



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PEDİATRİK GRUP EWİNG SARKOMDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL
OLARAK EZH2 EKSPRESYONU VE KLİNİKOPATOLOJİK
PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

Dr. Özlem AVCI

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2015



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PEDİATRİK GRUP EWING SARKOMDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL
OLARAK EZH2 EKSPRESYONU VE KLİNİKOPATOLOJİK
PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ**

Dr. Özlem AVCI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Ulviye YALÇINKAYA

BURSA – 2015

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Kısaltmalar	vi
Giriş	1
Genel Özellikler.....	1
Epidemiyoloji ve indisans.....	2
Etyoloji.....	3
Genetik	3
Lokalizasyon	5
Klinik Bulgular.....	6
Laboratuvar Çalışması.....	7
Radyolojik Bulgular.....	7
Kemik İliği Aspirasyonu ve Biyopsi.....	9
Patolojik Özellikler.....	10
İmmünohistokimyasal Özellikler.....	12
Histokimyasal Özellikler.....	13
Elektron Mikroskopik Özellikler.....	14
Ayırıcı Tanı.....	16
Tedavi.....	20
Prognostik Faktörler.....	24
EZH2 Antikoru.....	30
Gereç ve Yöntem	32
Bulgular	35
Tartışma ve Sonuç	44
Kaynaklar	50
Teşekkür	57
Özgeçmiş	58

ÖZET

PEDİATRİK GRUP EWİNG SARKOMDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL OLARAK EZH2 EKSPRESYONU VE KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE İLİŞKİSİ

Ewing sarkom (ES) çocukluk çağı ve genç erişkin döneminde osteosarkomdan sonra en sık görülen ikinci malign kemik tümörüdür. Olguların %85-95'inde (11;22)(q24;q12) translokasyonu izlenmektedir. Bu 11. kromozom üzerindeki FLI1 geni ile 22. kromozom üzerindeki EWS geninin füzyonu ile sonuçlanmaktadır. Son dönemdeki çalışmalarda oluşan EWS/FLI1'in EZH2 promotör bölgesine bağlandığı ve EZH2 ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir.

EZH2 bir supresör genidir ve dolayısıyla fazla eksprese edildiği zaman normalde aktif olan bir çok tümör süpresör gen kapatılır. Bu nedenle EZH2 meme kanseri, prostat kanseri, mesane kanseri ve oral skuamöz hücreli kanser gibi çeşitli tümör tiplerinde bir onkogen olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmanın amacı pediatrik grup ES olgu serimizde EZH2 ekspresyonu ve EZH2 ekspresyonunun klinikopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisini araştırmaktır.

Çalışmamızda çocukluk çağında ES tanısı alan ve Uludağ Üniversitesi Kemik ve Yumuşak Doku Tümör Konseyi'nde kaydı bulunan 35 olgu incelendi.

EZH2 antikorunu kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 35 olgunun 32'sinde (%91,4) pozitif immünreaktivite belirlendi. Pozitif immünreaksiyon gözlenen olguların 7'sinde (%20) yaygın, kuvvetli (>%50, +++), 15'inde (%42,8) orta derecede (%25-50, ++), geri kalan 10 olguda (%28,5) ise fokal, zayıf derecede (<%25, +) boyanma saptandı. Üç olguda (%8,5) negatif immünreaksiyon gözlemlendi.

Çalışmamızda EZH2 immünreaktivitesi ile ES'da bilinen prognostik faktörler olan yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, metastaz, nüks varlığı ve sağkalım arasındaki ilişki istatistiksel olarak araştırıldı ancak anlamlı bir sonuç elde edilemedi.

Sonuç olarak çalışmamıza dahil edilen çocukluk çağı ES olgularının genel özelliklerinin ve rutin prognostik faktörlerin dağılımının genelde literatürle uyumlu olmasına karşın EZH2 ekspresyonu ile prognostik faktörler ve sağ kalım arasında istatistiksel olarak kesin çıkarımlarda bulunamamızın sebebinin serimizin küçük olmasından kaynaklandığı düşüncesiyle ileri çalışmaların yararlı olacağı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Ewing sarkom, EZH2, çocukluk çağı, prognostik faktörler.

SUMMARY

THE IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF EZH2 IN PEDIATRIC EWING SARCOMA EXPRESSION and RELATIONSHIP WITH THE CLINICOPATHOLOGICAL PROGNOSTIC FACTORS

Ewing sarcoma (ES) is the second most common malignant bone tumor after osteosarcoma during childhood and young adult. In 85-95% of cases (11; 22) (q24; q12) translocation is followed. 11 with fli1 gene on chromosome 22 results in the fusion of the EWS gene on chromosome. Studies in recent years occurred in the EWS/FLI1, which binds to the promoter region of EZH2 and it has been found to increase the expression of EZH2.

EZH2 is a suppressor gene and thus when it is overexpressed on many active tumor suppressor genes normally closed. Therefore EZH2 is considered to be an oncogene in several tumor types such as breast cancer, prostate cancer, bladder cancer, oral squamous cell carcinoma.

The aim of this study is to determine the immunohistochemical expression of EZH2 in pediatric patients in our series ES and to investigate the relationship between expression of EZH2 clinicopathological prognostic factors.

In our study we examined the ES which is diagnosed in childhood and 35 patients who were registered at Uludağ University Council Bone and Soft Tissue Tumors.

EZH2 antibody using the immunohistochemical study of 35 patients, 32 (%91.4) of positive immunoreactivity was determined. The cases that received a positive immunereaction in 7 of (%20) common, strong(>50%), and 15 (%42.8) moderate (%25-50) that the remaining 10 patients (%28.5)

are focal, weak to a degree ($\% < 25$) staining revealed. Negative immune reaction was observed in three patients ($\% 8,5$).

In our study, EZH2 immunoreactivity with known prognostic factors in ES with age, sex, tumor location, tumor size, metastasis, recurrence relations between existence and survival were statistically analyzed. However, significant results could not be obtained.

As a result of the general characteristics of the patients included in our study childhood ES and routine distribution of prognostic factors are compatible with the literature. Even so, we can not make concrete conclusions about EZH2 expression with prognostic factors and survival in a statistically. Because of our small series it was concluded that further studies will be useful.

Keywords: Ewing sarcoma, EZH2, childhood, prognostic factors.

KISALTMALAR

- ES:** Ewing sarkom
- cAMP:** Siklik adenozin monofosfat
- PNET:** Primitif nöroektodermal tümör
- IGF-1:** İnsülin-like growth faktör-1
- FISH:** Floresans in situ hibridizasyon
- RT-PCR:** Reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu
- SB:** Southern blotting
- LDH:** Laktat dehidrojenaz
- KT:** Kemoterapi
- BT:** Bilgisayarlı Tomografi
- MRG:** Manyetik Rezonans görüntüleme
- RT:** Radyoterapi
- PAS:** Peryodik Asit Shift
- NSE:** Nöronspesifik Enolaz
- MHC-1:** Major histokompabilite kompleksi
- EMA:** Epitelyal membran antijeni
- LCA:** Lökosit common antijen
- ESTA:** Ewing sarkom tümör ailesi
- LBL/ALL:** Lenfoblastik lenfoma/Akut lenfoblastik lösemi
- DSRCT:** Desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör
- CK:** Pan-sitokeratin
- Chr:** Kromogranin
- VAC:** Vinkristin, aktinomisin-d, siklofosamid
- Pgp:** P-glikoprotein
- EZH2:** Enhancer of zeste homolog 2
- PRC2:** Polcomb baskılayıcı kompleks 2
- LN:** Lenf nodu

GİRİŞ

1. Genel Özellikler

Ewing sarkomu (ES) kemik yerleşimli malign yuvarlak hücreli bir tümör olup ilk kez Lucke tarafından 1866 yılında tanımlanmıştır (1). 1921 yılında Cornell üniversitesinde ilk patoloji profesörü olan James Ewing (1866-1943) 14 yaşındaki kız çocuğunun radiusunda yerleşmiş radyosensitif osteolitik bir tümör tanımlamıştır. Ewing tümörün perivasküler endotelial kaynaklı olabileceğini belirtmiş ve tümörü “kemiğin diffüz endotelyoması” olarak isimlendirmiştir (2). 1929 yılında bu tümör ES olarak anılmaya başlanmış ve bu ismi günümüze kadar korumuştur.

Askin ve ark. (3) benzer özellikteki bir tümörü 1979 yılında torakopulmoner bölgede tanımlamıştır.

Zaman içinde tümörün mezenkimal, myeloid, retikulum, nöroepitelial ve primitif multipotansiyel hücreler gibi çeşitli hücrelerden köken aldığı iddia eden çalışmalar olmuştur (4,5). Günümüzde ise kaynak hücrenin birçok hücreye farklılaşabilme yeteneği olan bir mezenkimal kök hücre ya da erken primitif nöroektodermal hücre olduğu kabul edilmektedir.

Yapılan çalışmalarda ES'un nöral kaynaklı olduğunu gösteren bulgular saptanmıştır. ES hücreleri hücre kültürlerinde hiç diferansiyasyon göstermeden gelişirler. Bununla birlikte bu hücrelere siklik adenozin monofosfat (cAMP) gibi diferansiyasyonu indükleyici ajanlar uygulanırsa, bu hücreler de nöral diferansiyasyon gösterir (6).

ES genellikle kemiğin farklılaşmamış tümörü olarak saptansa da 'Ekstraosseöz ES' olarak yumuşak dokulardan da köken alabilmektedir. Bu tümörün daha da farklılaşmış şekli nöroepitelioma veya primitif nöroektodermal tümör (PNET) olarak bilinmekte olup kemik ve yumuşak dokuların primer tümörü olarak kabul edilmektedir. Bütün bu tümörler 'Ewing Sarkom Tümör Ailesi' olarak tanımlanmakta ve tek bir neoplastik antitenin spektrumu olarak kabul edilmektedir (7). Bu tümörlerin kendilerine özgü ve

ortak immünohistokimyasal, sitogenetik ve moleküler belirteçleri bulunmaktadır. Işık ya da elektron mikroskobu veya immünohistokimyasal olarak nöroektodermal diferansiyasyon bulgusu gösterenler PNET, daha az diferansiye olanlar ise ES olarak kabul edilmektedir (8).

Bu aileye ait olan tümörlerin ortak özelliği asetil kolin sentezi için gerekli olan asetil kolin transferaz salgılamalarıdır. Bu özelliklerinden dolayı bu tümörlerin postganglionik parasempatik otonom sinir sistemi içerisindeki primordial hücrelerden köken aldığı bilinmektedir (9).

Bu tümörler insülin-like growth faktör-1 (IGF-1) üretirler ve tümör hücrelerinin yüzeyinde IGF-1 reseptörleri bulunur. Bu yolla tümör hücreleri otokrin özellik kazanmakta ve kendi kendini uyararak büyüyebilmektedirler (10). Diğer küçük yuvarlak hücreli tümörlerden farklı olarak bu tümörler gastrin salan peptid ve reseptörüne de sahiptirler. Bu peptid ve reseptör ilişkisi ile devamlı büyümeyi sağlayan bir başka otokrin mekanizma aktiflenmiş olur (11).

2. Epidemiyoloji ve İndisans

ES çocukluk çağı ve genç erişkin döneminde osteosarkomdan sonra en sık görülen ikinci malign kemik tümörüdür. Primer malign kemik tümörlerinin %6-8'ini oluşturmaktadır. Erkek kadın oranı 1.4/1'dir (12).

ES en sık yaşamın ikinci on yılında tanı almaktadır. Hastaların yaklaşık %80'i ise 20 yaştan küçüktür. Nadir olarak 30 yaşın üzerinde ve çok küçük çocuklarda da görülebilir(12). Literatürde sol femur yerleşimli kitlesi olan 5,5 aylık bir kız çocuğuna histopatolojik olarak ES tanısı konmuştur (13). Literatürde bildirilen en yaşlı ES olgusu ise 77 yaşında, kadındır. (14).

ES diğer etnik gruplara göre Kafkasyalılarda daha sık görülmektedir (12).

ES'un görülme sıklığı İngiltere'de 0-14 yaşlar arasında milyonda 2,2; 15-29 yaşlar arasında 2,9 ve 30-39 yaşlar arasında 0,4 olarak bildirilmiştir ve her yıl genellikle erkek ve ergenlik çağına olan ortalama 6 yeni olgu ES tanısını almaktadır (15).

Amerika Birleşik Devletleri'nde ise her yıl 20 yaşından küçük 225 yeni olgu bildirilmektedir (16). Türk Pediatrik Onkoloji Grubu ve Türk Pediatrik Hematoloji Derneği 2002–2009 yılları arası çocukluk çağı kanser verilerine göre malign kemik tümörü tanısı olan 12087 hastanın yer aldığı seride PNET, 692 olgu ile tüm grubun %5,7'sini oluşturmaktadır. Bu grupta da ES vaka sayısı 325'dir (%47) (17).

3. Etyoloji

ES'nun etyolojisine yönelik yapılan araştırmalarda etyolojide aile mesleğinin önemli olabileceği belirtilmiştir. Özellikle çiftçilikle uğraşan ailelerde daha sık ES öyküsüne rastlanmıştır (18). Valery ve ark. (18) yapmış olduğu araştırmada aile mesleği dışında etyolojide inguinal herniler ile özellikle puberteye erken girmiş erkek cinsiyetin rol oynayabileceği vurgulanmıştır.

Literatürde, üç ES'lu kız hastanın kız kardeşlerinde de ES geliştiği bildirilmiştir (19). Bir çalışmada ise ES olan bireyin ailesinde mide karsinomu ve nöroektodermal tümörlerin görülme sıklığının anlamlı oranda artmış olduğu saptanmıştır (20).

ES insidansı beyazlarda, Çinliler ve siyah Afrikalılara oranla daha yüksektir ve bu da etyolojide genetik yatkınlığın anlamlı olabileceğini desteklemektedir (12,21).

4. Genetik

ES olgularında 22q12 bölgesindeki EWS genini ilgilendiren resiprokal bir translokasyon izlenmektedir. (11;22)(q24;q12) translokasyonu olguların %85- 95'inde görülür ve 11. kromozom üzerindeki murin FLI1 geninin insan homologunun DNA bağlayıcı bölgesi ile 22. kromozom üzerindeki EWS geninin 5' ucunun üst üste gelmesi ile sonuçlanır (12). Moleküler düzeyde EWS-FLI1 füzyonu birçok farklı şekilde oluşmaktadır. EWS ve FLI1'den birçok farklı ekson kombinasyonları farklı uzunlukta ve içerikte kimerik

proteinler oluştururlar. Bu moleküler farklılıklar fonksiyonel ve klinik öneme sahiptirler. Özellikle, multivaryant analiz ile Tip 1 EWS-FLI1 füzyonunun varlığı sağ kalımı olumlu yönde etkileyen bir özelliktir (22).

Bu translokasyon dışında bu tümörlerde 4 farklı translokasyon daha görölmektedir. En sık görölen 2. translokasyon olan EWS-ERG t(21;22)(q22;q12)'ye tümörlerin %5-10'unda rastlanmaktadır. Seyrek görölen diğer translokasyon ise EWS-ETV1 t(7;22)(p22;q12), EWS-EIAF t(17;22)(q12;q12) ve EWS-FEV t(2;22)(q33;q12)'dir. Bu tümör belirleyici kromozomal translokasyonlara ek olarak Trizomi 8, Trizomi 12; del (22), del (16q) ve del (1p36) gibi kromozom anomalileri de izlenmektedir. Bu bozuklukların tümörün uzak bölgelerde ortaya çıkması, relaps, hastalığın ilerlemesi gibi kötü prognostik durumlarla ilişkili olduğu belirtilmektedir (12,23).

X ve Y kromozomlarının psödootozomal bölgesinde lokalize MIC2 geninin kodladığı 32 kD ağırlılığında bir transmembran protein olan CD99'a karşı geliştirilen antikolar, ES olgularının %95-100'ünde kuvvetli membranöz immünreaktivite göstermektedir (16). Hem ES hem de PNET tümör hücrelerinde büyük miktarlarda MIC2 gen ürünü eksprese edilmektedir. MIC2 ekspresyonu bu hücreler için seçici ve özgün bir özellik olarak kabul edilir ve her iki tümörün ortak bir histogeneze sahip olduklarını göstermektedir (24).

Diğer moleküler belirteçlerden olan c-myc onkogen amplifikasyonu ve 17p heterozigosite kaybının da kötü prognostik özellikler olduğu bildirilmektedir (25).

En sık tespit edilen sekonder genetik deđiřiklik ise, ink4A delesyonu olup, bu delesyonun rolü hala net olarak bilinmemektedir (26).

Günümüzde tanı zorlukları yaşanan ES'lu olgularda tümörü indiferansiye küçük yuvarlak hücreli tümörlerden ayırmak amacıyla floresans in situ hibridizasyon (FISH), reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), Southern blotting (SB) gibi moleküler genetik yöntemler kullanılmaktadır. Bu tümörlere özgü translokasyonların belirlenmesiyle birbirinden çok farklı tedavi rejimlerine sahip olan ES, rabdomyosarkom ve az

diferansiye sinovyal sarkom gibi malign küçük yuvarlak hücreli tümörlerin tanıları kesinleştirilebilmektedir (16).

5. Lokalizasyon

ES vücudun her kemiğini tutabilse de en sık tutulan kemikler sırasıyla uzun kemikler ve pelvistir. Uzun kemiklerde ise en sık femur tutulumu, takiben tibia ve humerus tutulumu izlenmektedir. Sık tutulan diğer kemikler ise skapula, vertebral kolon ve kafa kemikleridir (16).

ES'un uzun kemiklerdeki en sık yerleşim yeri diğer bir çok tümörün aksine metafizden ziyade diyafiz veya metafizodiyafizer geçiş alanıdır (16). Ancak geniş serilerle hazırlanmış çalışmalarda bu tümörün, saf diyafizer ve saf metafizer olabileceği de bildirilmiştir (27).

Vakaların %10-20'si iskelet dışı yerleşimlidir. İskelet dışı ES sıklıkla paravertebral bölge ve göğüs duvarında görülür. Toraks yerleşimli olanlara Askin tümörü de denmektedir. Tümör vertebralarda en sık sakrumda yerleşim gösterirken onu sırasıyla lomber, torasik, servikal ve koksigeal bölgeler izler. ES el kemiklerinde nadiren ve karpal kemiklerde yok denecek kadar az görülmektedir (16,28).

Türkiye'de yapılan 4 farklı çalışmada primer lezyonun ekstremitelerde yerleşimi %48,4-76, aksiyel iskelet yerleşimi ise %24-51,6 olarak bulunmuştur (17,29-31). Bu çalışmalarda primer tümörün femur ve pelvise yerleşim oranları sırasıyla %12,9-26 ve %13,5-32,3'dür (17,30,31).

İlk tanı konulduğunda genellikle tek kemik tutulumu mevcuttur. Ancak yaklaşık %10 olguda bulguların ortaya çıkış anında multipl kemik tutulumu görülür. Bunlar muhtemelen bir primerin metastazlarıdır. Ancak multipl primer odak olasılığı akıldan çıkarılmamalıdır (32). Mirra (33) yaptığı çalışmada multipl kemik metastazlarının ancak akciğer ve diğer iç organ metastazlarından sonra izlenebildiğini bildirmiştir.

6. Klinik Bulgular

Tanı anında saptanan belirti ve bulgular tümörün lokalizasyonu ile ilişkilidir. Çoğunlukla ilk ortaya çıkan semptomlar primer tümör bölgesinde ağrı ve/veya şişliktir. Ağrı başlangıçta aralıktır ancak zamanla ciddi ve sürekli olmaya başlar. Genellikle tümör bölgesinde şişliğin olması hastanın hekime başvurduğu döneme uyar. Dünya Sağlık Örgütü ES tanısı konan hastaların %96'sının ağrı, %61'inin palpe edilebilir kitle, %21'inin aralıklı ateş ve %16'sının patolojik kırık ile başvurduğunu bildirmektedir (12).

Tümörün lokalize olduğu bölgede hafif-orta derecede eritem ve hassasiyet saptanabilir. Eşlik eden lokal ısı artışı ve yumuşak doku şişliği nedeniyle klinik olarak osteomyeliti taklit edebilir. Olgularda ağrı aralıklı ve değişken şiddette olabilir. Bulgular travmayı düşündürebileceği gibi insidental bir travma da tanı konulmasını sağlayabilir.

ES büyüme çağındaki çocuklarda sık görüldüğü için varolan ağrı büyüme ağrıları ve fiziksel aktivitenin bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle bir aydan uzun süren ve gece devam eden ağrı varlığında daha ayrıntılı inceleme yapılmalı ve görüntüleme yöntemlerine başvurulmalıdır (16).

Ateş ve halsizlik gibi sistemik semptomlar vakaların üçte birinde değişik oranlarda görülebilir. ES'da osteosarkom ile kıyaslandığında ateş, kilo kaybı gibi sistemik belirtiler daha sık bulunur(16).

Pelviste tümör varlığında hastalarda kök basısına bağlı olarak yürüme bozuklukları, mesane ve barsak disfonksiyonu ile sırt ağrısı gibi semptom ve bulgular görülebilir ve bu olgularda kalıcı nörolojik hasar gelişmeden acil değerlendirme önemlidir. Özellikle femur tutulumunda vakaların %10-15'inde patolojik kırık saptanabilir (16).

Metastaz varlığında klinik semptom ve bulgular en sık metastaz yerleri olan akciğer, kemik ve kemik iliği tutulumuna bağlı bulguları da içerebilir (16). Tanı anında olguların %25'i metastatiktir (16). Genellikle ilk semptomdan tanının konmasına kadar geçen süre uzundur. Semptomlar tanıdan ortalama 3-9 ay önce ortaya çıkar (16).

Sneppen ve ark. (34) çalışmalarında hastalara tanı konmadan önceki sürenin 9,6 ay olduğunu saptamışlardır. En sık semptom olan ağrının aralıklı olması tanıyı geciktiren en önemli nedendir. Palpe edilen kitlesi olan olgularda tanı daha kısa sürede konmaktadır. Pelvik kitlelerde ise tümörün palpe edilebilmesi için çok büyük hacimlere ulaşması gerekir ve bu da tanıyı geciktirir (34).

7. Laboratuar Çalışmaları

ES şüphesinde yapılması gereken ilk laboratuar çalışmaları tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, serum elektrolitleri, laktat dehidrojenaz (LDH), böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri, alkalen fosfataz, kalsiyum, fosfor, magnezyum, koagulasyon profili ve kemik iliği aspirasyon ve biyopsisidir.

Eritrosit sedimentasyon hızı hastaların yarısında yüksek bulunur. LDH değerindeki değişiklikler kemoterapiye (KT) yanıtın değerlendirilmesinde ve rekürrens saptanmasında önemlidir ve yüksekliği kötü prognoz ile ilişkilidir. Eşlik eden inflamasyonun derecesine bağlı olarak, sedimentasyon hızında artış, lökositöz ve anemi görülebilir (16). RT-PCR yöntemi ile periferik kanda ve kemik iliğinde tümör hücresi aranması mümkündür. Bu metot moleküler evreleme yapılması ve tedaviye yanıtın izlenmesinde faydalıdır (35).

8. Radyolojik Bulgular

ES'un radyolojik özellikleri çeşitlilik göstermektedir. Uzun kemiklerin herhangi bir bölgesini tutabilir (midiafiz %33, metadiafiz %44, metafiz %15, metaepifiz %6, epifiz %2) (33). ES'un kemikte oluşturduğu radyografik değişiklikler üç fazda incelenebilir. Erken dönemde; küçük lizis odağı olan bir lezyondur. Tümör hücreleri çoğunlukla metadiafizden başlayarak yayılım gösterirler. Orta fazda; periost irritasyonu ve reaktif kemik yapımı izlenir. Bu fazdaki lezyonların çoğu saf litik özelliktedir. Ancak bazıları litik-blastik veya

nadiren saf blastik görünüm veren, intramedüller veya endosteal reaktif kemik sklerozu oluşturabilir. İleri fazda; tümör hem havers kanallarına ilerler hem de değişik boyutlarda, eksantrik veya konsantrik yumuşak doku kitlesi oluşturmak için korteksi yıkar. Bu nedenle primer yumuşak doku tümörü ile karışabilir. Bu yumuşak doku kitlesi, gelişimi sırasında; “soğan zarı” görünümü veya paralel reaktif periosteal kemik tabakaları (Codman üçgeni) oluşturur (27).

Günümüzde yüksek çözünürlüklü ve multiplanar kesitsel yöntemler yaygın olarak kullanılsada kuşku olgularda ilk tanı yöntemi olarak gerek tarama amaçlı gerekse kemikteki matriks ve korteks değişikliklerinin değerlendirilmesi açısından direkt grafi halen değerini korumaktadır. Direkt grafi kemikte dansite değişikliklerini, kemikte destrüksiyon ve periost reaksiyonu değerlendirmede yararlı iken yumuşak dokuların değerlendirilmesinde yetersiz kalmaktadır. ES'un %27'sinde atipik radyografik bulgular saptanmaktadır. Medullada sınırları belirsiz osteoliz tipik görünümdür. Distrofik kalsifikasyonlar yumuşak doku komponentinde daha sık ve medüller komponentte daha nadir olarak görülebilir. ES için özgül olarak tanımlanan “Soğan zarı” tip periost reaksiyonu yanısıra “Codman üçgeni” adlı kesintili ve “Işınsal tarzda” periost reaksiyonları da izlenebilmektedir (27).

Renkli Doppler Ultrasonografi non invaziv bir yöntem olup tümörün vaskülaritesi hakkında bilgi verebilir. Malign tümörlerin damarları irregüler konturlu olup duvarlarında kas tabakası izlenmez (36). ES'da da diğer malign tümörlerde olduğu gibi tümör bölgesinde malign hücrelerin beslenmesi için neovaskülarizasyonlar ve düşük dirençli akımların var olduğu saptanmıştır. Kemiklerden kaynaklanan ES'un tanısında ise sonografik değerlendirmenin sınırlı bir yöntem olduğu unutulmamalıdır (37).

Bilgisayarlı Tomografi (BT) kemikteki normal ve anormal parankimi, lezyonların geçiş zonları ile periost reaksiyonu ve yumuşak doku uzanımlarını, komşu yapılarla tümörün ilişkisini göstermede oldukça faydalı bir görüntüleme yöntemidir (38). ES ve diğer iskelet sistemi tümörlerinde BT'nin Manyetik Rezonans görüntüleme (MRG)'ye olan en önemli üstünlüğü

tümör matriksini, küçük kalsifikasyonları ve korteks devamlılığını daha iyi göstermesidir. Ancak yumuşak doku komponenti ve medüller infiltrasyonun gösterilmesinde MRG, BT'den daha başarılıdır (39). BT'nin ES'da önemli bir kullanım alanı ise metastaz taramasıdır. ES'lu hastaların evrelendirilmesinde düz grafiler, primer bölgenin MR görüntülemesi ve kemik sintigrafileri ile Toraks BT incelemesi metastaz taraması ve prognoz açısından yararlıdır. Olguların %25'inde tanı anında belirgin metastatik hastalık mevcuttur. Metastazlar en sık hematogen yolla olur ve en sık akciğerler, kemik ve kemik iliğine metastatik yayılım görülür (40). ES gibi kemiğin meduller kanalından kaynaklanan tümörlerde (Kemiğin histiositik lenfoması, myeloma, osteosarkoma ve kondrosarkoma) MRG evreleme, preoperatif planlama ve hasta izlemi için diğer görüntüleme yöntemlerine göre daha üstün bir yöntemdir (41).

Sintigrafi kemik tümörlerinin tanısında oldukça önemli bir yöntemdir. Görüntüleme işlemi sırasında genellikle kemik için özgül olan "Technetium-99m-Phosphonate" kullanılır. Sintigrafinin normal sınırlar içinde olması büyük ölçüde maligniteyi ekarte ettirir. Artmış sintigrafik aktivite ise, hem benign hem de malign lezyonlarda izlenebilir. Kemik sintigrafisi, tutulan kemiklerin bir dereceye kadar da intrameduller tutulumun miktarını saptamaya yardımcı olabilir. Metastatik hastalık taramasında ise ideal olarak Tc99 ile işaretlenmiş metilen difosfonat gibi maddelerden yararlanılmaktadır (42). Sintigrafi duyarlılığı yüksek, özgüllüğü düşük bir testtir, örneğin büyük bir akciğer metastazını gösterebilir fakat küçük akciğer metastazlarını, lokal intraosseöz ve ekstraosseöz yayılmanın tam sınırlarını net olarak gösteremez. Tedaviye yanıt değerlendirilmesi için kemik sintigrafisi yetersiz bir yöntemdir. Doku onarımı fenomeni (tissue-repair phenomena) radioaktif maddeyi rezidiv tümör gibi tutabilmektedir (43).

9. Kemik İliği Aspirasyonu ve Biyopsi

ES'da kesin tanı konulması histopatolojik ve moleküler inceleme için yeterli doku örneği alınması ile mümkündür. Primer tümörün bulunduğu

kemikten farklı lokalizasyonlardan en az iki kemik iliği aspirasyonu ve biyopsi incelemesi yapılmalıdır (44).

Bir çok malign hastalıkta olduğu gibi bizi kesin tanıya götüren yöntem biyopsi materyalidir. Biyopsi eksizyonel veya insizyonel olarak alınabilir. İnsizyonel biyopsiler kapalı şekilde ince iğne ile veya açık biyopsi şeklinde yapılabilir. İğne biyopsisi daha az invaziv olması ve daha hızlı tanı sağlaması nedeniyle daha avantajlı gibi görülebilir; ancak bazen yeterli doku alınamaz ve bu da tanıda gecikmeye neden olabilir. Bu nedenle biyopsinin deneyimli bir ekip tarafından alınması önemlidir. Küçük ve yüzeysel lezyonlarda ise eksizyonel biyopsi tercih edilebilir (45).

10. Patolojik Özellikler

10.1. Makroskopi

ES yumuşak dokuda çoğunlukla derin yerleşimli olup lobüle kontürlü kitleler yapma eğilimindedir. Tümör çapı 5-10 cm arasında değişmektedir. Kesit yüzeyi genellikle gri-sarı renkli, gevşek veya akıcı kıvamlıdır. Tümör geniş nekroz, hemoraji, apse alanları içerebilmektedir (28) .

Kemik yerleşimli ES da benzer özelliklere sahiptir. Tümörün sahip olduğu nekrotik görünüm ve kısmen akıcı sarı-yeşil renkli materyal cerrah tarafından püy olarak değerlendirilip makroskopik olarak osteomyelit lehine yorumlanabilir.

Lezyon kemik trabeküllerini destrükte etmeden medullayı diffüz olarak tutabileceği gibi, korteksi yıkıp çevre yumuşak dokulara da ilerleyebilir (12,28). Eğer bir uzun kemik tutulmuşsa, tümör genellikle kemiğin üçte biri ile yarısını kaplar (33).

Günümüzde neoadjuvan radyoterapi (RT) veya KT'nin yaygın olarak kullanılması ile rezeksiyon veya amputasyon materyallerinde tümör dokusu makroskopik olarak değişikliğe uğrar. Daha yaygın hemoraji ve nekroz alanları ile tümör taze beyin dokusunu andırır. Kesit yüzeyi yumuşak, parlak, beyazımsı-gri renktedir ve içinden süte benzer bir sıvı sızabilir.

10.2. Mikroskopi

ES geniş tabakalar, büyük yuvalar oluşturan, uniform, küçük, hücre sınırları net olmayan, dar soluk sitoplazmalı, poligonal hücrelerden oluşur. Hücrelerin en büyüğü normal bir lenfositin hafifçe büyüktür.

Tümör hücreleri genelde tek bir yuvarlak-oval nükleus içerir. Kromatini granüle yapıda, blast benzeridir. Nükleolus ya çok küçüktür yada hiç yoktur. Nükleus boyanması normal bir lenfosit ile karşılaştırıldığında daha bulanıktır. Tipik ve atipik mitozlar çok az sayıda olabileceği gibi yaygın olarak da izlenebilir. Nükleer pleomorfizm belirgin olmayıp olguların %10'undan azında lobüle görünümde ve belirgin olarak değişken boyut ve şekillerde nükleuslar izlenebilmektedir (Şekil-1A,1B).

Tümör hücrelerinin sitoplazmik sınırları keskin değildir. Hücreler tabakalar oluşturacak biçimde yığılmıştır. Sitoplazma soluk, bir miktar granüle veya vakuollü olabilir (46,47). Hücre tabakaları ince fibröz bantlarla bölünmüş olabilir.

ES'da yaygın nekroz ve hemoraji alanları mevcuttur. Nekroz yüksek dereceli lenfoblastik lenfoma başta olmak üzere yuvarlak hücreli tümörlerde izlenebilse de ES'da daha sık görülür.

Tümör beslenmesinin azaldığı iskemik alanlarda tümör hücreleri büzüşürler, nükleus daha hiperkromatik ve sitoplazma olduğundan daha dar izlenebilir ve hücre sınırları daha belirgindir. Lezyonun bu kısımları lenfomayı taklit eden bir görüntüye sahiptir.

Olguların yaklaşık %10'unda hücre yığınları arasındaki hücrelerin nekroze olması sonucu Homer-Wright tipinde olmak üzere “rozet benzeri” yapılar oluşur ve bu görünüm metastatik nöroblastom ile karışabilir.

Yüzde bir olguda ise normalden daha geniş sitoplazmalı, pleomorfik görünümlü, daha büyük-belirgin nükleoluslu ve birkaç mültinükleer hücre bulunduran bir varyant saptanmış ve “büyük hücreli” veya “atipik” ES olarak isimlendirilmiştir. Ancak bu varyantın diğer tüm özellikleri tipik ES ile benzer olup atipik formun ES ve PNET arasında bir ara form olduğu düşünülmektedir. Eğer tümör hiç bir diferansiyasyon göstermiyorsa ES, ışık mikroskobu veya immünohistokimyasal düzeyde nöral diferansiyasyon

gösteriyorsa PNET olarak kabul edilmektedir (48).

Tipik ES (indiferansiye tip), atipik ES (az diferansiye tip) ve PNET (diferansiye tip) 'Ewing Sarkom Tümör Ailesi'ni oluşturmaktadır. Bu ailede klasifikasyon; diferansiyasyon, morfolojik, immünohistokimyasal, ultrastrüktürel ve moleküler nöral özellikler incelenerek yapılmakta olup ışık mikroskopik özellikleri Tablo-1'de özetlenmiştir (48-50).

Tablo-1: Ewing Sarkom Tümör Ailesinin Işık Mikroskopik Özellikleri

ÖZELLİKLER	TİPİK ES	ATİPİK ES	PNET
PATERN	Hücre tabakaları	Yuva yapıları	Alveolar, rozet, lobuler, organoid
HÜCREĐİŐİ MATRİKS	Yok	Genellikle var	Var
HÜCRE ŞEKLİ	Yuvarlak	Genellikle yuvarlak	Genellikle yuvarlak
HÜCRE BOYUTU	Küçük	Küçük - Büyük	Küçük - Büyük
SİTOPLAZMA	Dar-Sınırları belirsiz	Dar-Sınırları tanımlanabilen	Sınırları tanımlanabilen
NUKLEUS	Düzgün-Yuvarlak	Yuvarlak-Nadiren oval	Sınırları tanımlanabilen
MİTOZ (Her büyük büyütme alanında)	<2	>2	>2
ROZET	Yok	Yok	İzlenebilir

11. İmmünohistokimyasal Özellikler

ES tümör ailesini, diğer küçük yuvarlak hücreli tümörlerden ayırmak için çoğu zaman morfolojik özellikler yeterli olmamakta ve farklı diferansiyasyonları belirleyen monoklonal ve poliklonal antikorlar tanıda patoloğlara yol gösterici olmaktadır (47).

ES'da immünohistokimyasal P30/32 mic antijen (mic2 gen proteini)/CD99 antijen pozitifliği tanıyı destekleyen önemli bir belirteçtir. Glikoprotein p30/32 mic2; X ve Y kromozomu üzerinde bulunan yalancı

otozomal Mic2 geninin kodladığı bir yüzey glikoproteinidir. Mic2 geni tarafından kodlanan bu glikoprotein CD99 olarak da adlandırılır ve 32 kilodaltonluk bir transmembranöz proteindir. CD99; ES ile PNET'de, %95-100 oranında membranöz paternde pozitif saptanır (Şekil-1C). Tanıda en yararlı belirteçlerden biri olmasına rağmen ES'a özgü olmayıp, T ve B lenfositlerde, dolayısıyla lenfomalarda da yüksek oranda eksprese edilebilmektedir (24,47).

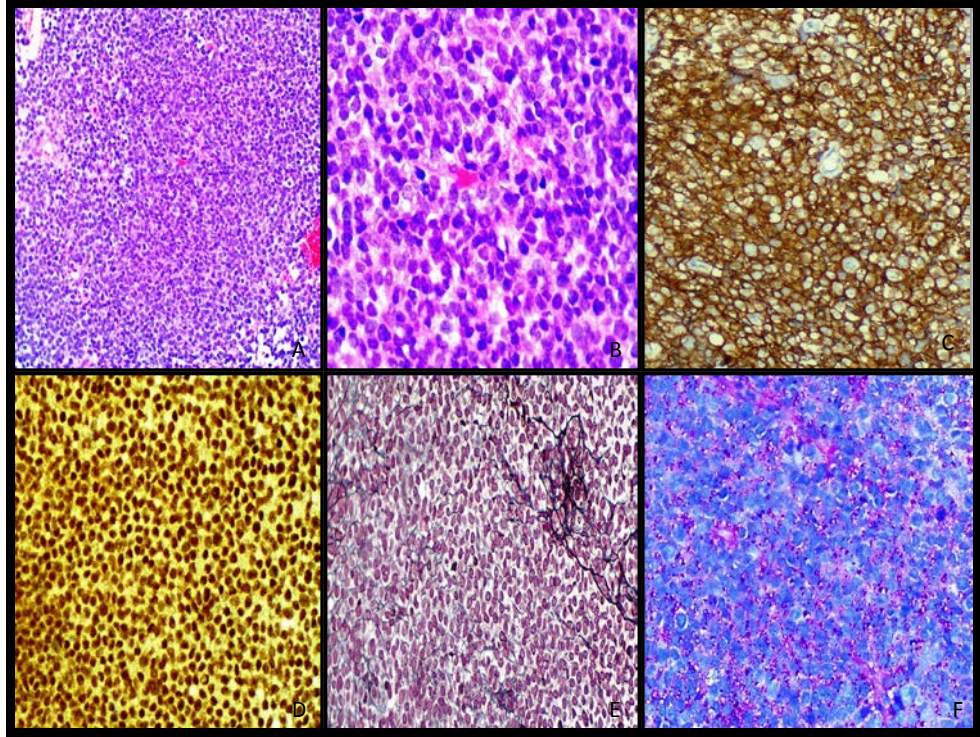
Bir transkripsiyon faktörü olan FLI-1 proteini ES vakalarının %85'inde pozitif immünreaktiviteye sahiptir (Şekil-1D). FLI-1 pozitifliğinin lenfoblastik lenfomalar ve diğer Hodgkin dışı lenfomalarda da izlenebileceği akılda tutulmalıdır. ES'da değişken oranlarda vimentin, sitokeratin, desmin yanısıra sinaptofizin, CD57, S100 ve kromogranin gibi nöral belirleyicilerde pozitiflik gözlemlenir. Nöral belirleyicilerin pozitif olması; ES'dan (indiferansiye) çok, PNET'i (artmış nöral diferansiasyonu) düşündürür (47).

12. Histokimyasal Özellikler

ES'da hücreler arasında retikulum ağı yoktur (Şekil-1E). Gomori Gridley histokimyasal boya yöntemi ile retikulum liflerinin genelde damarlar etrafında ve az miktarda da hücre gruplarının çevresinde bulunduğu izlenmektedir (33).

ES'da intrasitoplazmik glikojen varlığı izlenir. Bu glikojen Peryodik Asit Shift (PAS) histokimyasal boyama yöntemi ile parafin doku kesitleri ve imprint preparatlarda gösterilebilmektedir (Şekil-1F). Tümör dokusu %80'lik alkolde fikse edilirse; ES'larının hepsi I+'den 3+'e kadar diyastaza hassas PAS pozitiflik gösterir. Ancak dokular formalin ile fikse edilirse glikojen %25 vakada kaybolur. Schajowicz; ES'da sitoplazmik glikojen varlığının çok önemli bir tanı koydurucu özellik olduğunu vurgulamıştır (51).

Bu iki histokimyasal inceleme spesifik olmamakla birlikte özellikle kemikte küçük yuvarlak hücreli bir tümör saptandığında tümör hücrelerinin retiküler ağdan fakir oluşu ve intrasitoplazmik glikojen varlığı ES'u lehine destekleyici bulgulardır.



Şekil-1: A,B: ES'da dar sitoplazmalı yuvarlak hücrelerden oluşan infiltrasyon. (HEx100, HEx200) C: CD99 pozitifliği (x200) D: FLI-1 pozitifliği (x200) E: Gümüş boyası (x200) F: PAS pozitifliği (x200)

13. Elektron Mikroskopik Özellikler

Elektron mikroskopik çalışma yuvarlak hücreli tümörlerin ayırımında önemli bir yere sahiptir ve mümkünse yapılmalıdır. ES'un elektron mikroskopisinde en önemli ayırıcı özelliği; değişen miktarda intrasitoplazmik glikojen gölcüklerinin varlığıdır. Ayrıca düz endoplazmik retikulum, serbest ribozomlar, dağınık mitokondriler, nadir lipid vakuelleri ve iyi gelişmemiş golgi kompleksleri izlenmektedir. ES'da intermediyer filamentler nadiren mevcuttur ve yoğun çekirdek granülleri izlenmez (52).

ES'da nükleuslar düzgün kontürlü olup bol miktarda ince granüle kromatine sahiptirler ve nukleolus ile birlikte iyi gelişmiş nükleolemma içerirler. Primitif interselüler bağlar nadir olarak izlenebilir.

ES'dan nöroektodermal tümöre doğru diferansiyasyon arttıkça hücrelerde dentrit benzeri mikrotubuller, nörofilamentler ve daha yoğun

çekirdek granülleri izlenir. ES ailesindeki ayırıcı elektron mikroskopik özellikler Tablo-2'de gösterilmiştir (48,50)

Tablo-2: Ewing sarkom tümör ailesinin elektron mikroskopik özellikleri

ÖZELLİKLER	TİPİK ES	ATİPİK ES	PNET
HÜCRE ŞEKLİ	Düzensiz yuvarlak	Yuvarlak-oval, düzensiz	Yuvarlak-oval, düzensiz
NÜKLEUS ŞEKLİ	Yuvarlak	Yuvarlak-oval	Yuvarlak-oval
NÖROSEKRATUAR GRANÜLLER	Yok	Yok	Var
ORGANELLER	Seyrek	İlmlı	İlmlı-çok
NÖROFLAMENTLER	Yok	Yok-az sayıda	İzlenebilir
GLİKOJEN	Var	Var	Var (daha az)
BAĞLANTILAR	Primitif	Primitif-orta	Primitif-iyi
BAZAL LAMİNA	Yok	Yok	Yok

Son yıllarda 'Ewing Benzeri Sarkom' olarak adlandırılan farklı bir

antiteden bahsedilmektedir. Ewing benzeri sarkom histopatolojik olarak ES'a benzer özellikler gösterir. Küçük yada biraz daha büyük hücrelerin herhangi bir matriks üretmeksizin solid paternde gelişimi söz konusudur. Bazı hücreler ovoid olabilir ancak belirgin içsileşme nadir olgularda ve fokal olarak izlenir. Bu grupta EWSR1-ETS gen füzyonu yoktur. CD99/MIC2 ekspresyonu ya yoktur yada çok az yama tarzındadır. BCOR-CC NB3 füzyonu bu grup için karakteristiktir (12).

14. Ayırıcı Tanı

Radyolojik olarak periost reaksiyonu ve osteolitik lezyonların görüldüğü osteomyelit, langerhans hücreli histiyositoz, osteosarkom, lösemi, lenfoma ES ayırıcı tanısında yer almaktadır. ES histopatolojik olarak küçük yuvarlak hücreli tümörler grubunda yer aldığı için rabdomyosarkom, lenfoblastik lenfoma/akut lenfoblastik lösemi ve nöroblastom da ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Bunlara ek olarak mezenkimal kondrosarkom, diğer hodgkin-dışı lenfomalar ve küçük hücreli osteosarkom da ES ile karışabilmektedir.

Küçük hücreli osteosarkom ve mezenkimal kondrosarkom olgularında klinik ve radyolojik bulgular ES'dan ayrılımlarında yardımcıdır. Radyolojik olarak tespit edilen matriks oluşumu ES ile uyumlu değildir. Her iki tümör de ES'a göre biraz daha yaşlı populasyonu etkilemektedir. Her iki tümörde küçük hücrelerin ürettiği osteoid ve kondroid matriksin histopatolojik olarak saptanması ayırıcı tanıdan ES'un çıkarılmasını sağlar (32).

Ayırıcı tanıda yer alan metastatik nöroblastom tipik olarak 5 yaşın altında görülmektedir. Olguların idrarlarında yüksek miktarda katekolamin ürünleri tespit edilir. Işık mikroskopik tanı koydurucu özellikler; Homer Wright rozetlerinin bulunması ve arka planın fibriler olmasıdır. Ancak bu bulgular nadir de olsa kemiğin nöroektodermal tümöründe de görülebilir. Ultrastrüktürel olarak nöroblastomda hücreler; iyi gelişmiş nöroflamentleri, nöral fibrilleri ve yoğun çekirdek granülleri bulunan nöral hücre yapısındadır. Bu özellikler ES'da izlenmezken kemiğin nöroektodermal tümöründe değişen derecelerde saptanabilir (53). Nöroblastomda da ES'a benzer şekilde

nöronspesifik enolaz (NSE) ve S-100 pozitifliği görülürken ES'dan farklı olarak vimentin negatifliği ve nörofilament pozitifliği görülür (47). Nöroblastom, monoklonal NCL-NB84 antikoru ile %90 oranında immünreakivite gösterir ve bu yolla ES'dan ayrımı yapılmış olur. Vimentin pozitifliği birçok tümörde izlenmekte olup ES'da da kuvvetli pozitiflik göstermektedir. Vimentin immünreaktivitesi çoğu nöroblastom olgusunda görülmez, bu da ayırıcı tanıda önemli bir yardımcıdır (54). ES ailesi tümörlerin nöroblastomdan ayrımında, major histokompatibilite kompleksi klas I antijeni (MHC-1) olan b2-mikroglobulin varlığı önemlidir. Antijen ES ailesinde pozitif immünreaktivite gösterirken nöroblastomda boyanma saptanmaz. EWSRT gen yeniden düzenlenmesinin saptanmasında nöroblastomu ekarte ettirir (55,56).

Intraosseöz lenfomaları histolojik olarak ES'dan ayırmak bazen çok zor olabilsede lenfoma hücreleri, mikroskopik olarak klasik ES'da izlenenin aksine, düzgün nükleer konturları olmayan, belirgin kıvrıntılı, yarıklar gösteren nükleusları olan ufak ve büyük lenfositlerin karışımı biçimindedir. İmmünohistokimyasal yöntemlerden CD99 her iki tümörde de pozitif boyanma özelliği gösterirken ES'da olmayan CD45 (LCA) ekspresyonu çok değerlidir. Küçük yuvarlak hücreli tümörlerde LCA'nın immünohistokimya paneline eklenmesi ile hematolojik maligniteler kolaylıkla dışlanabilmektedir. Klinik özellikler de ayırıcı tanıda yardımcıdır; intraosseöz lenfoma daha çok yaşlı kişileri etkilemektedir (47).

Desmin, myoglobin, kas-spesifik antijen, düz kas aktini ve diğer kas globulinleri ile ES rabdomyosarkom ayrımını yapmak mümkündür (47).

Ayırıcı tanıda yer alan bir diğer tümör olan desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör immünohistokimyasal olarak sitokeratin, EMA gibi epitelyal belirteçler yanı sıra desmin, vimentin, NSE gibi mezenkimal belirteçleri de eksprese eder. ES'dan ayırmada yardımcı olan CD99 ise negatiftir. Ayrıca bu tümör genç erişkinlerde görülür (12). Klinik pratik açısından kemikte küçük yuvarlak hücreli bir tümör ile karşılaşıldığında çok dikkatli olunmalı ve 5 yaşın altında olası bir nöroblastom metastazı ile akut

lösemi, 30 yaşın üzerinde bir hastada ise öncelikle metastatik karsinom ekarte edilmelidir.

Ewing sarkom ailesi tümörler ile diğer küçük hücreli tümörler arasındaki immünohistokimyasal farklılıklar ayrıntılı olarak Tablo-3'de görülmektedir (47).

Tablo-3: Küçük hücreli tümörlerin immünohistokimyasal boyanma özellikleri

Tümör	CD 99	FLI-1	LCA	B hücre	T hücre	TdT	CK	Chr	S100	Desmin
ESTA	+	+	-	-	-	-	+/-	-	+/-	-
LBL/ALL	+	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-	-	-	-
NHL-diğer	+/-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Mezenkimal kondrosarkom	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Küçük hücreli osteosarkom	+/-	?	-	-	-	-	+/-	-	+/-	-
Rabdomyosarkom	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+
DSCRT	+	+/-	-	-	-	-	+	+/-	+/-	+/-
Nöroblastom	-	-	-	-	-	-	-	+	+/-	-

ESTA: Ewing sarkom tümör ailesi, LBL/ALL: lenfoblastik lenfoma/Akut lenfoblastik lösemi, NHL: Non-Hodgkin lenfoma, DSRCT: Desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör, LCA: lökosit"common"antijen, TdT: Terminal deoksinükleotidil transferaz, CK: pan-sitokeratin, Chr: Kromogranin

15. Tedavi

ES'da tedavinin amacı; fonksiyonu koruyarak ve uzun dönem sekelleri engelleyerek hastayı tam olarak sağlığına kavuşturmadır. Bu nedenle ES'da tedavi planlamasında hastanın yaşı, tümörün lokalizasyonu, yaygınlığı göz önüne alınmaktadır (44).

Sadece RT veya sadece cerrahi ile lokal tedavi uygulanan hastaların ancak %10'dan azında tedavinin başarılı olması, ES'un aslında sistemik bir hastalık olduğunu ve hastaların çoğunda, tanı sırasında metastatik hastalığa ait klinik bulgular saptanmasa da, her hastada mikroskopik metastazların mevcut olduğunu göstermiştir. Günümüzde tümörün lokal kontrolü için RT ve cerrahi, standart yöntemlerle saptanamayan mikrometastazların tedavisi için ise ek olarak KT kullanılmaktadır (57).

15.1. KT

Wilms tümörü, rabdomyosarkom gibi diğer çocukluk çağı tümörlerinde tedavi protokolüne KT eklenmesi ile elde edilen başarılı sonuçlar ES için de KT çalışmalarını gündeme getirmiştir. 1960'lı yıllarda VAC (vinkristin, aktinomisin-d, siklofosfamid) protokolünün ES'lu hastalarda kullanılması ile tek başına RT veya cerrahi ile elde edilen %5'lik yaşam oranlarının %50'lere yükselmesi sağlanmıştır. VAC protokolüne doksorubisinin eklenmesi ile %24'lük hastaliksız yaşam oranı %60'lara yükselmiştir. Randomize başka bir çalışmada ise VAC-D protokolüne ifosfamid ve etoposid eklenmiş, metastatik olmayan hastalarda 5 yıllık olaysız yaşam oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanırken metastatik hasta grubunda bu iki ilacın tedaviye eklenmesiyle yaşam oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme izlenmemiştir (58).

Hacettepe Üniversitesi'nde 1970'li yıllarda VAC protokolü, 1985'ten sonra ise ek olarak antrasiklin içeren protokoller (VAC+ adriamisin/epirubisin, sisplatin + ifosfamid + adriamisin + vinkristin, vinkristin + siklofosfamid + sisplatin + adriamisin) kullanılmıştır. Kutluk ve ark. (59) yapmış oldukları çalışmada tüm seride 5 yıllık genel yaşam oranı %33 ve 10 yıllık genel yaşam oranı %31; olaysız yaşam oranları ise sırasıyla %21 ve %19 olarak

saptanmıştır. Lokalize hastalığı olup antrasiklinli VAC protokolü alan hastalarda diğer protokolleri alan hastalara göre 10 yıllık genel ve olaysız yaşam oranlarının daha iyi olduğu gösterilmiştir (genel yaşam oranları: %60/%29, olaysız yaşam oranları: %32/%21). Metastatik hastalıkta antrasiklinli VAC protokolü alan hastalarda, diğer protokolleri alan hastalara göre daha iyi 5 yıllık genel yaşam oranları elde edilmiştir (%24/%10). Aynı çalışmada 10 yaşın üstünde olup antrasiklinli VAC protokolü alan hastalarda, diğer protokolleri alan hastalara göre daha iyi 10 yıllık genel yaşam oranları saptanmıştır (%48/%16) (59). Son yıllarda bu ilaçlara ek olarak topotekan, irinotekan ve temozolonid gibi ilaçların etkinlik ve güvenlik çalışmaları yapılmaktadır. Amerikan Çocuk Onkoloji Grubu'nun bir faz 2 çalışmasında, metastatik hastalığı olan vakalarda topotekanın sınırlı etkiye sahip olduğu, siklofosamid ile kombine edildiğinde ise daha fazla etki gösterdiği gözlenmiştir. İleri evre ES'lu hastalarda temozolonid ve irinotekanın kullanıldığı faz 1 çalışmasında ise bu iki ajanın 21 günde bir verilmesinin etkili ve güvenilir olduğu bildirilmiştir (16,60).

15.2. Cerrahi

ES tanılı hastalarda her lokalizasyon için ayrı cerrahi yaklaşım uygulansada temel amaç, tümörün sağlam cerrahi sınırlar elde edilecek şekilde mümkün olduğu kadar geniş olarak rezeke edilmesidir. Günümüzde çoğu ES hastası, cerrahi öncesi KT tedavisi aldığı için, tümör boyutları küçülmektedir. Ancak tümörün çevresinde uyuyan tümör hücreleri olduğu varsayılarak tümör alanının tamamı eksize edilmelidir (61).

Fibula, skapula, kosta, el ve ayak kemikleri ile küçük pelvik tümörlerde cerrahi eksizyon rahat uygulanır ve uzun dönemde önemli sekellerle karşılaşma olasılığı azdır. Hastaların %20'sinde ise henüz tanı anında tümörün boyutu veya geniş yumuşak doku komponenti nedeniyle cerrahi olarak tam çıkarılması mümkün olmamaktadır. Özellikle ekstraosseöz komponentin fazla olduğu pelvik tümörlerde bu durum daha sık izlenmektedir. Neoadjuvan KT tümör boyutunu ve yumuşak doku komponentini azaltarak cerrahi tedavinin uygulanmasına yardımcı olmaktadır (44).

MR ve BT gibi radyolojik yöntemlerin kullanılmasıyla preoperatif dönemde tümör sınırları net olarak saptanabilmekte, dolayısıyla da ekstremitte koruyucu cerrahi mümkün olabilmektedir. Amerikan Çocuk Onkoloji Grubu'nun yapmış olduğu çalışmada yeterli cerrahi sınırlar kemikte 2-5 cm, fasya, periost ve intermuskuler septumlarda 2 mm, yağ, kas ve medüller kemikte 5 mm olarak belirtilmiştir. Ancak, ekstremitte koruyucu cerrahinin yaşam süresini olumsuz etkileyeceği ve RT morbiditesinin kabul edilemez olduğu hastalarda amputasyon gerekliliği doğabileceği unutulmamalıdır. Tümörün lokalizasyonuna göre rezeksiyon sonrası değişen rekonstrüksiyon ameliyatlarına ihtiyaç duyulmaktadır (62).

Geniş cerrahi sınırlardan tümör çıkartıldığında majör fonksiyonel bozukluğun olmayacağı, kabul edilemez ekstremitte boy eşitsizliğinin olmayacağı ya da protez kullanılarak rekonstrüksiyona ihtiyaç duyulmayacak kemiklerde izlenen tümörde cerrahi rezeksiyon rahatlıkla uygulanabilir (63).

Amputasyon endikasyonları ise; KT'e yanıt vermeyen ve çok büyük doku tutulumu olan hastalar, kabul edilemez ekstremitte boy farkının olacağı yerlerde tutulum (distal femur, proksimal tibia gibi), başvuru anında ya da daha önceden RT görmüş majör yük taşıyan kemikte patolojik kırık varlığı, lokal tedavi sonrasında majör fonksiyon bozukluğunun olacağı yerler (karpal, tarsal kemikler) ve lokal tedavi görmüş yerde nüks varlığıdır (63).

Cerrahi girişim sonrası karşılaşılabilecek komplikasyonlar ise major infeksiyonlar, yara kapanmaması, flep nekrozları, proteze ait mekanik sorunlar, patolojik kırıklar, allograft kaynamaması ve sinir felçleridir (63).

15.3. RT

ES tedavisinde RT rezeksiyon sonrasında pozitif cerrahi sınır varlığında veya cerrahinin mümkün olmadığı çok büyük tümörlerde ya da riskli lokalizasyonlarda uygulanmaktadır.

Cerrahi uygulanmadan tek başına RT sadece çeşitli nedenlerle rezeksiyon uygulanamayan hastalara verildiğinden, lokal kontrolde cerrahi ile RT'yi uygun şekilde karşılaştıran bir çalışma protokolü yoktur. Yapılan çalışmalarda; cerrahi+KT yöntemi uygulanan hastaların, RT+KT alanlara göre daha iyi lokal kontrol ve yaşam oranlarına sahip oldukları saptanmıştır.

Ancak, bu çalışmalarda, cerrahi daha çok distal yerleşimli ve küçük lezyonlara uygulanmış, RT grubunu ise daha büyük, santral yerleşimli operasyon şansı olmayan vakalar oluşturmuştur. Cerrahi bu nedenle yalancı üstünlük sağlıyor olabilir (64,65).

Alman CESS-86 çalışmasında; 5 yıllık relapssız yaşam oranları, KT+RT alan grupta %67 ve KT+cerrahi alan grupta %65 bulunmuştur (66). Küçük ekstremitte tümörlerinde cerrahi ile lokal kontrol sonuçları RT'den daha başarılı olduğundan cerrahi rezeksiyon mümkünse tercih edilmelidir.

Operasyon sonrası cerrahi sınır pozitifliğinde ise RT'nin yeri tartışmasıdır. Avrupa çalışmalarında pozitif cerrahi sınır olan hastalarda cerrahi sonrası RT ve sadece RT ile elde edilen lokal kontrol oranları benzer bulunmuştur. Neoadjuvan KT ile başarısız histolojik yanıt saptanan hastalarda postoperatif dönemde uygulanan RT ile daha az lokal rekürrens oranları elde edilmiştir. Preoperatif RT ise, güvenli cerrahi sınırlar sağlanamayacak vakalarda uygulanmakta ve daha iyi lokal kontrol sağlamaktadır. Ancak RT ile postoperatif dönemde görülen enfeksiyonlarda artış ve kemik kaynamasında gecikme olasılığı artmaktadır (67).

ES vakalarında sıklıkla RT 55-60 Gy dozunda kullanılmaktadır. Bu doz cerrahiden hemen önce veya sonra uygulanacaksa hastadaki risk faktörleri göz önüne alınarak 45-55 Gy arasında kullanılabilir. Bir çalışmada izole akciğer metastazlarında 14-20 Gy dozunda RT verilen grupta RT verilmeyen gruba göre daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. ES hastalarında az sayıda veya tek kemik metastazı mevcutsa 40-50 Gy dozlarında RT esas tedaviye eklenebilmektedir (68).

RT sonrası kronik cilt problemleri, eklem kontraktürleri, erken epifiz kapanması, kemik kırılabilirliği (patolojik kırık insidansının artması ve kırık iyileşmesinin bozulması) ve sekonder maligniteler (sekonder osteosarkom, özellikle 60 Gy üzerinde %8 oranında risk artar) şeklinde komplikasyonlar izlenebilir (63).

15.4. Kök Hücre Transplantasyonu

Metastatik, refrakter veya nüks etmiş tümörlerde veya ameliyat edilemeyecek kadar büyük aksiyel tümörlerde denenen tedavi metotları

arasında çok yüksek doz KT ve kök hücre transplantasyonu da vardır. Çocuk kanser grubu son dönemde yüksek riskli ES'lu hastaların tedavisinde konsolidasyon tedavisi olarak verilen KT ve RT sonrası tüm vücut ışınlanması, etoposid ve melfalanı izleyen periferik kök hücre ile transplantasyonu yöntemini uygulamış, fakat bu olguların 2 yıllık olaysız sağ kalımları %16 olarak saptanmıştır (69). Avrupa'da yapılan kemik iliği transplantasyon kayıtlarından elde edilen bilgiler de benzer şekilde başarısızdır ve bu hastalarda da 5 yıllık sağ kalım oranı %21 olarak bildirilmiştir (70).

16. Prognostik Faktörler

ES'da bilinen prognostik faktörler arasında yaş, tümör büyüklüğü ve lokalizasyonu, metastaz varlığı ve KT'ye verilen histolojik yanıtın derecesi yer almaktadır (12). Yaş ile prognoz arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda 2 farklı görüş bulunmaktadır. Bir görüş; ileri yaşta tanı konulmasının kötü prognoz göstergesi olduğudur ve bu kanıyı destekleyen çalışmalarda da yaş sınırı ile ilgili farklılıklar mevcuttur. Çalışmalarda 12, 15, 18, 26 yaşlarından küçük ve büyük gruplar karşılaştırılmış ve prognozlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır (71-74). İkinci görüş ise; yaş ile prognoz arasında anlamlı bir ilişkinin bulunmadığıdır (75).

En büyük çapı 8 cm'den büyük olan tümöre sahip hastaların, daha küçük tümörlü hastalardan daha kısa sağ kalım süresine sahip olduğu bulunmuştur (76).

Büyük hacimdeki tümörler sıklıkla aksiyal ve proksimal ekstremiteler yerleşimlidir. Yüz mililitre altındaki tümörlerin Kaplan-Meier yaşam tablosuna göre 3 yıllık sağ kalım oranları %78 iken, 100ml üzerindeki tümörlerde bu oran %17 olarak bildirilmiştir (77). Başka bir çalışmada, KT ile 8 yıllık yaşam oranları; tümör hacmi 100 ml'den az olanlarda %63, 100-200ml arasında olanlarda %70 ve 200ml'den fazla olanlarda ise %42 bulunmuştur. Bu çalışmaya göre; prognozdaki anlamlı nokta, tümör hacminin 200ml'den daha küçük olmasıdır (78). Bu çalışmalardaki sonuçlardan farklı olarak "kapsamlı

tedavi alan hastalarda, tümör hacminin önemli olmadığı” yönünde yayınlar da mevcuttur (74).

Primer tümörün lokalizasyonu, birçok seride prognozu belirleyen önemli bir faktör olarak bildirilmektedir. Distal ekstremitte lezyonu olan ES'lu olgularda sağ kalım süreleri, proksimal veya pelvik tümörü olan hasta grubuna göre daha uzundur (79).

Tanı anında hastaların yaklaşık %20-30'unda metastaz mevcuttur ve metastazların %38'i akciğere, %31'i kemiğe, %11'i kemik iliğinedir. Tanı anında metastazın varlığı, çalışmaların çoğunda, kötü prognozu gösteren en anlamlı faktör olarak bildirilmiştir (16,57,72).

Avrupa ES çalışma grubunun 2000 yılında yaptığı çalışmada 975 ES hastası incelenmiştir. Tanı anında metastazı olan hastaların olaysız 5 yıllık yaşam süresi %22, metastazı olmayan grupta ise %55 bulunmuştur. Aynı çalışmada sadece akciğer metastazı olanların; kemik metastazı ve kemik + akciğer metastazı olan gruplara göre daha iyi prognoza sahip oldukları saptanmıştır (72).

Neoadjuvan tedavi görmemiş hastalarda nekroz oranının yüksekliği kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Tanı anında, tümörün %10'undan az nekroz izlenen ES olgularında ortalama yaşam 28 ay, %10-50 arası nekroz içeren olgularda ortalama yaşam 16 ay ve %50 üzeri nekroz bulunan olgularda ise ortalama yaşam 11 ay olarak bildirilmiştir (80).

Picci ve ark. (81) çalışmalarında neoadjuvan KT tedavisi görmüş 118 ES olgusundaki nekroz oranlarını şu şekilde skorlamışlardır;

- I- Makroskopik canlı tümörü olanlar,
- II- Mikroskopik canlı tümörü olanlar,
- III- Hiç canlı tümörü olmayanlar.

Hastalar 86 ay boyunca takip edilmiştir. Histopatolojik incelemede total nekroz görülen hastalarda %95 oranında 5 yıllık hastaliksız sağ kalım görülürken, mikroskopik canlı tümör görülenlerde bu oran %68 ve makroskopik olarak canlı tümör alanları bulunan hastalarda ise %34 olarak saptanmıştır (81).

Günümüzde ES olgularında neoadjuvan KT tedavisi yaygın olarak

uygulanmakta ve hastaliksız sağ kalım süresini uzattığı bilinmektedir. KT tedavi yanıtı histopatolojik olarak nekroz yüzdesi hesaplanarak değerlendirilmektedir. Koagülasyon nekrozu, hiyalinizasyon, kalsifikasyon, kanama gibi rezidüel canlı tümör içermeyen tüm tümöral alanlar “nekroz” tanımı içerisinde yer almaktadır. KT yanıtı aşağıdaki basamaklar izlenerek hesaplanır:

1) Tamamı tümör dokusu olan bloklardan elde edilen kesitlerde nekroz oranı kuş bakışı ile yarı-kantitatif olarak belirlenir ve yüzde (%) olarak ifade edilir.

2) Tamamı tümör olmayan bloklara ait kesitler grup oluşturacak şekilde değerlendirilir ve gruptaki yanıt (nekroz) yüzdesi hesaplanır.

3) Tedavi yanıtı (nekroz), yüzdeler toplamının tümörlü blok sayısına bölünmesi ile hesaplanır.

Nekroz oranı %90'ın üzerinde ise bu iyi yanıt olarak kabul edilmektedir (82).

Tedaviye yanıtta nekroz derecelendirilmesinde kullanılan bir skalada, HUVOS derecelendirme sistemidir. Bu sistemde cerrahi ile elde olunan tümör kesitinden nekroz yüzdesi hesaplanır (Tablo-4) (83). Tüm bu çabalar ekstremitte koruyucu cerrahi yöntemler ile hastanın yaşamını uzatmaya yönelik olup güvenilir prognostik faktörlerin bulunmasını amaçlamaktadır.

Tablo-4: Patolojide HUVOS nekroz derecelendirme sistemi

DERECE	NEKROZ YÜZDESİ	HİSTOLOJİK GÖRÜNÜM
1	0-49	Az veya hiç nekroz
2	50-89	Kemoterapi etkisi bağlı asellüler osteoid ve/veya fibrotik alanlar ile beraber canlı tümör içeren diğer alanlar
3	90-99	Kemoterapiye bağlı asellüler tümör osteoid ve/veya fibrotik alanların hâkim olduğu ve sadece dağınık canlı hücre odakların bulunduğu durum
4	100	Canlı tümörün patolojik örnekte mevcut olmayışı

Histopatolojik incelemede tümörün yüksek mitotik aktiviteye sahip olmasının ve nöral belirteçlerin bulunmasının kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (84).

Schimidt ve ark. (85) 119 Ewing ailesi tümöründe histolojik olarak rozetlerin ve nöral immun belirleyicilerin varlığına bakarak nöroektodermal diferansiasyonu araştırmıştır. Çalışmada nöroektodermal diferansiasyon ile kötü prognoz arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Ancak; modern tedavi yöntemleri uygulanmış hasta gruplarında nöroektodermal diferansiasyonun, klinik ve prognostik bir anlam taşımadığını belirten yayınlar da bulunmaktadır (86).

ES olgularında tümörde Ki-67, p53, c-Myc ile P-glikoprotein (Pgp) ekspresyon varlığının prognozla ilişkisi de araştırılmıştır. Ki-67 ekspresyon indeksi %50'den az olan tümörlerde, hastaliksız yaşam oranı %68, ekspresyon indeksi %50'nin üzerinde olan olgularda ise bu oran %25 olarak bulunmuştur. Bulgular ışığında Ki-67 indeksinin yaşam süresini öngörmeye yardımcı olabileceği belirtilmiştir (87).

Yapılan bir çalışmada p53 ekspresyonunun; hastalığın evresi, proliferasyon hızı (ki-67), apoptoz hızı ile ilişkisinin bulunmadığı ancak %20'nin üzerindeki pozitifliğinin, kötü prognoz göstergesi olduğu belirtilmiştir (88).

Yüksek nüks oranı gösteren hastalarda, yüksek oranda üniform c-Myc ekspresyonu saptanmış ve bu nedenle relaps göstergesi olarak kabul edilmiştir (87).

KT protokollerinin kullanıldığı 21 ES hastasında, Pgp pozitifliği ile ilişkili olarak KT'e cevabın yetersiz olduğu ve bu hastalarda kötü klinik gidiş izlendiği bulunmuştur. Pgp'in tümör hücre membranında bulunmasının kemoterapötik ilaçlara direnç ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ancak çalışmada örnek sayısı az olduğu için Kaplan-Meier yaşam tablosuna göre sonuçlar anlamlı bulunmamıştır (89).

Serum LDH'nin tedaviyi izlemede bir belirleyici olarak kullanılabileceği bildirilmektedir. LDH düzeyleri metastatik, tedaviye cevap vermeyen hasta

grubunda yüksek izlenirken, normal düzeylerde giden serum LDH'ın yükselmesinin; nüksü gösterdiği ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu belirten yayınlar bulunmaktadır (90).

Ateş, anemi, hipoalbuminemi, periferik kanda lökositoz, artmış sedimentasyon hızı gibi sistemik bulguların da kötü prognoz göstergesi olduğunu bildiren çalışmalar vardır (71).

ES'da klinik gidişi olumsuz yönde etkileyen prognostik faktörler arasında kemik iliğinde RT-PCR yöntemi ile tümör hücrelerinin saptanması ve tip 1 EWS-FLI1 füzyon transkriptinin olmayışı da yer almaktadır (8).

Prognostik faktörler aşağıda özetlenmiştir (Tablo-5).

Tablo-5: ES'da prognostik faktörler

PROGNOSTİK FAKTÖRLER	İYİ	KÖTÜ
YAŞ	<12	>12
TÜMÖR BOYUTU	<8 cm	>8 cm
TÜMÖR HACMİ	<100 ml	>100 ml
TÜMÖR LOKALİZASYONU	Distal ekstremitte	Proksimal ekstremitte, pelvik bölge
METASTAZ	Yok	Var
TEDAVİ SONRASI NEKROZ ORANI	>%90	<%90
MİTOZ ORANI	Düşük	Yüksek
NÖRAL DİFERANSİYASYON	Yok	Var
Ki67 EKSPRESYONU	<%50	>%50
p53 EKSPRESYONU	<%20	>%20
c-Myc EKSPRESYONU	Yok	Var
Pgp EKSPRESYONU	Yok	Var
SERUM LDH DÜZEYİ	Düşük	Yüksek
SİSTEMİK BULGULAR	Yok	Var
TİP1 EWS-FLI1 FÜZYONU	Var	Yok
KEMİK İLİĞİNDE TÜMÖR HÜCRE Sİ VARLIĞI	Yok	Var

17. Enhancer of zeste homolog 2 antikorlu

Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), EZH2 geni tarafından kodlanan bir histon-lizin-N-metiltransferaz enzimidir. DNA metilasyonu ve transkripsiyonel baskılanmada görev alır (91).

EZH2 polcomb baskılayıcı kompleks 2 (PRC2)'nin fonksiyonel enzimatik komponentidir. PRC2 embriyonik gelişim sırasında genlerin epigenetik açıdan korunmasından ve sağlıklı hücre diferansiyasyonundan sorumludur. EZH2, PRC2'nin metilasyon aktivitesini sağlar ve optimal fonksiyonu için gereken proteinleri içerir (92).

PRC2'nin katalitik alt ünitesi olan EZH2 genellikle tümör supresör gen bölgelerindeki Lizin 27'de yer alan histon H3'e metil gruplarının eklenmesini katalizler. Bu işlem sırasında kofaktör olarak S-Adenozil L-metiyonin kullanılmakta ve sonuç olarak transkripsiyon baskılanmakta ve tümör supresör genler susturulmaktadır (93).

EZH2 ile ilgili bir diğer önemli karakteristik nokta ise EZH2'nin overekspresye olduğunda PRC2 oluşturmadan da genleri aktive edebilmesidir. Bu enzimin metilasyon aktivitesinin bir kompleks formasyonu ile düzenlenmemesi nedeniyle bir sorundur. Meme kanserinde EZH2 genleri aktifler ve hücre proliferasyonu ile tümör hücrelerinin hayatta kalımını sağlar (94).

Ayrıca WNT sinyal faktörleri ile etkileşerek c-myc ve siklinD1 gibi regülatuar genleri de aktive edebilir. EZH2'nin aktif SET bölümündeki tirozin 641'in fenilalanin'e mutasyonu H3K27 trimetilasyonu ile sonuçlanır ve bu lenfoma ile ilişkilendirilmiştir (95).

EZH-2 ayrıca meme kanseri, prostat kanseri, mesane kanseri ve oral skuamöz hücreli kanser gibi çeşitli tümör tiplerinde bir onkogen olarak tanınmıştır. Bu da EZH-2'yi bu tümörlerde potansiyel bir biyomarker yapmaktadır (96,97).

EZH-2'yi kapatmak bir çok kanser tipinde tümör büyümesini ve hücre proliferasyonunu azaltır. Üstelik EZH-2 fonksiyonuna farmakolojik olarak karışılması kanser hücrelerinde selektif apoptozisi indüklerken normal

hücrelere dokunmaz, bu da onu son derece çekici bir anti-kanser ilaç hedefi yapar (97).

EZH-2'nin osteosarkomlarda kötü prognoz ve uzak metastaz ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (98). Ancak çalışmalar fazla eksprese edilen EZH-2'nin bu fazla ekspresyonunun durdurulmasının osteosarkom büyümesini engellemediğini göstermiştir. Bu da EZH2'nin osteosarkom tedavisinde kullanışlı bir moleküler hedef olmadığı fikrini vermektedir (99). Sonuç olarak EZH2 ve osteosarkom arasındaki ilişki hala daha fazla araştırma gerektirmektedir.

EZH2 gen mutasyonu nadir konjenital bir hastalık olan Weaver sendromu ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca Ataksi Telenjektazi gibi nörodejeneratif hastalıklarla da ilişki saptanmıştır (100,101).

Çeşitli karsinomalar, lenfomalar ve yumuşak doku sarkomlarında EZH2'nin anormal olarak çok salgılandığı ve bu artışın agresif tümör davranışı ve kötü klinik gidiş ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Literatürde bu belirtecin ES'lardaki ekspresyonu ile ilgili yeterli çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada pediatrik grup ES olgu serimizde immünohistokimyasal olarak EZH2 ekspresyonunu saptamak ve EZH2 ekspresyonunun klinikopatolojik prognostik faktörlerle ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Olguların Seçimi ve Biyopsi Raporlarının Değerlendirilmesi

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, 10 yılı aşkın süredir kemik tümörü hastaları Kemik ve Yumuşak Doku Tümör Konseyi'nde multidisipliner olarak takip edilmektedir. Bu durum bizlerde kurumumuzda tanı alan çocukluk çağı ES olgularının prognostik kriterlerini araştırma isteği uyandırdı. Bu nedenle, bu çalışmada, çocukluk çağında ES tanısı alan ve Kemik ve Yumuşak Doku Tümör Konseyi'nde kaydı bulunan olgular incelendi.

Çalışmada kullanılacak olguların tespiti için, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın rapor arşivinden yararlanıldı. Arşivdeki kayıt sistemi incelenerek ES tanısı alan 18 yaş ve altı olgular belirlendi. İlk olarak seçilen olguların rapor suretleri incelendi. Raporlardan, hastaların yaş, cinsiyet, rezeksiyon tipi gibi klinik bilgileri ve makroskopik özellikler, blok sayısı gibi patolojik incelemeye ait bulgular belirlendi.

Çalışmaya alınabilecek olguların arşivden lamalarına ve bloklarına ulaşıldı, doku boyutu, yeterliliği, tespit ve takip kalitesi değerlendirilerek gözden geçirildi.

Tüm bu değerlendirmeler ışığında bloklarına ve lamalarına ulaşılabilen, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2002-2014 tarihleri arasında ES tanısı almış toplam 35 olgudan oluşan çalışma grubu belirlendi.

Çalışmaya alınan olguların yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu ve tümör boyutuna ait bilgiler patoloji raporlarından elde edildi. Lokal nüks ve metastaz varlığı, tedavi yöntemi ve klinik takip ile ilgili bilgilere hasta dosyalarından ulaşıldı.

Çalışma için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'nun 23 Aralık 2014 tarih ve 2014-24/2 sayılı kararı ile onay alındı.

2. İmmünohistokimyasal Yöntem

HE ile boyalı kesitlerin incelenmesi ile immünohistokimyasal boyamalar için her olguda tümörün morfolojisini en iyi temsil eden ve değerlendirmeye uygun preparatlar seçildi. Bu preparatların, patoloji arşivindeki parafin bloklarından yapılan kesitlere EZH2 immünohistokimyasal boyamaları uygulandı. EZH2 antikoru için kontrol bloğu olarak meme kanseri dokusu kullanıldı. Bu dokulara uygun antikor konsantrasyonları belirlendi.

2.1. İmmünohistokimyasal Boyama

EZH2 ile immunohistokimyasal boyama için bir saat etüvde bekletilen lamlar Leica Bond Max Otomatik İmmunohistokimya Boyama Cihazına (Leica Microsystems, Berlin, Germany) yerleştirildi ve aşağıdaki prosedür uygulandı;

- 1) 40 dakika deparafinizasyon
- 2) EDTA ile Ph 6'da antijen geri kazanımı yöntemi
- 3) Otuz dakika boyunca 1/250 dilüsyonda primer antikor inkübasyonu (Monoklonal fare anti EZH2 protein reseptör antikoru-Abcam, Clone EPR9307 (2), U.S.)
- 4) Altı dakika boyunca mixed DAB refine
- 5) HE ile zıt boyama.

Makineden çıkarılan lamlar saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletildi. Ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildi. Sakura Tissue-Tek Film kapama cihazında film ile kapama yapıldı.

2.2. İmmünohistokimyasal Boya Sonuçlarının Değerlendirilmesi

EZH2 antikorunun tümöral hücrelerde boyanma yaygınlığı ve şiddeti değerlendirildi. Antikor boyanma yaygınlığı ve şiddeti şu şekilde derecelendirildi;

Boyanma yaygınlığı: %1-25, %25-50, >%50,

Boyanma şiddeti: (+) (zayıf), (++) (orta), (+++) (kuvvetli)

Boyanma yaygınlığı hiç yoksa; Negatif

Boyanma yaygınlığı %1-25 ve boyanma şiddeti + ise; 1 Pozitif (Zayıf)

Boyanma yaygınlığı %25-50 ve boyanma şiddeti ++ ise; 2 Pozitif (Orta)

Boyanma yaygınlığı >%50 ve boyanma şiddeti +++ ise; 3 pozitif (Kuvvetli).

Her olguya ait arşivden alınan HE boyalı lamlar eş zamanlı olarak immunhistokimya preparatları ile birlikte değerlendirildi.

3. İstatiksel Değerlendirme

Sonuçların istatiksel değerlendirilmesi Uludağ Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından SPSS for Windows Ver.22.0 (Chicago, IL.) istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Normal dağılım göstermeyen veri için iki grup karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin iki grup arası spearman korelasyon katsayısı ile incelendi. P değerinin 0,05'ten küçük olması istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Olgularımızın 5'i kadın (%14), 30'u (%86) erkekti. K/E oranı 1/6 bulundu. Olgularımızın yaş ortalaması 10,25 iken (2-17), erkeklerin yaş ortalaması 10,2 (2-17), kadınların yaş ortalaması 10,6 (8-14) bulundu.

Tablo 6: ES olgularında yaş ve cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Sayı(n)	Yaş ortalaması	Yaş dağılımı
Erkek	30	10,2	2-17
Kadın	5	10,6	8-14
Toplam	35	10,25	2-17

Olgulara ait biyopsi örneklerinin 25'i insizyonel (%71), 10'u eksizyonel biyopsi (%29) materyaliydi. İnsizyonel biyopsi materyallerinin 6'sı tru-cut biyopsiydi. Beş olgu (%14,2) bölümümüze konsültasyon amacıyla gönderilen hazır blok ve lamlardan ibaretti.

Tümör lokalizasyonu incelendiğinde; olguların 8'inin iskelet dışı-yumuşak doku (%23), 27'sinin ise iskelet (%77) yerleşimli olduğu izlendi. İskelet yerleşimli olguların 15'i (%56) yassı kemik, 12'si (%44) uzun tübüler kemik yerleşimliydi.

En sık tutulum yeri 10 olgu ile alt ekstremiteydi (%29). Olguların 6'sı femur, 2'si tibia, 1'i talus, 1'i kalkaneus yerleşimliydi. Belirlenen diğer iskelet yerleşim yerleri; olguların 4'ünde pubik kemik (%11,4), 3'ünde humerus (%8,6), 3'ünde fasiyal kemik (maksilla, mandibula, maksiler sinüs) (%8,6), 3'ünde vertebra (%8,6) , 2'sinde skapula (%5,7) , 1'inde radius (%2,8) ve 1'inde kottu (%2,8). İskelet dışı lokalizasyonlar ise; 2 olguda göğüs duvarı, 2 olguda sırt ve birer olguda da boyun, ön kol, uyluk ve retroperitonda.

Tablo 7: Primer kemik yerleşimli ES olgularının dağılımı

Primer kemik	Sayı(n)	Yüzde(%)
FEMUR	6	17
HUMERUS	3	8,6
RADİUS	1	2,8
TİBİA	2	5,7
VERTEBRA	3	8,6
MAKSİLLA	2	5,7
MANDİBULA	1	2,8
PUBİS	2	5,7
İLİAK KANAT	1	2,8
İSKİUM	1	2,8
TALUS	1	2,8
KALKENEUS	1	2,8
SKAPULA	2	5,7
KOT	1	2,8

Tümör lokalizasyonu ile birlikte taraf verileri de gözden geçirildiğinde; tümörün 17 (%48,5) olguda vücudun sol tarafını, 14 (%40) olguda sağ tarafını etkilediği tespit edildi. Retroperitoneal ve vertebral yerleşimli 4 olgu mevcuttu (%11,5).

Olguların tümör boyutu ortalaması 8,25 cm bulundu. En küçük tümör 1 cm çapında ve vertebra yerleşimli iken en büyük iki tümörün boyutu 16 cm'di ve ikisi de humerus yerleşimliydi.

Neoadjuvan KT ve RT tedavisi sonrası nekroz değerlendirilmesi yapılan 9 olgudan sol radius distali ve sol tibia proksimali yerleşimli 2 olguda radyolojik olarak nekroz %100 bulunmuş ve operasyon sırasında yapılan ışınlanma işlemi sonrası kemik tekrar aynı lokalizasyona yerleştirilmişti.

Histopatolojik olarak tedaviye yanıtta nekroz değerlendirilmesi yapılan olguların ise 4'ünde nekroz %100, 1'inde %86, 1'inde %25 ve 1 vakada %15 bulunmuştu.

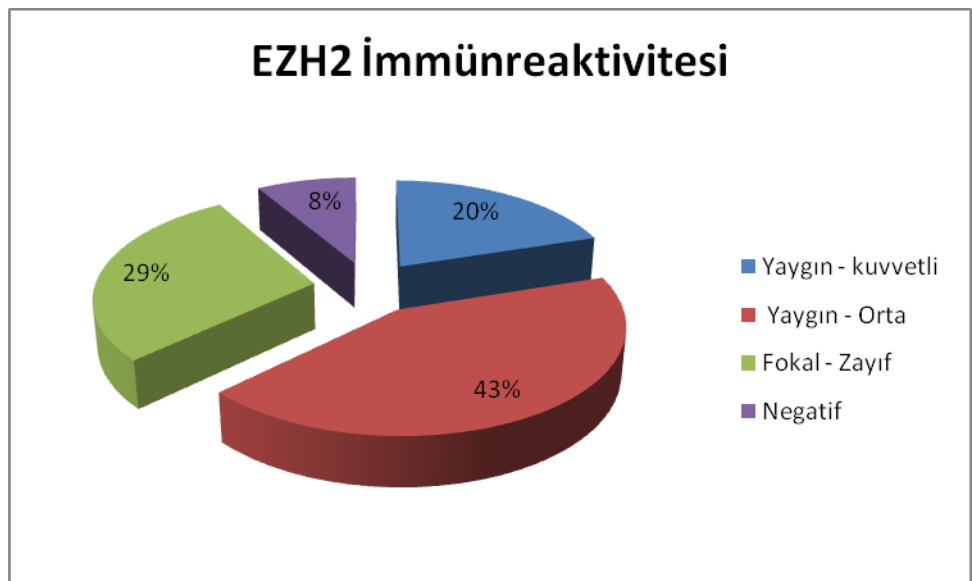
Olguların 2'si Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Onkoloji Bölümüne kontrollere gelmediği için 35 olgudan 33'ünde klinik takiplere ulaşılabildi. Bu olguların 11'inde takip süresinde nüks gelişti (%33,3).

Mandibulada kitlesi olan ve KT-RT tedavisi gören bir olguda ilk tanıdan 6 yıl sonra aynı lokalizasyonda postradyasyon sarkomu ile uyumlu tümöral lezyon saptandı.

Takip verileri mevcut olan 33 olgunun 10'unda (%30,3) akciğer, 6'sında (%18) kemik, 6'sında (%18) kranial metastaz saptandı. İki olguda (%6) inguinal, 1 olguda (%3) servikal lenf nodu tutulumu izlendi.

Olguların takip süreleri 8 ay ile 156 ay arasında değişmekte olup ortalama takip süresi 47 ay olarak belirlendi. Olguların 17'sinin (%51,5) hastalık nedeniyle öldüğü, 16'sının (%48,5) sağ olduğu tespit edildi. Yaşayan olguların 2'sinin KT tedavisi halen devam etmekte olup geri kalan 14 olgu (%42,2) sağ ve sağlıklıdır.

EZH2 antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada 35 olgunun 32'sinde (%91,4) pozitif immünreaktivite belirlendi. Pozitif immünreaksiyon alınan olguların 7'sinde (%20) yaygın, kuvvetli (>%50, +++), 15'inde (%42,8) orta derecede (%25-50, ++), geri kalan 10 olguda (%28,5) ise fokal, zayıf derecede (<%25, +) boyanma saptandı. Üç olguda (%8,5) negatif immünreaksiyon gözlemlendi.



Şekil-2: Olguların EZH2 immünreaktivitesine göre dağılımı

ES'da bilinen prognostik faktörler arasında yer alan yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, lokal nüks varlığı ve tedavi yöntemi ile sağkalım ilişkisi araştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$). ES olguları KT sonrası nekroz oranı %90'ın altı ve %90'ın üstü olmak üzere iki gruba ayrıldı. Nekroz oranının sağ kalım ile ilişkisini belirlemeye yönelik olarak yapılan istatistiksel çalışmada anlamlı bir farklılık belirlenemedi ($p>0.05$).

Metastaz varlığının sağ kalım ile ilişkisini belirlemeye yönelik olarak yapılan istatistiksel çalışmada p değeri $<0,001$ bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptandı.

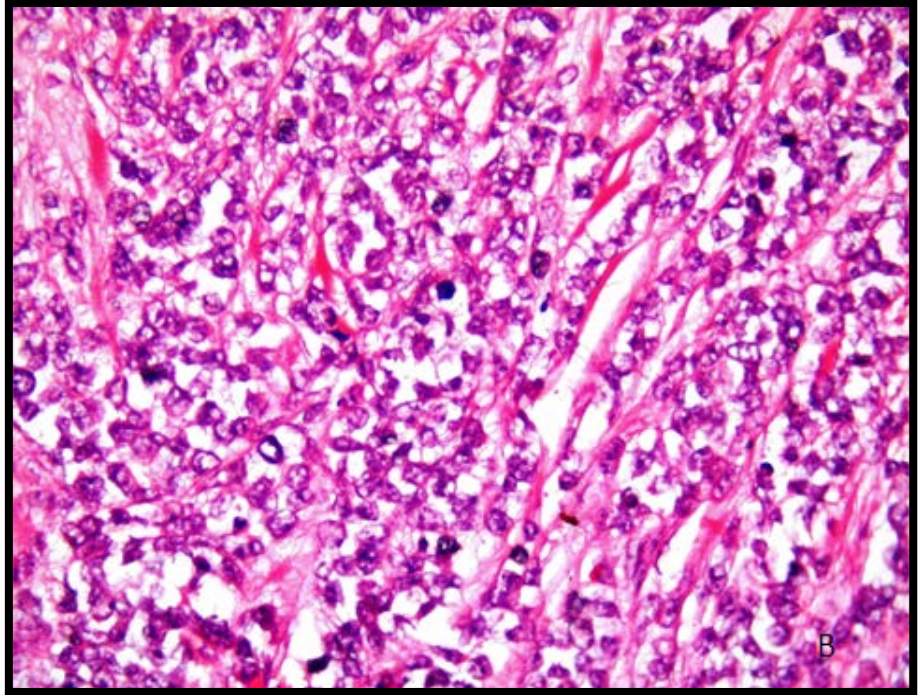
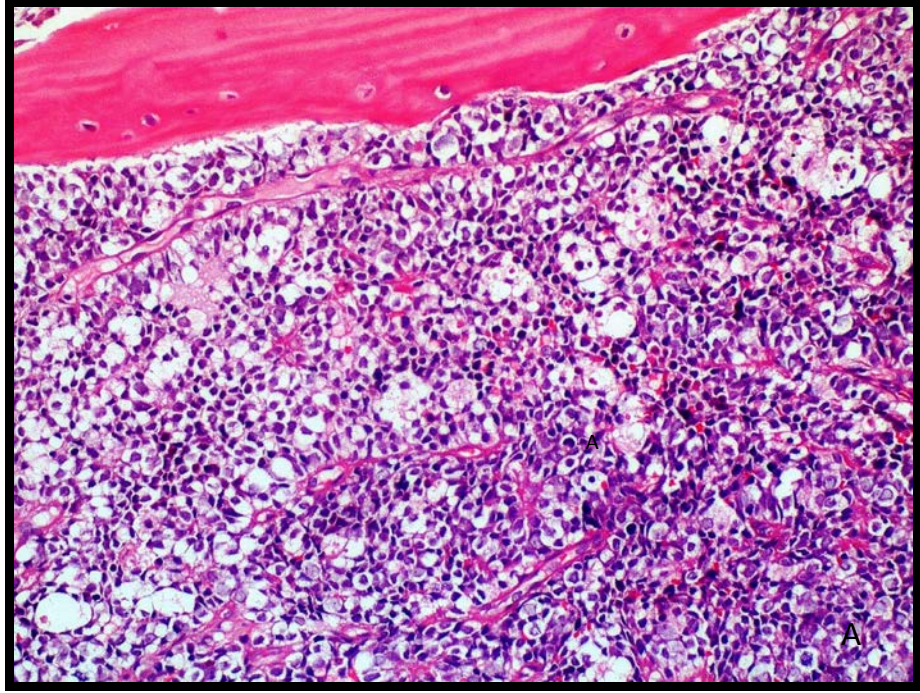
İmmünohistokimyasal olarak EZH2 ekspresyonu ile ES'un prognostik faktörleri arasında yer alan yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, lokal nüks ve metastaz varlığı ve sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,005$).

EZH2 ekspresyonu gösteren olgularda ortalama sağ kalım süresi 46 ay iken göstermeyen olgularda bu süre 29 ay olarak belirlendi.

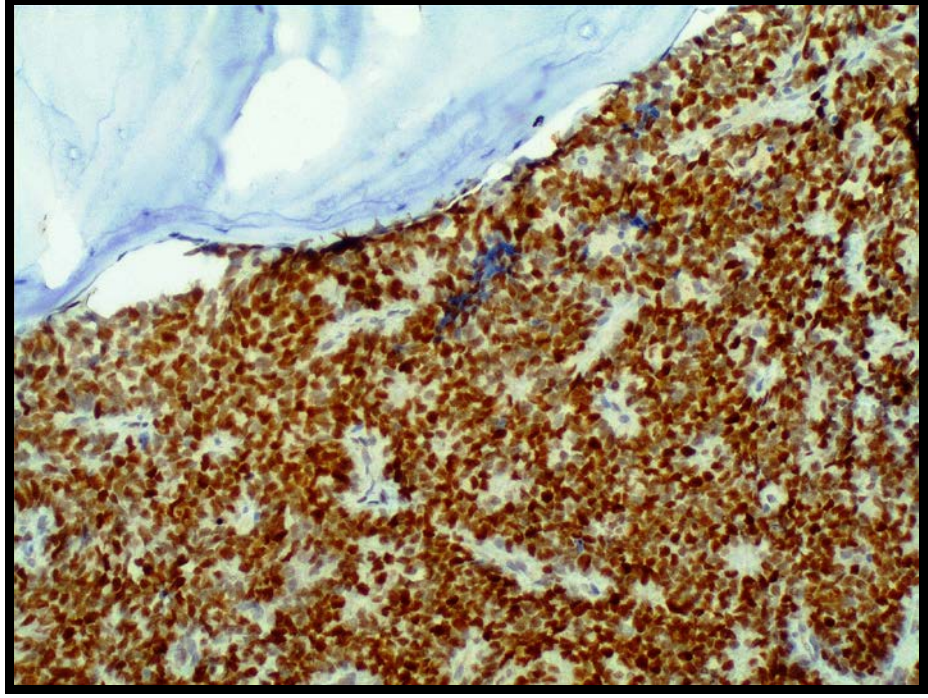
Çocukluk çağı ES olgularımıza ait klinik ve immünohistokimyasal özellikler tablo-8'de özetlenmiştir.

Tablo-8: Çocukluk çağı ES olgularına ait klinik ve immünohistokimyasal özellikler

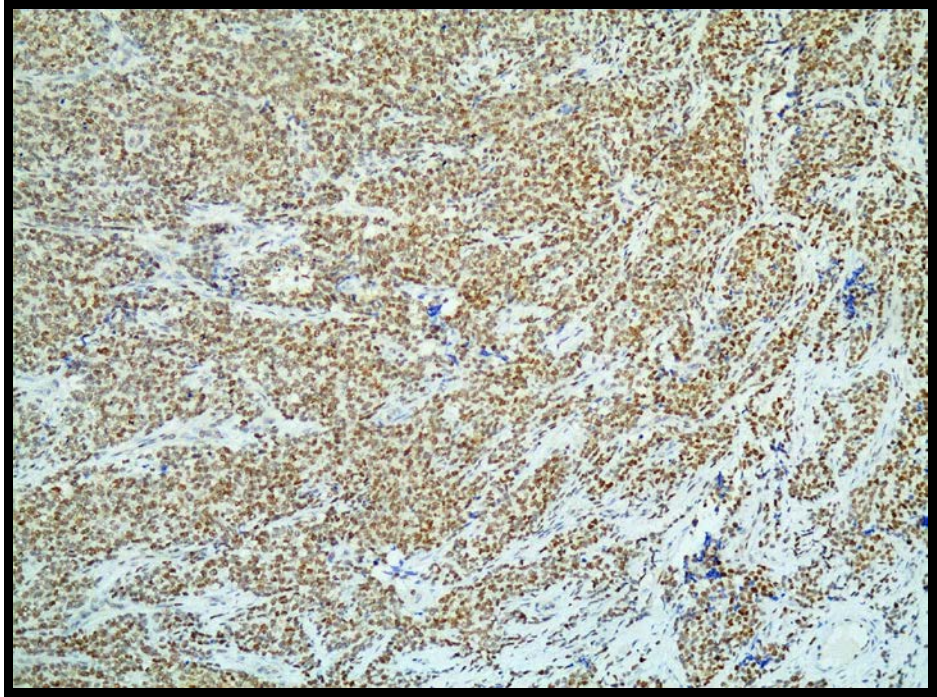
SIRA NO	YAŞ	CİNSİYET	LOKALİZASYON	TARAF	TÜMÖR BOYUTU (cm)	METASTAZ	NÜKS	SAĞ KALIM	TAKİP SÜRESİ (ay)	EZH2 BOYANMA SKORU
1	9	K	HUMERUS	SOL	15	YOK	YOK	SAĞ	156	3
2	10	E	FEMUR	SOL	6	YOK	YOK	SAĞ	136	2
3	12	E	HUMERUS	SAĞ	16	AKCİĞER	YOK	EX	22	2
4	16	E	SIRT	SOL	5	-	-	-	-	3
5	4	E	BOYUN	SAĞ	8	AKCİĞER	VAR	EX	49	1
6	2	E	FEMUR	SAĞ	11	İNGUİNAL LN-BEYİN	VAR	EX	30	3
7	14	E	RADİUS	SOL	11	AKCİĞER	YOK	SAĞ	103	2
8	13	E	ÖN KOL	SAĞ	3,5	YOK	YOK	SAĞ	93	3
9	4	E	MAKSİLLA	SAĞ	5	SERVİKAL LN-BEYİN	YOK	EX	13	2
10	4	E	MANDİBULA	SOL	12	YOK	YOK	SAĞ	101	2
11	9	K	UYLUK	SAĞ	4,5	YOK	-	-	-	2
12	14	K	RETROPERİTON	-	10	VAR	VAR	EX	43	2
13	12	E	KALKANEUS	SOL	5	YOK	YOK	SAĞ	110	3
14	10	E	TİBİA	SOL	9	AKCİĞER-VERTEBRA	VAR	EX	29	1
15	16	E	FEMUR	SAĞ	10	AKCİĞER	VAR	EX	15	1
16	16	E	PUBİK KEMİK	SOL	6	YOK	YOK	SAĞ	72	1
17	15	E	FEMUR	SAĞ	13	KEMİK-BEYİN	VAR	EX	48	1
18	2	E	SIRT	SOL	2	YOK	YOK	SAĞ	54	2
19	14	E	SKAPULA	SAĞ	11	AKCİĞER	VAR	EX	45	2
20	4	E	GÖĞÜS DUVARI	SAĞ	5	VERTEBRA	YOK	EX	20	2
21	13	E	SKAPULA	SAĞ	13	AKCİĞER-BEYİN	YOK	EX	8	0
22	3	E	TALUS	SAĞ	4	AKCİĞER-KEMİK	VAR	EX	31	2
23	13	E	T6 VERTEBRA	-	4	YOK	YOK	SAĞ	45	3
24	7	E	FEMUR	SAĞ	7	YOK	YOK	SAĞ	29	1
25	13	E	MAKSİLLER SİNÜS	SAĞ	5	KEMİK	VAR	SAĞ	19	1
26	13	E	C7-T2 VERTEBRA	-	7	YOK	YOK	SAĞ	19	2
27	2	E	L2-S2 VERTEBRA	-	1	YOK	YOK	SAĞ	19	3
28	8	K	TİBİA	SOL	15	YOK	YOK	SAĞ	68	1
29	13	K	PUBİS	SOL	15	İNGUİNAL LN-BEYİN	YOK	EX	15	0
30	10	E	GÖĞÜS DUVARI	SAĞ	6	YOK	YOK	EX	16	2
31	12	E	FEMUR	SOL	5	YOK	VAR	SAĞ	65	0
32	17	E	İSKİUM	SAĞ	8	BEYİN	YOK	EX	15	2
33	17	E	İLİAK KANAT	SAĞ	10	KEMİK	YOK	EX	9	2
34	4	E	KOT	SOL	3,5	YOK	YOK	EX	28	1
35	14	E	HUMERUS	SOL	16	AKCİĞER	VAR	SAĞ	27	1



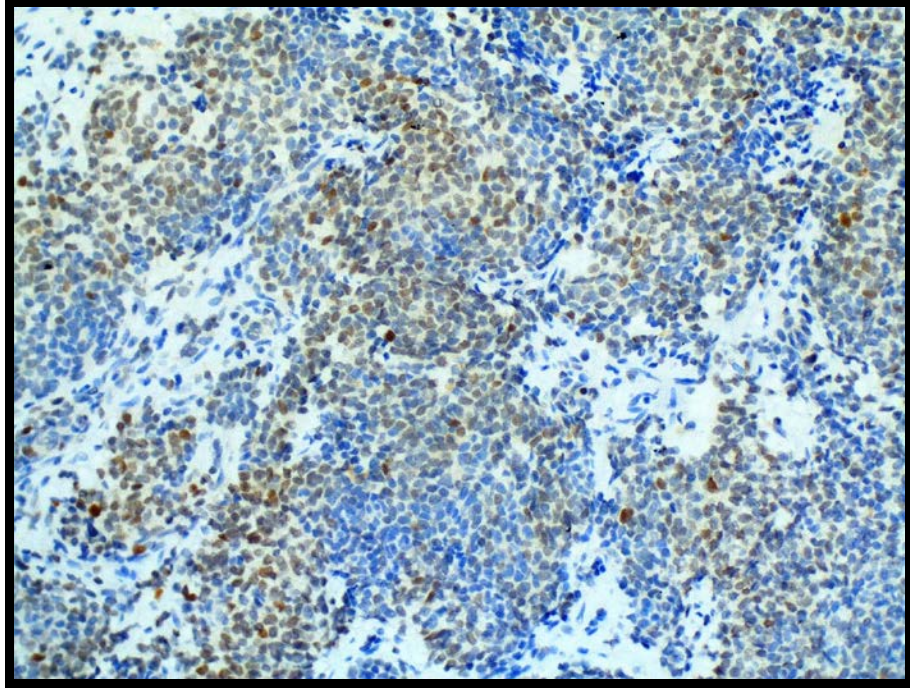
Şekil-3: A-B: ES'da birbirine benzer 'üniform' görünümlü yuvarlak hücreler. Nükleol belirginliği, kromatin detayı belirgin değildir. (HEx100, HEx200)



Şekil-4: EZH2, 3 pozitif boyanma (x100)



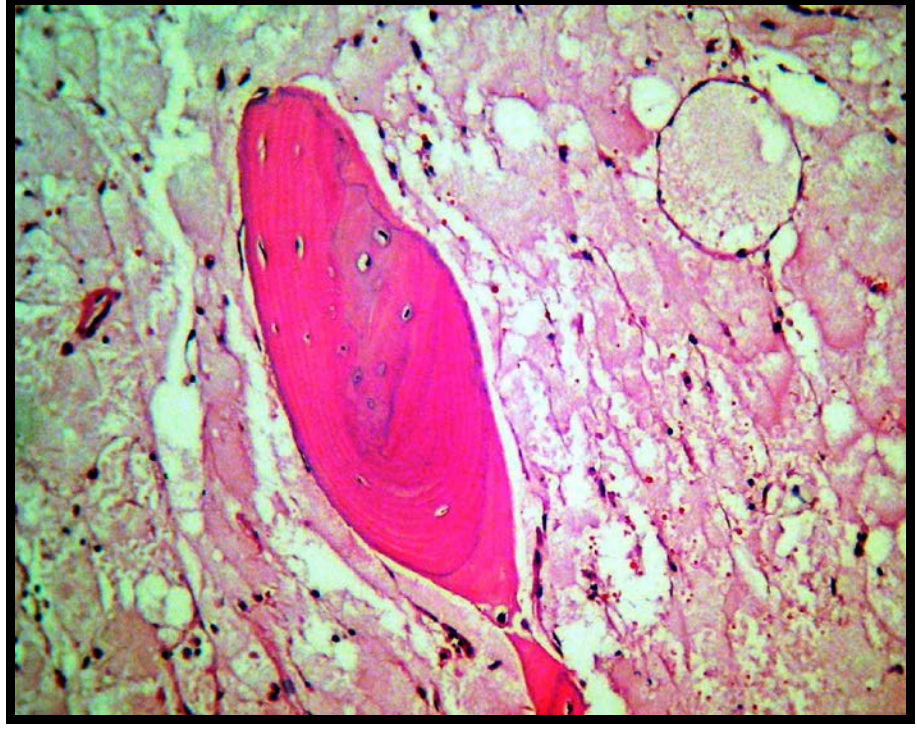
Şekil-5: EZH2, 2 pozitif boyanma (x40)



Şekil-6: EZH2, 1 pozitif boyanma (x100)



Şekil-7: ES tanılı 10 yaşında erkek hastanın sol femur distaline ait rezeksiyon materyali.



Şekil-8: Tedavi sonrası tümör hücrelerinin yerini almış fibröz bağ doku (HEx200)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çocukluk çağı ve genç erişkin dönemin osteosarkomdan sonra en sık görülen ikinci malign kemik tümörü olan ES, primer malign kemik tümörlerinin %10-15'ini oluşturmaktadır (16).

ES postganglionik parasempatik kolinerjik nöronlardan köken alan andiferansiye bir tümördür. Daha diferansiye formu ise PNET olarak adlandırılmaktadır (9).

ES tedavisinde uzun yıllar RT ve cerrahi ile tümörün lokal kontrolü sağlanmaya çalışılmış ancak başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Bu durum; ES'da tanı sırasında metastatik hastalığa ait klinik bulgular tespit edilmesede, hastalarda mikroskopik metastazların mevcut olduğunu ve ES'un aslında sistemik bir hastalık olduğunu göstermiştir. Günümüzde mikrometastazların tedavisi için ek KT kullanılmakta ve daha başarılı sonuçlar alınmaktadır (57).

Tedavi alanındaki tüm bu olumlu gelişmelere rağmen bazı olgularda hastalık seyirinin kötü olması, hasta ve tümör özelliklerindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Literatürde, yaş, cinsiyet, etnik köken, tümör hacmi, primer tümörün yerleşim yeri gibi olgular arasındaki farklılıklardan yola çıkılarak çeşitli risk grupları oluşturulmuş ve prognostik faktörler belirlenmiştir (12).

ES'un hayatın en sık 2. dekatında ortaya çıktığı bilinmektedir. Olguların yaklaşık %80'i 20 yaştan küçüktür. Nadir olarak 30 yaşın üzerinde ve çok küçük çocuklarda da görülebilmektedir (12).

Çocukluk çağı ES çalışma grubumuzda hastaların yaşı 2 ile 17 arasında değişmekte olup, ortalama tanı yaşı 10,25'tir.

Olgularımızı yaş gruplarına göre 10 yaş altı ve 10 yaş üstü olmak üzere sınıflandırdığımızda; 13'ünün 10 yaş altında(%37), 22'sinin 10 yaş ve üstünde(%63) olduğu görüldü. Kutluk ve ark. (59) çalışmasında olguların %55'i 10 yaş üstünde; Özkan ve ark. (29) çalışmasında ise vakaların %52'si 10 yaş altında saptanmıştır.

Literatürde bu tümörün erkeklerde daha sık görüldüğü ve erkek kadın oranınının 1,4 olduğu bildirilmektedir (12). Çalışmamızda olgularımızın 30'u erkek

(%86), 5'i kızdır (%14). Erkek/kız oranı 6 olup serimizde bu oran literatüre göre daha yüksektir.

On yaş ve üstü ile 10 yaş altı olmak üzere iki gruba ayırdığımız olgularda yaş ve cinsiyet ile sağkalım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Literatürü incelediğimizde ise Bacci ve ark. (71) nonmetastatik olgularda prognozun 12 yaş altındaki hastalarda, 12 yaş üstündeki hastalara oranla ve kadınlarda erkeklere oranla daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte, yaş ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki olmadığını ileri süren yayınlar da mevcuttur (75).

Literatürde ES'un en sık uzun kemikleri tuttuğu ve en sık tutulum bölgesinin femur olduğu bildirilmiştir. Daha sonra sırasıyla pelvis, humerus, tibia ve fibula gelmektedir. Daha nadir olarak kotlar, skapula, vertebra, ayak kemikleri, kraniofasial kemikler de tutulabilmektedir (16). Bizim serimizde de literatürle paralel olarak en sık lokalizasyon femur olup bunu pelvis izlemektedir. Serimizde vertebra ve fasial kemik tutulumu oranları literatüre göre biraz daha yüksektir.

Literatürde lokalize ES'da primer anatomik yerleşiminin en önemli prognostik faktörlerden biri olduğu vurgulanmaktadır.

Ekstremitelerde lokalizasyonlu tümörlerin, başta pelvik kemik olmak üzere aksiyal iskelet yerleşimli tümörlere oranla daha iyi prognoza sahip olduğu ve bu olgularda yaşam beklentisinin daha uzun olduğu bildirilmektedir (71,90). Çalışmalarda tümörün cerrahi olarak tam çıkarılmasının kolay olması nedeniyle fibula veya kosta yerleşiminin aksiyal yerleşimli tümörlere göre daha iyi prognoz gösterebileceği vurgulanmaktadır (102).

Aksiyal yerleşimli ES olgularının, ekstremitelerde yerleşimli olgulara göre daha kötü prognozlu olmasının ana nedeni bu lokalizasyondaki tümörlerin özellikle pelvis boşluğuna doğru büyüme şansı olmasıdır. Bu nedenle daha geç bulgu verirler ve tanı konulduğunda büyük hacimlere ulaşmışlardır (79).

Aksiyal yerleşimli tümörleri cerrahi olarak tamamen çıkarmaya çalışmak, morbidite oranını çok arttırmakta ve genellikle total rezeksiyon yapılamamaktadır (79).

Bu durumda aksiyel yerleşimli tümörlerin kötü prognozlu olmasının bir başka nedeni olarak gösterilmektedir. Ancak, kapsamlı tedavi alan hastalarda tümör lokalizasyonunun prognostik önemi bulunmadığını veya tedaviden bağımsız olarak yerleşim yerinin sağkalım üzerinde etkisi olmadığını bildiren yayınlar da mevcuttur (103). Biz çalışmamızda, aksiyel yerleşimli tümörü olan olgularla ekstremitelerde yerleşimli tümörü olanlar arasında sağ kalım açısından anlamlı bir fark saptamadık.

Literatürde sıklıkla belirtilen önemli prognostik faktörlerden biri de tümörün hacmidir. Farklı veriler olmasına rağmen, özellikle 100 ml'in üstündeki tümörlerde prognoz daha kötü olduğu saptanmıştır (78). Serimizde, radyolojik olarak tümörlerin üç boyutuna ulaşamadığımız için hacim hesaplaması yapılamamıştır. Neoadjuvan tedaviden sonra cerrahi yapılan olguların tümör kitlesi nekroza giderek büyük hacim değişikliğine uğradığı, hatta tamamen ortadan kalktığı için rezeksiyon materyallerinden de sağlıklı değerlendirme yapmak mümkün olmamıştır. Tüm bu nedenler radyolojik olarak tümörün üç boyutunun hesaplanarak rapora yazılması gerekliliğini gündeme getirmiştir.

Literatürde en büyük çapı 8 cm'den büyük olan tümöre sahip hastaların, daha küçük tümörlü hastalardan daha kısa sağ kalım süresine sahip olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (76).

Tümör hacmi ve boyutunun prognozda önemli bir gösterge olduğunu savunan çalışmalarda sonuçlardan farklı olarak kapsamlı tedavi alan hastalarda, tümör hacminin önemli olmadığını savunan araştırmacılar da mevcuttur (74). Serimizde en geniş çapı 8 cm'den büyük tümörü olan olgularla 8 cm'den küçük tümörü olan olgular arasında sağ kalım açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Literatürde 118 olgudan oluşan çalışmada neoadjuvan kemoterapi tedavisi görmüş hastalar 86 ay boyunca izlenmiştir. Histopatolojik incelemede total nekroz görülen hastalarda %95 oranında 5 yıllık hastaliksız sağ kalım görülürken, mikroskopik canlı tümör görülenlerde bu oran %68 ve makroskopik olarak canlı tümör alanları bulunan hastalarda %34 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak tedavi sonrası nekroz oranları ile prognoz arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (81). Bizim çalışmamızda ise sadece 9 olgunun neoadjuvan tedavi

sonrası tümöral nekroz oranları hesaplanabilmiştir. Bu olgulardan ikisinde radyolojik olarak tümöral nekroz oranı %100 bulunmuş ve rezeksiyon yapılmamıştır. Diğer 7 olguda ise rezeksiyon materyalinden histopatolojik inceleme ile nekroz yüzdeleri hesaplanmıştır. Olguların 4'ünde %100, 1'inde %86, 1'inde %25 ve 1'inde de %15 oranında nekroz izlenmiştir. Serimizde literatürden farklı olarak sağ kalım ile neoadjuvan tedavi sonrası nekroz oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu durum muhtemelen histopatolojik inceleme yapılan vaka sayımızın az olmasına bağlanmıştır.

ES olgularında tümörün sistemik yayılım eğilimi dikkati çekmektedir. Metastatik yayılım öncelikle hematojen yol ile olur ve genellikle akciğer tutulur. Tanı anında vakaların yaklaşık %20-30'unda metastaz mevcuttur; bu metastazların %38'i akciğer, %31'i kemik, %11'i kemik iliğinedir (16,57,72). Çalışmamızda klinik takibi mevcut olan 33 olgunun 10'unda akciğer (%30,3), 6'sında kemik (%18), 6'sında kranial (%18) metastaz saptanmıştır. İki olguda inguinal (%6), 1 olguda servikal lenf nodu (%3) tutulumu mevcuttur. Literatürle uyumlu olarak serimizde en sık akciğer metastazı görülmüştür.

ES'da metastaz varlığı kötü prognostik faktörlerden biridir. Yayınlanan bir seride metastatik hastalığı olan vakaların en fazla 4 yıl yaşayabildiği belirtilmektedir (73).

Çalışmalarda yalnızca akciğer metastazı olan olguların (sağ kalım oranı;%30), kemik ve kemik iliği metastazı olanlara göre (sağ kalım oranı%20'den az) daha iyi prognoz gösterdikleri bildirilmiştir (16). Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda metastaz varlığı ile düşük sağ kalım oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

ES olgularında sağ kalım sürelerini uzatmak için tümörün lokal kontrolünü sağlamak önemlidir. Literatürde çok sayıdaki retrospektif çalışmada cerrahi rezeksiyonun lokal nüks oranını azalttığı ve sağ kalımı arttırdığı bildirilmektedir. Wilkins ve Sailer yapmış oldukları iki farklı prospektif araştırmada birbirine benzer sonuçlar bulmuşlardır. Bu iki çalışmada tümörün yerleşim bölgesinden bağımsız olarak komplet cerrahi rezeksiyon uygulanan olguların lokal nüksleri; cerrahi uygulanmayan veya inkomplet rezeksiyon uygulanabilen olgulara göre anlamlı ölçüde düşük olarak saptanmıştır (64,65).

Serimizdeki olguların 17'sinde primer lezyona cerrahi rezeksiyon yapılmıştır. Cerrahi rezeksiyon yapılan olguların sadece 3'ünde lokal nüks tespit edilmiş olup cerrahi rezeksiyon ile sağ kalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

EZH2, EZH2 geni tarafından kodlanan bir histon-lizin-N-metiltransferaz enzimidir. EZH2 genellikle tümör supresör gen bölgelerindeki Lizin 27'de yer alan histon H3'e metil gruplarının eklenmesini katalizler ve böylelikle transkripsiyonu baskılar (93).

EZH2 bir gen supresördür ve dolayısıyla fazla eksprese edildiği zaman normalde aktif olan bir çok tümör süpresör gen kapatılır ve bu nedenle EZH2 meme kanseri, prostat kanseri, mesane kanseri ve oral skuamöz hücreli kanser gibi çeşitli tümör tiplerinde bir onkogen olarak kabul edilmektedir (96).

Ayrıca uterus ve böbrek tümörleri, melanom ve lenfomada da tümör hücrelerinde EZH2 ekspresyonu sağlıklı hücrelere kıyasla çok daha yüksek miktarda bulunmuş ve bu artışın agresif tümör davranışı ve kötü klinik gidiş ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

ES olgularının %85-95'inde (11;22)(q24;q12) translokasyonu izlenmekte ve 11. kromozom üzerindeki FLI1 geni ile 22. kromozom üzerindeki EWS geninin füzyonu ile sonuçlanmaktadır (104).

2009 yılında yayınlanan bir çalışmada; ES'da en sık tespit edilen t(11;22) sonucu oluşan EWS/FLI1'in EZH2 promotör bölgesine bağlandığı ve EZH2 ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (105).

Aynı çalışmada EZH2'yi hedefleyen kemoterapötik ajan kullanılmış ve tümör büyümesinde yavaşlama sağlanabilmiştir. Olgularda metastaz oranlarında da azalma saptanmış ancak daha az EZH2 eksprese eden tümör hücrelerinin özellikle akciğere kolonize olabildiği görülmüştür (105). Tüm bu çalışmalara bağlı olarak EZH2 hem potansiyel bir biomarker hem de çekici bir anti-kanser ilaç hedefi olmuştur ve halen bu konuyla ilgili araştırmalar sürmektedir.

Çalışmamızda EZH2 immünreaktivitesi ile ES'da bilinen prognostik faktörler olan yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, metastaz, nüks

varlığı ve sağkalım arasındaki ilişki istatistiksel olarak araştırılmış ancak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Sonuç olarak çalışmamıza dahil edilen çocukluk çağı ES olgularının genel özelliklerinin ve rutin prognostik faktörlerin dağılımının genelde literatürle uyumlu olmasına karşın EZH2 ekspresyonu ile prognostik faktörler ve sağ kalım arasında istatistiksel olarak kesin çıkarımlarda bulunamamızın sebebinin serimizin küçük olmasından kaynaklandığı düşüncesiyle ileri çalışmaların yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Lucke A: Beitrage zur Geschwulstlehre. Virchows Arch (Path Anat) 1866;35:524-39.
2. Ewing J. Diffuse endothelioma of bone. Proc NY Pathol Soc 1921;21:17-24.
3. Askin F, Rosai J. Malignant small cell tumor of the thoracopulmonary region in childhood. Cancer 1979;43:2438-51.
4. Larsson S, Lorentzon R: The geographic variation and incidence of malignant primary bone tumors in Sweden. J Bone Joint Surg 1974; 56B(3):534-40.
5. Aurias A, Rimbaud C, Buffe D, et al: Chromosomal translocations in Ewing's sarcoma. N Engl J Med 1983;309:496-7.
6. Cavazzana AO, Miser JS, Jefferson J, Triche TJ. Experimental evidence for a neural origin of Ewing's sarcoma of bone. Am J Pathol 1987;127:507-18.
7. Crist WM, Kun LE. Common solid tumors of childhood N Engl J Med 1991;324:461-71.
8. de Alava E, Kawai A, Healey J, et al: EWS-FLI1 fusion transcript structure is an independent determinant of prognosis in Ewing's sarcoma. J Clin Oncol 1998;16:1248-55.
9. Thiele CJ. Biology of pediatric peripheral neuroectodermal tumors. Cancer Metastasis Rev 1991;10:311-9.
10. Scotlandi K, Benini S, Sarti M, et al. Insulin-like growth factor-I receptor-mediated circuit in Ewing's sarcoma/peripheral neuroectodermal tumor: a possible therapeutic target. Cancer Res 1996;56:4570-74.
11. Lawlor ER, Jim JF, Tao W, et al. The Ewing tumor family of peripheral neuroectodermal tumors express human gastrin-releasing peptide Cancer Res 1998; 58: 2469-76.
12. Fletcher C, Bridge j, Hogedoorn P, Mertens F. ed. Ewing Sarcoma/Primitive neuroectodermal tumour. In: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology of Genetics Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC;2013;p.306-9.
13. Kim, T.E., Ghazi G. Atkinson G. et al.: Ewing's sarcoma of a lower extremity in an infant: A therapeutic dilemma. Cancer, 1986;58:187.
14. Cheung CC, Kandel RA, Bell RS et al. Extraskeletal Ewing sarcoma in a 77-year-old woman. Arch Pathol Lab Med 2001;125:1358-60.
15. Rachel E et al. The epidemiology of bone cancer in 0-39 year olds in northern England, 1981 – 2002; BMC Cancer 2010;10:357.
16. Bernstein M, Kovar H, Paulussen M, Lor Randall R, Schuck A, Teot LA, Juergensg H. Ewing's Sarcoma Family of Tumors: Current Management. The Oncologist 2006;11:503-19.
17. Kutluk T, Yeşilipek A. Türk Pediatrik Onkoloji Grubu/Türk Pediatrik Hematoloji Demeği Pediatrik Tümör Kayıtları, 2002-2009 Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi 2010. Samsun.

18. Valery PC, McWhirter W, Sleight A, Williams G, Bain C. A national case-control study of Ewing's sarcoma family of tumours in Australia. *Int J Cancer* 2003;105(6):825-8.
19. Joyce M, Harmon D, Mankin H, Suit H et al. Ewing's sarcoma in female siblings: A clinical report and review of the literature. *Cancer* 1984;53:1959.
20. Novakovic B, Goldstein AM, Wexler LH, Tucker MA. Increased risk of neuroectodermal tumors and stomach cancer in relatives of patients with Ewing's sarcoma family of tumors. *J Natl Cancer Inst* 1994;86:1702-6.
21. Burchill SA. Ewing's sarcoma: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications of molecular abnormalities. *J Clin Pathol* 2003;56:96-102.
22. McNicol A, Farquharson M: In situ hybridization and its diagnostic applications in pathology. *J Pathol* 1997;182:250-61.
23. De Alava E, Gerald WL. Molecular biology of the Ewing sarcoma/primitive neuroectodermal tumor family. *J Clin Oncol* 2000;18:204-13.
24. Ambros I, Ambros P, Strehl S, et al: MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. Evidence for a common histogenesis of Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors from Mic2 expression and specific chromosome aberration. *Cancer* 1991;67:1886-93.
25. Scheurlen W, Schwabe G, Joos S, et al: Molecular analysis of childhood primitive neuroectodermal tumors defines markers associated with poor outcome. *J Clin Oncol* 1998;16:2478-85.
26. Riggi N, Stamenkovic I. The Biology of Ewing sarcoma. *Cancer Letters* 2007;254:1-10.
27. Resnick D et al. Tumors and tumor like lesions of bone: Imaging and pathology of specific lesions In: *Diagnosis of bone and joint disorders*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998. 3616-88.
28. Weiss SW, Goldblum JR. Ewing's Sarcoma/PNET Tumor Family and related Lesions In: *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*. China: Mosby. 2014;6:1028-45.
29. Özkan A, Celkan T, Apak H, et al. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Ewing Sarkom Deneyimi:1983-2003. Ewing sarcoma: results of a single institute from Turkey,1983-2003.*Türk Pediatri Arşivi*. 2005;40:232-4.
30. Güler, E., Çevik, S., Karakurum, G., Ewing Sarkom Olgularımızın Değerlendirilmesi: Gaziantep Tıp Fakültesi Deneyimi. XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Samsun. Kongre Kitabı 143. 2010.
31. Sevinir, B., Demirkaya, M., Yalçınkaya, Ü. Ewing Sarkomunda Klinik Özellikler ve Tedavi Sonuçları. XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Samsun, Kongre Kitabı 141. 2010
32. Robert E. Fechner M.D. Stacey E. Mills, M.D. *Armed Forces Institute of Pathology. Tumors of the bones and joints*, 3th ed. 1993.187-92.
33. Mirra JM. *Bone tumors: clinical, radiologic, and pathologic correlations*. Philadelphia: Lea & Febiger. 1989;1087-117.

34. Sneppen O, Hansen LM. Presenting symptoms and treatment delay in osteosarcoma and Ewing's sarcoma. *Acta Radiol Oncol* 1984;23:159-62.
35. Peter M, Magdelenat H, Michon J, et al. Sensitive detection of occult Ewing's cells by the reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Br J Cancer* 1995;72:96-100.
36. Gerd Bodner, Michael F. H. Schocke, Franz Rachbauer, Klaus Seppi, Siegfried Peer, Anke Fierlinger, Tarek Sununu, Werner R. Jaschke. Differentiation of Malignant and Benign Musculoskeletal Tumors: Combined Color and Power Doppler US and Spectral Wave Analysis. *Radiology* 2002;223:410–16.
37. Wiszniewski P. Ultrasound monitoring of bone lesions in the treatment of Ewing's sarcoma. *Pol Tyg Lek*; 1993;48(29-30):655-7.
38. Kopyś-Wiszniewska I. Evaluation of images of periosteum on computed tomography in children with malignant bone tumours before and after chemotherapy. *Med Wieku Rozwoj.* 2008;12-1:463-76.
39. Zimmer WD. Principles of magnetic resonance. IN: Stark DD, Bradley WG, JR, eds. *Magnetic resonance imaging*. Missouri: Mosby-yearbook, Inc; 1992;2:3-20.
40. Cangir A, Vietti TJ, Gehan EA, et al. Ewing's sarcoma metastasis at diagnosis. Results and comparisons of two intergroup Ewing's sarcoma studies. *Cancer* 1990;66:887-93.
41. Sundaram M, McLeod R: MR imaging of tumor and tumorlike lesions of bone and soft tissue: a review. *AJR Am J Roentgenol* 1990;155:817-24.
42. Frank J, Ling A, Patronas N, et al: Detection of malignant bone tumors: MR imaging vs. scintigraphy. *AJR Am J Roentgenol* 1990;155:1043-48.
43. Brisse H, Ollivier L, Edeline V, et al. Imaging of malignant tumours of the long bones in children: monitoring response to neoadjuvant chemotherapy and preoperative assessment: *Pediatr Radiol* 2004;34:595-605.
44. Kısmet E, Köseoğlu V. Çocukluk çağı kemik tümörleri. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sp Iss* 2004;2:899-903.
45. Mankin HJ, Mankin CJ, Simon MA. The hazards of the biopsy, revisited. Members of the Musculoskeletal Tumor Society. *J Bone Joint Surg Am* 1996;78:656-63.
46. Rosai J. ed. Bone and Joints: Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor. In: Rosai and Ackerman's *Surgical Pathology*, 9th ed., Edinburgh: Mosby; 2004;9:2172-77.
47. Hameed M. Small Round Cell Tumors of bone. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:192-204.
48. Machado I, Noguera R, Mateos EA, et al. The many faces of atypical Ewing's sarcoma. A true entity mimicking sarcomas, carcinomas and lymphomas. *Virchows Arch.* 2011;458:281–90.

49. Hasegawa T, Hirose T, Kudo E, et al. Atypical primitive neuroectodermal tumors: comparative light and electron microscopic and immunohistochemical studies on peripheral neuroepitheliomas and Ewing's sarcomas. *Acta Pathol Jpn* 1991;41:444-54.
50. Shishikura A, Ushigome S, Shimoda T. Primitive neuroectodermal tumors of bone and soft tissue: histological subclassification and clinicopathologic correlations. *Acta Pathol Jpn* 1993;43:176-86.
51. Schajowicz F. Ewing's sarcoma and reticulum-cell sarcoma of bone. With special reference to the histochemical demonstration of glycogen as an aid to the differential diagnosis. *J Bone Joint Surg* 1959;41:349-56.
52. Navas-Palacios JJ, Aparicio-Duque R, Valdes MD. On the histogenesis of Ewing's sarcoma. An ultrastructural, immunohistochemical, and cytochemical study. *Cancer* 1984;53:1882-901.
53. Triche T, Cavazzana A. Round cell tumors of bone. In: Unni KK, ed. *Bone tumors*. Philadelphia, 2010;6:211-224.
54. Thomas JO, Nijjar J, Turley H, Micklem K, Gatter KC. NB84: A new monoclonal antibody for the recognition of neuroblastoma in routinely processed material. *J Pathol* 1991;163:69-75.
55. Horowitz ME, Tsokos MG, DeLaney TF. Ewing's sarcoma (54 refs), (review) *CA Cancer J Clin* 1992;42:300-20.
56. Lampson LA, Fisher CA, Whelan JP. Striking paucity of HLA-A, B, C and B2-microglobulin on human neuroblastoma cell lines. *J Immunol* 1983;130:2471-8.
57. Redner A. Malignant bone tumors. *Pediatric Hematology and Oncology*, Lanzkowsky P, ed, 4th ed. California: Academic Press;2005. 585-603.
58. Grier HE, Krailo MD, Tarbeil NJ., et al. Addition of ifosfamide and etoposide to standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone. *N Engl J Med* 2003;348:694-701.
59. Kutluk MT, Yalcin B, Akyüz C, et al. Treatment results and prognostic factors in Ewing Sarcoma. *Pediatr Hematol Oncol* 2004;21:597-610.
60. Wagner LM, McAllister N, Goldsby RE, et al. Temozolomide and intravenous irinotecan for treatment of advanced Ewing sarcoma. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48:132-9.
61. Toni A, Sudanese A, Ciaroni D, et al. The role of surgery in the local treatment of Ewing's sarcoma of the extremities. *Chir Organi Mov* 1990;75:262-4.
62. Carpentieri DF, Qualman SJ, Bowen J, et al. Protocol for the examination of specimens from pediatric and adult patients with osseous and extraosseous ewing sarcoma family of tumors, including peripheral primitive neuroectodermal tumor and ewing sarcoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(7):866-73.
63. Sağlık Y, Yıldız Y, Güçlü B. Musculoskeletal tumors in children. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2006;2(4):51-8.
64. Wilkins RM, Pritchard DJ, Burgert EO Jr, Unni K.K. Ewing's sarcoma of bone: experience with 140 patients. *Cancer*. 1986: 58:2551-5.

65. Sailer SL, Harmon DC, Mankin HJ, Truman JT, Suit HD. Ewing's sarcoma: surgical resection as a prognostic factor. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;15:43-52.
66. Dunst J, Sauer R, Burgers JM, et al. Radiation therapy as local treatment in Ewing's sarcoma: results of the Cooperative Ewing's Sarcoma Studies CESS 81 and CESS 86. *Cancer*. 1991;67:2818-25.
67. Schuck A, Ahrens S, Paulussen M, et al. Local therapy in localized Ewing tumors: results of 1058 patients treated in the CESS 81, CESS 86, and ECESS 92 trials. *Int J Radiat Oncol Phys*. 2003;55(1):168-77.
68. Whelan JS, Burcombe RJ, Janinis J, Baldelli AM, Cassoni AM. A systematic review of the role of pulmonary irradiation in the management of primary bone tumours. *Ann Oncol*. 2002;13(1):23-30.
69. Meyers P, Nachman J, Krailo M, et al. Induction chemotherapy followed by melphalan/etoposide/total body irradiation and peripheral blood stem cell support for patients with newly diagnosed high-risk Ewing's sarcoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000;19:581-5.
70. Ladenstein R, Lasset C, Pinkerton R, et al. Impact of megatherapy in children with high-risk Ewing's tumours in complete remission: a report from the EBMT Solid Tumour Registry. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15:697.
71. Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, et al. Prognostic factors in nonmetastatic Ewing's sarcoma of bone treated with adjuvant chemotherapy: analysis of 359 patients at the Istituto Ortopedico Rizzoli. *J Clin Oncol* 2000;18:4-11.
72. Cotterill SJ, Ahrens S, Paulussen M, et al. Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group. *J Clin Oncol* 2000;18:3108-14.
73. Baldini EH, Demetti GD, Fletcher CD, et al. Adults with Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor: adverse effect of older age and primary extraosseous disease on outcome. *Ann Surg* 1999;230:79-86.
74. Delepine N, Delepine G, Comille H, et al. Prognostic factors in patients with localized Ewing's sarcoma: the effect on survival of actual received drug dose intensity and of histologic response to induction therapy. *J Chcmother* 1997;9(5):352-63.
75. Bacci G, Ferrari S, Comandone A, et al. Neoadjuvant chemotherapy for Ewing's sarcoma of bone in patients older than thirty-nine years. *Acta Oncol* 2000;39:111-6.
76. Jurgens H, Exner U, Gadner H, et al: Multidisciplinary treatment of primary Ewing's sarcoma of bone. A 6-year experience of a European Cooperative Trial. *Cancer* 1988;61:23-32.
77. Gobel V, Jurgens H, Etspuler G, et al. Prognostic significance of tumor volume in localized Ewing's sarcoma of bone in children and adolescents. *J Cancer Res Clin Oncol* 1987;113(2):187-91.
78. Ahrens S, Hoffmann C, Jabar S, et al. Evaluation of prognostic factors in a tumor volume-adapted treatment strategy for localized

- Ewing sarcoma of bone: the CESS 86 experience. Cooperative Ewing Sarcoma Study. *Med Pediatr Oncol.* 1999;32(3):186-95.
79. Kinsella TJ, Miser JS, Waller B, et al: Long-term follow-up of Ewing's sarcoma of bone treated with combined modality therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;20:389-95.
 80. Daugaard S, Kamby C, Sunde LM, Myhre-Jensen O, Schiodt T. Ewing's sarcoma. A retrospective study of histological and immunohistochemical factors and their relation to prognosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1989;414(3):243-51.
 81. Picci P, Boliling T, Bacci G, et al. Chemotherapy-induced tumor necrosis as a prognostic factor in localized Ewing's sarcoma of the extremities. *J Clin Oncol* 1997;15(4):1553-9.
 82. Öztop F, Dervişoğlu S, Ereku S, et al. Kemik ve yumuşak doku sarkomlarında neoadjuvan kemoterapi sonrası rezeksiyon spesmenlerinin değerlendirilmesi ile ilgili protokol; 5.Türk Ortopedik Onkoloji Kongresi Patoloji Çalışma Grubu 2004, Samsun
 83. Wunder JS, Paulian G, Huvos AG, et al. The pathological response to chemotherapy as a predictor of the oncological outcome of operative treatment of Ewing sarcoma. *J Bone Joint Surg Am* 1998;80:1020-33.
 84. Kushner BH, Hajdu SI, Gulati SC, et al. Extracranial primitive neuroectodermal tumors. The Memorial Sloan-Kettering Cancer Center experience. *Cancer* 1991;67:1825-29.
 85. Schmit D, Herrmann C, Jurgens H, et al. Malignant peripheral neuroectodermal tumor and its necessary distinction from Ewing sarcoma: A report from Kiel Pediatric Tumor Registry. *Cancer* 1991;68:2251-9.
 86. Parman DM, Hijazi Y, Steinberg SM, et al. Neuroectodermal differentiation in Ewing's sarcoma family of tumors does not predict tumor behavior. *Hum Pathol* 1999;8:911-8.
 87. Sollazzo MR, Benassi MS, Magagnoli G, et al. Increased c-myc oncogene expression in Ewing's sarcoma: correlation with K167 proliferation index. *Tumori* 1999;85(3):167-73.
 88. de Alava E, Antonescu CR, Panizo A, et al. Prognostic impact of P53 status in Ewing sarcoma. *Cancer.* 2000;89(4):783-92.
 89. Roessner A, Ueda Y, Bockhorn-Dworniczak B, et al. Prognostic implication of immunodetection of P-gp in Ewing's sarcoma. *Cancer Res Clin* 1993;119:185-9.
 90. Luksch R, Sampietro G, Collini P, et al. Prognostic value of clinicopathologic characteristics including neuroectodermal differentiation in osseous Ewing's sarcoma family of tumors in children. *Tumori* 1999;85(2):101-7.
 91. Vire E, Brenner C, Deplus R, et al. The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. *Nature* 2006;439:871-4.
 92. Margueron R, Reinberg D. The Polycomb complex PRC2 and its mark in life. *Nature* 2011;469(7330): 343-9.
 93. Cha T. L., Zhou B, Xia W, et al. Akt-mediated phosphorylation of EZH2 suppresses methylation of lysine 27 in histone H3. *Science* 2005;310:306-10.

94. Tan JZ, Yan Y, Wang XX, Jiang Y, Xu HE. EZH2: biology, disease, and structure-based drug discovery. *Acta Pharmacol. Sin.* 2014;35(2):161-74.
95. Morin RD, Johnson NA, Severson TM, et al. Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin". *Nat. Genet.* 2010;42(2):181–5.
96. Ren G, Baritaki S, Marathe H, et al. Polycomb protein EZH2 regulates tumor invasion via the transcriptional repression of the metastasis suppressor RKIP in breast and prostate cancer. *Cancer Res* 2012;72:3091-104.
97. Zhao L, Yu Y, Wu J, et al. Role of EZH2 in oral squamous cell carcinoma carcinogenesis. *Gene* 2014;537:197–202.
98. Song Q. C, Shi Z. B, Zhang Y. T, et al. Downregulation of microRNA-26a is associated with metastatic potential and the poor prognosis of osteosarcoma patients. *Oncol Rep* 2014;31:1263–70.
99. Sasaki H, Setoguchi T, Matsunoshita Y, et al. The knock-down of overexpressed EZH2 and BMI-1 does not prevent osteosarcoma growth. *Oncol Rep* 2010;23:677–84.
100. Gibson WT, Hood RL, Zhan SH, et al. Mutations in EZH2 cause Weaver syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2012;90(1):110–8.
101. Li J, Hart RP, Mallimo EM, Swerdel MR, et al. "EZH2-mediated H3K27 trimethylation mediates neurodegeneration in ataxia-telangiectasia". *Nat. Neurosci.* 2013;16(12):1745–53.

TEŞEKKÜR

Patoloji ihtisasım boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyerek yetişmemde ve eğitimimde en büyük paya sahip olan her zaman örnek aldığım Prof. Dr. Ulviye YALÇINKAYA'ya her konuda desteği, öğrettikleri ve emeği için teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ömer YERCI'ye, değerli hocalarımız Prof. Dr. Şahsine TOLUNAY'a, Doç. Dr. Özlem SARAYDAROĞLU'na, Doç. Dr. Şadımın B. ADIM'a, Doç. Dr. Elif Ülker AKYILDIZ'a, Doç. Dr. Berna VURUŞKAN'a, Doç. Dr. Hülya ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Bilgisi, deneyimleri, dostluğu ile yanımda olan sevgili Yard. Doç. Dr. Nesrin UĞRAŞ'a ve uzmanımız Fatma ÖZATALAY'a, beraber görev yaptığım birbirinden değerli asistan arkadaşlarıma, ayrıca Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'nda görevli tüm teknisyen arkadaşlara ve personele yardımları ve destekleri için teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Tezimi hazırlamamdaki destekleri için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Betül B. SEVİNİR'e ve Doç. Dr. Metin DEMİRKAYA'ya teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en çok emeği geçen, her daim yanımda olan canım annem Çakır PEKMEZ ve babam Osman PEKMEZ'e, bana hem kardeş hem dost olan OZAN'ıma, sevgisini ve gücünü hep arkamda hissettiğim eşim Sinan AVCI'ya, yaşam kaynağım canım kızım Beliz'e, yine her zaman sevgi ve desteği ile yanımda olan herkese teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında İstanbul'da doğdum. İlkokulu Dr. Sait Darga İlkokulu'nda ve ortaokul ile liseyi İstanbul Köy Hizmetleri Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2001 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başladım ve 2007 yılında mezun oldum. 2011 yılından beri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimime halen devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.