalin boyanma özelliklerinin sonucu etkilememesi gerekir.¹⁴ S100 ile immün boyamanın sinir kılıfı tümörleri dışında bir tümörde (+) sonuç vermesi, Langerhans hücrelerini hatırlatmalı ve değerlendirmede göz önüne alınmalıdır.¹

İmmün boyama, özellikle tanı güçlüğü yaratan olgularda, hücrelerin orijinine yönelik bilgi sahibi olmada ve

tümörleri klasifiye etmede yardımcıdır ancak, yine de tüm yumuşak doku sarkomları kesinlikle sınıflandırılıyor değildir.¹⁵ Giderek, epitelyal ve mezenkimal hücreler arasında her zaman rijid bir ayırım olmadığı ve klasifiye edilemeyen olguların hep bulunabileceği anlaşılmaktadır. Bu du-

rum tümörden kaynaklanan nedenlere bağlı olabileceği gibi, tanı kriterleri ile de ilgilidir. Geliştirilen daha sofistike markerlar ve yöntemler bu problemi çözmeye yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1 Miettinen M. Immunohistochemistry of Soft-Tissue Tumors. Possibilities and Limitations in Surgical Pathology. *Pathol Annual* 1990; part 1:1-37.
- 2 Norman MP. Techniques in Immunocytochemistry. Application to Diagnostic Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 1989; 1130:641-644.
- 3 Azumi N, Battifora H. The distribution of Vimentin and Keratin in Epithelial and Nonepithelial Neoplasms. *Am J Clin Pathol* 1987; 88:286-296.
- 4 Coindre JM, De Mascarel A, Trojani M, De Mascarel I, Pages A. Immunohistochemical Study of Rhabdomyosarcoma. Unexpected Staining with S100 Protein and Cytokeratin. *J Pathol* 1988; 155:127-132.
- 5 Truong LD, Rangdaeng S, Cagle P, Ro JY, Hawkins H, Font RL. The Diagnostic Utility of Desmin. A Study of 584 Cases and Review of the Literature. *Am J Clin Pathol* 1990; 93:305-314.
- 6 Miettinen M, Rapola J. Immunohistochemical Spectrum of Rhabdomyosarcoma and Rhabdomyosarcoma-like Tumors. Expression of Cytokeratin and the 68-kD Neurofilament Protein. *Am J Surg Pathol* 1989; 13:120-132.
- 7 Miettinen M. Keratin Subsets in Spindle Cell Sarcomas. Keratins Are Widespread But Synovial Sarcoma Contains a Distinctive Keratin Polypeptide Pattern and Desmoplakins. *Am J Pathol* 1991; 138:505-513.
- 8 Corson JM, Weiss LM, Banks-Schlegel SP, Pinkus GS. Keratin Proteins and Carcinoembryonic Antigen in Synovial Sarcoma: An Immunohistochemical Study of 24 Cases. *Hum Pathol* 1984; 15:615-621.
- 9 Lawson GW, Fisher C, Gatter KC. An Immunohistochemical Study of Differentiation in Malignant Fibrous Histiocytoma. *Histopathology* 1987; 11:375-383.
- 10 Murakami I, Itami S, Fujiwara S, Terashi H, Kurata S, Honda T et al. Recurrent Malignant Fibrous Histiocytoma with Expression of Cytokeratin. *J Dermatol* 1991; 18:340-344.
- 11 Weiss SW, Bratthauer GL, Morris PA. Postirradiation Malignant Fibrous Histiocytoma Expressing Cytokeratin. Implications for the Immunodiagnosis of Sarcomas. *Am J Surg Pathol* 1988; 12:554-558.
- 12 Ordonez NG, Mahfouz SM, Mackay B. Synovial Sarcoma: An Immunohistochemical and ultrastructural Study. *Human Pathol* 1990; 21: 733-749.
- 13 Miettinen M, Kovatich A. Keratin in Soft-tissue Sarcomas-Common Phenomenon or Technical Artifact? *Am J Clin Pathol* 1991; 95:673-674.
- 14 Roholl PJM, De Jong ASH, Ramaekers FCS. Application of Markers in the Diagnosis of Soft Tissue Tumors. *Histopathology* 1985; 9:1019-1035.
- 15 Schmidt D, Harms D. The Applicability of immunohistochemistry in the Diagnosis and Differential Diagnosis of Malignant Soft Tissue Tumors. A Reevaluation Based on the Material of the Kiel Pediatric Tumor Registry. *Klin Pediatr* 1990; 202:224-229.