

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLUK ÇAĞI KLASİK HODGKİN LENFOMADA
İMMUN MEDİATÖRLERİN PROGNOSTİK DEĞERİ VE
SAĞKALIMA OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR.HİKMET GÜLŞAH OKTAY

TEZ DANIŞMANLARI

PROF.DR. İNCİ YILDIZ

PROF.DR.NÜKHET TÜZÜNER

İSTANBUL - 2009

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

KISALTMALAR

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	2
MATERYEL - METOD.....	24
TARTIŞMA.....	48
SONUÇLAR.....	59
ÖZET	62
ABSTRACT.....	63
KAYNAKLAR	64

ÖNSÖZ

Üyesi olmaktan mutluluk duyduğum Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalıştığım sürece öğrenimime büyük katkıları bulunan başta Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Haluk Çokuğraş olmak üzere tüm hocalarıma ve öğretim kadrosuna, çalışma konumun belirlenmesinde ve yönlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimini paylaşma olanağı bulduğum değerli hocalarım Prof.Dr. İnci Yıldız ve Prof.Dr. Nükhet Tüzüner'e, tezime laboratuvar aşamasındaki katkılarından dolayı Sevan Kaltakkıran, Kerem Nalcı ve Meliha Çilek'e, materyelin histopatolojik değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen Uzm.Dr. Nuray Başsüllü'ye, istatistik değerlendirmesinde Uzm.Dr. Günay Can'a, tezime maddi desteğini esirgemeyen Türk Pediatri Kurumu'na, eğitim ve öğretimim için büyük fedakarlıklarda bulunan aileme teşekkürü borç bilirim.

KISALTMALAR

ABVD	: Adriamisin-Bleomisin-Vinblastin-Dakarbazin
ABHL	: Anaplastik büyük hücreli lenfoma
ALK	: Anaplastik Lenfoma Kinaz
EBER	: Epstein Barr Early RNA (Erken EBV RNA antijen)
EBNA	: Epstein Barr Virus Nuclear Antigen (EBV Nükleer Antijen)
EMA	: Epitelyal Membran Antijen
FFS	: Failure Free Survival (Hastalıksız Sağkalım)
FISH	: Fluoresan Insitu Hibridizasyon
H&E	: Hematoksilen Eozin
HL	: Hodgkin Lenfoma
IPS	: Uluslararası Prognostik Skorlama Sistemi (International Prognostic Scoring System)
İHK	: İmmunhistokimya
KHHL	: Karışık Hücreli Hodgkin Lenfoma
KT	: Kemoterapi
LMP-1	: Latent Membran Proteini
LCA	: Leucocyte Common Antigen
LFHL	: Lenfositten Fakir Hodgkin Lenfoma
LZHL	: Lenfositten Zengin Hodgkin Lenfoma
NK	: Natural killer-Doğal Öldürücü (hücre)
MOPP	: Nitrojen Mustard, Onkovin, Prokarbazin, Prednizon
NHL	: Nodüler Hodgkin Lenfoma
NLZHL	: Nodüler Lenfositten Zengin Hodgkin Lenfoma
NHL	: NonHodgkin Lenfoma
NF-kb	: Nükleer Faktör kappa B
OS	: Over all survival (Genel Sağkalım)
PCR	: Polimeraz chain reaction- Polimeraz zincir reaksiyonu
RT	: Radyoterapi
RS	: Reed-Sternberg
TİA-1	: T hücre intrasitoplazmik antijen

GİRİŞ VE AMAÇ

Hodgkin Lenfoma'da (HL), tedavi seçeneklerinin artışı ve yüksek başarıya rağmen hastalık bir grup hastada hala fatal seyretmekte, ilerleyici hastalık, nüks ve ölüm önlenememektedir (1). Sonuç olarak tedavi ile remisyona girmeyen veya nüks eden olgularda farklı ve daha yoğun tedavi protokolleri denenmekte ve bu hastalarda erken ve geç tedavi komplikasyonları ile sık karşılaşılmaktadır.

Günümüz tedavilerinde amaç, hastaların risk faktörlerine göre sınıflandırılarak, yüksek riskli gruba daha yoğun, düşük riskli gruba daha hafif tedavi uygulanması olmalıdır. Böylece tedavinin yan etkileri en azından bir grup hastada, azaltılmış olacaktır.

Klinik olarak klasik Hodgkin Lenfoma'da modern tedaviler ile sağkalım %80 civarındadır. Hastaları risk gruplarına göre sınıflamak amacı ile Uluslararası Prognostik skrolama sistemi (IPS) geliştirilmiş ve hastalarda 7 adet yüksek risk faktörü belirlenmiştir. Bunlar; hipoalbuminemi, anemi, lökositoz, lenfopeni, evre 4 hastalık, erkek cinsiyet ve 45 yaş üzeri olmaktır. Klinik olarak geliştirilen ve prognoz belirleyici olarak kullanılan bu skala dışında bir takım biyolojik belirteçler de vardır. Tümör mikroçevresinde yer alan bağışıklık hücrelerinin sitokin ve kemokinler salgılayarak tümörün yayılmasında önemli olduğu çalışmalarda gösterilmiş, bunların ve protoonkogenlerin prognoz ve sağkalıma katkıları araştırılmak istenmiştir (2-4).

Tümör mikroçevresindeki düzenleyici (regülatuar) ve öldürücü (sitotoksik) T hücreleri, immün yanıtta tümör dışında otoimmün hastalıklar, transplantasyon ve enfeksiyonda da önemlidir. Bu hücreler, immün modülasyon özelliklerinden dolayı prognozu da etkileyebilirler (5-12).

Hodgkin lenfomada çocukluk ve adolesan yaş grubunda prognostik değeri olan onkolojik moleküllerle ilgili çalışmaların az sayıda olması nedeni ile çalışmamızda çocukluk çağı Hodgkin hastalığında biyopsi materyellerinde sitotoksik T hücrelerindeki sitoplazmik toksik granüler enzimlerin (granzim, perforin, TIA-1) ve p53, bcl-2 gibi protoonkogenlerin yanı sıra EBV pozitifliğinin değeri, sağkalıma katkısı araştırılmak istenmiştir.

GENEL BİLGİLER

Hodgkin Hastalığı

Hodgkin hastalığı, bölgesel lenf bezlerinin genellikle tek taraflı, ağrısız büyümesi şeklinde belirti veren, bazen iç organ tutulumlarının eşlik ettiği habis lenfoma grubundan bir hastalıktır.

Tarihçe

1960 öncesine kadar ölümcül bir kanser olarak bilinen Hodgkin lenfoma (HL) ilk kez 1832 yılında Thomas Hodgkin tarafından histopatolojik olarak tanımlandı ve bağışıklık sistemi hücrelerinden kaynaklandığı belirtildi (13). Yaklaşık otuz yıl sonra Wilks, lenf bezleri boyunca ilerleyen, iç organ ve dalak tutulumu da yapan, ölüme sebep olabilen bu hastalığı ‘*Hodgkin Hastalığı*’ olarak adlandırdı. İlk kez o dönemde, orta hat ve aksiller yollar boyunca tutulumun sık, ekstremiteler ve *Waldeyer* halkasında tutulumun nadir olduğu belirlendi (14). Hodgkin hastalığının histolojik özellikleri 1898’de Sternberg, daha sonra da Reed tarafından yapıldı (15,16). Her iki araştırmacı da hastalığın zemininde etken olarak enfeksiyonun yattığına inanıyordu; Sternberg etiyolojide tüberküloz, Reed tanımlanmamış bir ajanın bulunduğunu kabul ediyordu. 1926 yılında Fox tanımı yeniledi ve genç hastalarda da görüldüğüne dikkat çekti. Ancak hala etiyoloji ve epidemiyoloji hakkında bilinenler yetersizdi. Henüz yapılmamış bir histopatolojik sınıflama ve evreleme sistemi bulunmamaktaydı. Hastalık hakkındaki bilgiler, klinik değerlendirme, gözlem, palpasyon ve laboratuvar çalışmalarına dayanmaktaydı.

Pek çok patolog bu hastalık için histolojik sınıflama sistemleri açıklamıştır. Bunların ilki, Askeri Tıp Müzesi patologlarından Custer’dir. Custer’in yaptığı sınıflama; lokal, yaygın ve sarkomatöz hastalık şeklinde üç bölümden oluşurken, 1966 yılında Lukes ve ark.ı klinik prognostik değerlendirmeler ile 6 alt tipten oluşan ve şu anda kullandığımız sistemin öncü şeklini yayınladılar (14).

1902 yılında Reed Hastalığı iki evreli olarak tanımladı. 1920 yılında Langcope, 1950 yılında ise Peters tarafından geliştirilen sınıflama 1965 yılında Rye Konferansı’nda son halini aldı. 1970 yılında ise günümüzde kullanılmakta olan Ann Arbor evrelemesi tanımlandı (17).

2. Dünya Savaşında nitrojen mustardın lenfoid dokular üzerine etkisinin farkedilmesinden sonra ilaç tedavisi gündeme getirildi ve önce birçok tekli ajan kullanıldı. Kemoterapinin başarısı 1970 yılında MOPP kombinasyonunun kullanılması ile oldu (18,19) ve ardından Bonadonna ve ark. 1975 yılında ABVD protokolünü tedaviye soktular (20).

Roentgen'in 1896 yılından sonra X ışınlarını keşfi ile, Pusey ilk kez X ışınlarını genç bir lenfoma hastasında kullandı. Radyoterapi hastanın boyun lenf nodunda küçülmeye sebep oldu. Daha sonra 4 yaşında bilateral servikal şişliği olan çocuk hastada iki ay içerisinde X ışını tedavisi ile küçülme tespit edildi. 1920 ve 1940 yılları arasında, postoperatif radyoterapiyi takiben uygulanan radikal cerrahi yaklaşımdan, hem kozmetik nedenler hem de X ışını tedavisinin olumlu sonuçları nedeni ile vazgeçildi.

Klinik evreleme artık cerrahi laparotomi ve splenektomi olmadan yapılmakta röntgen, BT görüntüleme yeterli olmaktadır. Histopatolojik materyel deneyimli hematopatolog tarafından değerlendirilmeli ve tedavide tutulu alan düşük doz RT ve çoklu KT yaklaşımıyla optimal tedavi amaçlanmalıdır (21-23). Yüksek doz RT alanlarda iskelet büyümesinde orantısızlıklar gözlenilmesi üzerine kemoterapi düşük doz RT ile kombine edilmeye başlanmıştır. Altı yaş altında 15 Gy, 6-10 yaş arasında 20 Gy, 11-14 yaş arası 25 Gy kullanılarak ardından 6 siklus MOPP tedavisi verilmesi kombine tedavi olarak adlandırıldı ve çocuklarda HL'de başarı sağladı. Ancak bu tedavi rejiminin sonucunda ikincil habis hastalıkların ve miyelodisplastik sendromun gözlenmesi, akciğer fonksiyonlarının bozulup endokrin yan etkilerin gözlenmesi nedeni ile yeni tedavi modaliteleri geliştirildi.

Günümüzde yaklaşım ilaç ve ışın tedavisi ile şifa sağlamak, iyi bir yaşam kalitesine ulaşmak ve tedavinin geç etkilerden korunmaktır.

Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Hodgkin Lenfoma lenforetiküler sistemin habis hastalığı olup çocukluk çağı malignitelerinin % 6'sını oluşturur. HL'de coğrafik ve etnik farklılıklarla birlikte bimodal yaş dağılımı vardır. Sıklık yaşa göre değişken olmakla birlikte, 25-30 yaşlar arasında ve 50 yaş üzerinde iki pik yapmaktadır. Çocuklarda üç yaşından önce nadirdir, erkeklerde kızlardan 3 kat fazla görülmektedir (24-26).

Epidemiyolojik özelliklerine göre hastalık 3 alt grupta sınıflanabilir: çocukluk çağı lenfoması (14 yaş altı), genç erişkin formu (15-34 yaş) ve erişkin formu (55-74 yaş). Epidemiyolojik alt gruplardan çocukluk çağı lenfoması, özellikle ülkemiz de dahil gelişmekte

olan ülkelerde daha erken yaşlarda bir pik oluşturmakta ve erkek çocuklarda daha sık görülmektedir (27,28). Adolesan dönemde insidans kız ve erkek hastalarda benzerdir. Çocukluk çağında HL, kalabalık ailelerde ve sosyoekonomik koşullar kötü olduğunda daha sık görülmektedir.

Histolojik alttipler de tanı yaşı ile ilişkili bulunmuştur. Karışık hücreli alttip küçük yaşlarda daha yaygın görülürken nodüler sklerozan tipin görülme sıklığı zengin toplumlarda ve adolesan dönemde fazladır. Ülkemizde ise 1970'li yıllarda yapılan ilk çalışmalarda düşük sosyoekonomik koşullarla birlikte 10 yaşın altında erkek çocuk ve karışık hücreli HL egemenliği, ileri evrede tanı alma gibi özellikler belirlenmiştir. Sosyoekonomik olarak gelişmiş batı ülkelerinde HL altı yaşın altında nadir görülür (29,30). Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Pediatrik Hemato-Onkoloji Biim Dalımızda izlediğimiz hastalarda median yaş 6 olup yaş dağılımı 2-13 idi. Hastaların %70'i erkek ,%30'u kız idi. En sık karışık hücreli tip (%70), ikinci sıklıkta lenfositten zengin (%12) tip görülürken bu sırayı eşit orandaki lenfositten fakir ve nodüler skleroz tip takip etti (31).

Etiyolojiye yönelik araştırmalarda genetik olarak vakaların bir kısmında yapısal ve sayısal anormallikler bildirilmektedir ve sıklıkla %22-83 oranda anormal karyotip eşlik etmektedir. Kromozomal anomalilerle giden HL hastalarında aneuploidi (%100) ve hiperdiploidi (%70) en sık saptanan bulgudur, aynı zamanda vakaların 2/3'ünde translokasyon ve delesyon saptanabilir (32).

Ataksi telenjiyektazi gibi immun yetmezlik durumları, HIV virüsü gibi bazı enfeksiyöz ajanlar HL sıklığını arttırabilir (33-36). Hodgkin lenfomalı kişinin aile bireylerinde hastalığın görülme sıklığı 3 ile 9 kat arasında artmaktadır. Hastalık sistemik lupus eritematozus, juvenil romatoid artrit ve İsvaç tipi agamaglobülinemi ile birlikte sık görülmektedir. Alttiplerin görülme sıklığının ülkeden ülkeye değişmesi çevresel etkenlerin varlığını, poliomiyelitli hastalarda sık görülmesi ise viral etiyojijiyi düşündürmektedir (37).

Hodgkin Lenfomada neoplazik hücrelerin kökeni yakın zamana kadar anlaşılamamıştır, ancak çalışmalar HRS hücrelerinin klonal immunglobulin (Ig) düzenlemelerine sahip olduğunu ve sonuç olarak bu neoplazmaların B-lenfoid kökenli olduğunu göstermiştir. Çok nadir olgularda HRS hücrelerinde T hücre reseptör gen düzenlemeleri gösterilmiş ve bu da tümörün T lenfoid serisine ait olabileceğini düşündürmüştür. RS hücrelerinin germinal merkezden çıkarak çoğalmaları ve apoptoza direnç göstermeleri hücre nüvesinde kappa-B faktörünün (NF-Kb) aktivasyonuna bağılı görünmektedir. NF-Kb tüm hücrelerde sitoplazmada

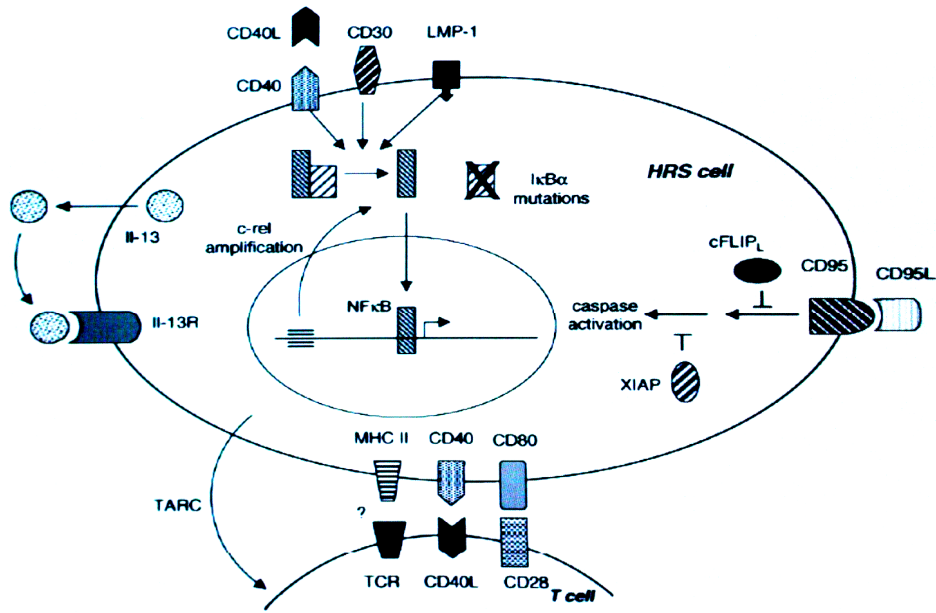
sessiz halde bulunup nükleusa sadece aktive olduğunda geçmekte ve burada immun sistem, büyüme ve inflamasyonu denetleyen 200 üzerindeki geni düzenlemektedir. Normal hücrelerde nadiren aktiftir. Tümörlerde NF-Kb'nin baskılanmasının proliferasyonu inhibe ettiği, hücre siklusunu durdurduğu ve apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (38).

RS hücreleri germinal merkez B hücrelerinden kaynak alır ve klonalite gösterir. RS hücrelerinin hücresel kaynağı bilinse de malign dönüşümün neden olduğu hala tam açık değildir. EBV bazı HL vakalarında bu transformasyondan sorumlu tutulmuştur. RS hücrelerinin germinal merkezden çıkarak çoğalmaları ve apoptoza direnç göstermeleri hücre nüvesinde kappa-B faktörünün (NF-Kb) aktivasyonuna bağlı görünmektedir. NF-Kb tüm hücrelerde sitoplazmada sessiz halde bulunup nükleusa sadece aktive olduğunda geçmekte ve burada immun sistem, büyüme ve inflamasyonu denetleyen 200 üzerindeki geni düzenlemektedir. Normal hücrelerde nadiren aktiftir. Tümörlerde NF-Kb'nin baskılanmasının proliferasyonu inhibe ettiği, hücre siklusunu durdurduğu ve apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (39).

Onkogenler, viral proteinler, karsinojenler, tümör öncüleri ve inflamatuvar uyaranlar NF-Kb'yi aktive etmekte, aktive NF-Kb de hematopoez, malign transformasyon, apoptozis, proliferasyon, immunité, invazyon, anjiyogenez ve metastaz ile ilgili genleri denetim altında tutmaktadır (38,39). Normalde bölünmeyen hücrelerde sitoplazmada NFK-b'yi baskılayan I Kappa B ailesine ait protein bulunmaktadır (40).

EBV enfekte RS hücreleri LMP-1, LMP-2 ve EBNA-1 latent genlerini taşırlar (41,42). Bu latent genlerin taşıdığı bir takım ürünler çoğaltıcı kapasiteye sahiptir. LMP-1 , HRS hücrelerinin sitoplazma ve yüzey membranında bulunur ve invitro olarak B hücrelerini ölümsüzleştirir. Bu etkisini de muhtemel antiapoptotoik gen olan bcl-2 indüksiyonu ile yapmaktadır (43-45) .

Örneğin LMP-1, TNF reseptör ailesinden bir membran reseptörü olan CD40'ın fonksiyonunu taklit ederek primer B hücrelerini malign transformasyona götürür (46-48). T hücre ve B hücre yüzeyinde CD 40 ligand ile CD 40 bağlanması gerçekleşir. Aynı şekilde CD30 ve CD 30 ligand bağlanması da Reed-Sternberg hücre yüzeyinde gerçekleşir. Fizyolojik olarak CD40'a bağlanma bir sinyal kaskadını uyarır ve NF-Kb'nin aktivasyonu ile sonlanır. NF-kB de inflamasyon öncesi antiapoptoz genlerinin transkripsiyonunu başlatır (49-53).



Şekil 1: NF-Kb yolu ve aktivasyonu

Sonuç olarak Hodgkin lenfomada malignite oluşumunda en önemli yol NF-Kappa-b transkripsiyon faktörü sinyal yoludur (41,42,54-56).

Histopatoloji

Reed-Sternberg hücreleri HL'nin neoplastik hücreleridir. HL tanısı, biyopsi materyelinde Hodgkin ve Reed-Sternberg dev hücrelerinin görülmesi ile konur. RS hücreleri tanı için gereklidir ancak varlığı yeterli değildir; çünkü bu hücreler hastalık için spesifik değildir.

Klasik RS hücresi birbirinin ayna hali gibi duran iki büyük çekirdek, büyük nükleolus ve açık bazofilik sitoplazma ile ayırt edilir. Lenfositten yoksun ve nodüler skleroz alt tiplerde klasik RS hücreleri az da olsa görülür.

RS hücrelerinin hücre kökeni bugün için bile kesin değildir. RS hücrelerinin kökenini araştırmada kullanılan yöntemler a) immunhistokimya (İHK), b) moleküler biyolojik/genetik yöntemler (Southern blot, PCR, insitu hibridizasyon) ve Hodgkin hücre dizileridir.

Son yıllardaki moleküler genetik ve immunolojideki ilerlemelere karşın malign lenfomaların histopatolojik sınıflamasında tartışmalar mevcuttur. 1966 yılından beri

kullanılan sınıflamaların tümünde ortak nokta klinikopatolojik anlamlılıklarıdır. Çünkü histopatolojik bulgular tek başına hasta prognozunu belirlemekte yetersiz kalmaktadır. Kronolojik olarak ilk kullanılan Rappaport sınıflaması temel olarak infiltrasyon paterni ve hücrelerin sitolojik özelliklerine dayalı idi. Bu sınıflamayı takiben Lukes-Collins ve Kiel sınıflamaları gündeme geldi . Bu sınıflamalar histopatoloji yanında T ve B fenotiplemesine göre modifiye edilmiş idi. 1994'den itibaren uluslararası lenfoma çalışma grubu Kiel sınıflamasını esas alan Real sınıflamasını kabul etti. Bu sınıflama moleküler, genetik, sitogenetik, immunolojik, klinik ve prognostik bilgilerin tümünü içermekte olup, lenfoid lösemiler, plazma hücreli neoplaziler, eksranodal lenfomalar aynı hücre dizisinin neoplastik hastalıkları olarak hep birlikte bulunmaktaydı. Ancak grade sisteminin olmaması, lenfoma ve lösemi ile plazma hücreli neoplaziler gibi farklı antitelerin aynı sınıflamada yer alması nedeni ile Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1998 yılında temeli REAL sınıflamasına dayalı bugün kullanılan sınıflamayı yayınladı (57-60). Hodgkin Hastalığında kullanılan sınıflamalar sırası ile aşağıda tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1: Hodgkin Lenfoma’da Kullanılan Sınıflamalar

JACKSON VE PARKER	LUKES VE BUTTLER	RYE	REAL	WHO
Paragranülom	LH, nodüler LH, diffüz	LZ	LZ LZ, klasik	LZ, nodüler Klasik HL LZ
Granülom	NS KH Diffüz fibröz	NS KH LF	NS KH LF	NS KH LF
Sarkom	Retiküler			Sınıflandırılmayan

Klasik Hodgkin Lenfoma:

Olgun küçük ve reaktif lenfositler, değişik oranlarda eozinofil, nötrofil, histiosit, plazma hücreleri, fibroblast ve kollagen fibrillerini içerir. Bu zeminde Hodgkin ya da RS hücreleri yanında immunoblast ve transforme lenfositler mevcuttur (61-63).

Klasik olarak B ve T hücre fenotipini gösteren antijenler negatiftir. İmmunfenotipik olarak klasik RS hücre fenotipi CD30 (vakaların %85-100’ü) ve CD15 (vakaların %65-90’ı)

pozitifliği göstermektedir. Ancak %10-40 vakada CD20 pozitifliği bulunabilmektedir. CD30 ve CD15 ile RS hücrelerinin membran ve golgi zonunda boyanma saptanmaktadır. Zemindeki lenfositlerin çoğu CD4 pozitif T hücre fenotipi göstermektedir (64-69). Anaplastik büyük hücreli lenfomadan ayırım için ALK, EMA (epitelyal membran antijen) ve granzim b immun boyaları yapılmalıdır.

Tablo 2: Hodgkin ve Non-Hodgkin Lenfoma’da Neoplastik Hücre İmmunfenotipleri ve Histopatolojik Özellikleri

TÜMÖR TİPİ	LCA	CD15	CD30	CD20	EMA	ALK	BÜYÜME PATERNİ
Klasik tip	-	+	+	+/-	-	-	Nodüler-diffüz
Nodüler LZ	+	-	-	+	+/-	-	Nodüler <u>±</u> diffüz
T Hücreden zengin büyük B hücreli lenfoma	+	-	-	+	+/-	-	Diffüz
Anaplastik büyük hücreli	+	-	+	-	+	+/-	Diffüz ,interfolliküler ,sinüzoidal

Klasik HL’ nin; doku yapısı, fibrozis varlığı, beraberindeki inflamasyonun özelliklerine göre 4 histolojik alttipi mevcuttur (33,70).

1. Lenfositten Zengin Hodgkin Lenfoma (LZHL)

LZHL’de lenfositler bol, neoplastik RS hücre sayısı azdır. RS hücre fenotipi, CD15 +, CD30 +, CD45 -, CD20-’dir. Diğer alt tiplerde süpüratif iltihap ve nekroz, inflamatuvar cevabın bir parçası iken bu özelliğe lenfositten baskın tipte rastlanmaz. Değişik miktarlarda histiosit artışı vardır. Ayırıcı tanı T hücre/histiositten zengin B hücreli lenfoma ve NLZHL ile yapılmalıdır. Bu nedenle ayırıcı tanıda mutlaka immunpanel yapılmalıdır (71,72). NLZHL’den farklı olarak zeminde görülen az sayıdaki CD57 pozitif T lenfositleri RS hücreleri çevresinde rozet oluşturmazlar (73,74).

2. Nodüler Sklerozan Hodgkin Lenfoma (NSHL)

Adolesanlarda (%70) ve genç hastalarda (%40) en sık görülen alt tip Nodüler Sklerozdur. Kızlarda daha sıktır ve ekstra lenfatik tutulum eğilimi yüksektir. Mediastinal tutulum sıktır, subdiyafragmatik tutulumu olan hastaların 1/3’ünde gözlenir.

RS hücreleri ve inflamatuvar reaksiyon yanında iki özellik NS için tipiktir: lakuner hücrelerin varlığı ve kollagen bant oluşumu. Laküner hücrelerin ve kollagen liflerin yoğunluğuna göre NSHL'de sellüler ve fibrotik faz olarak iki varyant tanımlanmaktadır. Bu varyantların prognozu farklı etkiledikleri bilinmektedir (75-79).

Ayrıcı tanıda selim veya habis bir çok süreç yer almaktadır. En önemlileri, mediasteninin sklerozan büyük B hücreli lenfoması ve anaplastik büyük hücreli lenfomadır (57,80,81).

Çok fazla kollagen içermesi nedeni ile lezyonların radyolojik görünümü, özellikle de mediastinal lenf bezlerinde yanıltıcı olabilmektedir. Tedavi sonrası bile radyolojik görünümün normale dönmesi yavaş olabilir. Özetle, hasta tedaviye yanıt verse bile radyolojik yanıtın buna paralel olmamasıdır (33,70).

3. Karışık Hücreli Hodgkin Lenfoma (KHHL)

RS hücreleri, Hodgkin hücreleri, lenfositler, epiteloid histiositler, plazma hücreleri ve eozinofil gibi inflamatuvar hücre tiplerinden oluşan karışık bir hücre popülasyonu vardır. Histiositler, granülom yapılarına benzer şekilde yer yer küme oluşturabilirler (57,80,81). Bu tipte relatif olarak neoplastik hücreler baskındır, mononükleer ya da multinükleer dev formların yanı sıra, nodüler sklerozan stromanın yokluğu önemlidir. Nekroz odağı sıktır.

Ayrıcı tanıda özellikle angioimmunoblastik T hücreli lenfoma ve Lennert (lenfoepiteloid) lenfoması alınmalıdır (80,81). Bu nedenle geniş T fenotip paneli yapılması gerekir. Periferik T hücreli lenfomada RS tipi hücreler görülebilir ve bunlarda CD15 aktivitesi olabilir (68).

4. Lenfositten Fakir Hodgkin Lenfoma (LFHL)

Başta lenfositler olmak üzere RS hücreleri dışındaki tüm hücreler azalmıştır. RS hücreleri yer yer yoğun olarak izlenebilir. Nekroz belirgin olabilir. Ayrıcı tanıda anaplastik büyük hücreli lenfoma önemlidir. İmmunfenotipik özellikler ayırıcı tanıda yardımcı olur (57,80). Pleomorfik hücreler CD30+, CD15+/-,EMA- tir. T veya B hücre antijen ekspresyonu varsa NHL olarak sınıflandırılır.

Nadir görülen bir tiptir ve tekrarlama eğilimi vardır. Gelişmekte olan ülkelerde veya özellikle HIV pozitif hastalarda saptanır. Genellikle intraabdominal hastalık, karaciğer, dalak ve kemik iliği tutulumu vardır. Son yıllarda daha az teşhis edilmektedir çünkü bir bölümü NSHL ve ABHL (anaplastik büyük hücreli lenfoma) tanısı almaktadır.

Son yıllarda klasik Hodgkin Lenfoma dışında nodüler lenfosit üstünlüğü adı verilen bir antite klinik seyri ve histopatolojik özellikleri nedeni ile ayrı olarak değerlendirilmektedir.

Nodüler Lenfositten Zengin Hodgkin Lenfoma (NLZHL)

Nodüler lenfositten zengin Hodgkin Lenfoma'nın (NLZHL) neoplazik hücreleri lenfosit-histiosit (L-H) hücreleridir. Bu hücreler tipik olarak mononükleerdir, belirgin çentik ve loplü nükleolus içerir (Popcorn hücreleri). İnce nüve zarı, soluk kromatin, bir veya birden fazla bazofilik nükleolus vardır. Avrupa'da daha çok nodüler paragranülom olarak adlandırılmaktadır. L-H adı verilen RS varyantları CD19, CD20, CD22 ve CD 79a gibi B hücre antijenleri pozitif iken CD15 ve CD30 negatiftir. B hücre yapısındaki küçük lenfositler zemini oluşturur, arada görülen T hücreleri CD57 pozitifdir.

Nodüler lenfositten zengin HL, hastaların %10-15'inde görülür, erkeklerde daha sıktır, yüzeyel lenf düğümlerini tutar ve prezentasyon sıklıkla bu şekildedir. (33,82). Genellikle vakaların çoğunda tek büyük, servikal, aksiller veya inguinal lenfadenopati vardır (57,80,81). Klasik LZHL'den epidemiyolojik farkı bimodal yaş dağılımı göstermeyişi ve 4.dekadda pik yapmasıdır (61-63). Lokalize hastalık şeklinde olup tedavi edilmezse bile yaşam süresi uzundur.

Tanıdan sonraki 10 yıl içinde nüksler görülebilir, tedaviye yanıtları iyidir. Büyük hücreli NHL'ye dönebilir ve bu risk klasik HL'den daha yüksektir. Yavaş seyri, erken evrede kalması, nükslerin iyi tedavi yanıtı göz önüne alındığında yüksek malignite riski nedeni ile klasik HL'den farklı tedavi uygulanması gereği vurgulanmaktadır.

Reed Sternberg Hücrelerin İmmunofenotipik Özellikleri:

NLZHL' de RSH' ler CD20 pozitif B hücreleridir. CD30 ve CD15 pozitifliği yoktur. Klasik HL' de RSH'lerin klasik fenotipi CD30 ve CD15 pozitifliğidir. CD20 ile vakaların %10-20' sinde değişik oranlarda membran boyanması görülebilir.

RSH' lerde immunhistokimyasal yöntemlerle saptanan sitotoksik moleküller, protoonkogen ve tümör suppresör gen protein ürünleri ile bazı sitokinlerin prognoza etkili olabilecekleri yönünde bilgiler mevcuttur. Aşağıda bu moleküllere kısaca değinilecektir.

İmmün Belirteçler CD15, CD20, CD30

CD30 molekülü bir zar glikoproteinidir ve tümör nekrozis faktör (TNFR) reseptörü süper ailesine aittir. CD30 antijeni HRS hücrelerinde Ki-1 monoklonal antikoru ile belirlenmiştir ve %98 gibi oldukça yüksek oranda saptanmaktadır. Klasik HL'de CD30 varlığının rolü tam olarak anlaşılamamıştır ancak serum soluble CD30 düzeyi ile ileri evre ve tedavi yanıtları arasında ilişki bulunmuştur. Yüksek CD30 serum düzeyi ve CD25 serum düzeylerinin, B semptomları ve olumsuz prognoz ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. CD30 ve CD25 HL'de immunoterapi için uygun hedef moleküllerdir ve ileri dönük çalışmalarda anti-CD30 ve anti-CD25 antikor-immunotoksin bileşikleri ile yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir (33,70,83-85).

HRS hücreleri karakteristik olarak CD15 (LeuM1) ve CD30 (Ki-1) antijeni taşırlar. CD15, KHL tanısında önemli bir belirteçtir ve HRS hücrelerinde %80 oranında ifade edilir.

RSH' ler B hücreleri olmasına karşın B hücre ilişkili antijenleri yüzeylerinde taşımazlar. İmmünohistokimyasal olarak B hücrelerini saptamada en sık kullanılan CD20 klasik RSH' lerinde genellikle saptanmaz. KHL vakalarında RSH' lerinde CD20 boyanması vakaların % 10-20 sinde ve az sayıda RSH' de bildirilmektedir (86-88).

Sitotoksik Granüler Enzimler: Granzim, TİA-1, Perforin

Granzim, sitotoksik T lenfositleri ve NK hücrelerinde sitoplazmadaki granüllerde depolanır ve serin esterazların aktivasyonu sonucu salınır. Programlı hücre ölümünde görevli önemli litik enzimlerdendir (89). HL dışında non HL'de periferik T hücreli lenfoma, mukoza kaynaklı lenfoma ve büyük hücreli anaplastik lenfomada moleküler olarak bulunur (90). Uyarılmış sitotoksik T lenfosit içeren malignitelerde granzim düzeyi arttıkça prognoz kötüleşmektedir. Oudejans ve ark., HRS hücrelerinde granzim ekspresyonu arttığında bu hücrelerin sitotoksik T hücre yıkımından korunduğunu belirtmektedir. Bunu da HRS hücre yüzeyinde MHC I ekspresyonunu azaltarak yapmakta ve sitotoksik T lenfosit yıkımından kurtulmasını sağlamaktadır (91).

Perforin de granzim gibi T hücrelerinin litik fonksiyonlarında anahtar rol oynayan, tümör büyümesini baskılayan güçlü bir sitotoksik moleküldür. Uyarılmış sitotoksik lenfositlerden salınan litik granül ürünü perforin, hedef hücre yüzeyinde delikler açarak ozmotik lizise sebep olur ve hücre ölümü gerçekleşir. Perforinin hücre ölümündeki bu mekanizması aynen komplemanın C9 yolu üzerinden olan litik etkisine benzer (92).

Perforinin klasik HL olgularındaki etki ve önemi oldukça az sayıdaki araştırmada ve erişkin yaş grubunda çalışılmıştır. Az sayıdaki bu çalışmaların bir kısmında, hiçbir HL olgusunda perforin pozitifliğinin saptanmaması, lenfomaların ayırıcı tanısında belirteç olarak kullanılabileceği fikrini doğurmuştur.

Lenfomalarda bcl-2 ekspresyonu sıklıkla yüksektir. Godal çalışmasında HRS hücrelerindeki bcl-2 artışının perforin yoluyla hücre ölümünü baskıladığını düşündürmektedir (93,94).

TİA-1 (T-hücre intrasitoplazmik antijen) ise; protein sentezinde m-RNA oluşumu evresinde işlev gören düzenleyici RNA bağlayıcı proteindir. TİA-1 apoptozda rol alan sitotoksik granül proteindir ve yapısal olarak TNF reseptör ailesine benzer. TNF alfa aracılığıyla etkisini gösteren TİA-1, kanser hücrelerini apoptoza duyarlı hale getirerek NK hücrelerine bağımlı sitotoksik yanıtı artırır (95). Klasik HL’de %13 oranında immunhistokimyasal olarak TİA-1 pozitifliği saptanırken B hücreli lenfomalar ve NLZHL’de TİA-1 negatiftir. TİA1 pozitifliği gösteren olguların kötü prognoza sahip olduğu çalışmalar neticesinde saptanmıştır (96).

Granzim B ve TİA-1 pozitif RS hücrelerini içeren HL olgularında sağkalım süresinin kısa olduğu gösterildi. Granzim B ve TİA-1 pozitifliği kötü prognoz göstergesi idi, özellikle de klasik Hodgkin lenfomada kötü prognostik faktör olarak kabul edilen ileri evre, lökositoz, B semptom varlığı dışında bağımsız olarak klinik gidişi ve sağkalımı etkiledikleri ifade edildi (97-99).

Hücre Siklusu ve Protoonkogenler: bcl-2 ve p53

Normal hücre döngüsünde hücre çoğalması ile hücre ölümü arasında dinamik bir denge vardır. Apoptozis, hücre büzüşmesi, kromatin yoğunlaşması ve çekirdeğin parçalanması ile gerçekleşen hücre ölümüdür. BAX geni bir apoptozis genidir ve bir onkogen olan **BCL-2** *geni*, BAX’ı baskılar (100-102).

Bir tümör supresor gen olan **p53** ya da diğer adı ile tümör protein 53 (TP53), insanda 17.kromozomda bulunur . Sıklıkla genetik değişikliğe uğrayan ve hücre döngüsünü düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. **P53’ün** başlıca görevi DNA hasarı varlığında hücre siklusunun durdurulması, apoptozun başlatılması ve DNA tamiridir. **P53** işlevindeki düzensizlikler genlerde kolayca bozulmalar ve hızlı çoğalma ile sonuçlanmakta takibinde de antineoplastik ilaçlara direnç gelişmektedir.

Mevcut alışmalar, Hodgkin Reed Sternberg hücrelerindeki p53 negatifliği ve bcl-2 ekspresyonunun , apoptoza direnç oluşturması nedeni ile yaşam süresini kısalttığı yönünde olup apoptoz düzenleyici proteinlerden p53 ve bcl2'nin HRS hücrelerinde bulunuşunun prognostik belirteç olarak kullanılabilceği belirtilmektedir (103). Çocukluk ağı Hodgkin lefomada azalmış **p53** seviyelerinin diğer birçok malignitede olduğu gibi kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (104).

Klinik

Hastaların %90'ı ilk başvuruda, bir ve ya daha fazla lenf nodunda ağrısız lenfadenopati ile başvurur. Yaklaşık %60-80 sıklıkta servikal lenf nodları tutulur, vakaların %60'ında ise mediastinal tutulum eşlik eder. Lenfadenopatiler iltihabi lenf bezlerine göre daha serttir, lastik silgi kıvamında ve ağrısızdır. Lenf bezleri yavaş büyür, üzerinde ısı artışı ve kızarıklık yoktur. Lenf nodlarının >10 cm boyut kazanması 'bulky'(hacimli hastalık) olarak tanımlanır (33,70,105).

İlk başvuruda hastaların en az üçte ikisinde değişen derecelerde mediastinal tutulum vardır. Mediastinal tutulum olan hastalarda öksürük veya trakeo-bronşiyal basıya bağlı akciğer semptomları gelişebilir. Bu semptomla gelen bir çocukta ayırıcı tanıda HL düşünülüyorsa n-arka ve yan akciğer grafileri mutlaka istenilmelidir. Mediastinal lenfadenopati anatomik olarak prevasküler, aortopulmoner, paratrekeal, subkarinal, anterior ve orta mediasten bölgelerine yerleşebilir.

Posteroanterior akciğer grafisindeki mediastinal kitlenin genişliği, T5-6 interkostal aralıktan geçen transvers çapın üçte birine eşit ve ya daha büyükse mediastinal hastalık bulky hastalık (hacimli hastalık) olarak tanımlanır. Mediastinal kitlenin anterior genişlemesi ile sternuma ve göğüs duvarına yayılması yada akciğere, perikarda yayılımı ektranodal tutulum olarak kabul edilmelidir. Mediastinal kitle asemptomatik olabileceği gibi ısrar eden kuru öksürük yakınmasına neden olabilir. Büyüyen lenf bezlerinin hava yollarına ve venlere baskı yapması ile superior vena cava sendromu gelişebilir. Bu hastalarda dispne, disfaji, öksürük yakınmaları başlar. Boyun venleri dolgun, yüz ödemli görünümdedir. Küçük ocuklarda mediastinal lenfadenopatinin, büyük normal timustan ayırt edilmesi glk yaratabilir. Daha az olarak hastalar ilk başvuruda aksiller veya inguinal lenfadenopati ile başvurabilirler. Primer hastalığın diyafragma altında başlaması sık değildir ve yaklaşık olarak olguların %3'ünde görülür (33,70,105).

Sistemik semptomlar HL'li hastaların % 30'unda görülür. Halsizlik ,iştahsızlık ve hafif kilo kaybı gibi nonspesifik semptomlar vardır. Üç spesifik semptom olan; açıklanamayan ve 38° C üzerine çıkan intermittent (Pel-Ebstein) ateş, son 6 ay içerisinde %10'dan fazla ağırlık kaybı ve gece terlemeleri tanı ile korelasyon gösterir. 1977-2007 yılları arası Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Pediatrik Hemato-Onkoloji Kliniği'nde takipli 192 HL olgusunda saptanan sistemik semptom B sıklığı %36 idi. İleri evrelerde B semptom sıklığı daha fazla görülüyordu ancak cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu (106). Başvuru anında en sık görülen semptom %83 oranla servikal lenfadenopati idi. Mediastnal tutulum %46 oranında ve çeşitli oranlarda hematolojik bulgular saptanmıştı.

Kaşıntı diğer bir sistemik semptom olup genellikle ileri evre hastalarda, sıklıkla kadınlarda ve diğer sistemik bulgularla birlikte görülür. HL ile kaşıntı beraberliği kolestatik karaciğer hastalığı ve periferik sensorial nöropati ile açıklanmaktadır. Bu yakınma HL'nin tedavi edilmesi ile birlikte geçer.

Dalak tutulumunun gösterilmesi önemlidir. HL'li hastaların %13'ünde dalak tek subdiyafragmatik hastalıktır. Evrelendirme laparotomisi ile olguların %26'sında dalak tutulumu belirlenebilir. Dalak tutulumunun gösterilmesi önemlidir. HL'li hastaların %13'ünde dalak tek subdiyafragmatik hastalıktır. BT ile olguların %59'unda, FDG-PET ile olguların yaklaşık 92'sinde tutulum belirlenebilir. Dalak tutulumunun histopatolojik alttiplerle korelasyonu vardır (lenfositten fakir tipte %83, karışık hücreli tipte %59, nodüler sklerozan tipte %35, Lenfositten zengin tipte ise %16). Dalak tutulumu olan hastaların ortalama %50'sinde paraaortik ve dalak hilusundaki lenf bezleri de tutulmuştur (29,30,33-36,70,105).

Akciğer parankiminde hastalık olguların %17'sinde görülür. Mediastinal veya hiler lenf bezleri tutulmadan pulmoner tutulum olmaz. Akciğer tutulumu 4 tipte olur.

- Komşuluk yolu ile yayılım
- Peribronkovasküler hastalık
- Subplevral yayılım ile birlikte plak tarzında plevra kalınlaşması veya sıvı birikimi.
- İntraparankimal tutulum (Nodüler veya alveoler)

Mediasten veya hilustaki lenfatiklerin obstrüksiyonu nedeni ile plevral sıvı artabilir. Ancak görülme sıklığı non HL'de olduğu kadar sık değildir (33,70,105).

Kemik tutulumu HL'li olguların %2'sinde belirlenir. Bu tutulum ile birlikte kemik ağrıları mevcuttur. Hastalarda evreleme tetkikleri ile belirlenir (33,70,105).

Vertebra tutulumunda önemli bir komplikasyon kollaps nedeni ile spinal kompresyon gelişmesi ve tümörün epidural mesafeye yayılmasıdır. Kemik tutulumunda histolojik olarak tanı konulmasında güçlükler olabilir ve immunhistokimyasal boyalar tanı konulmasında önemlidir.

Kemik iliği tutulumu HL'li hastaların %5'inde görülür. Anemi, lökopeni veya trombositopeni gelişen ve semptom veren hastalarda kemik iliği tutulumu düşünülmelidir. HL'de birden fazla kemik iliği değerlendirilmesi yapılmalıdır çünkü kemik iliği fokal odaklar halinde tutulur. Kemik iliği aspirasyonu tutulumu göstermede yeterli değildir, biyopsi yapılmalıdır.

Karaciğer tutulumu %2 sıklıktadır. Dalak, karaciğer için bir giriş bölgesi gibi görüldüğünden aynı anda dalak tutulumu olmadan sadece karaciğer tutulumu çok nadirdir. Karaciğer biyopsisi doğru tanı için tek yöntemdir. Hafif hepatomegali, anormal karaciğer fonksiyon testleri, karaciğer sintigrafisinde nonspesifik değişiklikler karaciğerin histopatolojik tutulumunu göstermez. Eğer hepatik tutulumla bağlı sarılık varsa, parankimal HL veya lenf nodlarının büyüyerek porta hepatisi tıkanmasına bağlı olarak gelişip gelişmediği araştırılmalıdır. Bununla birlikte olguların büyük bölümünde sarılık portal peribilier infiltrasyona bağlı intrahepatik obstrüksiyona sekonder olarak ortaya çıkar. Sarılığın bulunması olumsuz bir prognoza işaret eder (33,70,105).

HL olgularının %13'ünde direkt olarak böbrek tutulumu görülebilir. Tutulum diffüz, nodüler formda veya mikroskobik olabilir. HL'de özellikle minimal değişiklik gösteren glomerülofrit formu en sık görülür. Nefrotik Sendrom genellikle hastalığın erken döneminde veya tanıdan önce gelişir ve HL'nin tedavi edilmesi ile birlikte iyileşir. Eğer nüks gelişirse nefrotik sendrom tablosu da tekrarlar. HL ve nefrotik sendrom birlikteliği en çok karışık hücreli Hodgkin Lenfoma subtipi ile birlikte görülür.

Nörolojik fonksiyon bozuklukları genellikle geç bulgulardır. HL paravertebral lenf nodlarından sinir köklerine, kan damarlarına doğru yayılım veya perinöral lenfatiklerden spinal kanala ve benzer şekilde intrakranyal bölgeye ikinci olarak da hematojen yayılım ile sinir sistemine ulaşır. Santral tutulum epiduraldır ve intrakranyal tutulum ile birlikte kafa içi basınç artışı semptom ve bulguları ortaya çıkabilir, hemiparezi, duyu bozuklukları fokal

kasılmalar veya nadiren papilla ödemi gibi fokal nörolojik bulgular görülebilir. Kafa tabanı tutulumunda kranial sinir paralizileri gelişebilir.

Laboratuvar Bulguları

Hematolojik ve biyokimyasal parametreler nonspesifiktir ve hastalığın yaygınlık derecesi ile korelasyon gösterebilir. Hematolojik bulgular arasında Coombs pozitifliği ile birlikte olan anemi önemlidir ve sıklıkla ileri evre ve sistemik bulguları olan HL'li hastalarda saptanır. İmmun trombositopeni vakaların %1-2'sinde görülür. HL ile birlikte trombotik trombositopenik purpura tanımlanmıştır. Eozinofili sıklıkla görülür (%15). RS hücrelerinden salınan IL-5 ile eozinofili açıklanmaya çalışılmaktadır (33,70,105).

Sedimantasyon hızı, serum bakır ve ferritin düzeyleri retikuloendotelial sistemin aktivasyonuna bağlı olarak yükselebilir.

HL'de en sık görülen endokrin bozukluk hiperkalsemidir (%1-5). Sıklıkla ileri evre hastalarda görülür ve olumsuz bir prognoz işaretidir. HL'de hiperkalseminin etiyolojisi $1.25(\text{OH})_2$ düzeyinin artışı ile açıklanmaktadır (33,70,105).

Karaciğerde sentezlenen akut faz reaktanı olan CRP'nin Hodgkin hastalığında tanı ve prognoz açısından önemi bulunmaktadır. Bu testler nonspesifiktir ancak tanıda yüksek bulunan değerler hastalığın izlenmesi açısından faydalı olabilir.

Ayrıcı Tanı

HL yavaş seyirli ve ağrısız lenfadenopatiye neden olan atipik mikobakteri ve toksoplazmoz gibi inflamatuvar hastalıklardan ayırt edilmelidir. NHL'li hastalar benzer bulgu ve semptomlara sahip olabilir ancak NHL'de lenf bezlerinde büyüme, HL'den çok daha hızlıdır. Nadiren enfeksiyöz mononükleoz veya reaktif hiperplaziye bağlı olarak geliştiği düşünülen tekrarlayan veya ısrarcı lenfadenopatilerin biyopsileri HL olarak sonuçlanabilir.

HL'de servikal lenfadenopatinin ayırıcı tanısında nazofarenks karsinomu veya yumuşak doku sarkomlarının metastatik lenfadenopatileri yer almalıdır (33,70,105).

TANIYA YÖNELİK ÇALIŞMALAR

Hodgkin Lenfoma tanısında fizik muayene, laboratuvar ve radyolojik görüntülemelerden yararlanılır. Genellikle histopatolojik tanıda malign HRS hücrelerinin patolojik özelliklerinin incelenerek, histolojik alttip ayrımının yapılmasına imkan vermesi açısından eksizyonel lenf bezi biyopsisi tercih edilir. Evrelemede fizik muayene, laboratuvar inceleme, akciğer grafisi, USG, BT, Galyum-67 sintigrafisi, evre III-IV olgularda kemik iliği biyopsisi eğer kemik ağrısı varsa kemik grafisi ve sintigrafi kullanılır (33,105).

Çocuklarda evrelemede değerli bir yöntem olmasına rağmen, 1990'lı yıllardan sonra splenektomili cerrahi ile evrelemeden özellikle de enfeksiyon sıklığı ve postoperatif cerrahi komplikasyonlar nedeni ile vazgeçilmiştir. Kliniğimizde evreleme laparotomisi 1977-1985 yılları arasında 24 hasta, 1985 yılından sonra da 7 hasta olmak üzere toplam 31 hastaya uygulandı, yaklaşık %40 hastada evreleme sonuçlarını değiştirdi. Ancak laparotomili hastaların takipte sık enfeksiyon geçirdiği gözlemlendi, 2 hasta bakteriyel enfeksiyon nedeni ile kaybedildi. Kliniğimizde de, 1996 öncesi seçili vakalara uygulanan evreleme laparotomisi yerine artık ön planda radyolojik yöntemlere dayanan klinik evreleme yapılmaktadır.

Kemikiliği biyopsisi rutin değildir ancak ileri evredeki hastalar, B semptomu olanlar ve relaps gösteren hastalara yapılması gerekir (33,70,105).

Tedaviden sonra remisyon, relaps ve ya progresyon kararında fizik muayene, laboratuvar ve radyolojik tetkiklerden sırası ile faydalanılır.

Evreleme

Halen kullanılmakta olan Ann Arbor evreleme sistemi hastalığın ileri evresine kadar tüm yayılımında bir sıra izlemesine ait gözlemler esas alınarak 1971 yılında kabul edilmiştir.

Tablo 3: Hodgkin Lenfomada Ann Arbor Evrelemesi

EVRE	TANIM
I	Tek bir lenf bezi bölgesinin (I) ve ya lenf dışı organ ve ya bölgenin (IE) tutulu olması
II	Diyafragmanın aynı tarafında iki ve ya daha fazla lenf bezi bölgesinin (II) ve ya lenf dışı iki ve ya daha fazla bölgenin (IIE) tutulu olması
III-1	Diyafragmanın her iki tarafında lenf bezi bölgelerinin (III) ve ya lenf dışı organ ve ya bölgelerin de eşlik etmesi (IIIE), karın içi hastalık sadece üst karını ilgilendimektedir (dalak, dalak hilus lenf bezleri, karaciğer hilus lenf bezler, Çölyak lenf bezleri)
III-2	Diyafragmanın her iki tarafında lenf bezi bölgelerinin tutulması.Karın içi hastalık paraaortik, mezenterik, ilyak ve inguinal lenf bezlerini ilgilendirir.
III-3	Leğen kemiği içi lenf bezlerinin tutulumu (Beraberinde karın içi tutulum olabilir ve ya olmayabilir)
IV	Lenf bezi tutulumu yanında ve ya olmaksızın yaygın bir veya birkaç lenf dışı organ ve ya dokunun tutulumu (M:Kemik iliği, L:akciğer, H:Karaciğer, P:akciğer zarı, O:deri ve deri altı doku tutulumu için kullanılır). A: Sistemik belirti yok B: Sistemik belirti var

Prognoz

LFHL en agresif histopatolojik subtiptir. İleri yaş ve erkeklerde daha fazla görülür. Sıklıkla evre III-IV'de tanı alırlar. En iyi prognoz LZHL tipindedir. Küçük çocuklarda sürvi, ileri yaş hastalarına göre daha iyidir. NLZHL diffüz tip özelliği taşııyorsa yavaş seyirlidir. Relaps çok nadirdir, eğer relaps gelişirse daha agresif bir histopatolojik örnek gelişir ve yaşam süreleri kısılır. Hastaların %10'unda B hücreli non-HL gelişebilir.

HODGKİN LENFOMADA TEDAVİ

Tedavi seçiminde hasta yaşı, evre, B semptomları, bulky hastalık durumu ve hiler lenfadenopati tutulumu göz önüne alınır. Tek başına kemoterapi, tek başına radyoterapi veya ikisinin birlikte olduğu kombine tedaviler uygulanabilir.

1960'lı yılların sonunda yüksek doz radyoterapi ve kemoterapi standart tedavi iken günümüzde tedavi seçiminde yaş önem kazanmıştır. Henüz büyümesini tamamlamamış 14 yaş altındaki çocuklarda düşük doz radyoterapi (2000-2500 cGy) ve çok ilaçlı kemoterapi kombinasyonu oldukça etkili tedavi şemasıdır. Çocuklarda geç dönemde büyüme geriliği, tiroid bezi fonksiyonlarında bozukluklar, kardiyak ve akciğer toksisitelerinin görülmesi nedeni ile düşük doz tutulu alan radyoterapi tedavisine geçilmiştir.

Hodgkin Lenfomada MOPP ilk etkili sistemik kemoterapi protokolüdür. Protokol içinde yer alan alkile edici ajan mechlorothamine sekonder akut miyeloid lösemi ve infertilite gelişmesinden sorumlu tutulduğu için protokol dışı bırakılarak yeni MOPP türevleri geliştirilmiştir. MOPP temelli protokollerin kullanıldığı dönemde 15 yıllık kümülatif sekonder AML sıklığı %4-8 olarak belirlenirken cyclophosphamide, vincristine, procarbazine ve prednisone içeren COPP protokolünün kullanılması ile bu sıklık <%1 değerine inmiştir.

Bonadonna, 1975 yılında ABVD adında dört yeni ilaçtan oluşan ve MOPP ile tedavi sonrası relapsta da etkin olduğu görülen bir tedavi protokolü geliştirdi ve yaptığı çalışmada ABVD etkinliğini MOPP'a eşdeğer buldu (18). Ayrıca ABVD'yi daha etkili ve geç dönem yan etkilerini MOPP'a göre daha az saptayan çalışmalar da vardır (19).

Kliniğimizde hasta yaşam süreleri ile nüks oranları değerlendirildiğinde , ABVD ve ya ABVD-MOPP birlikteliği tedavide en etkin seçim olarak saptandı (106).

ABVD kombine KT'sinin geliştirilmesi ile birlikte MOPP protokolüne göre daha iyi hastalısız yaşam sürelerine ulaşılması sağlanmış ve aynı zamanda sekonder lösemi ve

infertilite riski aza indirilmiştir. Bununla birlikte ABVD protokolünde yer alan bleomycin pulmoner fibrozis riskinde, eğer toraks radyoterapisi de olaya eklenirse kronik pnömoni gelişme riskinde artışa neden olabilir (107).

Tablo 4: Çocukluk Çağı Hodgkin Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Kemoterapi Protokolleri

İLAÇLAR	DOZ	YOL	GÜNLER
MOPP			21GÜN
Nitrojen mustard	6 mg/m ²	IV	1,8
Vinkristin	1.4 mg/m ²	IV	1,8
Prokarbazin	100 mg/m ²	PO	1-14
Prednizon	40 mg/m ²	PO	1-14
ABVD			28 GÜN
Doksorubisin (Adriamisin)	25 mg/m ²	IV	1,15
		IV	1,15
Bleomisin	10 Ü/m ²	IV	1,15
Vinblastin (Velbe)	6 mg/m ²	IV	1,15
Dakarbazin (DTIC)	375 mg/m ²		
COPP			28 GÜN
Siklofosfamid	500-600 mg/m ²	IV	1,8
			1,8
Vinkristin	1.5 mg/m ²	IV	
Prokarbazin	100 mg/m ²	PO	1-14
Prednizon	40 mg/m ²	PO	1-14
OPPA			
Vinkristin	6 mg/ m ²	IV	1,8,15
Prokarbazin	100 mg/m ²	PO	1-15
Prednizon	60 mg/m ²	PO	1-15
Doksorubisin	40mg/m ²	IV	1,15

Özetle çocuklarda HL’de tedavi yaklaşımı, kemoterapi ve düşük doz tutulu alan radyoterapisidir. HL’de standart kemoterapi 6 kür MOPP (MOPP türevleri) ve ABVD (ABVD türevleri)’dir. Tek başına MOPP ve ABVD ile yapılan çok ilaçlı kemoterapide evre III ile IV’deki hastaların yaklaşık %80-95’inde tedaviye cevap alınır. Tam cevaplıların yaklaşık 1/3’ünde hastalık nüks edebilir ve salvage tedavisi gerekebilir. KT ile kür %55-65

arasında sağlanırken uygun nüks tedavisi ile de ilave olarak %10-15 ek kür sağlanabilir. Böylece ileri evre Hodgkin hastalarında %75 dolayında yaşam şansı sağlanmış olur (33,70,105).

Hastaların çoğunluğunda evreye göre dört-altı siklus tedavi yeterli iken hastaların %15-20'sinde daha uzun bir tedavi gerekir. Tedavi süresinin saptanması için yapılacak en uygun şey 4.siklus sonrası radyolojik tetkikler ve galyum sintigrafisi (ve bilateral kemik iliği biyopsisi ve/veya eğer başlangıçta karaciğer tutulumu varsa perkütan karaciğer biyopsisi) ile yeniden değerlendirme yapılmasıdır. Bu testler 6.siklus sonunda da tekrarlanmalı ve iki değerlendirme arasındaki ilerleme veya gerileme göz önüne alınarak ek tedavi planlanmalıdır.

Bir kez tam remisyon sağlandığında tedavinin devam ettirilmesi, büyük mediastinal kitleli hastalar hariç, gereksizdir. Masif mediastinal tutulum dışında idame tedavi gerekmez. Yapılan çalışmalarda idame tedavisinin ikincil malignite riskini arttırdığı gösterilmiş.

Kombine Tedavi

Kombine tedavi özellikle ileri evre hastalarda, büyük mediastinal kitle varlığında ve tek başına radyoterapi kullanılacaksa yüksek doz ışın gerekecek durumlarda tercih edilen tedavi yöntemidir. Son yıllarda tüm pediatrik onkoloji grupları radyoterapi ve laparotominin komplikasyonlarından kurtulmak için tedavi şemalarında radyoterapinin dozunu 20-25 Gy'e düşürmeye veya tedavi protokolünden radyoterapiyi çıkarmaya çalışmaktadırlar (108,109).

Günümüzde HL'de modern tedavi yaklaşımında evre yanıt adapte tedavi veya risk adapte tedavi yaklaşımı olarak iki temel üzerinde durulmaktadır (33,70,105).

ve pek çok onkoloji grubu, hemen her evredeki hastalarda düşük doz radyoterapili kombine tedavi kullanmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

Relaps

Modern çok ilaçlı kemoterapi ve radyoterapi tekniklerine rağmen hastaların %20 ile %50'sinde progresif hastalık veya nüks gelişmektedir. Bazı hastalarda nüks, tedavi bitiminden 10 yıl sonraya kadar uzasa da, HL'de relapsların büyük bölümü ilk 3 yıl içinde görülür. HL'li çocuklarda tedavi sonuçları çok iyi olduğundan relaps tedavilerinin araştırılması konusunda olanaklar sınırlıdır (110-116).

Tek başına ABVD veya MOPP kullanımı sonrası gelişen nükste, tedavi değişik kemoterapi şekillerine radyoterapi eklenmesi şeklinde uygulanabilir. Nüks sonrası çeşitli

tedavi şekillerinin uygulanması ile elde edilen 5 yıllık hastalıksız yaşam, genel olarak %10'dan daha azdır. İlk kemoterapi kombinasyonu, nüks tedavisinde de kullanılabilir ve nüks tedavisinin başarısı ilk remisyon süresi ile doğru orantılıdır.

Genel olarak ABVD-MOPP veya kombine tedavisi sonrası gelişen nükslerin tedavisi oldukça güçtür. Bu hastalarda radyoterapiye ek olarak yüksek doz kemoterapi, allojenik veya otolog kemik iliği transplantasyonu yapılabilir. Bu tedavinin uygulandığı hastaların yarısında tam remisyon ve %30-40'ında ise uzamış remisyon sağlanmaktadır (107,117). Fakat sonuçlar otolog kemik iliği nakli ile çok daha yüz güldürücüdür. Tedavi sırasında refrakter hastalık gelişen ya da ilk yıl içinde relaps gösteren hastalarda konvansiyonel tedavileri takiben multipl relapslar geliştiği için hematopoietik kök hücre transplantasyonu en iyi tedavi seçeneğidir (33,70,105,117).

HODKGİN LENFOMA İÇİN GELECEĞE BAKIŞ

Günümüzde riske yönelik tedavi yaklaşımı ile hastalığın optimal düzeyde kontrol edilmesi ve tedaviye bağlı komplikasyonların azaltılması amaçlanmaktadır. HL'li çocuklara prognoz genel olarak çok iyidir. Asıl sorun direnç ve relaps gösteren hastalardır. HL'de malign transformasyon ve nükleer faktör kappa B (NF-kB) yolunun daha iyi anlaşılması biyolojik temelli tedavi yaklaşımına imkan sağlamıştır. NF-kB viral replikasyon, tümörögenезis, apoptozis ve inflamasyondan sorumlu genleri kontrol etmektedir ve HL'de aktif olarak bulunmaktadır (70).

Pajonk ve arkadaşları NF-kB inhibisyonu ile HL'nin RT ve KT'ye daha duyarlı hale geldiğini göstermiştir. Bu noktadan hareket edilerek Bortezomibin (NF-kB'nin selektif inhibitörü) tek olarak ya da kemoterapötik ve biyolojik ajanlarla birleştirilerek kullanılması ile refrakter ve relaps HL'li hastalarda yeni bir tedavi yaklaşımı başlatıldı. Relaps HL'li hastalar için üzerinde çalışılan diğer bir konu HRS hücrelerinde bulunan antijenlere karşı (CD25-IL-2 reseptör ve CD30-Ki-1 antijen) oluşturulan hedef monoklonal antikorlar ile tedavidir (118-120).

Halen üzerinde çalışılan bir tedavi yaklaşımında da HRS hücreleri ve onların varyantlarının EBV latent membran genlerini ekprese etmelerinden hareket edilmiştir. Bu şekilde EBV spesifik sitotoksik T- lenfosit hedef immunoterapisi geliştirilmiştir (121,122).

HL'nin patogenezinin daha iyi anlaşılması, biyolojik faktörlerin belirlenmesi ve bunların tümör etiyolojisindeki rolünün anlaşılması ile gerçekleşecektir. Bir takım olumlu yada olumsuz biyolojik belirteçlerin varlığında hastanın uygulanan tedaviye yanıtı, remisyon durumu, nüksüz hastalık ve sağkalım oranları belirlenerek daha doğru riske yönelik tedavilerin oluşturulması mümkün olacaktır.

Bu amaçla araştırmamızda, HL'li çocuk hastalarımızın biyopsi materyellerinde prognozda etkili olabileceği düşünülen tümör belirteçleri , immun boyama yöntemleri ile çalışılarak pozitiflik durumuna göre tedaviye yanıt, nüks ve sağkalım sonuçları değerlendirilmek istenilmiştir. Nüks eden ve etmeyen grup karşılaştırılarak etkiyen faktörler araştırılmıştır.

MATERYEL - METOD

1995-2007 yılları arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Pediatrik Hematoloji -Onkoloji Bilim Dalı tarafından takip ve tedavi edilen toplam 76 Hodgkin Lenfoma vakası çalışmaya alınmıştır. Konsültasyon amacıyla gönderilen hazır blokların bir kısmına Patoloji arşivinde ulaşamadı. Bir kısım blok da yetersiz materyalden dolayı immunhistokimyasal olarak çalışılamayacağı için iptal edildi. Sonuçta klinik olarak düzenli takip edilen ve kayıtları tam olan 58 vakanın eş zamanlı biyopsi bloklarına ulaşılabilirdi ve çalışmaya alındı. Tanısal amaçlı Hodgkin RS hücre paneli olan CD3, CD15, CD20, CD30 dışında, sitotoksik granüler protein olan granzim, TİA-1, perforin ve yine protoonkogen olan bcl-2 ve p53 immunhistokimyasal olarak çalışıldı ve varlıklarının sağkalım üzerine olan etkisi araştırıldı.

Demografik verilerin karşılaştırılması amacıyla kliniğimizde 1977-2007 yılları arasında takip edilen toplan 192 hastaya ait yaş, cinsiyet, evre ve histolojik alt tip bilgileri kaydedildi.

➤ Hastalar

Tablo 5: Hastaların Klinik Durumu

HASTALAR	N	%
Sağ hastalıksız	44	%75
Sağ hastalıklı	6	%12
Kaybedilen	8	%13
Toplam	58	%100

Hasta verileri epidemiyolojik ve klinik özellikleri içerecek şekilde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Pediatrik Hemato-Onkoloji Kliniği poliklinik dosya takiplerinden elde edildi. Tanı tarihi, yaş, cinsiyet, histopatolojik tip, evre, B semptomu (38 C ve üzeri ateş, son 3 ayda vücut ağırlığının >%10'undan fazlasının kaybı ve gece terlemeleri) ve anemi varlığı, kemik iliği ve mediasten tutulumu, bulky hastalık durumu, kemoterapi ve radyoterapi tedavileri kaydedildi.

Histolojik alt tipleme Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) kabul ettiği sınıflamaya göre, evreleme ise Ann Arbor sınıflamasına göre yapıldı. Evrelemede fizik muayene, laboratuvar inceleme, akciğer grafisi, USG, BT, MR, Galyum-67 sintigrafisi, PET CT, evre III-IV olgularda kemik iliği biyopsisi eğer kemik ağrısı varsa kemik grafisi ve sintigrafi kullanıldı. Tedaviye tam yanıt klinik ve radyolojik olarak hastalık bulgusu olmaması, tümör boyutunda %50'den az gerileme ise remisyona girmeme olarak kabul edildi. Progresif hastalık, tümör boyutunda %25'den fazla artış ve yeni tümör bölgelerinin belirmesi şeklinde değerlendirildi. Remisyon değerlendirmesi 3-4 kür KT ve ya RT sonrası fizik muayene, laboratuvar ve radyolojik tetkikler ile yapıldı.

Araştırmamızdaki hastaların tümü KT ile tedavi edilmiş idi. Kırkdokuz hasta ABVD protokolü alırken nüks eden 9 olguda ek KT tedavileri denendi. Nüks olguların; 2'si ek olarak COPP-İEP, 2'si İEP, 2'si COPP, 3'ü COPP- MOPP tedavisi aldı.

Dört olgu hariç tüm olgulara KT'ye ek olarak düşük doz tutulu alan radyoterapisi eklenmişti. Tedavi altında 6 olgu hastalık progresyonu, 2 olgu ise enfeksiyon nedeni ile kaybedildi. Altı olgu hastalıklı sağ (ikisi nüks tedavisi alıyor), 44 olgu ise hastalıksız sağ olarak izlenmektedir. Hastaların tanı tarihi ve son kontrol tarihi arası süre OS (genel sağkalım), tanı tarihi ve nüks arası süre FFS (hastalıksız sağkalım) olarak değerlendirildi.

➤ Patoloji

Arşivden çıkarılan lamaların tümüne bakılarak İHK (immunhistokimya) ve yeni H&E kesitleri için uygun bloklar seçildi. Bu bloklardan 4µ kesitler alınarak öncelikle Mayer Hematoksilen ile boyandı. Diğer kesitlere ilk aşamada CD3, CD15, CD20, CD30, p53, bcl-2, EBV, granzim, perforin, TIA-1 monoklonal antikorları için İHK'sal boyama yapıldı. Öncelikle her bir molekül için pozitif boyanması beklenen kontrol dokuları seçildi ve kontrol dokuların boyanması için optimum şartlar sağlandıktan sonra ikinci turda kontrol dokularla birlikte tüm materyeller boyandı. İkinci aşamada yeni H&E kesitleri ile birlikte İHK'sal boyalar değerlendirildi. Çalışmada kullanılan monoklonal antikor listesi Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6: İmmunhistokimyasal Çalışmada Kullanılan Antikorların Özellikleri

ANTİKOR	KLON	KONSANTRASYON	ÜRETİCİ FİRMA	KONTROL DOKU
CD3	SP7	1/100	GeneTex	Tonsil
CD15	MMA	1/25	GeneTex	MMA
CD20	L26	1/400	ScyTex	Tonsil
CD30	Ber-H2	1/80	ScyTex	Tonsil
P53	DO-7	1/300	ScyTex	Akciğer
BCL-2	124	1/100	ScyTex	Lenf bezi
EBV	CS1,CS2,CS3, CS4	1/25	GeneTex	Lenf bezi
GRANZİM	G2BO1	1/50	GeneTex	Tonsil
TİA-1	TİA-1	1/50	GeneTex	Tonsil
PERFORİN	2E9C2	1/50	GeneTex	Tonsil

➤ İmmünhistokimyasal Çalışma Prosedürü

B5 ile fikse edilmiş parafin bloklara gömülü dokulardan 4µ kesitler poly-L-lysine ile kaplanmış lamlara alındı. Lamlar etüvde 56 °C de bir gece bekletildi. Daha sonra şalelere alınarak 2 kez 15 dakika ksilen , 1 kez 15 dakika absolu alkol, bir kez 15 dakika %96'lık alkolde bekletilerek deparafinize edildi ve distile suya alınarak rehidratasyon sağlandı. Düdüklü tencerede PH'sı 6 , %10'luk 1 litre sitrat buffer solusyonuna alınan lamlar maksimum basınç altında 1,5 dakika tutularak antijenin geri kazanımı sağlandı. Bu işlemten sonra kesitler oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Tekrar şalelere alınan lamlar distile sudan geçirildikten sonra kenarları kurulanıp doku sınırları pappen kalemle çizildikten sonra inkübasyon kabına dizildi. Her dokunun üzerine %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılıp nemli ortamda 20 dakika beklenerek endojen peroksidaz blokajı sağlandı. Distile suda yıkandıktan sonra tamponlu fosfat buffer (PBS) solusyonunda 5 dakika bekletildi. Silkelenerek tekrar inkübasyon kabına alınan kesitlere CD3 (SP7, Genetex), CD15 (MMA, Genetex), CD20 (L26 Monoclonal Mouse Antibody to Human B cell, Scy Tek), CD30 (Ber-H2 Monoclonal Mouse Antibody to Human Ki-1antigen), bcl2 (124 Monoclonal Mouse Antibody to Human bcl2 Oncoprotein), p53 (DO-7, Monoclonal Mouse Antibody to Human p53 Protein), EBV (CS1,CS2,CS3,CS4, Genetex), granzim B (GZB01, NeoMarkers), TİA-1 (TİA-1, Genetex), perforin (2E9C2, Genetex) primer antikorları damlatıldı ve 2 saat inkübe edildi. Daha sonra lamlar içinde PBS bulunan şalelere alındı. Silkelenerek inkübasyon kabına alınan kesitlere link-lable damlatılıp 20 dakika

bekletildi. PBS' ye alındıktan sonra kesitlere streptavidin damlatılarak 20 dakika inkübasyon kabında bekletildi. Tekrar PBS ye alınıp 2,5 ml AEC substrat buffer içine, 1 damla AEC kromojeni damlatılarak hazırlanan solusyon kesitlere damlatıldı. Zemin boyanmasını önlemek amacıyla kızaran örnekler distile su şalelerine alındı. Diğerleri 20 dakika normal sürelerini tamamladıktan sonra distile suya alındı. Mayer hematoksilen ile 15 dakika tutularak karşıt boyaları yapıldı. Musluk suyunda morartma işlemi tamamlandıktan sonra gliserin jel ile kapatıldı.

CD20 (L26 Monoclonal Mouse Ant Body to Human B cell, Scy Tek) primer antikorları için düdüklüde kaynatma işlemi uygulanmadı. Yukarıda anlatılan deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemlerinden sonra dokular %3'lük H₂O₂ ile muamele edilip önce distile su ve PBS'den geçirilip inkübasyon kabında her bir kesite Ultra-V blok damlatılıp 5 dakika bekletildi. Lamların üzerindeki Ultra-V silkelenip CD20 primer antikorları damlatıldı. Bundan sonra diğer primer antikorlar için yapılan işlemlerin aynısı sırası ile uygulandı.

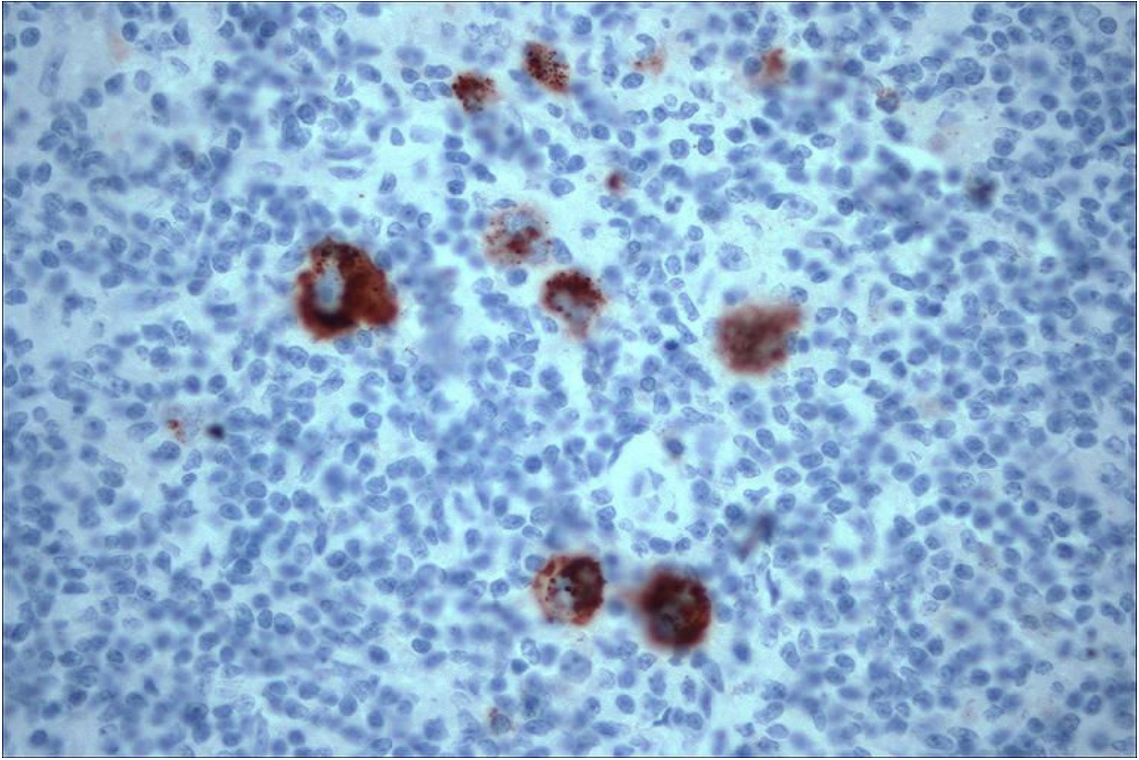
➤ **İmmunhistokimyasal Boyamanın Değerlendirilmesi**

HL tanısı için morfoloji yanında İHK'sal destek sağlandı. Burada temel alınan Klasik HL vakalarında RS hücrelerinin CD30 ve CD15 pozitif klasik fenotipi taşıması olmuştur. Ek olarak CD20 boyanması ve CD15 boyanmasındaki farklılıklar da belirtildiği şekilde kaydedildi.

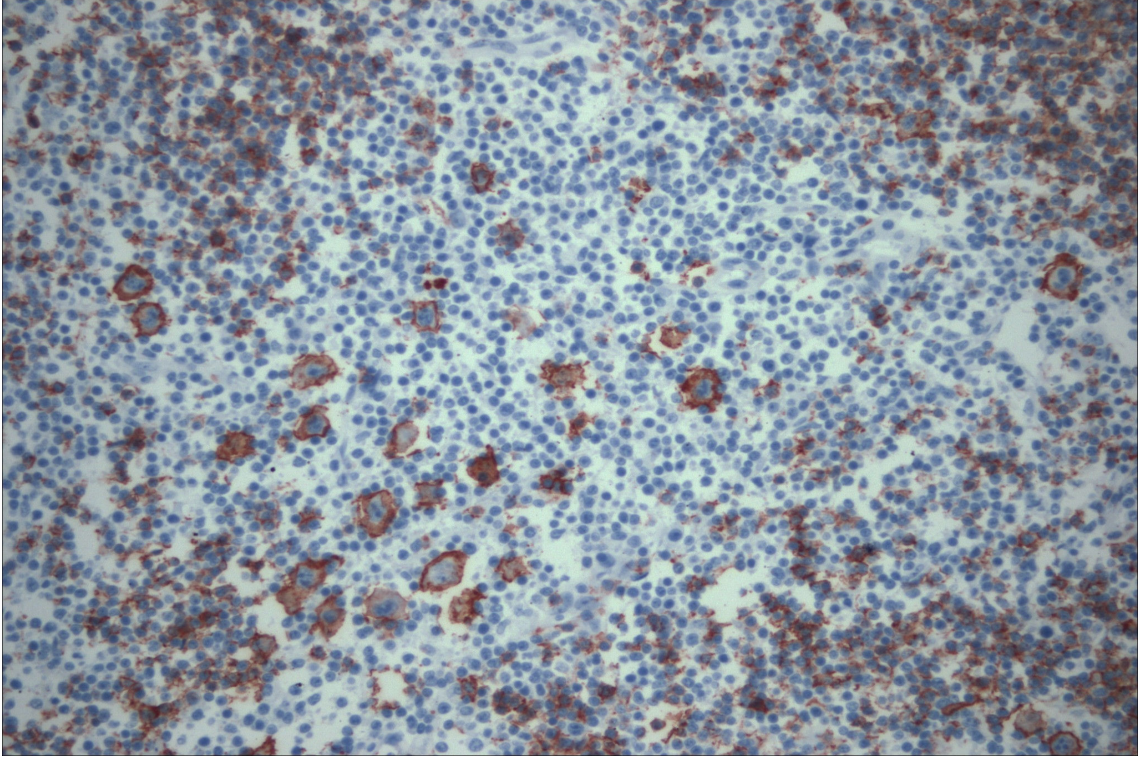
İHK'sal boyamalar HE boyalı lamlarda önce tanısal RS hücrelerinin saptanarak HL tanısının doğrulanması sonrasında iki patolog tarafından değerlendirildi. İHK değerlendirmede lamlarda RS hücrelerinin boyanmasının pozitif yada negatif oluşuna göre yapıldı. Tek bir H-RS hücresinde boyanma paterni saptanması pozitif olarak kabul edildi. Eş zamanlı sonuçlar excell verisi olarak kaydedildi.

Araştırmamızın konu ve amacını oluşturan İHK boyama ile değerlendirdiğimiz EBV, P53, Bcl-2, granzim, TIA-1 ve perforin pozitiflik durumu prognostik skalamada önemli olan 7 parametreden evre, anemi, hipoalbuminemi, lökositoz, kemik iliği pozitifliği, mediasten tutulumu ve bulky hastalık durumu ile karşılaştırıldı ve sonuçlar prognoz ve sağkalım değerlendirmesi için kaydedildi. İmmun belirteçler ve klinik parametreler arası ilişki Spearman Korelasyon testi ile değerlendirildi. Hastaların aldıkları kemoterapi protokolleri kaydedildi. Tedavide 48 olgu ABVD tedavisi alırken nüks eden 11 vakada tedaviye COPP, İEP, MOPP eklenmiş idi. Kemoterapiye ek olarak 54 vakaya tutulu alan RT'si uygulanmıştı. Tedaviye yanıt, remisyon, sağkalım, progresif hastalık durumu kaydedilerek bu belirteçlerin her bir değişkenle ilişkisi istatistiksel açıdan araştırıldı.

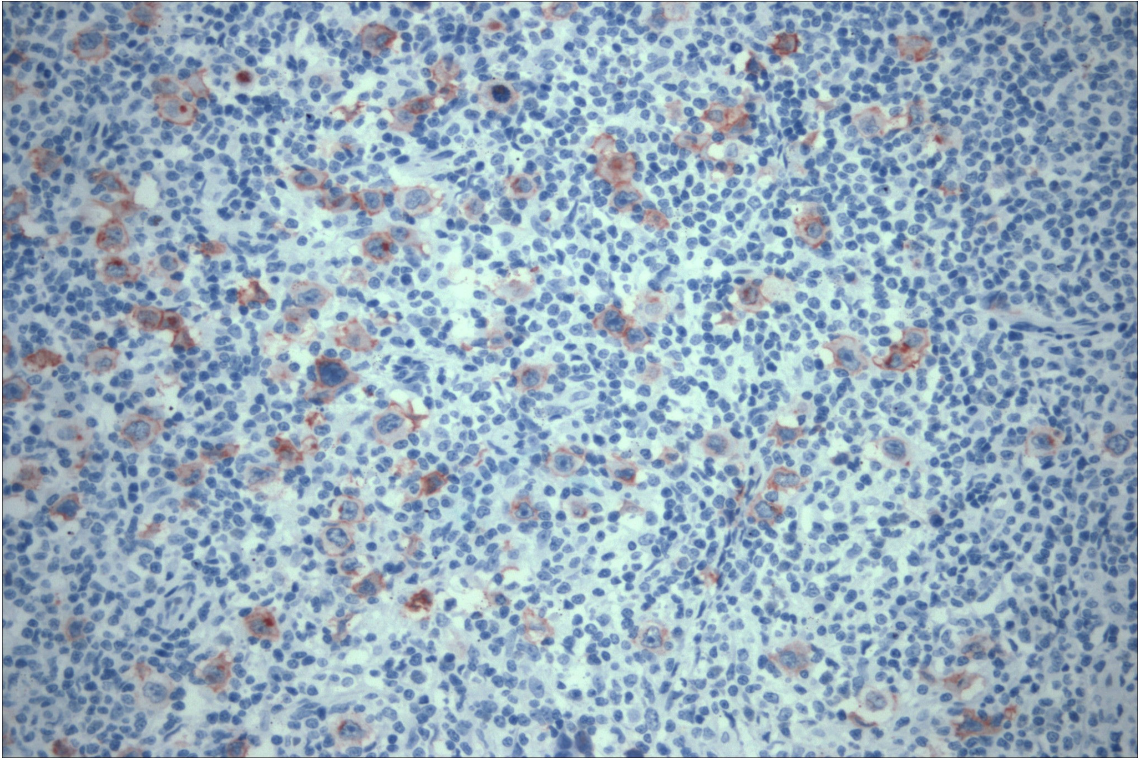
➤ **Olgularımızın İmmunhistokimyasal Boyama Örnekleri**



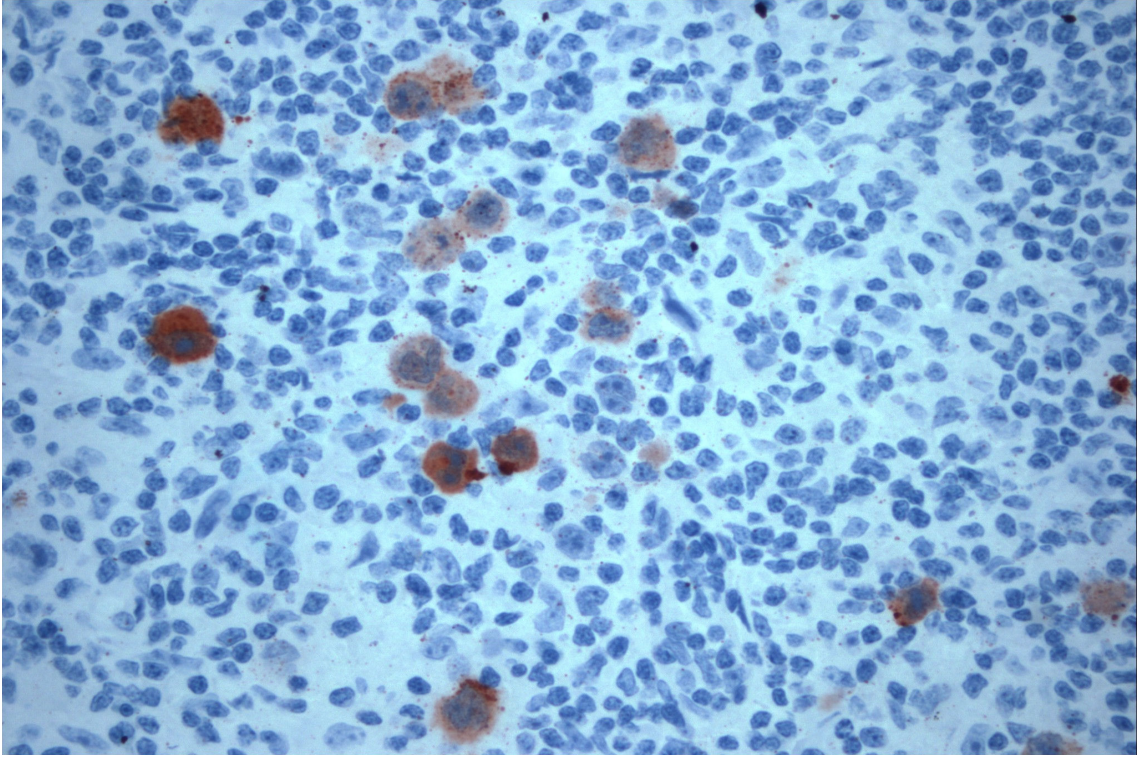
Resim 1: KHL. RS hücrelerinde CD15 aktivitesi (x400, CD15 immunhistokimyasal boyası, lenf düğümü eksizyonel biyopsisi)



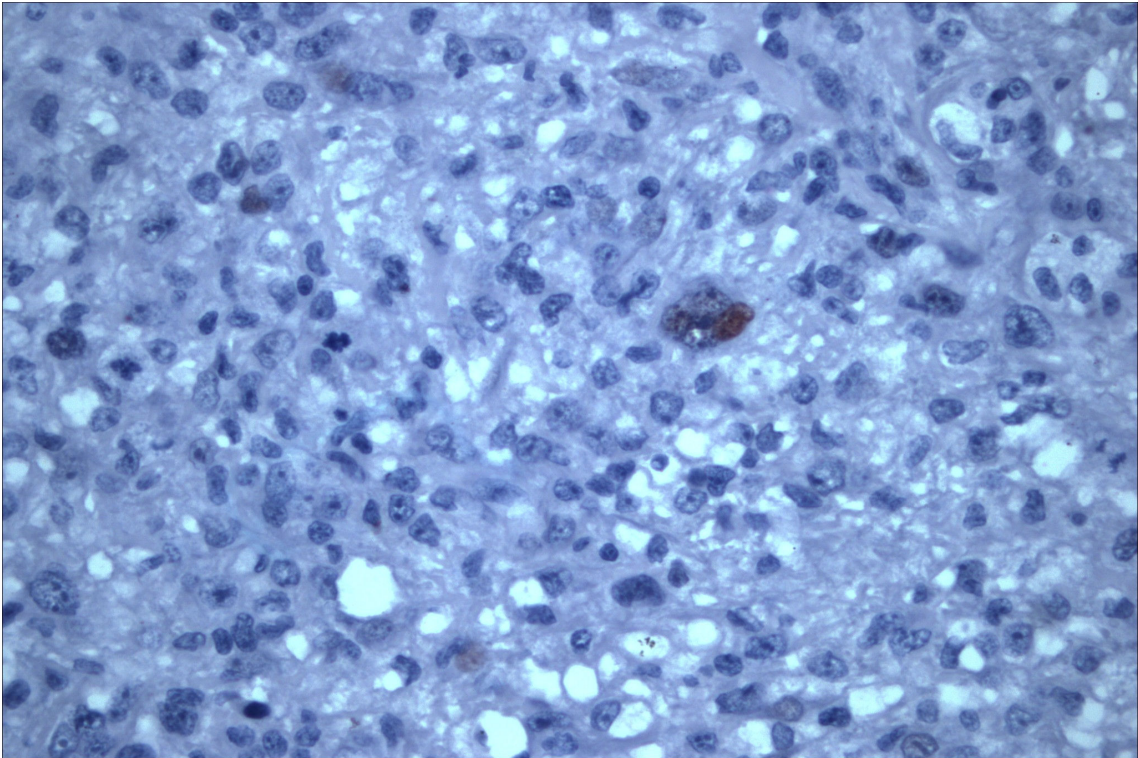
Resim 2 : KHL. RS Hücrelerinde CD20 boyanması (X200)



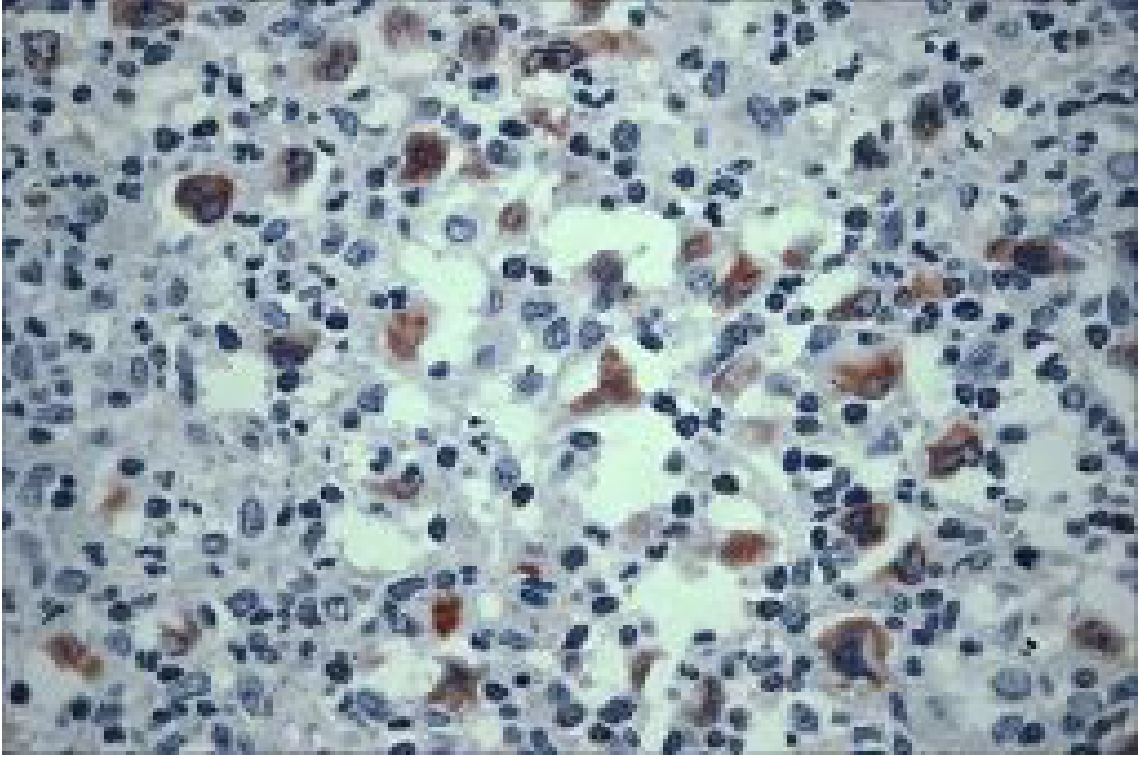
Resim 3: KHL. RS hücrelerinde CD30 ile boyanma (Eksizyonel lenf nodu)



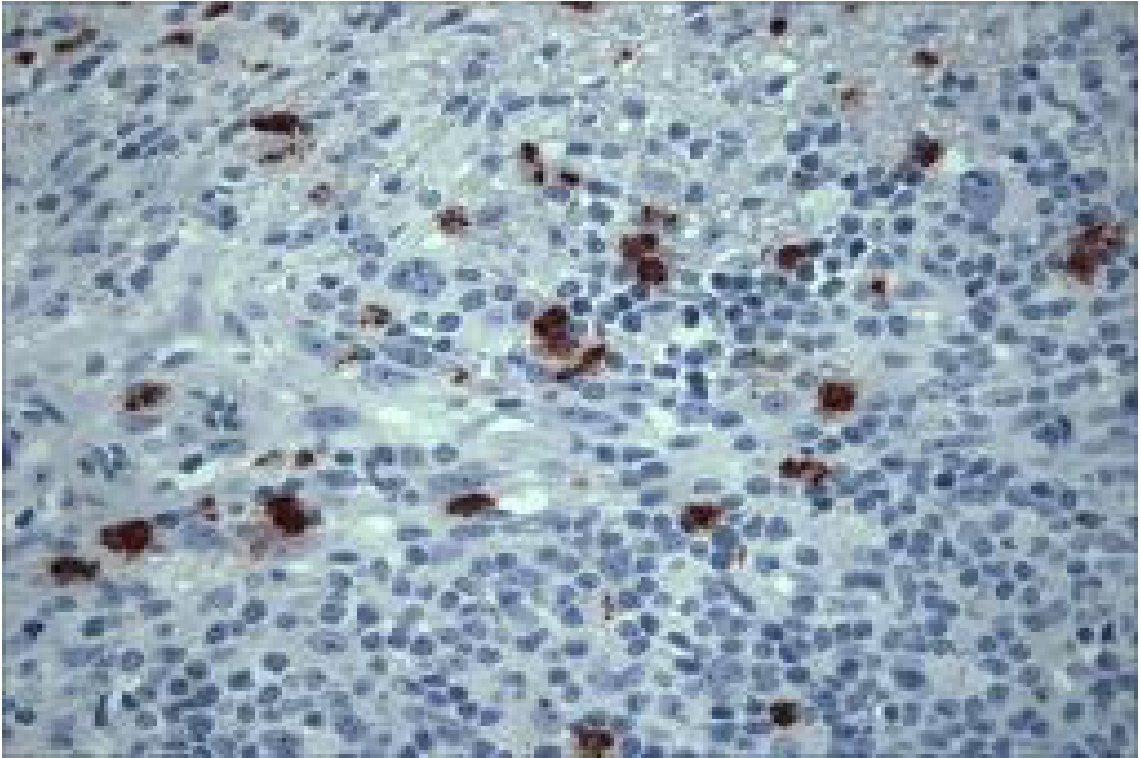
Resim 4: KHL. RS hücrelerinde EBV pozitif boyanma (x400, lenf nodu biyopsisi)



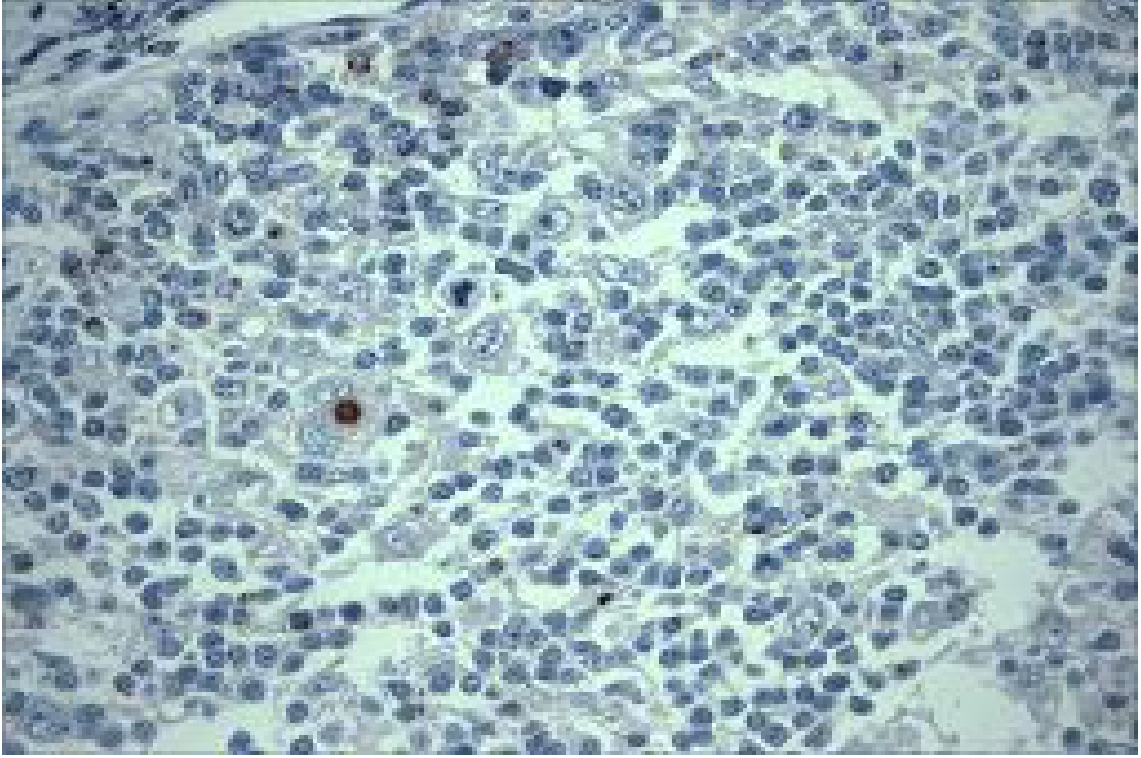
Resim 5: KHL. RS Hücrelerinde p53 pozitif boyanma (X400)



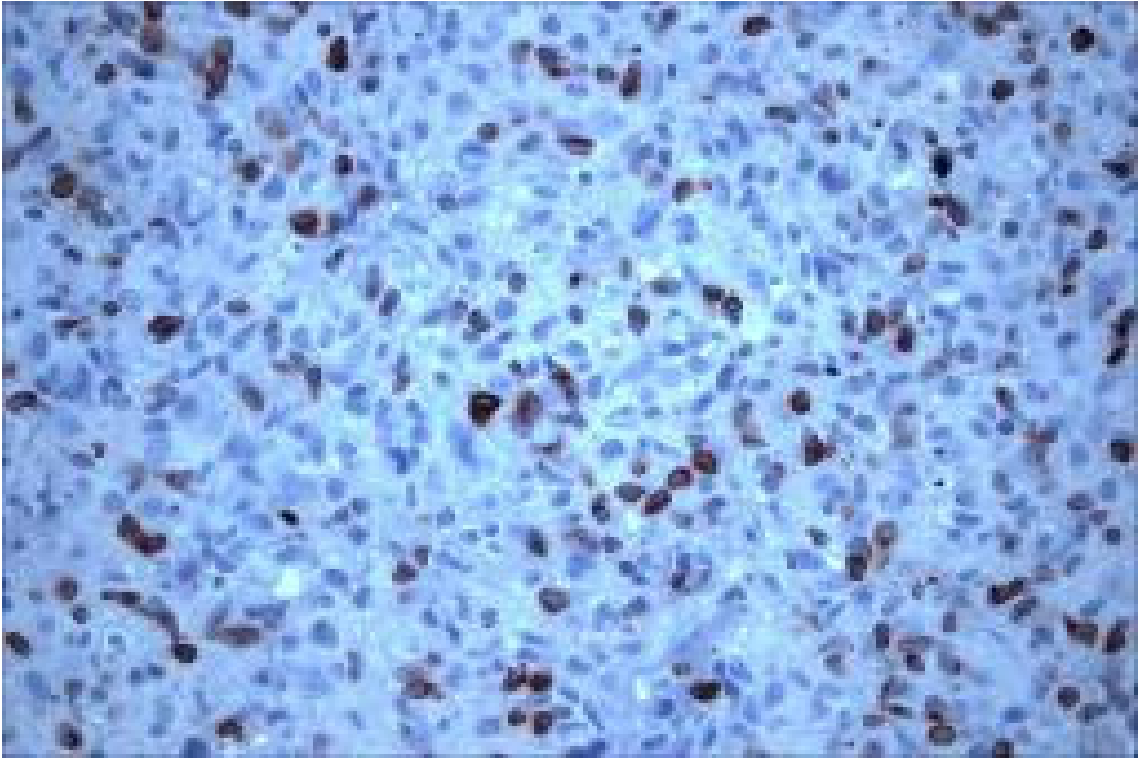
Resim 6:KHL. RS hücrelerinde bcl-2 boyanması (X400)



Resim 7: KHL. RS hücrelerinde granzim pozitif boyanma (X400)



Resim 8:KHL. RS hücrelerinde TİA pozitif boyanma (X400)



Resim 9: KHL. RS hücrelerinde perforin pozitif boyanma (X400)

➤ İstatiksel Veriler

Çalışmamızda kategorik verilerin karşılaştırmasında Pearson Ki Kare ve Fisher Exact testi, numerik verilerde Kruskal Wallis ve MannWitney-U testi kullanıldı. İmmun belirteçler ve klinik parametreler arası ilişkinin değerlendirmesinde Spearman korelasyon testi yapıldı. Sağkalım analizi için öncelikle Backward Step analizi ile sağkalım üzerine etkili faktörler araştırıldı sonra Kaplan Meier ve Cox Regresyon testi bu sonuçlarla kombine edildi. Sürvi karşılaştırması log rank analizi ile değerlendirildi. İstatistiklerde SPSS programı kullanıldı. Anlamlı fark olarak p değeri < 0.05 kabul edildi. Genel sağkalım: OS (Over all survival) değeri hastanın tanı tarihi ile son kontrol ya da ölüm tarihi arası, hastalıksız sağkalım: FFS (Failure free survival) değeri ise tanı tarihi ve herhangi bir zamanda progresyon, relaps yada herhangi bir sebepten ölüm varsa o tarihler arası süre olarak kayıt edildi.

➤ Bulgular

Çalışmadaki 58 hastanın cinsiyet, yaş, histolojik tip, evre, kemikiliği tutulumu, bulky hastalık, nüks ve hayatta olma durumu ile immun belirteçlerin boyanma özellikleri tablo 7’de özet şekilde verilmiştir.

Tablo 7: Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri

AD	C	Y	TİP	E	CD3	CD15	CD20	CD30	EBV	P53	BCL2	G	TiA1	P	Kİ	B	N	Ö
A.S	E	12	NS	IVA	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N	P	Y	V	E
A.G	E	9	MS	IVB	N	P	N	P	P	N	N	N	P	N	N	Y	V	Y
A.S	E	7	NS	IIIB	N	P	N	P	P	P	N	N	N	N	N	V	Y	Y
A.Y	E	12	NLZHL	IIA	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
A.D	E	13	NS	IIA	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	Y	Y	Y
A.T	K	5	NS	IIA	N	P	N	P	N	P	N	N	P	P	N	Y	Y	Y
B.A	E	3	MS	IIIB	N	P	N	P	P	P	N	N	N	N	N	Y	V	Y
B.İ	E	12	MS	IIA	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	Y	Y	Y
B.A	K	16	NS	IIA	N	P	N	P	N	P	N	N	N	N	N	V	Y	Y
C.Y	K	11	NS	IIA	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	Y	Y	Y
E.D	K	12	/	IIIB	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	V	E
E.P	K	8	MS	IIA	N	P	N	P	N	P	N	N	N	P	N	Y	Y	Y
E.B	E	7	NLZHL	IIIB	N	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
E.B	K	15	NS	IIIB	N	N	N	P	N	N	N	N	P	P	N	Y	V	Y
E.D	E	4	MS	IIIB	N	P	N	P	N	P	N	P	P	N	N	Y	Y	Y
F.B	E	11	MS	IA	N	P	P	P	P	P	N	P	P	N	N	Y	Y	Y
F.K	K	8	NS	IIA	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
G.K	K	10	NS	IIA	N	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
G.K	K	13	MS	IA	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N	N	Y	Y	Y
G.K	E	11	MS	IIIA	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
H.B	K	16	/	IVB	N	P	N	P	N	N	N	N	N	P	N	Y	V	Y
İ.S	E	8	NS	IIIB	N	P	P	P	P	P	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
İ.S	E	8	MS	IIA	N	P	N	P	N	N	N	P	P	P	N	Y	Y	Y
M.B	E	5	NS	IVA	N	P	N	P	P	P	N	N	N	N	P	Y	Y	Y
M.İ	K	6	NS	IIA	N	P	N	P	P	P	N	N	N	N	N	V	Y	Y
M.T	E	13	MS	IIA	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	Y	Y	Y
M.Y	K	16	NS	IIIA	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	V	E
M.A	K	8	NS	IVB	N	P	P	P	N	P	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
M.B	K	16	NS	IVB	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	P	Y	Y	Y
M.T	E	9	/	IIIB	N	P	N	P	P	N	N	N	N	P	N	Y	Y	Y
M.A	E	4	MS	IIIA	N	P	P	P	P	P	P	N	N	N	P	Y	Y	Y
M.İ	E	5	NS	IIIA	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N	N	Y	Y	Y
T.Ö	E	11	MS	IIIB	N	P	N	P	P	P	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
N.K	K	9	NS	IIIB	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
O.K	E	11	NS	IIIB	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	Y	V	E
Ö.A	K	14	NS	IIIB	N	P	N	P	N	P	N	N	N	N	N	Y	V	E
R.K	E	14	NS	IIIB	N	P	N	P	N	P	N	N	N	P	N	Y	Y	Y
R.D	K	12	MS	IVB	N	P	N	P	N	P	N	N	N	N	P	V	Y	Y
S.T	E	5	NS	IIA	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
S.A	E	11	NS	IIIB	N	P	N	P	N	P	N	N	N	N	P	Y	Y	E
S.C	K	6	LF	IIIB	N	P	N	P	P	N	N	N	N	N	P	Y	V	V
S.D	K	14	MS	IIA	N	P	N	P	P	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
S.T	E	13	NS	IVB	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
S.A	K	4	NS	IIIB	N	P	P	P	P	P	N	N	N	N	P	Y	Y	E
Ş.C	K	3	MS	IIIA	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N	N	Y	Y	Y
T.D	E	8	MS	IIA	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	Y	Y	Y
T.B	E	7	NLZHL	IIA	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
T.K	E	12	LZ	IIA	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
U.U	E	13	NS	IIIB	N	P	P	P	P	P	N	N	P	P	P	Y	Y	Y
U.P	E	5	MS	IIIB	N	P	N	P	P	P	N	N	N	N	P	N	Y	Y
U.Ş	E	11	MS	IIIA	N	P	N	P	N	P	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
Y.K	K	13	NS	IVA	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	V	Y	Y
Y.B	E	14	NS	IVB	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	P	Y	Y	Y
Y.K	E	8	LF	IIIB	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	N	Y	Y	Y
Z.A	K	15	NS	IVA	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	N	V	Y	Y
Z.K	K	16	NS	IIIA	N	P	N	P	N	N	P	N	N	N	N	Y	Y	Y
Z.T	K	6	MS	IIIB	N	P	N	P	P	P	N	N	N	N	N	Y	Y	Y
Z.T	K	7	NS	IIA	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	Y	V	E

C: Cins, **Y:** Yaş, **T:** Tip, **E:** Evre, **G:** Granzim, **P:** Perforin,
Kİ: Kemikiliği Tutulumu, **B:** Bulky, **N:** Nüks, **Ö:** Ölüm,
 / : Tiplendirilemedi. **P:** Pozitif, **N:** Negatif, **Y:** Yaşıyor, **E:** Exitus

Hodgkin Lenfomalı olguların epidemiyolojik, klinik özellikleri ve yaşam süreleri Tablo 8’ de özetlenmiştir.

Tablo 8: Hastaların Klinik Özellik ve Genel Sağkalımları

		N	%	YAŞAM SÜRESİ (AY)	P DEĞERİ
CİNSİYET	ERKEK	32	55	129	0.06
	KIZ	26	45	94	
YAŞ	0-10	28	48	122	0.27
	10-16	30	52	106	
HİSTOPATOLOJİK ALT TİP	NS	29	50	50	0.06
	KH	20	34	77	
	LZ	1	3	44	
	LF	2	3	42	
	NLZHL	3	5	47	
	tiplendirilemeyen	3	5		
EVRE	I-II	31	53	54	0.55
	III-IV	27	47	63	
B SEMPTOMU	A (B semptomu yok)	27	47	64	0.13
	B (B semptomu var)	31	53	51	
BULKY HASTALIK	Var	8	14	50	0.39
	Yok	50	86	60	
Kİ TUTULUMU	Var	10	17	104	0.35
	Yok	48	83	119	
MEDİASTEN TUTULUMU	Var	40	69	122	0.24
	Yok	18	31	89	
HİPOALBUMİNEMİ	Var	4	7	–	0.53
	Yok	54	93	115	
ANEMİ	Var	26	45	110	0.31
	Yok	32	55	121	

Hastaların 32'si erkek (%55), 26'sı kız (%45) olup, E /K oranı 1.12 idi. En küçük hasta 3, en büyük hastada 16 yaşındaydı ve median yaş onbir idi. Hastaların ortalama izlem süresi 55 ± 36 aydır. (İzlem aralığı: 21 ay-163 ay)

Toplam 58 olgunun 29'u (%50) Nodüler Skleroz, 20'si Karışık hücreli (%35), 2'si Lenfositten fakir, 1'i Lenfositten zengin ve 3'ü Nodüler lenfositten zengin alt tipte idi. 3 olgu tiplendirilemedi.

Hastaların % 53'ü evre I-II, %47'si evre III-IV olup, B semptomları %53 olguda pozitif idi.

Prognostik önemi olan diğer klinik parametrelerden mediasten tutulumu %69, bulky hastalık %14 ve kemik iliği tutulumu %17 oranında mevcuttu. Dört olguda hipoalbuminemi ve tanı anında 58 olgudan 26'sında anemi (% 45) saptandı.

Çalışmamızda kullanılan İmmun Belirteçler, pozitiflik oranları ve sağkalım ilişkileri Tablo 9' da özetlenmiştir.

Tablo 9: Reed Sternberg Hücrelerinde (RSH) İmmun Belirteçlerin Pozitiflik Oranları ve Sağkalım Süreleri

İMMUN BELİRTEÇ	POZİTİF (N)	NEGATİF (N)	POZİTİF (%)	YAŞAM SÜRESİ (AY)	P DEĞERİ
<u>CD15</u>	51	7	88	CD15+ : 115	0.003
<u>CD20</u>	11	47	19	CD20+ : 123	0.89
				CD20- : 115	
<u>CD30</u>	55	3	95	CD30+ : 116	0.67
<u>EBV</u>	20	38	35	EBV+ : 118	0.78
				EBV- : 114	
<u>p53</u>	39	19	67	P53+ : 124	0.33
				P53- : 105	
<u>bcl-2</u>	6	52	10	BCL-2 - : 114	0.47
<u>GRANZİM</u>	6	52	10	Granzim+ :25	0.0005
				Granzim- : 69	
<u>TİA-1</u>	21	37	36	TİA-1+ : 107	0.74
				TİA-1- : 118	
<u>PERFORİN</u>	6	52	10	Perforin- :114	0.29

Tablodan izlendiği şekilde RS hücrelerinde, immün belirteçlerden pozitiflik yüzdesi en yüksek olan % 95 oranla CD30' dur. Bu oranı sırası ile CD15 (%88), P53 (%67) ve TİA-1 (%36) takip etti. EBV pozitifliği %35 oranında saptandı. Granzim, bcl-2 ve perforin düşük oranlarda pozitif bulundu.

Tablo 10: İmmün Belirteçler Arası İlişki ve Spearman Korelasyon Testi

	CD30	CD15	CD20	EBV	P53	BCL-2	GRANZİM	TİA-1	PERFORİN
CD30	1,000	,630(**)	,483(**)	,169	,169	,079	,079	,176	,079
CD15	,630(**)	1,000	,361(**)	,157	,305(*)	-,048	-,048	,169	,126
CD20	,483(**)	,361(**)	1,000	,112	,057	-,020	-,020	-,090	-,020
EBV	,169	,157	,112	1,000	,197	-,008	-,127	,208	-,008
P53	,169	,305(*)	,057	,197	1,000	-,004	-,004	,220	,116
BCL-2	,079	-,048	-,020	-,008	-,004	1,000	,256	-,138	-,115
GRANZİM	,079	-,048	-,020	-,127	-,004	,256	1,000	,215	-,115
TİA-1	,176	,169	-,090	,208	,220	-,138	,215	1,000	-,020
PERFORİN	,079	,126	-,020	-,008	,116	-,115	-,115	-,020	1,000

Korelasyon ilişkisi “r” :

0-0.2: ilişki yok, **0.2-0.3:** zayıf ilişki, **0.3-0.4:** hafif ilişki,

0.4-0.6: orta ilişki, **0.6-0.8:** iyi ilişki, **0.8-1:** ileri derecede ilişki

Tablo 10’ da da görüldüğü üzere immün belirteçler arasında; TİA-1 ile p53, EBV ile TİA-1 , granzim ile TİA-1 ve granzim ile bcl-2 arasında zayıf düzeyde ilişki, CD15 ile p53 arasında ise hafif düzeyde ilişki saptandı.

Tablo 11: İmmün Belirteçlerin Klinik Parametrelerle İlişkisi ve Spearman Korelasyon Testi

	C	YAŞ	TİP	EVRE	ANEMİ	H.ALB	Kİ	B	B SEMPTOM	MEDİASTEN
CD15	,228	-,165	-,050	-,028	,121	-,108	,029	,148	-,079	,095
CD20	-,171	-,149	,001	-,012	,006	,215	,128	-,194	,078	,039
CD30	,211	,086	-,305	,105	,211	,064	,107	,093	,062	,180
P53	-,036	-,139	-1,84	,085	,038	,045	,221	,173	,062	,246
BCL-2	,035	,168	,086	,177	,149	-,092	,145	,192	-,090	,105
EBV	-,216	-,440	,091	,123	,148	,089	,245	,025	,123	-,062
GRA	-,079	,022	,077	-,064	-,079	-,092	-,155	,028	,023	-,017
TİA-1	-,030	-,034	-,171	-,139	-,030	-,205	,036	,115	-,128	-,037
PERF	,035	,034	-,029	-,064	-,192	-,092	-,005	-,136	,137	-,017

C: Cinsiyet, **H.Alb:** Hipoalbuminemi, **Kİ:** Kemik iliği tutulumu,

B: Bulky, **PERF:** Perforin, **GRA:** Granzim

Tablo 11' deki anlamlı sonuçlar özetlendiğinde, CD30'un cinsiyet ve anemi ile zayıf ilişkisi varken, p53 ile kemik iliği ve mediasten tutulumu arasında, TİA-1 ile de hipoalbuminemi arasında zayıf ilişki gözlemlendi. EBV ile cinsiyet ve kemik iliği tutulumu arası ilişki zayıf iken yaş ile EBV arasında orta derecede anlamlılıkta ilişki saptandı.

Beklendiği şekilde tanı belirteci olan CD15 (%88) ve CD30 (%95) HRS hücrelerinde yüksek oranda pozitif saptandı.

CD15 ve CD30'un negatifliği ile cinsiyet, yaş, evre, B semptomu ve bulky hastalık varlığı, anemi, kemik iliği ve mediasten tutulumu, hipoalbuminemi arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ($p>0.05$).

CD20'nin pozitiflik ve negatifliği cinsiyet, yaş, patolojik tip, evre, B semptom varlığı, Bulky hastalık durumu, anemi, kemik iliği ve mediasten tutulumu ve hipoalbuminemi varlığı gibi klinik parametrelerle karşılaştırıldığında arada anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

EBV pozitif 20 HL'li olgudan 14'ü on yaş altı iken (%70), kalan 6 vaka 10 yaş üzeri idi (%30). Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı idi ($p:0.02$). NS'de olguların 8'i (%28), KH'de olguların 10'u (%50) EBV pozitif idi. Diğer alt tiplerde pozitiflik oranları düşüktü. EBV pozitif olgular en sık KH (%50) tipte saptandı. EBV varlığı ile patolojik tip arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı ($p>0.05$).

Erken evre 31 olgudan 8'i (%26), geç evre 27 olgudan 12'si (%44) **EBV** pozitif idi. Geç evre olgularda daha yüksek oranda pozitiflik saptanmasına rağmen sonuç istatistiksel olarak anlamlı değil idi ($P:0.172$). EBV ve diğer klinik parametrelerin karşılaştırması istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

p53, %76 oranda NS, daha düşük oranda da KH tipte pozitif saptandı. P53, NS tipte daha yüksek oranda ifade ediliyordu. Bu sonuç istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0.05$). p53'ün diğer klinik parametrelerle karşılaştırmasında (B semptomu, bulky hastalık, anemi, mediasten, kemik iliği tutulumu, hipoalbuminemi) anlamlı sonuç bulunmadı ($p>0.05$).

bcl-2, HL'li 6 olguda pozitif idi. İki (%34) on yaş altı, diğerleri (%66) on yaş üzeri olgular idi. On yaş üzeri grupta yaklaşık 2 kat daha fazla pozitiflik saptanmasına rağmen, bcl-2 pozitif olgu sayısı az olduğu için fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Bcl-2 erken evrede 31 olgudan 1'inde (%3), geç evrede 27 olgudan 5'inde (%19) pozitif saptandı. Geç evrede bcl-2 pozitifliği, 6 kat daha sık görünüyordu. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı olmasa da anlamlılığa yakındı ($p(0.08)$). Diğer klinik parametreler ile **bcl-2** arasında anlamlı ilişki yoktu ($p>0.05$).

Granzim , erken evrede 31 hastadan 4'ünde (%13), geç evrede 27 olgudan 2'sinde (%7) pozitif idi. Erken evre olgularda yaklaşık 2 kat daha sık pozitiflik saptanırken aradaki ilişki anlamlı değildi ($p>0.05$). Granzim ve diğer klinik parametreler arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

TİA-1 ve oldukça az sayıda hastada pozitif saptanan **perforinin** tüm klinik parametrelerle karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmadı ($p>0.05$)

Anemi, erken evre olguların %23'ünde, geç evre olguların ise %71'inde tanı anında saptanmıştı. Bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak da anlamlı idi ($p:0.01$).

Evre ile hipoalbuminemi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. Albümin düşüklüğü sıklıkla ileri evre olgularda saptanıyordu ($p:0.04$).

Erken evre olguların 17'si (%55), geç evre olguların 23'ü (%85) mediasten tutulumuna sahipti. Mediasten tutulumu evre ile ilişkili idi, ileri evre olgularda daha sık tutulum saptanıyordu ($p:0.02$).

- **Yüksek pozitiflik saptanan immün belirteçlerin ikili olarak sağkalım süreleri açısından karşılaştırılması**

Tablo 12: EBV- p53 Sağkalım İlişkisi

P53	EBV	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	54	15	43
	P	73	4	25
	Toplam	58	19	40
P	N	54	23	29
	P	65	16	41
	Toplam	58	39	35
Toplam	N	54	38	35
	P	66	20	38
	Toplam	58	58	36

N:Negatif, P: Pozitif

Genel yaşam süresi, EBV ve p53 birlikte pozitif saptanan hastalarda 65 ay, ikisinin birlikte negatif olduğu olgularda 54 ay, EBV pozitif p53 negatif olgularda 73 ay, EBV negatif p53 pozitif olgularda ise 54 ay idi. En uzun yaşam süresi EBV pozitif ve p53 negatif olan hastalarda idi. İkinci sırada en iyi sağkalım sonucu 65 ay ile EBV ve p53'ün birlikte pozitif olduğu olgularda görüldü. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 13: Bcl-2 Perforin Sağkalım İlişkisi

bcl-2	PERFORIN	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	60	46	36
	P	56	6	26
	Toplam	60	52	35
P	N	43	6	48
	Toplam	43	6	48
Toplam	N	58	52	37
	P	56	6	26
	Toplam	58	58	36

N: Negatif , P: Pozitif

Bcl-2 pozitif, perforin negatif olgularda sağkalım 43 ay, Bcl-2 ve perforin birlikte negatif olgularda 60 ay ,Perforin pozitif ve bcl-2 negatif olgular ise 56 ay idi.Sağkalım süresi en düşük olan bcl-2 pozitif perforin negatif olgulardı.

Tablo 14: CD15-p53 Sağkalım İlişkisi

CD15	p53	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	27	5	29
	P	46	2	31
	Toplam	33	7	29
P	N	69	14	39
	P	59	37	35
	Toplam	62	51	36
Toplam	N	58	19	40
	P	58	39	35
	Toplam	58	58	36

N: Negatif , P: Pozitif

CD15 pozitif olgularda her koşulda yaşam süresi daha uzundu. Özellikle de CD15 pozitif p53 negatif olgularda (69 ay) yaşam süresi en uzundu. En düşük yaşam süresi CD15 ve p53'ün birlikte negatif olduğu olgularda idi (27 ay).

Tablo 15: CD20-p53 Sağkalım İlişkisi

CD20	p53	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	64	16	39
	P	62	31	33
	Toplam	62	47	35
P	N	26	3	36
	P	45	8	39
	Toplam	40	11	38
Toplam	N	58	19	40
	P	58	39	35
	Toplam	58	58	36

N: Negatif , P: Pozitif

En düşük yaşam süresi CD20 pozitif ve p53 negatif olgularda iken (26 ay), en uzun sağkalım CD20 ve p53'ün birlikte negatif olduğu hastalardaydı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 16: CD20-EBV Sağkalım İlişkisi

CD20	EBV	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	58	32	35
	P	71	15	34
	Toplam	62	47	35
P	N	29	6	24
	P	53	5	50
	Toplam	40	11	38
Toplam	N	54	38	35
	P	66	20	38
	Toplam	58	58	36

N: Negatif , P: Pozitif

EBV pozitif ve CD20 negatif olgular en uzun yaşam süresine (71 ay) sahip grup idi. Sağkalımın en düşük olduğu hastalar EBV'nin negatif ve CD20'nin pozitif olduğu olgulardı (29 ay). Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Tablo 17: p53- bcl-2 Sağkalım İlişkisi

BCL2	P53	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	61	17	41
	P	59	35	32
	Toplam	60	52	35
P	N	32	2	24
	P	48	4	60
	Toplam	43	6	48
Toplam	N	58	19	40
	P	58	39	35
	Toplam	58	58	36

N: Negatif , P: Pozitif

Bcl-2 ve perforinin birlikte negatif olduğu olgularda sağkalım 61 ay iken bu süre bcl-2 pozitif ve p53 negatif olgularda 32 ay idi.

Tablo 18: CD15- Granzim Sağkalım İlişkisi

GRANZİM	CD15	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	37	6	29
	P	65	46	35
	Toplam	62	52	36
P	N	10	1	.
	P	28	5	27
	Toplam	25	6	25
Toplam	N	32	7	29
	P	62	51	36
	Toplam	58	58	36

N: Negatif , P: Pozitif

En uzun yaşam süresi CD15'in pozitif ve granzimin negatif olduğu olgularda (65 ay) iken, CD15 negatif olgularda sağkalım azalıyordu. Özellikle de granzim pozitifliği CD15 negatifliğine eşlik edince sağkalım azalmaktaydı (10 ay).

Tablo 19: TİA-1 Granzim Sağkalım İlişkisi

TİA-1	GRANZİM	GENEL SAĞKALIM (ay)	N	STANDARD SAPMA
N	N	64	35	38
	P	16	2	4
	Toplam	62	37	39
P	N	57	17	30
	P	30	4	31
	Toplam	52	21	31
Toplam	N	62	52	36
	P	25	6	25
	Toplam	58	58	36

N: Negatif , P: Pozitif

TİA-1 ve granzimin negatif olduğu olgularda sağkalım (64 ay), ikisininde pozitif olduğu olgulara göre (30 ay) daha uzundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

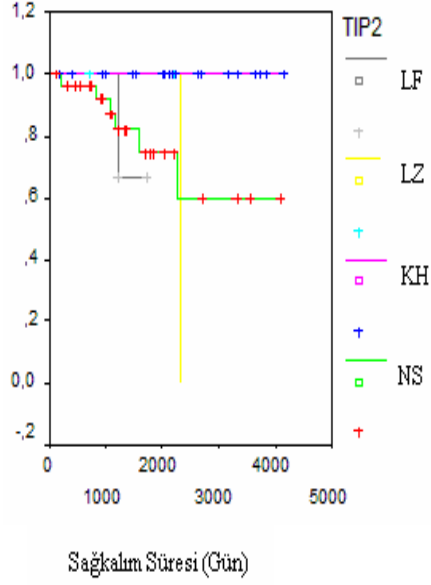
Sağkalım

- Klinik Parametreler ve Sağkalım İlişkisi**

Hodgkin Lenfomalı hastalarda klinik parametrelere göre sağkalım sürelerine ait bilgi Tablo 8’de verilmiştir.

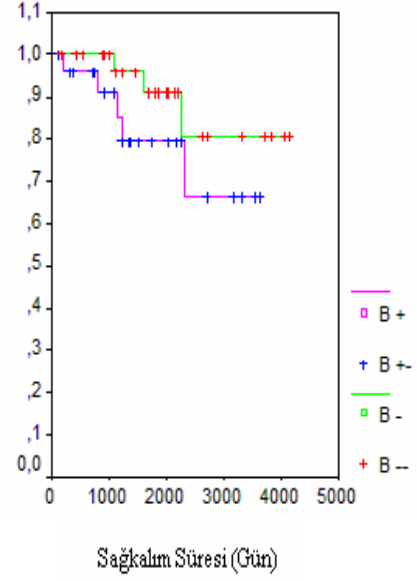
Yaşam sürelerine cinsiyet açısından bakıldığında erkek hastalarda yaşam süresi (median 129 ay) kızlara göre (median 94 ay) daha uzun olup aradaki fark istatistik açıdan anlamlılık sınırındaydı ($p:0.06$).

Yaşam süreleri histolojik alt tip açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında yaşam süreleri açısından istatistiksel anlamlılık saptanmadı. En uzun yaşam süresi KH tipte gözlendi (77 ay, $p > 0.05$) .



Grafik 1: Patolojik alt tip ve sağkalım ilişkisi

Mavi - Pembe: Karışık Hücreli Tip
Kırmızı - Yeşil: Nodüler Skleroz Tip



Grafik 2: B semptom pozitifliği ve sağkalım ilişkisi

Mavi - Pembe: B Semptom Pozitif
Kırmızı - Yeşil: B Semptom Negatif

Yaş, evre, B semptomu ve bulky hastalık varlığı, anemi, kemik iliği ve mediasten tutulumu ile hipoalbuminemi istatistiksel olarak sağkalım üzerine etkili faktörler olarak saptanmadılar ($p > 0.05$).

HL tanılı 58 hastanın 8'i tanıdan sonraki ortalama 41 ay içinde kaybedildi (7ay-86 ay). Kaybedilen hastaların 6' sı NS, diğer ikisi lenfositten fakir ve tiplendirilemeyen grupta idi. Karışık hücreli alt tip tanısı alan hastalar içinde kaybedilen hasta olmadı.

Tablo 20: Nüks Olguların Özellikleri

NÜKS OLGULAR	YAŞ	CİNSİYET	TİP	EVRE	OS/ay	FFS/ay	SON DURUM
M.Y	16	K	NS	IIA	36	17	E
Z.T	7	K	NS	IIA	86	86	E
Ö.D	14	K	NS	IIB	24	19	E
O.K	11	E	NS	IIB	39	12	E
E.B	15	K	NS	IIB	12	9	Y
S.C	6	K	LF	IIIB	39	39	E
E.D	12	K	/	IIIB	41	13	E
B.B	3	E	KH	IIIB	111	108	Y
A.S	12	E	NS	IVA	60	7	E
A.G	9	E	KH	IVB	158	11	Y
H.B	16	K	/	IVB	41	12	Y

NS:Nodüler Skleroz, **KH:** Karışık Hücreli, **LF:** Lenfositten Fakir, **/:** Tiplendirilemeyen

OS: Genel Sağkalım, **FFS:** Hastalıksız sağkalım, **E:** exitus, **Y:** yaşıyor

Nüks 11 vakada saptanmış olup 7'si kız, 4'ü erkekti. En kısa nüks süresi tanıdan sonra 7 ay idi, sağkalım süresi 60 ay idi ve nüksten 8 ay sonra remisyona saptanan hasta progresif hastalık sebebi ile kaybedildi. En geç nüks eden olguda nüks süresi 108 ay olup sağkalım süresi 111 ay idi. Median nüks süresi 13 ay olup 3 olgu iki kez nüks etti, 1'i kaybedildi. Tüm hasta kayıplarının nüks sonrası olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p:0.001$).

Onbir nüks olgusundan sadece birinde remisyona sağlanabildi (%9). Bu olguda remisyondan 102 ay sonra nüks gelişti ve 2.ci remisyona ve sağkalım bilgileri hasta takibi olmadığı için değerlendirilemedi. Remisyona elde edilemeyen 11olgudan 3'ü hastalık progresyonu ile kaybedildi.

Nüks saptanan (median 40 ay)ve saptanmayan (median 55 ay)grupların sağkalım süreleri arasındaki fark anlamlı bulundu (Log Rank $p<0.05$).

Nüks ile ilişkili parametreler istatistiksel olarak cinsiyet, B semptomu varlığı, p53 olarak saptandı.

Cinsiyet ile nüks arasında sınırda anlamlılık saptandı ($p:0.088$). Kızlarda (%67) erkeklerden (%33) 2 kat daha sık nüks saptanıyordu.

B semptomu olanlarda nüks %33 oranında gözlenirken , B semptomu olmayanlarda bu oran %10'du ve aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p<0.05$).

P53 pozitif hastalarda nüks yüzdesi %12 iken p53 negatif hastalarda %32 idi. P53 negatif olgularda anlamlı olarak 3 kat daha sık nüks saptanıyordu ($p:0.03$).

• İmmun Belirteçler ve Sağkalım İlişkisi

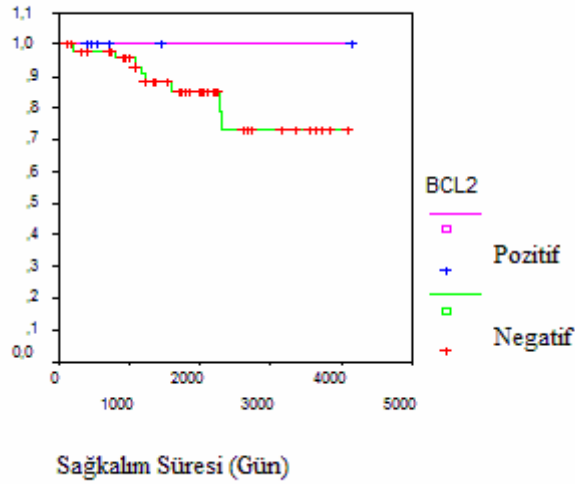
Hodgkin Lenfomalı hastalarda immün belirteçlerin pozitiflik ve negatiflik durumuna göre sağkalım süreleri Tablo 9'da verilmiştir.

RSH'lerde CD15'in pozitifliği (115 ay) sağkalım üzerine anlamlı saptanırken ($p:0.003$), CD20 ve CD30 pozitifliğinin sağkalım üzerine anlamlı etkisi bulunmadı ($p>0.05$).

EBV pozitif olguların sağkalım süresi (118 ay), EBV negatif olguların sağkalım süresi ile karşılaştırıldığında (114 ay) aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p:0.78$).

RSH'lerde P53 pozitif saptanan hastalarda (124 ay) sağkalım süresi ,negatif saptanan olgulardan (105 ay) daha uzun olmakla birlikte bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$).

RSH'lerde Bcl-2 az sayıda olguda ($n=6$) pozitif bulundu ve pozitifliği sağkalımda etkili bir faktör olarak saptanmadı ($p > 0.05$).



Grafik 3: bcl-2 ve sağkalım ilişkisi

Mavi - Pembe: BCL-2 Pozitif

Kırmızı - Yeşil: BCL-2 Negatif

Granzim RSH'lerde %10 oranında pozitif saptanıp bu olgularda sağkalım süresi (25 ay), negatif saptanan olgulardan (69 ay) anlamı olarak daha kısa idi ($p:0.0005$).

RSH'lerde TIA-1 pozitifliği sağkalım süresini azaltıyordu ancak TIA-1 pozitif olgularla (107 ay), negatif olguların (118 ay) sağkalım süreleri kıyaslandığında anlamlı fark bulunmadı ($p:0.74$).

Perforinin RSH'lerde pozitif ya da negatif olmasının (114 ay) sağkalım üzerine anlamlı etkisi yoktu ($p:0.29$).

TARTIŞMA

Tüm kanserlerin %1' ini, çocukluk çağı lenfomalarının %40'ını oluşturan Hodgkin Lenfoma birden fazla etiyolojik ajan tarafından oluşturulan heterojen bir hastalıktır (58,123). Patogenezi, etiyolojisi ve klinik gidişinde etkili faktörleri araştırmak için, özellikle erişkin yaş gruplarında, çok sayıda çalışma yapılmıştır. Pediatrik Hodgkin hastalarında etiyolojiyi aydınlatacak, tedaviye yanıt, prognoz ve sağkalımın değerlendirilmesinde yardımcı olabilecek immun belirteç, protoonkogen ve EBV gibi prognostik değeri olan tetkikleri içeren araştırmalar az sayıdadır. Bu amaçla araştırmamızda Hodgkin lenfomada prognoza etkili olması beklenen belirteçler immunhistokimyasal olarak çalışılmıştır.

1977-2007 yılları arasında kliniğimizde 192 Hodgkin lenfoma hastası kayıtlı olmakla birlikte 1995 öncesi hastalar takip yetersizliği nedeniyle elenmiş, çalışmamız 1995-2007 yılları arasında izlenen ve takipleri tam olan 76 hasta ile sınırlandırılmıştır. Ancak bu hastaların da 18'i patoloji arşivinde blok bulunamadığından çalışma dışı bırakılmış ve çalışma grubu 58 hastaya inmiştir. Bu kayıplar nedeniyle çalışma grubu demografik veriler açısından 192 hastalık gruba karşılaştırılmış ve önemli farklar saptanmamıştır. Çalışmadaki olgular geniş serimizin epidemiyolojik özelliklerini yansıtmakla birlikte olgu sayısının az olmasının istatistiksel anlamlılığı etkilediği bir gerçektir.

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde HL, görülme sıklığı dışında yaş, cinsiyet, histolojik alt tip ve evre yönünden tanımlanabilecek farklılıklara sahiptir.

HL'de genellikle erkek hakimiyeti söz konusudur ve E/K oranı gelişmiş ülkelerde 1.4 olarak bildirilmekle birlikte (124) bu oran gelişmekte olan ülkelerde 3.2'dir (125).

1977 ve 2007 yılları arasını kapsayan 192 hastalık Cerrahpaşa Pediatri serimizde ortalama yaş 8 ve E/K oranı 1.3'tür (110 E, 82 K). Araştırmamızda olgularımızın cinsiyet ve yaş dağılımı incelendiğinde, 32'si erkek (%55), 26'sı kız (%45) olup, E /K oranı 1.12'dir. En küçük hasta 3, en büyük hasta 16 yaşında olup median yaş onbirdir. Yurdumuzda ise kapsamlı çalışmaları olan Çavdar ve ark.nın (126) 175 olguluk serisinde hastaların %75'i ilk on yaşta yer almaktadır ve %76'sı erkektir (133 E,42 K) .

HL'de dermografik özellikler açısından genel dağılıma yakın sonuçlar vermesi beklenen çok merkezli Avrupa Hodgkin Çalışmasında toplam 578 vaka değerlendirilmiştir. Bu hastaların 319'u erkek, 259'u kız (E/K oranı 1.2) olup ortalama yaş 12 dir (127-129). Mısır'dan El Naga ve ark.(130) serisinde ise ortalama yaş 8, E/K 3.9 bulunmuştur.

Türkiye'de geniş hasta grubu üzerinde yapılan çalışmalarda diğer gelişmekte olan ülkelere benzer şekilde, erken yaş, erkek cinsiyet hakimiyeti söz konusudur (26,131).

Gerek araştırma grubu gerekse 192 hastalık grubumuzda hastaların cinsiyet dağılımı Avrupa serilerine benzer şekilde ise de yaş ortalaması Avrupa ve Amerika verilerinden düşüktür (128,129).

Türkiye ve Mısır sonuçları birlikte değerlendirildiğinde izlenen erken çocukluk pikinin sosyoekonomik durumla ilişkili olarak viral enfeksiyonla daha erken yaşta tanıma ve kalabalık ailelerde erken sosyalleşmenin etkisini akla getirmektedir.

Bu serilerde erkek çocukların daha fazla görülmesi gelenekler gereği erkek çocukların daha erken ve sık doktora götürülmesi nedeni ile olabilir.

Hodgkin Lenfoma'nın histolojik alt tipleri değişik coğrafi bölgeler ve sosyoekonomik koşullara bağlı olarak belirgin farklılıklar gösterir.

Gelişmiş ülkelerde en fazla görülen Nodüler Sklerozan tip (%80) iken karışık hücreli HL' nin görülme sıklığı %15-20 arasındadır (132). Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde HL erken çocukluk döneminde pik yapmakta ve karışık hücreli tip ön plana çıkmaktadır.

Çalışma hastalarında en sık NS (%50) görülürken bunu ikinci sıklıkta karışık hücreli (%35) tip izlemiştir.

Türkiye'den Çavdar ve ark. (28) serisinde ise karışık hücreli tip ilk sırada yer almaktadır (%60). NS ve LZ tip birbirine yakın oranlarda görülüp sıklık açısından karışık hücreli tipi takip etmektedir. Cerrahpaşa Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalının 192 hastalık serisinde 1980 öncesi yıllarda karışık hücreli tip hakim iken özellikle 1990 sonrasında NS tip hakimiyeti ön plana çıkmıştır (31).

Güney Amerika ülke örneklerinden Matteo ve ark.nın çalışmasında (133) karışık hücreli tip (%52) en sık gözlenen patolojik alt tiptir.

Özetle gelişmekte olan ülkelerin verilerinde karışık hücreli tipin egemenliği ön plana çıkmaktadır. Amerika ve Batı Avrupa’da ön plana çıkan NS tip ise gelişmekte olan ülkelere daha az sıklıkta görülmektedir (123,134,135).

Serimizde karışık hücreli tip sıklığının nodüler skerozan tip lehine azalışı ülkemizde sosyoekonomik durumda düzelme ve gelişmişlik artışı ile açıklanabilir. İkinci bir neden ise karışık hücreli tipin nodüler tipten ayrımında histopatolojik materyal takip ve kesitlerindeki teknik düzelmeye bağlı yanlış tanıların düzelmesi ve son biyopsilerin hematopatolog tarafından değerlendirmesi olabilir.

Genelde HL’de olguların %60-70 kadarı erken evrede tanı almaktadır B semptomları HL’de %20-40 arasında saptanmaktadır (25,136,137).

Çalışmamızda hastaların % 53’ü erken , %47’si geç evrede olup, B semptomları %53 olguda pozitifdir. Bu veriler 192 hastaya ait verilerle karşılaştırıldığında olguların %56’sı mevcut çalışmamızdaki gibi erken evrede olduğu halde B semptom sıklığı daha düşük (%36) bulunmuştur (31). Ülkemizde Çavdar ve ark.nın serisinde (28) vakaların %35’i erken, %65’i geç evrededir. Aynı çalışmada B semptomu %35 oranında gözlenmiştir. Genelde karışık hücreli alt tip ileri evrelerde tespit edilmekte ve gelişmekte olan ülkelere bu durum daha sık saptanmaktadır. Sosyoekonomik faktörler bir çok yerde olduğu gibi geç tanı almada da bir etkidir. Özellikle gelişmekte olan ülkelere düşük sosyoekonomik nedenlerden dolayı geç başvuru ve azalmış sağlık hizmetlerinin etkisinden bahsedilebilir. Bizim hastalarımızda B semptomlarının varlığının diğer serilere oranla fazla olması (%53) hastaların erken hekime başvurmasına ve erken evrelerde tanı almalarına neden olmuş olabilir.

Günümüzde çalışmalar Hodgkin lenfomada RS hücrelerinin sıklıkla EBV ile latent olarak enfekte olduğunu ve EBV tarafından kodlanan viral protein LMP-1 içerdiğini göstermektedir (45,138). Gelişmiş ülkelere olguların yaklaşık %30-50’si EBV ile ilişkili iken bu oran gelişmekte olan ülkelere %80-90’lara varmaktadır (138-140). Epstein Barr Virüsü öncelikle malign Hodgkin hücrelerine yerleşmekte ve bu hücreler klonal özellik göstererek çoğalmaktadır (141,142). EBV ilişkili Hodgkin lenfomanın sıklığı yaş, cinsiyet, etnik özellikler, histopatolojik alt tip ve sosyoekonomik düzeyle ilişkili olarak değişiklikler göstermektedir ve toplumlar arasında epidemiyolojik özelliklerine göre farklılıklar tespit edilmektedir (136). 1985 yılından itibaren yapılan çalışmalar, sağlıklı Türk çocuklarının EBV enfeksiyonunu küçük yaşlarda asemptomatik olarak geçirdiğini göstermektedir. Türkiye’den yapılan ve Hodgkin Lenfomalı pediatrik hastalar ve normal sağlıklı çocuklarda EBV

antikorlarını (EBV Ig G) serolojik olarak değerlendiren bir çalışmada hastalık öncesinde EBV enfeksiyonunu geçirme oranı %90'ların üzerinde iken bu oran sağlıklı çocuklarda %72 olarak saptanmıştır. Aradaki fark istatistik olarak anlamlı olduğundan EBV enfeksiyonunun Hodgkin lenfomanın etiyolojisindeki yerini vurgulaması açısından önemlidir (126,143,144).

RSH' lerin EBV ile enfekte olduğunu gösteren yöntemler içinde İHK ile LMP-1 ekspresyonunun gösterilmesi kolay, ucuz ve hızlı bir yoldur. Ancak sadece bu yöntemin kullanılması bazı vakaların atlanmasına neden olabilir. Daha hassas ve güvenilir olan diğer bir yöntem ise insitu hibridizasyon ile EBV erken RNA (EBER) antijeni bakılmasıdır (146).

1997 yılında Malezya'da Asya popülasyonuna ait bir çok etnik grubu içeren çalışmada, 100 olgunun 34'ü çocuktur ve RSH' lerde EBV varlığına hem RNA insitu hibridizasyon (EBER) hemde immunhistokimyasal yöntemle (LMP-1 ekspresyonu) bakılmıştır. Neticede RS hücrelerinde EBV pozitifliği çocuk hastalarda %93 oranda saptanmıştır. EBER ile (81 olgunun 40'ı) %50, LMP-1 ile (57 olgunun 22'si) % 40 oranında EBV pozitifliği saptanılmıştır ancak çalışmada çocuk hastaların oranları ayrı olarak verilmemektedir. Her iki yöntemin de duyarlılığı birbirine yakın görünmektedir. İnsitu hibridizasyon ve immunhistokimyasal yöntem birlikte çalışıldığında EBV pozitif olgu sayısı artmaktadır ancak aradaki fark istatistiksel anlamlılığı etkilememektedir.

RSH' lerde EBV LMP-1 ve EBER'in birlikte kullanıldığı araştırmalarda EBV pozitifliği (%20-85) ülkelerin epidemiyolojik özelliklere göre değişen oranlarda saptanmaktadır. EBER gerekli durumlarda tek başına LMP ile elde edilen sonuçları daha anlamlı kılmak ve duyarlılığı arttırmak için kullanılabilir (143-145,147-149).

Hindistan'da 100 olguluk bir çalışmada sadece immuhistokimyasal yöntem kullanılarak RSH' lerde EBV LMP-1 pozitifliği %96 oranında ülkemize yakın oranda bulunmuştur (150).

EBV ile ilişkili HL sıklığı farklı ülkelerde %27 (İsveç) ile %100 (Kenya) arasında değişiklik göstermektedir. Literatürde bildirilen ortalama oran %40-60'dır (43,151-153). Güney Amerika, Afrika ve Hindistan gibi gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelere (%92-94) EBV pozitiflik oranı yüksek oranlarda iken tam tersi durumda gelişmiş ülkelere RS hücrelerinde EBV pozitiflik oranı (%40-50) daha düşük saptanmaktadır (153,154).

Claviez ve ark.nın batı örneğine ait serisinde (138) EBV %48 iken Naresh ve ark.nın (155) doğu örneği çalışmasında ise bu oran %78 olarak bulunmaktadır. Ülkeler arası fark etnik köken, coğrafi özellikler, sosyoekonomik değişkenliklerle açıklanabilir.

Ülkemizden Çavdar ve ark.nın immunhistokimyasal olarak LMP-1 oranlarını araştıran çalışmasında 15 olgunun 14'ünde (%93) yüksek oranda EBV pozitifliği saptanmıştır (28).

Araştırmamızda histopatolojik olarak EBV LMP-1 sıklığı, HRS hücrelerinde %35 oranında saptanmaktadır. Doğu ülkelerdeki yüksek EBV LMP-1 pozitifliği batı ülkelerinde yerini daha düşük oranlara bırakmaktadır. Çalışmamızda daha düşük EBV pozitifliği saptanmasının sebebi teknik yöntemlere bağlı olabileceği gibi aynı zamanda immunhistokimya yanında insitu hibridizasyon ile EBER antijeni tespit yönteminin kullanılmaması olabilir. Ancak laboratuvar aşamasında eş zamanlı kontrol dokuları EBV pozitif boyandığı için teknik sebepli olduğunu düşünmüyoruz. İmmunhistokimya yanında EBER antijeni bakılması pozitif olgu sayısını arttırmakta ancak tek başına immunhistokimya ile saptanan pozitiflik oranı iki yöntemin birlikte elde edilen pozitif sonuçla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılığı etkileyecek düzeyde fark oluşmamaktadır. Nitekim araştırmaların da ifade ettiği sonuçlar bu yöndedir. Ayrıca olgularımız İstanbul ve çevresi illerden gelip ülkemizin sosyoekonomik düzeyini yansıtmıyor olabilir. Ülkemize ait çalışmalar EBV sıklığını daha yüksek saptamaktadır. Sonuç olarak Türk çocuklarında ve düşük sosyoekonomik seviyedeki toplumlarda EBV ile erken yaşta tanışma mevcuttur ve bu toplumlarda HL tanısı alan olgularda EBV pozitifliği yüksek oranda saptanmaktadır.

Düşük sosyoekonomik seviye malnütrisyonla bağlı kronik immun baskılanmandan sorumlu olabilir bu da pediatrik popülasyonda yüksek oranda görülen EBV enfeksiyonunu açıklayabilir (156).

Sosyoekonomik düzeyle ilişkili olarak EBV pozitif HL olgularında yaş dağılımı farklı özellikler göstermektedir.

Gelişmekte olan ülkelerde, 6 yaşındaki çocukların %90'ı EBV geçirmiş iken gelişmiş ülkelerde bu oran yalnızca %30-40 arasındadır. Bununla ilişkili olarak gelişmiş ülkelerde ve yüksek sosyoekonomik grupta HL ilk pikini erken adolesan dönemde göstermekte, buna karşın gelişmekte olan ve düşük sosyoekonomik gruplarda erken çocukluk döneminde pik yapmaktadır (133).

Ülkemizdeki çalışmalar da 6 yaş altında EBV ve Hodgkin Lenfoma birlikteliğini anlamlı olarak saptamıştır (126,143,144,157).

Peh ve ark.nın 100 olguluk bir çalışmasında otuzdört EBV pozitif Hodgkin Lenfomalı olgunun (%34) 15 yaş altında olduğunun saptanması ile EBV'nin özellikle 10 yaş altı pediatrik gruptaki önemli rolü olduğu bir kez daha vurgulanmıştır (133).

Aynı şekilde 15 yaş altındaki HL'li çocuklarda, gelişmiş ülkelerde de gelişmekte olan ülkelerde de farklı sıklıklarda da olsa EBV ile birliktelik önemlidir ve çocukluk çağı HL'si ile EBV arasında güçlü bir birliktelik vardır (158).

Araştırmamızda EBV pozitif 20 olgunun 14'ü (%70) on yaş altında ve 6'sı (%30) on yaş üzerinde saptanmıştır. EBV pozitifliği on yaş altı olgularımızda anlamlı olarak daha yüksek oranda bulunmuştur.

EBV pozitifliği doğu ve batı ülkelerinde yaş dağılımına göre farklılıklar gösterip gelişmekte olan ülkelerde özellikle 10 yaş altında sıklık daha yüksek oranda saptanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde pozitiflik erken adolesan dönemine kaymaktadır. Sosyoekonomik düzey ve hijyen şartları ile ilişkili olarak gelişmemiş ülkelerde enfeksiyon daha erken yaşlarda geçirilmektedir.

Klasik HL olgularında immunhistokimyasal olarak EBV LMP-1 pozitifliği subtipler arasında da farklılıklar göstermektedir, EBV karışık hücreli alt tipte daha sık oranda ilişkilendirilmektedir (133).

Araştırmamızda histolojik alt tipten KH alt tipte en sık (20 olgudan 10'unda, % 50 oranda) EBV pozitifliği saptandı. Bunu ikinci sıklıkla (29 olgudan 8'inde) %40 oranla NS alt tip takip etmektedir. Olgularımızdan NLZHL tanılı 3 vaka ise EBV LMP-1 negatiftir. Epstein Barr Virüs pozitif olgular %60 oranda ileri evrede ve %55 oranla da B semptomlarına sahiptir.

Amerika kıtasında birçok ülkeye ait çalışmalarda EBV'nin en sık, özellikle karışık hücreli ve lenfositten fakir ve yine sıklıkla nodüler sklerozan tipe eşlik ettiği gösterilmiştir (159-161). Çalışmamızın sonucuna benzer şekilde NLZHL'de lenfositler ve histiositik hücreler içinde EBV gösterilememiştir. Ankara Üniversitesi'nin çalışmasında çocuk hastalarda karışık hücreli tipte LMP-1 pozitifliğinin daha fazla olma eğiliminde olduğu

gösterilmiştir. Özellikle karışık hücreli tipte EBV beraberliğinin daha yüksek olması birçok ülke sonuçlarıyla uyumlu idi (159-161).

Çalışmamızı destekler şekilde gelişmekte olan ülkelerde EBV'li olgularda belirgin olarak karışık hücreli tip egemeliği mevcuttur. Güney Amerika kıtası'ndan Matteo ve ark.larının (133) çalışmasında da EBV pediatrik yaş grubunda %77 oranda en sık karışık hücreli tip ile ilişkili bulunmuştur.

Farklı sonuçlar 2003 yılında Hindistan'a ait bir çalışmada gösterilmiştir. Olgularda %82 oranda EBV LMP-1 pozitifliği saptanmış ve EBV en sık nodüler sklerozan tipte ilişkilendirilmiştir (140). Sonuç olarak serimizde histolojik materyelde EBV sıklığı gelişmiş ülkelere benzer bulunsada EBV varlığı karışık hücreli tip, ileri evre ve B semptomları ile ilişkili görülmektedir.

Sonucun böyle çıkmasının sebebi olgularımızın İstanbul ve çevresi illerden gelmesi bu nedenle de ülkemizin sosyoekonomik düzeyini homojen şekilde yansıtmıyor olmasından kaynaklanabilir.

Tüm çocukluk çağı HL olgularına ait çalışmalarda, EBV prognoz ilişkisini değerlendiren iki araştırmadan biri, sağ kalım şansının EBV pozitif vakalarda daha iyi olduğunu bildirmektedir.

EBV'nin sağkalım üzerine etkisini incelediğimizde, EBV pozitif olgularımız sıklıkla ileri evrede ve B semptomu pozitif olgulardır.

Vakalarımızda, RS hücrelerinde EBV pozitifliğini sağkalım üzerine etkin bir faktör olarak saptanmamıştır ve pozitif olgularla negatif olgular arasındaki sağkalım farkı istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Claviez ve ark.nın (138) Avrupa'da yapılan çalışmasında ve Engel'in (162) Güney Afrikalı hastalarda EBV - sağkalım ilişkisini inceleyen çalışmasında EBV pozitifliğinin sağkalım üzerine olumlu etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Yoğun KT şemalarına rağmen EBV pozitif ya da negatif hastaların sağ kalım sürelerinin değişmediği vurgulanmıştır. Bu çalışmalar araştırmamız sonuçlarını desteklemektedir.

Oysa ki, Avusturya' da 2003 yılında yapılan 119 olguluk çalışmada EBV pozitif klasik Hodgkin lenfoma olgularında EBV negatif olgulara kıyasla FFS'nin daha uzun olduğu anlaşılmıştır. İleri yaş ve ileri evre gibi kötü prognostik faktörlere rağmen bu olgularda EBV

pozitifliğinin sağkalımı olumlu etkilediği gösterilmiştir (163-165). Keegan ve ark. çalışmasında (166) onbeş yaş altı 300 çocuk olguda, RS hücrelerinde EBV pozitifliği ile sağkalım ilişkisi değerlendirilmiş, çocuklarda ve 45 yaş altı genç hastalarda EBV pozitifliğinin sağkalım açısından avantaj olduğu, tersine daha yaşlı hastalarda ise daha kötü sağkalım süreleri ile birlikte olduğu gösterilmiştir (155,167). Ancak bu seride EBV pozitif olgular tanıda daha erken evrelerde olup B semptomu oranı düşüktür (166). Vassallo ve ark. (168) araştırmamızdakine yakın sayıdaki serisinde (78 olgu) EBV'nin HL'li olgularda sağkalım açısından iyi prognostik faktör olduğu gözlenmiştir. Bu grupta ileri evre sıklığını %63 ve B semptomu sıklığını % 54 oranda saptamışlar ki bu yüzdeler kendi çalışma grubumuzla benzetilmektedir. Bu çalışmada araştırmamızdan farklı sonuçlar elde edilse de EBV pozitifliği dışında sağkalımı etkileyen bağımsız bir çok değişkenin varlığından söz edilebilir. Evre ve B semptom varlığı dışında immun belirteçlerin varlığı da EBV'ye sağkalımda katkıda bulunabilir.

EBV 'li olgularımızda ortalama sağkalım süresinin (118 ay) EBV negatif olgulardan (114 ay) sadece 4 ay gibi bir süre fark göstermesi, ileri evrede geç tanı almalarına ve kötü prognostik bulgu olan B semptomlarına sahip olmalarına bağlanabilir.

EBV'nin prognozda olumlu faktör olarak rol oynaması, EBV LMP-1 'in muhtemelen immun yanıtı etkileyerek apoptoz üzerinden kemoterapi etkisini güçlendirerek gerçekleşmektedir (166).

p53

Normal hücre siklusunda p53 protoonkogen görevinde düzensizlikler saptanması relaps artışına neden olurken, tümör dokusunda RS hücrelerinde p53 pozitifliği olumlu bir belirteç olarak izlenmektedir. Çocukluk çağı Hodgkin lenfomalarında p53 negatifliğinin kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (103,104,169).

Spector ve ark.(158,170) p53 negatifliği ile birlikte bcl-2 ekspresyonunu prognozda etkili saptamaz iken Brink ve ark.ları (103) aynı durumu kötü prognoz ile ilişkilendirmiştir.

Smolewski ve ark.nın araştırmasında (171) yine p53 pozitifliği ve bcl2 birlikteliğinin tedaviye olumsuz yanıt ile ilişkili olarak sağkalım süresini azalttığı ifade edilmiştir.

Genellikle çalışmalar H-RS hücrelerinde bcl-2 yanında p53 negatifliğini kötü prognoz ile ilişkilendirse de Sup ve ark .ları (172) bcl-2 ekspresyonunu bağımsız bir faktör olarak

kötü prognozla ilişkili saptadılar. Tek başına p53 onkogeninin önemli rolü olmadığını belirten çalışma da vardır (138). Spector ve ark.nın diğer çalışmasında (169) özetlendiği şekilde, p53 Hodgkin Lenfomada her 3 yönde de etkili olabilir. p53 negatifliği sağkalım süresini azaltarak kötü prognostik etken, ya da pozitifliği sağkalımda olumlu bir biyolojik faktör ve ya her koşulda sağkalım ile ilişkisiz bir belirteç olabilir.

Çalışmamızda p53 pozitifliği tüm olguların %67'sinde, bcl-2 pozitifliği ise %10'unda saptanmıştır.

p53 erken (%65) ve geç evre olgularda (%70) birbirine yakın oranda pozitif saptanırken, bcl-2 anlamlı olarak ileri evre (%84) olgularda pozitifdir. Olgularımızda p53 pozitif (123 ay) olgular, negatif olgulara oranla daha uzun süre (105 ay) yaşamakta ancak fark olgu sayısının azlığından dolayı anlamlı çıkmamaktadır.

p53 pozitif olguların nüks yüzdesi %12 (p53 pozitif 39 olguda 5 nüks) iken, p53 negatif olguların nüks oranı %36'dır (p53 pozitif 19 olguda 7 nüks). p53 pozitifliği relapsı önleyicidir ve bu sonuç istatistiksel olarak da anlamlıdır.

Araştırmamızda bcl-2'nin tek başına nüks ve sağkalım üzerine olumlu ya da olumsuz bir etkisi bulunmamıştır. Ancak diğer immun belirteçlerden p53 ile birlikteliğinde sağkalım süreleri karşılaştırıldığında; bcl-2'nin negatif, p53'ün pozitif olduğu olgular (59 ay), bcl-2 pozitif ve p53 negatif olan (32 ay) olgulardan daha fazla sağkalım süresine sahiptir.

Özetle RS tümör hücrelerinde olgularımızda p53 varlığı olumlu bir faktör, bcl-2 ise etkisiz bir belirteç olarak saptandı. Bcl-2 pozitifleşip p53 negatifleştikçe olguların sağkalım süresi azalmakla birlikte ancak sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sonuç olarak bcl-2 ve p53 , yaş ve evre dışında hastaların risk gruplarını belirlemede biyolojik gösterge olarak belirmemiştir.

p53 ve bcl-2'nin EBV ile birlikte ilişkilerini incelediğimizde , EBV pozitif olguların yüksek oranda (%80) p53 pozitif olgular olduğu buna karşın düşük oranda bcl-2 (%5) pozitifliği gösterdiği saptanmıştır. Pozitif p53 ile negatif bcl-2'in EBV'li olgularda sürviye olumlu etkisi beklenirken EBV pozitif olgularımızda yaşam süresinin anlamlı olarak uzun olmadığı görülmüştür. Olumlu faktörlerin etkisini tersine çeviren başka etmenler söz konusu olabilir .

CD15

Hodgkin Lenfomada CD15'in sağkalım üzerine etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Dinand ve ark.ları (104) CD15 ile p53 arasında çok ilginç bir ilişki öne sürdüler. CD15 antijenitesi kaybolduğunda p53'ün işlevi bozulmakta ve CD15 eksikliği sürviyi olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle Proliferatif index (PI), CD 15 ve tümör süpresör gen olan p53 geninin varlığı klasik Hodgkin Lenfomalı çocuklarda araştırılmıştır. CD15 varlığı Reed-Sternberg hücrelerinde çoğalma ve apoptozu dengeleyerek tedaviye yanıt ve sağkalımı etkilemektedir. CD15 kaybı özellikle p53'ün görevinin bozulması ile birlikte olup bu da klinikte proliferatif indeksin (PI) düşük olmasına ve tümör hücrelerinin kemoterapiye olan duyarlılığını azaltmaktadır. Düşük PI ve CD15 kaybı kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.

Olgularımızda, CD 15 %88 oranında, p53 %67 oranında pozitifdir. CD15 pozitiflerin %75'inde p53 pozitifliği de söz konusudur. CD15 pozitifliği p53'ün ortamda bulunması ve protoonkogen olarak görev yapmasında etkilidir. Bu sonuç sağkalımla ilişkilidir. CD15 pozitifliğinde negatif vakalara oranla sağkalım anlamlı olarak artmaktadır.

CD15 ve p53 negatifliği birlikte en düşük yaşam süresine (27 ay) sahip gruptur. CD15 pozitif p53 pozitif olgularda sağkalım 59 aydır. Bu sonuç CD15 pozitifliğinin p53 fonksiyonunun devamlılığında önemli olduğunu göstermektedir. Sağkalımda görülen belirgen farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

PERFORİN

Az sayıdaki çalışma nedeni ile sitotoksik enzim olan perforinin çocukluk çağı HL'deki rolü tartışmalıdır.

Perforinin Hodgkin lenfomadaki etki ve önemi daha çok erişkin yaş grubunda çalışılmıştır. İlginç bir yaklaşım Krenacs ve ark.nın (94) araştırmasında ortaya atılmıştır. Hodgkin Lenfoma olgularında perforinin negatif oluşu, lenfomaların ayırıcı tanısında belirteç olarak kullanılabileceği fikrini doğurmuştur (173).

Lenfomalarda bcl2 ekspresyonu sıklıkla yüksektir. HRS hücrelerindeki bcl-2 artışı, perforin yoluyla gerçekleşen hücre ölümünü engeller ve apoptotik süreçte direnç gelişimine yol açar (93,94,173).

Olgularımızın yaklaşık %10'unda perforin pozitif saptanmıştır. Bcl-2 pozitifliği erken evre olgularda ve B semptomu taşıyan olgularda sıktır. Perforin pozitif olgu sayımız düşük

olduğu için sürvi üzerine anlamlı etkisi çıkmasa da kaybedilen olgularımızda perforin pozitifliği saptanmamıştır. Bcl-2 pozitifliğinde eş zamanlı perforin negatif olan grubun sağ kalım süresi düşüktür. Bu sonuç bcl-2'nin perforin ile olan ilişkisini diğer çalışmaların paralelinde bir şekilde desteklemektedir.

GRANZİM B ve TİA-1

Programlı hücre ölümünde görevli önemli litik enzimlerden olan granzim B ile RNA bağlayıcı protein olan TİA-1 pozitif Hodgkin hücrelerini içeren lenfoma olgularında sağkalım süresinin kısa olduğu gösterilmiştir (91,96,168). Bu iki belirtecin pozitifliği kötü prognoz göstergesidir, özellikle de klasik Hodgkin lenfomada olumsuz faktör kabul edilen ileri evre, lökositöz, B semptom varlığından bağımsız olarak klinik gidişi ve sağkalımı etkiledikleri gösterilmiştir (94,97-99).

Araştırmamızda TİA-1'in nüks, remisyon ve sürvi üzerine etkisi saptanmaz iken granzim sağkalım üzerine anlamlı derecede etkilidir. Granzim pozitif olguların yaşam süresi anlamlı olarak negatif olgulardan daha kısadır ($p<0.05$). Sonuç olarak granzim önemli bir prognostik belirteç olabilir.

Granzim ve TİA-1'in birlikte değerlendirmesinde ikisinin de pozitif olduğu grup daha düşük sağ kalım süresine (30 ay) sahiptir veya bir başka deyiş ile TİA-1 ve granzim negatif olgular en uzun yaşam süresine (64 ay) sahip gruptur. Araştırmamızın sonuçları bu alandaki tüm çalışmalar ile uyumlu olup pozitif granzim ve TİA-1 kötü prognostik göstergelerdir şeklinde yorumlayabiliriz.

Granzim ve TİA-1'in, EBV ile ilişkisine bakıldığında EBV'li olguların %50'sinde eş zamanlı TİA-1, %10'unda ise granzim pozitif olarak saptanıyor. Az sayıda granzim pozitif EBV'li olgu nedeni ile granzim ve EBV birlikteliğinde sağkalımda anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir. TİA-1 negatifliği gösteren EBV'li olgular, TİA-1 ve EBV birlikte pozitif olgulardan beklenildiği üzere (9 ay) daha uzun süre yaşadılar. Ancak bu sonuç da istatistiksel olarak anlamlı değildir.

EBV'li olgularımızda sağkalıma olumlu yönde etki etmesi beklenen pozitif p53, düşük bcl-2 ve granzim'de bu etki gözlenmemektedir. Bu olumsuz etki TİA-1 pozitifliği ile ilişkili olabilir.

Sonuç olarak EBV pozitif olgularda sadece klinik parametreler değil aynı zamanda immun belirteçlerin varlığı da sağkalımı etkilemektedir.

SONUÇLAR

Çalışmamızda 1995-2007 yılları arasında tanı alıp tedavi edilen toplam 58 Hodgkin lenfoma olgusunun biyopsi materyelleri incelenerek prognoz ve sağkalımda etkili belirteçler araştırılmıştır.

Çalışma grubumuzun dermografik özelliklerinde ön plana çıkan bulgular, olguların %48'nin on yaş altında , %52'sinin 10-16 yaş arasında olmasıdır. Median yaş 11'dir ve E/K oranı 1.12'dir. Hastalarımızın cinsiyet dağılımı Avrupa ülkelerine benzer şekilde ise de yaş ortalaması Avrupa ve Amerika verilerinden düşüktür .

Türkiye ve gelişmemiş ülke sonuçları birlikte değerlendirildiğinde izlenen erken çocukluk piki sosyoekonomik durumla ilişkili olarak viral enfeksiyonlarla daha erken yaşta tanışma ve kalabalık ailelerde erken sosyalleşmenin bir sonucudur.

En sık gözlenen histopatolojik tip NS alt tiptir. Olgular sıklıkta erken evrede (%53) olup, B semptomu pozitifliği yüksektir. Bizim hastalarımızda B semptomlarının varlığının diğer serilere oranla fazla olması (%53) hastaların histopatoloji materyellerine ulaşılabilen, seçilmiş bir grup olmasındandır. Cerrahpaşa Pediatrik HL serimizde B semptom sıklığı %35'dir.

Prognostik önemi olan klinik parametrelerden mediasten tutulumu %69, bulky hastalık %14 ve kemik iliği tutulumu %17 oranında mevcuttur. Dört olguda hipoalbuminemi ve tanı anında 58 olgudan 26'sında anemi (% 45) vardır.

Mediasten tutulumu %64 oranda ve bulky hastalık varlığı %14 oranda saptanmıştır.

EBV'nin , Hodgkin Lenfoma'nın etiyopatogenezindeki rolü hala araştırılmakta ve ülkemizde de sık geçirilen bir enfeksiyon olarak lenfoma sıklığını arttırabileceği düşünülmektedir.

Olgularımızdan EBV pozitif 20 HL'li hastadan 14'ü on yaş altı iken (%70), kalan 6 vaka 10 yaş üzerindedir (%30). Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır (p:0.02). Sonuç olarak Türk çocuklarında ve düşük sosyoekonomik seviyedeki toplumlarda EBV ile erken yaşta

tanışma mevcuttur ve bu toplumlarda HL tanısı alan olgularda EBV pozitifliği yüksek oranda saptanmaktadır.

Düşük sosyoekonomik seviye malnütrisyona bağlı kronik immun baskılanmadan sorumlu olabilir bu da pediatrik popülasyonda yüksek oranda görülen EBV enfeksiyonunu açıklayabilir.

Kötü prognostik faktör olan bcl-2 pozitifliği, çalışmamızda sağkalım üzerine etkisiz saptandı ancak geç evredeki olgularda anlamlı olarak 6 kat daha sık görünüyordu. Geç evre olguların takibinde yararlı bir belirteç olabileceği düşüncesindeyiz.

Sağkalım sonuçlarımızda yaşam süresi erkeklerde (median 129 ay) kızlara göre (median 94 ay) daha uzun olup aradaki fark istatistik açıdan anlamlılık sınırındaydı ($p:0.06$).

Erkek çocuklar geleneksel yaklaşımlarla sosyoekonomik olarak düşük seviyeli toplumlarda daha fazla önemsenmekte ve erken doktora götürülerek erken evrede tanı almakta ve sonucunda uzun sağkalım süresi görülmektedir.

Yaşam süreleri histolojik alt tip açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında yaşam süreleri açısından istatistiksel anlamlılık saptanmadı. En uzun yaşam süresi KH tipte gözlemlendi (77 ay, $p > 0.05$).

Yaş, evre, B semptomu ve bulky hastalık varlığı, anemi, kemik iliği ve mediasten tutulumu ile hipoalbuminemi istatistiksel olarak sağkalımı etkileyen faktörler olarak saptanmadılar ($p > 0.05$).

İmmunhistokimyasal olarak çalışılan belirteçlerimizden CD15'in pozitifliği sağkalımı anlamlı derecede arttıran bir belirteç iken aksine granzimin pozitifliği ise sağkalımı anlamlı oranda azaltan olumsuz bir etken olarak saptandı.

Granzim ve CD15 birlikteliğinde CD15 pozitif aynı zamanda granzim negatif olguların sağkalımı anlamlı olarak uzundu. Bu özelliklere sahip hastaların sağkalımları daha iyi olacağından tersi durumdaki hastalara daha agresif tedavi verilmesi açısından klinisyene yardımcı olabilir.

EBV, TIA-1, p53, bcl-2 ve perforin belirteçlerinin sağkalım üzerine anlamlı etkisi yoktur.

Nüks ile ilişkili parametreler istatistiksel olarak cinsiyet, B semptomu varlığı, p53 olarak saptanmıştır.

p53 varlığı relaps açısından koruyucu bir etkidir ve pozitif olgularda relaps anlamlı oranda azalmaktadır. p53 negatif olguların relaps oranı daha yüksek olduğuna göre bu olgularda takip süreleri sıklaştırılabilir ve daha sık muayene ile tetkik istenilebilir.

ÖZET

Hodgkin Lenfoma'da modern kemoterapi uygulamaları ile tedaviden olumlu sonuçlar alınsa da bir grup hastada tedaviye rağmen ilerleyici hastalık ve relapslar ile karşılaşmaktayız ve bu hastalar kaybedilmektedir.

Bu nedenle tedaviye dirençli olgularda sağkalım üzerine etken faktörleri araştıran çalışmalar sıklaştırılmıştır. Neticede bazı tümör belirteçlerinin ve mikroçevredeki immun sistem hücrelerinin klasik Hodgkin lenfomada önemli biyolojik göstergeler olduğu anlaşılmıştır.

Çalışmamızda CD 15, EBV LMP-1, p53, bcl-2, granzim, TİA-1, perforin gibi belirteçlerin immunhistokimyasal yöntemlerle çalışılmasının temelinde yatan amaç, prognostik önemlerinin anlaşılması ve bunun neticesinde tedavi öncesi dönemde hastaların risk gruplarına göre sınıflandırılabilmesidir. Nüks oranı olası yüksek olgularda daha agresif tedavi şemaları ile hastalıksız sağkalımın arttırılması hedeflenmiştir.

Bu amaçla 1995-2007 yılları arasına ait 58 Hodgkin lenfoma olgusunun biyopsi materyallerinde CD15, EBV, p53, bcl-2, granzim, TİA-1, perforin immunhistokimyasal yöntemle çalışılarak her birinin sağkalım ve nüks üzerine olan etkisi araştırıldı.

EBV pozitifliğinin 10 yaş altı HL olgularında daha sık gözlemlendiği görüldü.

Granzim pozitifliği sağkalım üzerine olumsuz bir belirteç iken, CD15 pozitifliğinin sağkalım süresini uzattığı gösterildi. p53 negatifliği nüksü hızlandıran bir etkendi. Bu belirteçlerin prognoz üzerine anlamlarının netleşmesi ile düşük riskli gruba gereksiz yere yoğun tedavi verilmesi önlenerek kemoterapinin erken ve geç yan etkilerden korunmak mümkün olacaktır. Risk faktörlerinin önceden bilinerek tedavi yaklaşımının bu şekilde planlanması lenfoma konusundaki başarıımızı arttıracaktır.

Anahtar Kelimeler: Çocukluk Çağı Hodgkin Lenfoması, immun prognostik belirteçler, CD15, CD20, granzim, p53, EBV, bcl-2, perforin, TİA-1, sağkalım.

ABSTRACT

Although modern chemotherapy applications have many favorable outcomes on Hodgkin Disease, a group of patient shows progressive clinical process with relapsing periods and frequently these patients are lost. Because of that reason, trials on assessing the factors act on surveillance have increased. In conclusion our understandings show that some microenvironmental immuncells and tumor markers have diagnostic value for Hodgkin Disease. In our research by using immunohistochemical methods we aim to determine the prognostic values of markers such as CD 15, EBV LMP-1, p53, bcl-2, granzym, TIA -1 and perforin play a significant role for classifying the patients due to their risk groups before premedication. High surveillance ratio can be satisfied by using more aggressive medical therapy methods. For this purpose by aid of immunohistochemical methods, belong to years between 1995-2007, at 58 patient biopsy specimens suffered from Hodgkin Disease we looked for the impact of CD 15 , EBV, p53 bcl-2, granzym, TIA-1 and perforin related with relapsing and surveillance.

It is showed that EBV was seen on the patients who have Hodgkin disease and younger than 10 years old.

While positiveness of granzym has a poor outcome on surveillance, positiveness of CD15 has prolonged the surveillance. Positiveness of p53 is an accelerating factor for relapsing. When we clarify the markers related with prognostic value, we will be able to prevent either early or late many adverse effects as a result of intensive chemotherapy management having to low risk ratio. Our success about Hodgkin treatment will be improved with the determination of risk factors before premedication.

Keywords: Pediatric Hodgkin Lymphoma, prognostic values of immunmarkers, CD15, CD20, granzym, p53, EBV, bcl-2, perforin, TIA-1, surveillance.

KAYNAKLAR

1. Kelley T.W, MD, Pohlman B, MD, Elson P., Scd and Eric D. Hsi, MD.The Ratio of FOXP3 Regulatory T cells to Granzyme + Cytotoxic T/NK cells Predicts Prognosis in Classical Hodgkin Lymphoma and Is Independent of Bcl-2 and MAL Expression. Am J Clin Pathol 200 ; 128: 958-965.
2. Van den Berg A, Visser L, Poppema S. High Expression of the CC Chemokine TARC in Reed-Sternberg Cells: a Possible Explanation for the Characteristic T-cell Infiltrate in Hodgkin's Lymphoma . Am J Pathol.1 999; 154: 1685-1691.
3. Skinnider BF, Mak TW. The Role of Cytokines in Classical Hodgkin Lymphoma. Blood 2002; 99: 4283-4297.
4. Poppema S. Immunobiology and Pathophysiology of Hodgkin Lymphomas. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2005: 231-238.
5. Rezvani K, Mielke S, Admadzadeh M, et al. High donor FOXP3 positive regulatory T cell (T reg) content is associated with a low risk of GVHD following HLA-matched allogeneic SCT. Blood. 2006; 108: 1291-1297.
6. Barao I, Hanash AM, Hallet W, et al. Supression of Natural Killer Cell-Mediated Bone Marrow Cell Rejection by CD4+ CD25+ Regulatory T Cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006; 103: 5460-5465.
7. Zorn E, Kim HT, Lee SJ, et al. Reduced Frequency of FOXP3 + CD4 +CD25+ Regulatory T Cells in Patients With Chronic Graft-Versus-Host Disease. Blood. 2005; 106: 2903-2911.
8. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, et al. Immunologic Tolerance Mainted by CD25 +CD4+ Regulatory T Cells: Their Common Role in Controlling Autoimmunity, Tumor Immunity and Transplantation Tolerance. Immunol. Rev. 2001; 182: 18-32.
9. Bachetta R, Passerini L, Gambineri E, et al. Defective Regulatory and Effector T cell Functions in Patients with FOXP3 Mutations. J. Clin. Invest. 2006 ; 116: 1713-1722.
10. Marshall NA., Vickers MA., Barker RN. Regulatory T Cells Secreting IL -10 Dominate the Immune Response to EBV Latent Membrane Protein-1. J Immunol. 2003; 170: 6183-6189.
11. Robertson SJ, Hasenkrug KJ. The Role of Virus-Induced Regulatory T cells in Immunopathology. Springer Semin Immunopathol. 2006; 28: 51-62.

12. Knutson KL, Disis ML, Salazar LG. CD4 Regulatory T Cells in Human Cancer Pathogenesis. *Cancer Immunol Immunother*. 2007; 56: 271-285.
13. Hodgkin T., Banks P.M. The Pathology of Hodgkin's Disease. *Semin Oncol* 17: 683-695, 1990.
14. Banks P.: The Pathology of Hodgkin Disease. *Semin Oncol* 17: 683-693, 1990.
15. Hodgkin T. On Some Morbid Appearances of The Absorbent Glands and Spleen. *Med Chir Trans*. 1832; 17: 68.
16. Sternberg C. Uber eine Eigenartige unter dem Bilde der Pseudoleukemie Verlaufende Tuberculose Des Lymphatischen. Apparates *Z Heilkd* 1898; 19: 21.
17. Lister A., Crowher D. Staging for Hodgkin's Disease. *Semin Oncol* 17: 696-703, 1990.
18. Bonadonna G., Zucali R, Monfardini Z. Combination Chemotherapy of Hodgkin's Disease with Adriamycin, Bleomycin, Vinblastine, and Imidazole Carboxamide Versus MOPP. *Cancer* 36: 252-269, 1975.
19. Santoro A., Banadonna G., Valagussa P. et al. Long term of combined chemotherapy-radiotherapy approach in Hodgkin disease. Superiority of ABVD plus radiotherapy versus MOPP plus radiotherapy. *J Clin Oncol* 5: 27-37, 1987.
20. Canellos GP, Anderson RJ et al. Chemotherapy of Advanced Hodgkin's Disease with MOPP , ABVD or MOPP alternating with ABVD. *N Engl J Med*, 1992; 327 (21): 1478-1484.
21. Nachman JB et al. Randomized Comparasion of Low Dose Involved Field Radiotherapy and No Radiotherapy for Children with Hodgkin's Disease Who Achieve a Complete Response to Chemotherapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3765-3771.
22. Ruhl V. et al. The German Multinational GPOH-HD 95 Trial. Treatment Results and Analysis of Failures in Pediatric Hodgkin's Disease Using Combination Chemotherapy with and without Radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: S; 131.
23. Stein H et al. Hodgkin Lymphoma . In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds) *World Health Organization Classification of Tumors. Tumors of hematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon, pp 2001; 237-253.
24. Kuppers R, Schwering I, Brauninger et al. Biology of Hodgkin's Lymphoma. *Ann Oncol* 2002 ;13 Suppl. 1: 11.
25. Pötter R. Paediatric Hodgkin's disease . *Eur J Cancer* 1999; 35(10): 1466-76.

26. Büyükpamukçu M, Atahan L, Çağlar M, Kutluk T, Akyüz C, Hazar V. Hodgkin's Disease in Turkish Children. Clinical Characteristics and Treatment Results of 210 Patients. *Pediatr Hematol Oncol*. 1999;16(2): 119- 29.
27. Grufferman SL, Delzell E. Epidemiology of Hodgkin Disease. *Epidemiol Rev*. 1984; 6: 76.
28. Cavdar AO, Pamir A, Gözdaşoğlu S, Babacan E, Yavuz G, Ünal E, Uluoğlu Ö, Taçyıldız N, İkinçioğulları A, *Med Pediatr Oncol* 1999; 32 (1): 18-24.
29. Çevik N, Büyükpamukçu M, Sarıalioğlu F, Atahan L, Kutluk T, Akyüz C. Experience in the Management of Childhood Hodgkin's Disease. 15 th International Congress of Chemotherapy. July 19-24 Istanbul 1987, pp. 1-3.
30. Ertem U, Duru F, Dağdemir A, et al. Hodgkin Disease in 82 Turkish Children Diagnosed Over a 10 Year Period. Epidemiological, Clinical, and Histopathologic Features and Prognosis with Prolonged Chemotherapy. *Pediatr Hematol Oncol* 1997; 14: 359-366.
31. Yıldız İ, Yörük A, Celkan T, Apak A, Yüksel L.S, Özkan A, Tüzüner N, Atkovar G, Şahinler I, Karaman S and Canpolat A. SIOP XXXVI Congress Meeting –Abstracts. Hodgkin Disease: Results of Chemotherapy for two Pediatric Oncology Centers of Istanbul.
32. Diehl V., Von Kalle C., Fonatsch C., et al. The Cell of Origin in Hodgkin's Disease. *Semin Oncol* 17: 660-672, 1990.
33. Hudson MM, Onciu M and Donaldson SS. Pizzo PA, Poplack DG (eds). Hodgkin Lymphoma . In *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2006: pp 695-721.
34. Donaldson SS, Weinstein HJ, Hudson MM, Link MP(eds). Introduction and Historical Background. Pediatric Hodgkin Lymphoma. In: *Pediatric Lymphomas*. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 2007 : pp1-5.
35. Chang ET, Montgomery SM, Richiardi L, et al. Number of Siblings and Risk of Hodgkin's Lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Rev* 2004; 13: 1236-1243.
36. Cavdar AO, Gözdaşoğlu S, Arcasay A, Topuz Ü, Babacan E. High Frequency of Hodgkin's Disease in Turkish Children. *New İstanbul Contr Clin Sc* 1974; 11: 31.
37. Thompson E.İ. Hodgkin's disease. In: *Rudolph's Pediatrics* 19th edition, Connecticut: Appleton and Lange, s: 1196-1199, 1991.
38. Shishodia S, Aggarwal BB. Nuclear Factor-kB: a Friend or a Foe in Cancer? *Biochemical Pharmacol* 2004; 68: 1071-1080.
39. Bharti AC, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 883-888.

40. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel Proteins. Evolutionarily Conserved Mediators of Immune Responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 225.
41. Gilmore TD, Kalaitzidis D, Liang MC, Stanczyński DT. The c-Rel Transcription Factor and B cell Proliferation. A deal with the Devil. *Oncogene* 2004; 23: 2275.
42. Joos S, Menz CK, Wrobel G, Siebert R. Classical Hodgkin Lymphoma is Characterized by Recurrent Copy Number Gains of the Short Arm of Chromosome 2. *Blood* 2002; 99: 1381.
43. Krugmann J, Tzankov A, Gschwendtner A, Fischhofer M, Greil R, Fend F, Dirnhofer S. Institute of Pathology, University of Innsbruck, Austria. Longer Failure-Free Survival Interval of Epstein-Barr Virus-Associated Classical Hodgkin's Lymphoma. A Single-Institution Study. *Mod Pathol*. 2003 Jun;16(6): 566-73.
44. Lucas KG, Salzman D, Garcia A, Sun Q, Adoptive Immunotherapy with Allogenic Epstein Barr Virus (EBV) Specific Cytotoxic T Lymphocytes for Recurrent EBV Positive Hodgkin Disease. *Cancer*, 100(9): 1892-1901, 2004.
45. Jarret RF, Krajewski AS, Angus B, et al. The Scotland and Newcastle Epidemiological Study of Hodgkin's Disease. Impact of Histopathological Review and EBV Status on Incidence estimates. *J Clin pathol*, 56: 811, 2003.
46. Krappmann D, Emmerich F, Kordes U, et al. Molecular Mechanisms of Constitutive NF -kappaB /Rel Activation in Hodgkin /Reed -Sternberg cells. *Oncogene* 1999; 18: 943.
47. Sylla BS, Hung SC, Davidson DM, et al. Epstein-Barr Virus -Transforming Protein Latent Infection Membrane Protein 1 Activates Transcription factor NF kappa B Through a Pathway That Includes the NF -kappa B Inducing Kinase and the I kappa B kinases IKKalpha and IKKbeta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 10106.
48. Murray PG, Billingham LJ, Hassan HT, Flavell JR, Nelson PN, Scott K, Reynolds G, Constandinou CM, Kerr DJ, Devey EC, Crocker J, Young LS. Effect of Epstein -Barr virus Infection on Response to Chemotherapy and Survival in Hodgkin's Disease. *Blood*. 1999 Jul 15; 94(2): 442-7.
49. Carbone A, Glohini A, Gruss HJ, et al. CD 40 Ligand is Constitutively Expressed in a Subset of T cell Lymphomas and on the Microenvironmental Reactive T cell of Follicular Lymphomas and Hodgkin's Disease. *Am J Pathol* 1995; 147:912.
50. Clodi K, Asgari Z, Younes M, et al. Expression of CD 40 Ligand (CD154)'in B and T Lymphocytes of Hodgkin Disease. Potential Therapeutic Significance. *Cancer* 2002; 94:1.

51. Annunziata CM, Safiran YJ, Irving SG, et al. Hodgkin disease. Pharmacologic Intervention of the CD40 –NF kappa B Pathway by a Protease Inhibitor. *Blood* 2000; 96: 2841.
52. Messineo C, Jamerson MH, Hunter E, et al. Gene Expression by Single Reed Sternberg Cells. Pathways of Apoptosis and Activation. *Blood* 1998; 91: 2443.
53. Bargou RC, Emmerich F, Krappmann D, et al. Constitutive Nuclear Factor –kappa B –Rel A Activation is Required for Proliferation and Survival of Hodgkin's Disease Tumor Cells. *J Clin Invest* 1997; 100: 2961.
54. Liou HC, Sha WC, Scott ML, et al. Sequential Induction of NF –kappa B/rel Family Proteins During B cell Terminal Differentiation. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 5349.
55. Miyamoto S, Schmitt MJ, Verma, IM. Qualitative Changes in the Subunit Composition of kappa B –Binding Complexes During Murine B Cell Differentiation *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 5056.
56. Subero M, Ji Gesk, S Harder, L Sonok . T Recurrent Involvement of the REL and BCL 11A loci in Classical Hodgkin Lymphoma. *Blood* 2002; 99: 1474.
57. Pathology and Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, World Health Organisation, IARC press, Lyon 2001.
58. Rappaport H. Tumors of the Hematopoietic System. Atlas of Tumor Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, 1966.
59. Lukes R, Collins R. Immunologic Characterization of Human Malignant Lymphomas, *Cancer*, 34: 1488-1503, 1974.
60. Harris NL, et al. A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms: A proposal from the International Lymphoid Study Group, *Blood*, 64: 1361-1392, 1994.
61. Greiner TC, Gascoyne RD, Anderson ME, et al . Nodular Lymphocyte -Predominant Hodgkin's Disease Associated with Large -cell lymphoma. Analysis of Ig Gene Rearrangements by V-J Polymerase Chain Reaction. *Blood*. 1996 Jul 15; 88(2): 657-66
62. Hansman ML, Stein H, Fellbaum C, Hui PK, Parwaresch MR, Lennert K. Nodular Paragranuloma can Transform into High Grade Malignant Lymphoma of B Type. *Hum Pathol*. 1989 Dec; 20(12): 1169-75.
63. Harris NL, Hodgkin's Disease. Classification and Differential Diagnosis. *Mod Pathol*. 1999 Feb; 12(2): 159.
64. Stein H, Mason DY, Gerdes J, et al. The Expression of the Hodgkin's Disease Associated Antigen KI-1 in Reactive and Neoplastic Lymphoid Tissue. Evidence that

- Reed Sternberg Cells and Histiocytic Malignancies are Derived from Activated Lymphoid Cells. *Blood*. 1985 Oct; 66(4): 848-58.
65. Stein H, Uchanska-Ziegler B, Gerdes J, Ziegler A, Wernet P. Hodgkin and Sternberg-Reed Cells Contain Antigens Specific to Late Cells of Granulopoiesis. *Int J Cancer*. 1982 Mar 15; 29(3): 283-90.
 66. Hsu SM, Jaffe ES. Leu M1 and Peanut Agglutinin Stain the Neoplastic Cells of Hodgkin's Disease. *Am J Clin Pathol*. 1984 Jul; 82(1): 29-32.
 67. Pinkus GS, Thomas P, Said JW. Leu-M1-a Marker for Reed Sternberg Cells in Hodgkin's Disease. An Immunoperoxidase Study of paraffin-embedded Tissues. *Am J Pathol*. 1985 May; 119(2): 244-52.
 68. Sheibani K, Battifora H, Burke JS, Rappaport H. Leu-M1 Antigen in Human Neoplasms. An Immunohistologic Study of 400 cases. *Am J Surg Pathol*. 1986 Apr; 10(4): 227-36.
 69. Chittal SM, Caveriviere P, Schwarting R, et al. Monoclonal Antibodies in Diagnosis of Hodgkin's Disease. The search for a Rational Panel. *Am J Surg Pathol*. 1988 Jan; 12(1): 9-21.
 70. Hutchison RE and Uner A. Biology and Pathology of Hodgkin Disease. Weinstein HJ, Hudson MM, Link MP (eds). In: *Pediatric lymphomas*. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag 2007: pp.7-33.
 71. Chittal SM, Brousset P, Voigt JJ, Delsol G. Large B Cell Lymphoma Rich in T Cells and Simulating Hodgkin's Disease. *Histopathology*. 1991 Sep; 19 (3): 211-20.
 72. Mc Bride JA, Rodriguez J, Luthra R, Ordonez NG, Cabanillas F, Pugh WC. T Cell Rich B Large Cell Lymphoma Simulating Lymphocyte-Rich Hodgkin's Disease. *Am J Surg Pathol*. 1996 Feb; 20 (2): 193-201.
 73. Mason DY, Banks PM, Chan J, et al. Nodular Lymphocyte Predominance Hodgkin's Disease. A Distinct Clinicopathological Entity. *Am J Surg Pathol*. 1994 May ; 18(5): 526-30.
 74. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms, a Proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994 Sep 1; 84(5): 1361-92.
 75. Colby TV, Hoppe RT, Warnke RA. Hodgkin's Disease. A Clinicopathologic Study of 659 Cases. *Cancer*. 1982 May 1; 49(9): 1848-58.
 76. Strickler JG, Michie SA, Warnke RA, Dorfman RF. The Syncytial Variant of Nodular Sclerosing Hodgkin's Disease. *Am J Surg Pathol*. 1986 Jul; 10 (7): 470-477.
 77. Bennett MH, Mac Lennan KA, Easterling MJ, et al. The Prognostic Significance of Cellular Subtypes in Nodular Sclerosing Hodgkin's Disease. An Analysis of 271

- Non-Laparatomised Cases (BNLI report no.22). Clin Radiol. 1983 Sep; 34(5): 497-501.
78. Haybittle JL, Hayhoe FG, Easterling MJ, et al. Review of British National Lymphoma Investigation Studies of Hodgkin's Disease and Development of Prognostic Index. Lancet. 1985 Apr 27 ;1 (8435): 967-72.
 79. MacLennan KA, Bennet MH, Tu A, Hudson BV, Easterling MJ, Hudson GV, Jelliffe AM. Relationship of Histopathologic Features to Survival and Relapse in Nodular Sclerosing Hodgkin's Disease. A study of 1659 patients. Cancer. 1989 Oct 15; 64(8): 1686-93.
 80. Knowles DM. Neoplastic Hematopathology 2nd ed. Philadelphia Lippincott Williams-Wilkins, 2001.
 81. Hsi ED. Hematopathology. Churchill Livingstone Elsevier, 2007.
 82. Oğuz A, Karadeniz C, Okur FV, et al. Prognostic Factors and Treatment Outcome in Childhood Hodgkin Disease. Pediatr Blood Cancer 2005; 45: 670-675.
 83. Marafioti T, Hummel M, Foss HD, et al. Hodgkin and Reed Sternberg Cells Present an Expansion of a Single Clone Originating from a Germinal Center B Cell with Functional Immunoglobulin Gene Rearrangements but Defective Immunoglobulin Transcription. Blood 2000; 95: 1443.
 84. Seitz V, Hummel M, Anagnostopoulos I, et al. Analysis of BCL-6 Mutations in Classic Hodgkin's Disease of the B and T Cell Type. Blood 2001; 97: 2401.
 85. Daus H, Trumper L, Ruth J, et al. Hodgkin and Reed Sternberg Cells do not Carry T cell Receptor Gamma Gene Rearrangements Evidence from Single Cell Polymerase Chain Reaction Examination. Blood 1995; 85: 1590.
 86. Braeuninger A, Kuppers R, Strickler JG, et al. Hodgkin and Reedsternberg Cells in Lymphocyte Predominant Hodgkin Disease Represent Clonal Populations of Germinal Center –Derived Tumor B Cells. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 9337.
 87. Marafioti T, Hummel M, Anagnostopoulos I, et al. Origin of Nodular Lymphocyte – Predominant Hodgkin's Disease from a Clonal Expansion of Highly Mutated Germinal Center B Cells. N Engl J Med 1997; 337: 453.
 88. Ohno T, Stribley JA, Wu G, et al. Clonality in Nodular Lymphocyte-Predominant Hodgkin's Disease from a Clonal Expansion of Highly Mutated Germinal Center B Cells. N Engl J Med 1997; 337: 459.
 89. Trapani JA, Sutton VR. Granzyme B, Pro-apoptotic, Antiviral and Antitumor Functions. Cancer Immunology Program, Research Division, Peter MacCallum Cancer Centre, Locked Bag 1, A'Beckett Street, Melbourne 8006, Australia. Curr Opin Immunol. 2003 Oct; 15(5): 533-543.

90. Oudejans J, Kummer JA, Jiwa M, van der Valk P., Ossenkoppele J., Phipil M., Kluin-Nelemans J.C, and Chris J.L.,Meijer M. Granzyme B Expression in Reed-Sternberg Cells of Hodgkin's Disease American Journal of Pathology, Vol 148. January 1996.
91. Oudejans J, Kummer JA, Ossenkoppele J, Van Heerde P, Baars J.W, Kluin M, Kluin-Nelemans J.C, Van Diest P.J, Middeldorp J.M and Meijer L.M. Activated Cytotoxic T Cells as Prognostic Marker in Hodgkin's disease . Blood 1997; 89: 1376-1382.
92. Christoph R., Gerhard H., Sascha S.B., Klaus Gerlach J. Peter Pfitzenmeier M.P. Role of Perforin, Granzymes and the Proliferative State of the Target Cells in Apoptosis and Necrosis Mediated by Bispecific-Antibody-Activated Cytotoxic T Cells. Cancer Immunol Immunother (1997) 44: 70-76.
93. Godal R, Keilhoz U, Uharek L, Letsch A, Asemisen AM, Busse A, Na IK, Thiel E, Scheibenbogen C. Lymphomas are Sensitive to Perforin-Dependent Cytotoxic Pathways Despite Expression of PI-9 and Overexpression of bcl-2. Blood . 2006 Apr15;107(8): 3205-3211
94. Krenacs L, Wellmann A, Sorbara L, Himmelmann AW, Bagdi E, Jaffe ES, Raffrld M. Cytotoxic Cell Antigen Expression in Anaplastic Large Cell Lymphomas of T and Null Cell Type and Hodgkin's Disease. Evidence for Distinct Cellular Origin . Blood .1997 Feb1; 89(3): 980-989.
95. Mc Alinden A, Liang L, Mukudai Y, Imamura T, Sandell LJ. Nuclear Protein TIA-1 Regulates COL2A1 Alternative Splicing and with Precursor m- RNA and Genomic DNA. Department of Orthopaedic Surgery, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri 63110, USA. J Biol Chem. 2007Aug 17; 282 (33): 2444-2454.
96. Niitsu N., Nakamine H., Okamoto M., Tamaru H. A Clinicopathological Study of nm23-H1 Expression in Classical Hodgkin's Lymphoma. Department of Hematology, Comprehensive Cancer Center, International Medical Center, Saitama Medical University, Saitama. Adult Lymphoma Treatment Study Group, Nagoya, Japan . Annals of Oncology 23 April 2008.
97. Alvaro-Naranjo T., Lejeune M., Salvado U., Bosch-Princep R, Reverter Branchat G, Jaen-Martinez J, Pons-Ferre LE. Tumor-Infiltrating Cells as a Prognostic Factor in Hodgkin's Lymphoma. Leuk Lymphoma. 2005 Nov ; 46(11): 1581-1591.
98. Hamilton Dutoit SJ, Rea D, Raphael M, et al. Epstein Barr virus Latent Gene Expression and Tumor Cell Phenotype in Acquired Immunodeficiency Syndrome Related non- Hodgkin's Lymphoma. Correlation of Lymphoma Phenotype with three Distinct Patterns of Viral Latency. Am J Pathol. 1993; 143: 1072-1085.
99. Russell A. Higgins, MD; Jennifer E Blankenship, MD; Marsha C. Kinney, MD. Department of Pathology, The University of Texas Health Science Center at San

- Antonio. Application of Immunohistochemistry in the Diagnosis of Non-Hodgkin and Hodgkin Lymphoma. Arch Pathol Lab Med-Vol 132, March 2008.
100. Ekmekçi A. Kanser genleri s: 217-245. Gen, Genetik Değişim ve Hastalıklar . Ankara , 2006.
101. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Neoplasia. Basic Pathology, Saunders , 7th Ed, Philadelphia, 2003.
102. Thiele CJ, Khanna C. Biology of Childhood Cancer. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Ed. Pizzo PA, Poplack DG. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2006: 86-117.
103. Brink AA, Oudejans JJ, van den Brule AJ, Kluin PM, Horstman A, Ossenkoppele GJ, van Heerde P, Jiwa M, Meijer CJ. Low p53 and high bcl-2 expression in Reed-Sternberg cells predicts poor clinical outcome for Hodgkin's disease : Involment of Apoptosis Resistance? Mod Pathol .1998 Apr; 11(4): 376-383.
104. Veronique D., MD, Ajay M., MD, Rajani U., MS, Laxman S.A., MD, R.M.Pandey, PHD, and Ramesh D., MBBS, DABP, FIC. Proliferative Index and CD 15 Expression in Pediatric Classical Hodgkin Lymphoma. Pediatric Blood Cancer 2008; 50: 280-283.
105. Karayalçın G. Hodgkin's Disease. Lankowsky P (ed). In: Manual of Pediatric Hematology and Oncolog. Third edition, San Diego, California, 2000: pp. 413-443.
106. Yıldız İ., Yüksel L., Yörük A., Apak H., Başbüyük T., Yeker D., Tüzüner N., Atkovar G. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hodgkin Olgularının Değerlendirilmesi. Türk Pediatri Kurumu Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Pediatrik Hemato-Onkoloji Bilim Dalı ve PEHAUM Hodgkin Sempozyumu .2006 Kasım.
107. Longo D.: The Use of Chemotherapy in the Treatment of Hodgkin's Disease. Semin Oncol; 1990.17: 716-735.
108. Behrendt H., Van Bunningen B., Van Leeuwen E.F.: Treatment of Hodgkin's Disease in Children with or without Radiotherapy. Cancer 1987; 59: 1870-1873.
109. Hoppe R.: Radiation Therapy in the Management of Hodgkin's Disease. Semin Oncol 1990; 17: 704-715.
110. Green DM, Gingell RL, Pearce J, et al. The Effect of Mediastinal Irradiation on Cardiac Function of Patients Treated During Childhood and Adolescence for Hodgkin's Disease. J Clin Oncol 1987; 5:239.
111. Scholz KH, Hermann C, Tebbe U, et al. Myocardial Infarction in Young Patients with Hodgkin's Disease-Potential Pathogenic Role of Radiotherapy, Chemotherapy and Splenectomy. Clin Invest 1993; 7 (1): 57.
112. Hancock SL, Donaldson SS, Hoppe RT. Cardiac Disease Following Treatment of Hodgkin's Disease in Children and Adolescents. J Clin Oncol 1993; 11: 1208.

113. Donaldson SS, Kaplan HS. Complication of treatment of Hodgkin's Disease in Children. *Cancer Treat Rep* 1982; 66: 977-989.
114. Constine LS, Donaldson SS, McDougall IR, et al. Thyroid Dysfunction After Radiotherapy in Children with Hodgkin's disease. *Cancer* 1984; 53: 878-883.
115. Sklar C, Whitton J, Mertens A, et al. Abnormalities of the Thyroid in Survivors of Hodgkin's disease. Data from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3227-3232.
116. Mackie EJ, Radford M, Shalet SM. Gonadal Function Following Chemotherapy for Childhood Hodgkin's Disease. *Med Pediatr Oncol* 1996; 27 (2):74-78.
117. Vose J.M., Bierman P.J., Ormitage J.O. Hodgkin's disease. The Role of Bone Marrow Transplantation. *Semin Oncol* 1990; 17: 749-757.
118. Hartmann F, Renner C, Jung W, et al. Treatment of Refractory Hodgkin's Disease with an anti-CD16/CD30 Bispecific Antibody. *Blood* 1997; 89: 2042.
119. Schnell R, Staak O, Borchmann P, et al. Phase I study with an antiCD30 ricin A-chain immunotoxin (Ki-dgA) in patients with refractory CD30+ Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1779.
120. Engert A, Diehl V, Schnell R, et al. A Phase I Study of an anti-CD25 Ricin A Chain Immunotoxin (RT5-SMPT-dgA) in Patients with Refractory Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 1997; 89: 403.
121. Lucas KG, Salzman D, Garcia A, et al. Adoptive Immunotherapy with Allogeneic EBV Specific Cytotoxic T- Lymphocytes for Recurrent, EBV-Positive Hodgkin Disease. *Cancer* 2004; 100: 1892.
122. Rooney CM, Smith CA, Ng GY, et al. Use of Gene-Modified Virus Specific T- Lymphocytes to Control EBV-Related Lymphoproliferation. *Lancet* 1995; 345: 9-13.
123. Correa P, O' Connor G. Epidemiological Patterns of Hodgkin's Disease. *Int J Cancer*. 1971; 8: 192-201.
124. Diehl V, Re D, Josting A. Hodgkin's Disease. Clinical manifestation, Staging, and Therapy. In: *Hematology Basic Principle and Practice*. Hofmann R, Benz EJ, Shattil S, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, Mc Glave P (eds). 4th ed. Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone, 2005:1347-1377.
125. Ambinder RF, Browning PJ, Lorenzana I et al (1993) . Epstein-Barr Virus and Childhood Hodgkin's Disease in Honduras and the United States. *Blood* 81:462-467.
126. Cavdar AO, Pamir A, Gözdaşoğlu S, et al. Hodgkin's Disease in Children: Clinicoepidemiologic and Viral (Epstein-Barr virus) Analyses. *Med Pediatr Oncol* 1999; 32: 18-24.

127. Schellong G, Hörnig-Franz I, Brömswig J et al. Zur Bedeutung des Procarbazins in der Chemotherapie des Morbus Hodgkin-ein Bericht der Kooperativen Terapiestudie DAL-HD-85. *Klin Pödiat* 1988; 200:205-13.
128. Schellong G, Hörnig-Franz I, Rath B et al. OEPA Versus OPPA in Combined Modality Treatment of Hodgkin's Disease. Preliminary Results of the German-Austrian Multicenter DAL-HD-90. *Med Pediat Oncol* 1994; 23: 184.
129. Schellong G, Hörnig-Franz I, Rath B et al. Reduzierung der Strahlendosen auf 20-30 Gy im Rahmen einer Kombinierten Chemo-/Radiotherapie Beim Morbus Hodgkin im Kindesalter-ein Bericht der Kooperativen Therapiestudie DAL-HD-87. *Klin Pödiat* 1994; 206:253-262.
130. Sherif Abou El Naga M.B., B.Ch., (M.Sc.) Pediatrics. Pediatric Hodgkin's Disease ,The Response to a Combined Modality Treatment . *Türk Pediatri Kurumu Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Pediatrik Hemato-Onkoloji Bilim Dalı ve PEHAM işbirliği ile Hodgkin Sempozyumu*.13-15 Kasım 1996.
131. Oguz A, Karadeniz C, Okur FV, Citak EC, Pinarli FG, Bora H, et al. Prognostic Factors and Treatment Outcome in Childhood Hodgkin Disease. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45(5): 670-675.
132. Donaldson SS, Hudson M, Oberlin O, et al. Pediatric Hodgkin's Disease. In: Mauch PM, Armitage JO, Diehl V, et al., eds. *Hodgkin's Disease*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999: 531-605.
133. Matteo E. MD, Baron A., MD, Chabay P., Porta J., MD, Dragosky M., MD, Preciado M.PhD. Comparison of EBV Presence in Hodgkin Lymphoma in Pediatric Versus Adult Argentine Patients. *Ach Pathol Lab Med*. 2003;1325-1329.
134. Mueller M, EBV and Hodgkin's Disease . An Epidemiological Paradox. *EBV Rep* . 1997; 4:1-2.
135. Hsu J, Glaser S. EBV –Associated Malignancies. *Epidemiologic Patterns and Etiologic Implications*. *Clin Rev Hematol Oncol* .2000; 34:27-53.
136. Hudson MM, Onciu M, Donaldson SS, Hodgkin lymphoma. In: Pizzo PA, Poplack DG, editors. *Principles and practice of pediatric oncology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 694-721.
137. Homing SJ,. Hodgkin lymphoma. In: Williams Hematology. Beutler E, Lichtman BA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds) .6 th ed. McGraw-Hill Companies, 2001:1215-1235.
138. Claviez A, Tiemann M, Lüders H, Krams M, Parwaresch R, Schellong G, Dörffel W. Impact of Latent Epstein-Barr Virus Infection on Outcome in Children and Adolescents with Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005 Jun 20; 23(18): 4048-56.

139. Hodgkin T, On Some Morbid Appearances of the Absorbent Glands and Spleen. *Med Chir Trans* 1832; 17: 68.
140. Karnik S, Srinivasan B, Nair S. Hodgkin's lymphoma Immunohistochemical Features and its Association with EBV LMP-1 with EBV LMP-1. Experience from a South Indian Hospital. *Pathology*. 2003 Jun; 35(3): 207-211.
141. Cickusic E, Mustedanagic-Mujanovic J, Iljazavic E, Karasalihovic Z, Skaljic I. Bosn J. Association of Hodgkin's Lymphoma with EBV Infection. *Basic Med Sci* 2007 Feb; 7(1): 58-65.
142. Gandhi M.K. Epstein-Barr Virus Associated Hodgkin's Lymphoma. Department of Tumour Immunology, Division of Infectious Diseases and Immunology, Queensland Institute of Medical Research, 300 Herston Road, Herston, Brisbane 4006, Queensland, Australia. *British Journal of Haematology*, 125, 267-281.
143. Yavuz G, Cavdar AO, Babacan E, et al. Çocukluk Çağı Hodgkin Lenfomasında Epstein-Barr Virus Enfeksiyonu. *Ank Üni Tıp Fak Mec* 1989; 42: 381-393.
144. Yavuz G, Cavdar AO, Gözdaşoğlu S, et al. Sero-epidemiological Studies Related to Epstein-Barr virus in Healthy. Turkish Children and in Malignant Lymphoma Patients . VI. International Conference on Malignant Lymphoma. *Ann Oncol* 1996, June 5-8; 7 (Supp 3): 72.
145. Pamir A, Cavdar AO, Vonlanthen R, et al. Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein Expression and Distribution of Viral Subtypes in Turkish Hodgkin's Disease (A comparative study with nonneoplastic lymphoid hyperplasia). *Med Pediatr Oncol* 1995; 25:260.
146. Anastasi J, Bauer KD & Variakojis D. DNA aneuploidy in Hodgkin's Disease. A Multiparameter Flow-Cytometric Analysis with Cytologic Correlation. *American Journal of Pathology* 128: 573-582.
147. Connelly RR, Christine BW. A Cohort Study of Cancer Following Infectious Mononucleosis . *Cancer Res* 1974; 34: 1172.
148. Munoz N, Davidson RJL, Wirthoff LB, et al. Infectious Mononucleosis and Hodgkin's Disease. *Int J Cancer* 1978; 22:10.
149. Grufferman S. Discussion of Epidemiologic Studies Assessing the Role of the Epstein-Barr Virus in Hodgkin's disease. *Yale J Biol and Med* 1987; 60: 329
150. Karnik S, Srinivasan B, Nair S. Hodgkin's Lymphoma Immunohistochemical Features and its Association with EBV LMP-1 with EBV LMP-1. Experience from a South Indian hospital. *Pathology*. 2003 Jun; 35(3): 207-211.

151. Nerurkar AY, Vijayan P, Sirinivas V, et al. Antibody Responses to EBV –Encoded LMP-1 and expression of LMP-1 in Juvenile Hodgkin’s disease. *J Med. Virol.*,2002; 68:379-377.
152. Swerdlow AJ. Epidemiology of Hodgkin’s Disease and non-Hodgkin’s Lymphoma. *Eur J Nuc Med. Mol Imag.*,2003; 30:S (1),1-11.
153. Durdow MG, Razumowic JJ, Capkun V, Murray P. Assesment of the Prognostic Impact of the EBV – Encoded LMP-1 Expression in Hodgkin’s Disease. *Br J Cancer* ,2001; 84 (9): 1227-1234.
154. Glaser SL, Lin LJ, Steward SL, et al. Epstein-Barr Associated Hodgkin’s Disease : Epidemiologic Characteristics in International data. *Int J Cancer* 1997; 79: 375.
155. Naresh KN, Srinivas V, Soman CS. Distribution of Various subtypes of non-Hodgkin’s lymphoma in India: a study of 2773 Lymphomas Using R.E.A.L and WHO Classifications. *Ann Oncol* 2000; 11 Suppl 1: 63-7.
156. Dukers DF, Jaopars LH, Vos W, et al. Quantitative Immunohistochemical Analysis of Cytokine Profiles in EBV Positive and Negative Cases of Hodgkin’s Disease . *J. Pathol*, 2000; 19:143-149.
157. Oğuz A, Karadeniz C, Okur FV, et al. Prognostic Factors and Treatment Outcome in Childhood Hodgkin Disease. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45: 670-675.
158. Peh SC, Looi L, Pallesen G. Epstein-Barr Virus and Hodgkin’s Disesase in Multi-ethnic Population in Malaysia. *Histopathology*. 1997 Mar; 30(3): 227-33.
159. Zarate -osorno A, Romon LN, Kingma DW, et al. Hodgkin’s disease in Mexico. Prevalence of EBV sequences and correlation with histologic subtype. *Cancer* 1995; 75 (6): 1360.
160. Andriko JA, Aguilera NS, Nandedkar MA, et al. Childhood Hodgkin Disease in United States. An Analysis of Histologic Subtypes and Association with EBV. *Mod Pathol* 1997; 10(4): 366.
161. Precido MV, Diez B, Grinstein S. Epstein Barr Virus in Argentine Pediatric Hodgkin’s Disease. *Leu Lymphoma* 1997; 24(3-4): 283.
162. Engel M, Essop MF, Close P, Hartley P, Pallesen G, Sinclair-Smith C Improved Prognosis of Epstein-Barr Virus Associated Childhood Hodgkin’s Lymphoma. Study of 47 South African Cases. *J Clin Pathol*. 2000 Mar; 53(3): 182-186.
163. Krugmann J, Tzankov A, Gschwendtner A, Fischhofer M, Greil R, Fend F, Dirnhofer S. Longer failure –free survival interval of Epstein –Barr virus –associated classical Hodgkin’s lymphoma: a single-institution study. *Institute of Pathology, University of Innsbruck, Austria. Mod Pathol*. 2003 Jun; 16(6): 566-573.

164. Karnik S, Srinivasan B, Nair S. Pathology. 2003 Jun; 35(3): 207-211 . Hodgkin's Lymphoma. Immunohistochemical Features and its Association with EBV LMP-1. Experience from a South Indian Hospital.
165. Cickusic E, Mustedanagic –Mujanovic J, Iljazovic E, Karasalihovic Z, Skaljic I. Association of Hodgkin's Lymphoma with Epstein Barr Virus Infection. Department of Pathology, Polyclinic Clinics Center Tuzla, Trnovac bb, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina. Bosn Jbasic Med Sci. 2007 Feb; 7(1): 58-65.
166. Keegan TH, Glaser SL, Clarke CA, Gulley ML, Craig FE, Digiuseppe JA, Dorfman RF, Mann RB, Ambinder RF. Epstein-Barr Virus as a Marker of Survival After Hodgkin's Lymphoma. A population-based study. J Clin Oncol. 2005 Oct 20;23(30).
167. Glaser SL, Keegan TH. Epstein-Barr Virus as a marker of survival after Hodgkin's lymphoma: a population-based on study. J Clin Oncol.; 23(30): 7604-7613.
168. Naoko Asano, Aya Oshiro, Keitaro Matsuo, Yoshitoyo Kagami, Fumihiro Ishida. Prognostic Significance of T Cell or Cytotoxic Molecules Phenotype in Classical Hodgkin's Lymphoma: A Clinicopathologic Study. Journal of Clinical Oncology, Vol 24, No 28 (October 1), 2006: pp.4626-4633.
169. Spector N., Milito C.B, Biasoli I., and Morais J.C. p53 Expression As a Prognostic Indicator in Hodgkin's Lymphoma. Journal of Clinic Oncology. Leukemiaand Lymphoma. September 2005; 46(9).
170. Spector N., Milito C., Biasoli I., Luiz R.R., Pulcheri W., Morais J.C. The Prognostic value of the Expression of bcl-2, p53 and LMP-1 in Patients with Hodgkin's Lymphoma. Leukemiaand Lymphoma, September 2005; 46(9):1301-1306.
171. Smolewski P, Niewiadomska H, Blonski JZ, Robak T, Krykowski E. Expression of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) and p53, bcl2 or C-erb B-2 proteins on Reed-Sternberg Cells. Prognostic Significance in Hodgkin's Disease. Neoplasma.1998; 45(3): 140-7.
172. Stephen J.Sup, Carlos A. Alemany, Brad Pohlman, Paul Elson, Serena Malhi, Snehal Thakkar, Roxanne Steinle, and Eric D.Hsi. Expression of bcl-2 in Classical Hodgkin's Lymphoma. An Independent Predictor of poor Outcome. Journal of Oncology June 2005.23(16) ;3773-3779
173. Godal R, Kelholz, Uharek L, Lesch A, Asemissen AM, Busse A, Na IK, Thiel E, Scheibenbogen C. Lymphomas are sensitive to perforin-dependent cytotoxic pathways despite expression of PI-9 and overexpression of bcl-2. Blood. 2006 Jun15; 107(12): 4974-5.