



**T.C. SAğLIK BAKANLIğI
SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE ULUSLARARASI TIP FAKÜLTESİ
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR ŞEHİR HASTANESİ**

TIBBİ PATOLOJİ KLİNİğİ

**KLASİK HODGKİN LENFOMADA(KHL)
TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLAR VE
PLAZMA HÜCRELERİNİN
PROGNOSTİK ÖNEMİ**

Dr. Sakine Çati

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL 2024



**T.C. SAğLIK BAKANLIğI
SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE ULUSLARARASI TIP FAKÜLTESİ
KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR ŞEHİR HASTANESİ**

TIBBİ PATOLOJİ KLİNİğİ

**KLASİK HODGKİN LENFOMADA(KHL)
TÜMÖR İLİŞKİLİ MAKROFAJLAR VE
PLAZMA HÜCRELERİNİN
PROGNOSTİK ÖNEMİ**

Dr. Sakine Çati

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nagehan Özdemir Barışık

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2024

TEŞEKKÜR

Patoloji uzmanlık eğitim sürecinde ben ve diğer asistanlar için her zaman uygun eğitim ve çalışma koşullarını en ideal şartlarda hazırlamaya çalışan, bilgi ve birikiminden her daim yararlandığım, her konuda desteği ve çözümleriyle yanımda olan, akademik konular dahil pek çok konuda bana ışık tutan, çalışmaktan onur duyduğum, sohbet etmekten zevk aldığım, benim için yeri ayrı olan, çok değerli hocam ve tez danışmanım Prof.Dr.Nagehan ÖZDEMİR BARIŞIK'a başta olmak üzere,

Fikir ve önerilere her daim açık, güler yüzlü ve çözüm odaklı olan, bana endokrin patolojiyi sevdiren, asistanlık sürecimde eğitimimde büyük katkıları olan değerli hocam Prof. Dr. Aylin EGE GÜL'e,

İyi kalpli bir insan olan, hoşgörüsü, sabrı ve tez süreci dahil desteğiyle yanımda olan değerli hocam Doç.Dr.Sevinç Hallaç KESER'e,

Bilgisi, enerjisi ve titizliğiyle bana çok şey katan değerli ablam, hocam Başasistan Dr. Dilek ECE'ye,

Patoloji eğitiminde bilgisine, derin tecrübesine hayranlık duyduğum ve kendisiyle vaka bakmaktan zevk aldığım değerli abim, hocam Uzm. Dr. Murat ERKAN'a,

Eğitimim süresince birlikte çalışmaktan ve sohbet etmekten mutluluk duyduğum değerli Hocam Uzm. Dr. Sibel ÇETİNKAYA'ya,

Patoloji eğitimime başladığım ilk günden itibaren kendilerinden çok şey öğrendiğim, öğrenme ve öğretme hevesi taşıyan başta Gonca Gül Geçmen, Şermin Kökten, Şükran Kayıpmaz, Selma Şengiz Erhan, Kayhan Başak olmak üzere değerli eğitimcimlere,

Birlikte vakit geçirdiğimiz, bu bölüme başlarken bana çok şey kattıklarını düşündüğüm şimdi birer uzman olan değerli arkadaşlarıma,

Tez hazırlık sürecinde desteklerini esirgemeyen Hematolog Uz.Dr.Güven YILMAZ'a, Tezimin teknolojik alandaki destekçisi Virasoft firmasının tüm değerli çalışanları ve özellikle çok değerli destekleri için Gökhan Hatipoğlu ve Biyomühendis Gizem Solmaz Yılmaz'a,

Tezimin hazırlık süreci de olmak üzere eğitimim boyunca desteklerini ve katkılarını eksik etmeyen laboratuvar, sekreterlik, idari bölüm görevlilerimize ve özellikle tezimin preparat hazırlığında çok büyük emeği olan değerli Biyologlar Merve Akçe, Nimet Yeşilbaş ve Büşra Alay, Ayla Sinav, Şeyda Tdjani, Senem Arpacı başta olmak üzere laboratuvar çalışanlarına,

Her zaman desteğini yanımda hissettiğim benim için birer anne olan canım ablalarıma ve yakın dostum erkek kardeşime, bugüne gelmemde en büyük pay sahibi olan hakkını her anlamda asla ödeyemeyeceğim birtanecik Anneme ve canım Babama

Minnet ve şükranlarımla...

Dr. Sakine Çati

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
BULGULAR	40
TARTIŞMA	69
SONUÇLAR	84
KAYNAKLAR	86
EKLER	97
ÖZGEÇMİŞ	105

SİMGELER VE KISALTMALAR

BCL6	: B-cell lymphoma 6
BOB1	: B cell specific Octamer Binding protein-1
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CD4-163	: Cluster of differentiation 4-163
CK	: Cytokeratin
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EMA	: Epithelial membrane antigen
FSM	: Flow Sito Metre
GLUT-1	: Glucose transporter 1
H&E	: Hematoksilen & Eosin
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HTLV-1	: Human T lymphotropic virus type 1
IFN-γ	: Interferon gama
Ig	: Immunglobulin
IHK	: Immün Histo Kimya
IL-3	: Interleukin-3
IPS	: International Prognostik Skor
KHL	: Klasik hodgkin lenfoma
KT	: Kemoterapi
LFKHL	: Lenfosit fakir klasik hodgkin lenfoma
LZKHL	: Lenfosit zengin klasik hodgkin lenfoma
MSKHL	: Mikst sellüler klasik hodgkin lenfoma
NLPHL	: Nodüler lenfosit predominant hodgkin lenfoma

NSKHL	: Nodüler sklerozan klasik hodgkin lenfoma
OCT2	: Octamer binding protein 2
P63	: Tumor protein 63
Pax-5	: Paired box gene 5
PET	: Positron emisyon tomografisi
PD-1	: Programmed Death-1
PD-L1	: Programmed Death Ligand-1
PD-L2	: Programmed Death Ligand-2
PET-CT	: Positron Emission Tomography and Computed Tomography
PTHL	: Periferik T Hücreli Lenfomalarda
RT	: Radyoterapi
TCR	: T cell receptors
TdT	: Terminal deoxynucleotidyl transferase
Th1	: T helper 1
TNET	: Timik Nöroendokrin tümör
TİM	: Tümör İlişkili Makrofaj
TNM	: Tumor-Node-Metastasis
TMÇ	: Tümör Mikro Çevresi
WHO	: World Health Organisation

TABLO LİSTESİ

Tablo-1: Cotswolds modifikasyonlu Ann Arbor Evreleme sistemi.....	22
Tablo-2: Uluslararası Prognostik Skor (IPS 7 ve IPS 3).....	23
Tablo-3: Olgulara ait klinikopatolojik özellikler.....	43
Tablo-4: CD20 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki.....	48
Tablo-5: CD68 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki.....	52
Tablo-6: CD138 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki.....	56
Tablo-7: CD163 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki.....	60
Tablo-8: Genel sağkalım ile klinikopatolojik veriler arasında ilişki.....	61
Tablo-9: Proresyonsuz sağkalım (PFS) ile klinikopatolojik veriler arasında ilişki...	62
Tablo-10: Genel sağkalım için cox regresyon univariate analizi.....	63
Tablo-11: Genel sağkalım için cox regresyon multivariate analizi.....	64

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1: Nodüler Sklerozan Klasik Hodgkin Lenfoma olgusu (H&E, x5mm).....	13
Şekil-2: Mikst Sellüler Klasik Hodgkin Lenfoma olgusu (H&E, x5mm).....	14
Şekil-3: Lenfositten Zengin Klasik Hodgkin Lenfoma olgusu (H&E, x500µm).....	15
Şekil-4: Lenfositten Fakir Klasik Hodgkin Lenfoma olgusu (H&E, x200µm).....	16
Şekil-5: CD30+ HRSC ile Hodgkin nişinin temsili şeması	26
Şekil-6: Anotasyon bölgesinden seçilen referans görüntü alanlarına örnek.....	32
Şekil-7: Değerlendirilecek alandan nonneoplastik lenfoid alan, katlantı alanları, çevre bağ doku ve nekroz alanının çıkarıldığı örnek olgu (A,B).....	32
Şekil-8: CD20 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B).....	34-35
Şekil-9: CD68 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B).....	35
Şekil-10: CD138 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B).....	36
Şekil-11: CD163 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B).....	37
Şekil-12: Yapılan analiz sonucu elde edilen verileri gösteren tabloya örnek.....	38
Şekil-13: KHL olguların cinsiyet dağılımı.....	40
Şekil-14: KHL histolojik alt tip dağılımı.....	41
Şekil-15: KHL olguların Evre dağılımı.....	42
Şekil-16: Ortalama Hemogloblin(g / dL) ve Laktat Dehidrogenaz (U/L) dağılımı....	42
Şekil-17: CD20'nin progresyon için ROC eğrisi.....	44

Şekil-18: CD20 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi.....	45
Şekil-19: CD68'in progresyon için ROC eğrisi.....	49
Şekil-20: CD68 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi.....	50
Şekil-21: CD138'in progresyon için ROC eğrisi.....	53
Şekil-22: CD138 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi.....	54
Şekil-23: CD163'in progresyon için ROC eğrisi.....	57
Şekil-24: CD163 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi.....	58
Şekil-25: B lenfositlerdeki CD20 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	65
Şekil-26: Makrofaj hücrelerindeki CD68 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	65
Şekil-27: Plazma hücrelerindeki CD138 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	66
Şekil-28: Makrofaj hücrelerindeki CD163 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	66
Şekil-29: B lenfositlerdeki CD20 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	67
Şekil-30: Makrofaj hücrelerindeki CD68 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	67
Şekil-31: Makrofaj hücrelerindeki CD163 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	68
Şekil-32: Plazma hücrelerindeki CD138 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği.....	68

ÖZET

Amaç: Klasik Hodgkin Lenfoma (KHL) genç erişkinleri etkileyen en sık görülen malignitelerden biridir. KHL iyi bir prognoza sahip olmakla birlikte bu hastalıkta nüks eden veya standart tedaviyi takiben kür olmayan, tüm hastaların %10-30 unu oluşturan bir hasta grubu mevcuttur. Kötü prognozları göz önüne alındığında, bu hasta grubunun önceden belirlenmesi önemli bir tıbbi ihtiyaçtır. Bu yöndeki çalışmaların amacı yüksek riskli hasta grubunu önceden tesbit etmek, hedefe yönelik biyobelirteç ve tedavi protokollerini belirlemektir. Biz de çalışmamızda B lenfosit, plazma hücreleri, tümör-ilişkili makrofaj (TİM) yoğunluğunun prognostik verilerle ilişkisini araştırmayı ve bu hasta grubuna yönelik spesifik biyobelirteçlerin bulunmasına katkı sağlamayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Hastanemiz hemato-onkoloji kliniğinde takip edilen 106 olguya ait seçilmiş parafin bloklardan hazırlanan kesitlere immünohistokimyasal yöntem ile CD163, CD68, CD138 ve CD20 antikoru uygulanmıştır. Bulgular ile sağkalım, nüks, evre, LDH, Hemogloblin, IPS-7 skoru ile arasındaki ilişki araştırıldı. İstatistiksel incelemede Ki kare testi, Mann-Witney U ve Kruskal Wallis testi kullanıldı. Sağkalım analizi için Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı ve log-rank testi ile incelendi. Değişkenlerin genel ve progresyonsuz sağkalım ile ilişkisi tek değişkenli ve çok değişkenli Cox regresyon modelleriyle analiz edildi. İstatistiksel analizlerde p değeri <0.05 düzeyi anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Azalmış B hücresi içeriği artmış nüks ve ileri evre ile ilişkiliydi. Artmış B hücre içeriği düşük IPS, düşük LDH, normal-yüksek Hg düzeyi ile ilişkiliydi. Medyan genel sağkalım(OS) ve progresyonsuz sağkalım(PFS) ile ilişki

görülmedi ancak çok değişkenli analizde artmış CD20 ekspresyon düzeyi OS için bağımsız prognostik faktördü.

CD138+ plazma hücre yoğunluğu sağkalım, yaş, cinsiyet, histolojik tip, IPS, tedavi yanıtı, evre, LDH ile ilişki değildi. Fakat artmış nüks riski ve düşük Hg düzeyi ile anlamlı ilişki gösterdi.

CD68 ve CD163 pozitif makrofaj hücreleri ile medyan genel sağkalım(OS) ve progresyonsuz sağkalım(PFS), nüks riski, ileri evre, IPS ve LDH düzeyi arasında anlamlı ilişki izlendi. Ancak CD68, CD163 ile yaş, cinsiyet, histolojik tip, hg düzeyi ilişkili değildi. CD68 ile tedavi yanıtı arasında sınırda anlamlı ilişki vardı. CD163 tedavi yanıtı ile ilişkili değildi. Tek değişkenli analizde CD68 ve CD163 ekspresyon düzeyinin sağ kalım üzerine anlamlı düzeyde etki ettiği görüldü.

Sonuçlar: Çalışmamızla mikroçevrede artmış makrofaj ve azalmış B lenfositlerin varlığı agresif tedaviye aday olabilecek hastaların seçiminde ve hedefe yönelik tedavilerin belirlenmesinde literatüre ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: İmmünohistokimya, Klasik hodgkin lenfoma, Mikroçevre, Prognoz

ABSTRACT

Aim: Classical Hodgkin's Lymphoma (CHL) is one of the most common malignancies affecting young adults. Although CHL has a good prognosis, there is a group of patients who relapse or do not cure following standard treatment, which accounts for 10-30% of all patients. Considering their poor prognosis, predetermination of this patient group is an important medical need. The aim of these studies is to identify the high-risk patient group in advance and to determine targeted biomarkers and treatment protocols. In our study, we aimed to investigate the relationship of B lymphocyte, plasma cell, tumour-associated macrophage (TAM) density with prognostic data and to contribute to the discovery of specific biomarkers for this patient group.

Material and Methods: CD163, CD68, CD138 and CD20 antibodies were applied immunohistochemically to sections prepared from selected paraffin blocks of 106 patients followed up in the haemato-oncology clinic of our hospital. The relationship between the findings and survival, recurrence, stage, LDH, haemoglobin, IPS-7 score was investigated. Ki-Kare test, Mann-Witney U and Kruskal-Wallis test were used for statistical analysis. Kaplan-Meier method was used for survival analysis and analysed by log-rank test. The association of variables with overall and progression-free survival was analysed by univariate and multivariate Cox regression models. A p value <0.05 was considered significant in statistical analyses.

Results: Decreased B cell content was associated with increased recurrence and advanced stage. Increased B cell content was associated with low IPS, low LDH, normal-high Hg levels. There was no association with median overall survival (OS) and progression-free survival (PFS), but increased CD20 expression level was an independent prognostic factor for OS in multivariate analysis.

CD138+ plasma cell density was not associated with survival, age, gender, histological type, IPS, treatment response, stage, LDH. However, it was significantly associated with increased recurrence risk and low Hg level.

CD68 and CD163 positive macrophage cells were significantly associated with median overall survival (OS) and progression-free survival (PFS), recurrence risk, advanced stage, IPS and LDH level. However, CD68 and CD163 were not associated with age, gender, histological type and Hg level. There was a borderline significant relationship between CD68 and treatment response. CD163 was not associated with treatment response. In univariate analysis, CD68 and CD163 expression levels had a significant effect on survival.

Conclusion: We suggest that the presence of increased macrophages and decreased B lymphocytes in the microenvironment may shed light on the literature in the selection of patients who may be candidates for aggressive treatment and in the determination of targeted therapies.

Keywords: Immunohistochemistry, Classical hodgkin lymphoma, Microenvironment, Prognosis

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Klasik Hodgkin lenfoma (KHL) ,Hodgkin Reed-Sternberg (HRS) hücreleri olarak adlandırılan dağınık, seyrek tümör hücre popülasyonu ve çoğunluğu T lenfositler olmak üzere B lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller ve histiyositleri içeren mikro çevreden (TMC) oluşan benzersiz histopatolojiye sahip bir neoplazidir. HRS hücreleri, tümör gelişimini ve progresyonunu desteklemek için çok sayıda kemokin ve sitokin üreterek kendine has bir mikroçevre düzenler. Son yıllarda Klasik Hodgkin lenfoma ve folliküler lenfoma gibi hematolojik malignitelerde bu çevresel ortamın tümör progresyonunda ve prognozda önemli bir etken olduğu düşünülmektedir. KHL’de özellikle B lenfosit, makrofaj, T lenfosit infiltrasyon yoğunluğunun prognostik rolüne ilişkin, immunohistokimyasal yöntemlerle ya da gen ekspresyon profil analizi ile çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların bazılarında makrofaj yoğunluğunun artmasının sağkalımı azalttığı gösterilirken, diğer bir kısmında sağkalıma etkisinin olmadığı belirtilmektedir. Buna ek olarak çeşitli çalışmalarda, KHL'deki reaktif B hücrelerinin olumlu bir etki gösterdiği öne sürülmüş, bu çalışmalarla KHL'de B hücresinin antitümöral bir rol oynadığını ve lokal immün reaksiyonda seyirci olmaktan ziyade temel aktörlerden biri olabileceği ifade edilmiştir. Ancak bununla birlikte çalışmalarda tümörle ilişkili B lenfositlerinin rolüne ilişkin mevcut veriler, solid tümörlerdeki immünoinhibitör fonksiyonları ile tümör ilerlemesinde artış gösteren ve IL-10 ve TGF- β gibi kanıtlanmış bir inhibitör sitokin kaynağı olan regülatör B lenfositleri (B-reg'ler) gibi tümörü teşvik edici bir işlevi olduğunu da göstermektedir.

Plazma hücrelerinin (PH) KHL'deki mikroçevrenin dinamiklerinde rol oynayıp oynamadığı henüz derinlemesine araştırma konusu olmamıştır. Fakat bir çalışmada KHL'li hastaların tümör biyopsileri araştırılmış ve CD138+ PH'nin B semptomları, ileri evre ve eozinofil infiltrasyonu ile ilişkili olduğunu bulunmuştur. Ancak prognoz ve sağkalım üzerine etkisi net olarak gösterilememiştir.

Hodgkin lenfomada prognozu belirlemede biyokimyasal ve klinik verilerin yer aldığı Uluslararası Prognostik Skoru (IPS) kullanılmaktadır. Hasenclever ve Diehl 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada serum albümin düzeyi, hemoglobin düzeyi, erkek cinsiyet, 45 yaş üstü olmak, lökosit sayısı, lenfopeni ve evre IV hastalığı bağımsız risk faktörleri olarak ortaya koymuştur. Ancak bunlara ek olarak son yıllarda KHL'de tümör-ilişkili makrofaj(TİM) ve B lenfosit yoğunluğunun belirlenmesinin, prognozu öngörmenin yanı sıra hedefe yönelik tedavi açısından da büyük yarar sağlayabileceği düşünülmektedir.

Evreleme Cotswold modifikasyonlu Ann Arbor evreleme sistemine göre yapılmaktadır. Hastalar sınırlı (Evre 1 ve 2) ve ilerlemiş (Evre 3 ve 4) hastalığa göre tedavi edilmektedir. İleri evre Klasik Hodgkin lenfomalı (KHL) hastaların bir grubu standart tedaviyi takiben nüks etmekte veya ilerlemektedir. Kötü prognozları göz önüne alındığında, bu hasta grubunun önceden tanınması önemli bir tıbbi ihtiyaçtır. Daha önceki araştırmalarda tümör mikroçevresinin KHL sonuçlarıyla ilişkili özellikleri tanımlanmış olsa da, bu yüksek riskli grupta geliştirilen ve doğrulanan biyobelirteçler hala eksiktir.

Bu çalışmada KHL olgularında histopatoloji lamalarında tüm slayt görüntü analizini (WSI: whole slide image) kullanılarak CD68 ve CD163 ile tümör-ilişkili

makrofaj, CD20 ile reaktif B lenfosit, CD138 ile plazma hücre yoğunluğunu saptamak ve bunların progresyonsuz ve medyan sağkalım süresi ile olası ilişkilerini ortaya koymak; bu bulguların eşliğinde patoloji raporlarında makrofaj, B lenfosit, plazma hücresi yoğunluğunun vurgulanmasının gerekliliğini araştırmak ve ek olarak da Uluslararası Prognostik Skor (IPS), Ann-Ahbor evre, yaş, cinsiyet, histolojik alt tip, LDH düzeyi gibi klinikopatolojik parametreler ile ilişkisinin olup olmadığını açığa çıkarmak amaçlanmıştır.



2-GENEL BİLGİLER

2.1 TANIM VE TARİHÇE

Klasik Hodgkin Lenfoma germinal merkez B-hücrelerinden kaynaklanan immün hücrelerden zengin reaktif bir mikroçevre içerisinde az sayıda tümör hücreleri ile karakterize bir lenfoid neoplazmdır (1).

Sir Thomas Hodgkin 19'uncu yüzyılın ilk yarısında, Samuel Wilkins'in "Lenf bezlerinin ve dalağın bazı hastalıklı görünüşleri üzerine" başlıklı bir makalede Hodgkin Hastalığı (HH) olarak adlandırdığı sürecin ilk makroskopik tanımını yapmıştır. 1898 ve 1902 yıllarında Carl Sternberg ve Dorothy Reed diğer araştırmacılar tarafından bağımsız olarak tipik "tanı" hücrelerini (Hodgkin Reed Sternberg hücresi) tanımlamıştır. 1956 yılında Smetana ve Cohen, sklerotik değişiklikler ve daha iyi bir prognoz ile karakterize olan granülomatöz HH'nın histopatolojik bir varyantını tanımlamıştır. Bu varyant, 1964 yılında Lukes, Butler ve Hicks tarafından önerilen sınıflandırmada "Nodüler Sklerozan Hodgkin Hastalığı" olarak adlandırılmış ve 1994 yılına kadar rutin olarak kullanılmıştır (2).

Bu sınıflandırmada Hodgkin lenfoma (HL) morfolojik, fenotipik, genotipik ve klinik bulgular ışığında nodüler lenfosit predominant (NLPHL) ve klasik Hodgkin lenfoma (KHL) olarak iki ana tipe ayrılmıştır. KHL ise kendi içinde 4 alt tip içermektedir; nodüler sklerozan (NSKHL), mikst sellüler (MSKHL), lenfositten fakir (LFKHL) ve lenfositten zengin KHL (LZKHL). Bu yaklaşım son olarak 2001 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) şeması tarafından benimsenmiş ve 2008 DSÖ sınıflandırmasında teyit edilmiştir (3,4).

2.2 HODGKİN LENFOMA

Hodgkin lenfoma (HL); tüm malignitelerin %1'inden azını, lenfomaların ise yaklaşık %10'unu oluşturan, yıllık 100.000 de 2-3 insidansla kısmen yaygın bir germinal merkez kökenli B hücre malignitesidir.

Nodüler Lenfosit Predominant Hodgkin Lenfoma (NLPHL), hematolenfoid neoplazmların WHO sınıflandırmasının üçüncü baskısından bu yana ayrı bir klinikopatolojik antite olarak kabul edilmektedir. Klasik HL, özellikle lenfositten zengin varyant ve NLPHL arasındaki benzerliklere rağmen, NLPHL'nin KHL'den farklı bir neoplazm olduğuna dair çok sayıda klinikopatolojik, etiyolojik ve patogenetik kanıt vardır. Klasik tip HL dört histolojik alt tip içermektedir. Bunlar; nodüler sklerozan (NSKHL), mikst sellüler (MSKHL), lenfositten zengin (LZKHL) ve lenfositten fakir (LFKHL)'dir.

Modern tedavi protokolleri ile bu alt tipler prognostik önemlerini yitirmiştir. Bununla birlikte, epidemiyolojik ve translasyonel çalışmaları desteklemek için bu alt tiplerin tanımlanmasında hala yarar vardır, çünkü spesifik alt tipler farklı bir etiyopatogenez ve farklı coğrafi dağılım ile ilişkili gibi görünmektedir. Malign hücrelerin seyrek olduğu ve mikroçevredeki çeşitli immün hücrelerin hastalığın şekillenmesinde çok önemli bir rol oynadığı bu lenfoma grubunun histopatolojik yapısı, hastalığı tanımlama ve sınıflandırmanın yanı sıra hastalar için tedavi seçeneklerine de rehberlik etmektedir (1).

2.2.1 Klasik Hodgkin Lenfoma

2.2.1.1 Giriş

KHL'nin temel tanımı geçen yüzyıldan bu yana pek değişmemiş olsa da, etiyoloji ve patogenez hakkındaki bilgiler son yıllarda katlanarak artmıştır. Biyolojik temel bilgiler, patoloji camiasında profesyonel tartışmalara konu olan, tanısal tuzaklara yol açan gri zon lezyonlar ve taklitçilerinin tanınmasına yol açmıştır. Bu etiyopatogenezin gün geçtikçe netleşmesi, KHL'nin tanısal sınırlarının yeniden tariflenmesinin yolunu açmıştır. Aynı zamanda epidemiyolojisini de etkilemiştir.

Çünkü daha önce KHL olarak teşhis edilen vakalar artık farklı şekilde sınıflandırılabilir.

Bu nedenle, daha önce bildirilen bilgilerin, değişen tanı kriterleri ışığında yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir. Sadece morfolojiye dayanarak, HL'nin teşhis edilmesi en kolay lenfoma alt tipi olabildiği gibi aynı zamanda yanlış teşhise neden olabileceği unutulmamalıdır (1).

2.2.1.2 Lokalizasyon

KHL, esas olarak supradiyafragmatik lenf nodlarını tutar. Erken evre KHL hastalarının %70'inden fazlasında servikal veya supraklaviküler lenf düğümleri büyümüştür ve %60'ından fazlasında mediastinal tutulum vardır. Hastaların %5'inden azında abdomino-pelvik lenf nodları ve/veya dalağın infradiyafragmatik tutulumu görülür; bu bölgeler genellikle yüksek evre hastalıkta tutulur. Mediastinal ve subdiyafragmatik bölgeler sırasıyla nodüler sklerozan ve mikst sellüler alt tiplerinde yaygın olarak tutulur. Evre IV hastalıkta ektranodal tutulum bölgeleri arasında akciğer (%21), kemik (%15), karaciğer (%10) ve kemik iliği (%9) yer alır (5). Deri, gastrointestinal sistem, Waldeyer halkası veya merkezi sinir sistemi gibi bölgelerde primer ektranodal tutulum nadirdir ve alternatif tanılarının düşünülmesini ve altta yatan immün yetmezlik, özellikle de ileri evre hastalık ve ektranodal tutulumun daha sık görülebildiği HIV/AIDS açısından değerlendirilmesini gerektirmektedir (6, 7).

2.2.1.3 Klinik özellikler

Hastalar genellikle ağrısız, sert periferik lenfadenopati ve karakteristik konglomere nodal tutulum ile başvurur. Lokalize hastalığı olan hastaların %20'si ve ileri evre hastalığı olan hastaların %70'i sistemik B semptomları [ateş yüksekliği (birbirini izleyen 3 günde, >38C), gece terlemesi ve son 6 ayda vücut ağırlığının %10'undan fazla kilo kaybı] gösterir. Büyük mediastinal hastalık inatçı öksürük, nefes darlığı ve hatta superior vena kava sendromuna neden olabilir. Daha az sıklıkla kaşıntı görülür. Etkilenen lenf nodu bölgelerinde alkole bağlı ağrı, KHL'de nadir görülen ancak karakteristik bir semptomdur. Otoimmün hemoliz, iktiyozis, nöropati ve serebellar dejenerasyon gibi paraneoplastik klinik prezentasyonlar nadiren ilk

bulgu olarak tanımlanmıştır. Anemi, nötrofili ile birlikte lökositoz, lenfositopeni ve yüksek C-reaktif protein (CRP) en sık karşılaşılan laboratuvar bulgularıdır (1). IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-13, fibroblast büyüme faktörü (FGF), TGF, tümör nekroz faktör-a (TNF- α) gibi bazı sitokinlerin HL'li hastalarda görülen sistemik semptomlara neden oldukları düşünülmektedir. Günümüz tedavi yöntemleri ile klasik tip HL olgularının %85'inden fazlasında kür sağlamak mümkündür.

2.2.1.4 Epidemiyoloji

KHL insidansı yaşa göre değişkenlik göstermekte olup çocuklarda nadir görülen bir hastalıktır. Yüksek sosyoekonomik düzeye sahip toplumlarda daha fazla gözlenmektedir (8). Hafif bir kadın baskınlığına sahip olan nodüler sklerozan KHL (NSKHL) dışında, KHL'de erkek baskınlığı mevcuttur. Mikst sellüler KHL (MSKHL) genel olarak yaşla birlikte artış gösterir. Aynı zamanda düşük ve orta gelirli ülkelerdeki çocuklarda en çok izlenen KHL alt grubudur.

KHL, Beyaz ve Asya/Pasifik Adalı popülasyonlarda bimodal yaş dağılımı gösterirken siyah veya Hispanik popülasyonlarda bimodal dağılım görülmemektedir (9). Amerika Birleşik Devletlerinde 1992 ve 2011 yılları arasında bildirilen 21.372 KHL hasta ile yapılan retrospektif bir analizde, lenfositten zengin, mikst sellüler, lenfositten fakir, nodüler sklerozan ve sınıflandırılmamış KHL tipleri sırasıyla %5,8, %18,9, %1,5, %58,1 ve %15,7 oranında izlenmiştir.

2.2.1.5 Etiyoloji

KHL'nin etiyolojisi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte, latent EBV enfeksiyonunun EBV-pozitif KHL'de malign transformasyona yol açtığına dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Gençlerde, primer EBV enfeksiyonu genellikle 5 ila 10 yıl sonra daha yüksek EBV-pozitif KHL insidansı ile ilişkilidir (10). Düşük ve orta gelirli ülkelerde EBV genellikle genç yaşta kazanılır ve buna bağlı olarak çocukluk çağında ortaya çıkan KHL genellikle EBV pozitifdir. Daha yüksek sosyo-ekonomik düzeye sahip ülkelerde primer EBV enfeksiyonunun gecikmesi, hastalığın erken yetişkinlik döneminde hastalığın artmış insidansı ile sonuçlanır. Gençlerde görülen insidans artışı dışında, EBV-pozitif KHL insidansı

yaşla birlikte düzenli olarak artmaktadır. Yetişkinlerin çoğu EBV taşıdığından, yavaş yavaş zayıflayan immün sistemi (bağışıklık yaşlanması) muhtemelen bu patogenezi açıklamaktadır (11). Mikst sellüler ve lenfositten fakir KHL alt tipleri diğer tiplere kıyasla daha sık EBV pozitifdir, ancak diğer alt tiplerden herhangi biri de EBV pozitif olabilir.

EBV-negatif KHL'nin etiyolojisi hakkında çok daha az şey bilinmektedir. Bu grup EBV-pozitif KHL ile karşılaştırıldığında farklı bir yaş dağılımı izler; orta yaşta düzenli bir artış ve pik, ileri yaşta ise kademeli bir düşüş görülür. EBV-negatif KHL en sık nodüler sklerozan alt tipinde görülür. Genom çapında yapılan analizler, EBV-pozitif ve negatif vakalar arasında farklı olan HLA'daki duyarlılık lokuslarının yanı sıra immün sistemle ilgili çeşitli gen lokuslarındaki duyarlılık varyantlarını tanımlamıştır (12,13). Genetik duyarlılık muhtemelen KHL'de gözlenen ailesel insidans artışı ve monozigotik ikizlerdeki yüksek konkordansı açıklamaktadır (14).

2.2.1.6 Patogenezi

KHL'nin patogenezi karmaşıktır ve henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Neoplastik HRS hücrelerine özgü genomik değişiklikler, neoplastik HRS hücrelerinin içinde bulunduğu tümör mikroçevre ile yoğun ilişkisi ve latent EBV enfeksiyonu lenfomanın patogenezi oluşturur. İki nükleuslu veya multinükleer RS hücreleri, tamamlanmamış bir sitokinez süreci yoluyla Hodgkin hücrelerinden gelişir (15). HRS hücrelerinin germinal merkez B hücresi kökenli olduğu, mikrodiseksiyon yöntemiyle elde edilmiş neoplastik hücrelerde monoklonal immünoglobulin (Ig) gen yeniden düzenlemelerinin gösterilmesi ve yeniden düzenlenmiş IGV genlerindeki yüksek somatik mutasyon yükünün ortaya konmasıyla aydınlatılmıştır. Vakaların %25'inde yıkıcı somatik IGHV mutasyonlarının saptanması, HRS hücrelerinin, normalde germinal merkezde apoptoza yol açacak mutasyonlar edinmiş, ancak EBV enfeksiyonundan kaynaklandığı gibi patojenik sağ kalım sinyalleri ile kurtarılan germinal merkez B hücrelerinden geliştiği kavramını ortaya koymuştur (16). HRS hücreleri tanı anında B hücre fenotipik özelliklerinin çoğunu kaybetmiş genetik, metabolik ve morfolojik olarak dikkat çekici şekilde anormal özellik taşıyan hücrelerdir (17). Tekrarlayan kromozomal kazançlar ve kayıplar, onkogenik sinyal yollarının, özellikle de NF-kB ve JAK/STAT' yolağının yapısal aktivasyonuna yol

açan somatik mutasyonlar ve immün sistemden kaçış, KHL biyolojisini oluşturan karakteristik özellikler olarak kabul edilmektedir. Bu özellikler HRS hücresinin hayatta kalması ve çoğalması için gereklidir (18). KHL patogeneğinde önemli olan diğer sinyal yolları arasında MAPK/ERK, AP1, PI3K/AKT ve NOTCH1 yer almaktadır (19).

HRS hücreleri, CD4+ regülatör ve yardımcı T hücrelerini (T helper), miyeloid hücreleri (eozinofiller, makrofajlar, mast hücreleri) ve stromal hücreleri (fibroblastlar, mezenkimal stromal hücreler) ortama çekmek ve modüle etmek için çok sayıda kemokin (örn. CCL17/TARC, CCL5), sitokin (örn. IL5, IL7, IL13) ve büyüme faktörü (M-CSF, FGF-2) salgılar (19,20). Bu ortam neoplastik hücelere karşı reaktif değil, aksine simbiyotiktir ve sitokinler hücre yüzeyi ligandları aracılığıyla HRS hücresinin hayatta kalmasını, anjiyogeneğini ve konak-bağıışıklık sisteminden kaçışını destekler. HRS hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçışı, HRS hücrelerini çevreleyen CD4+ T hücre rozetlerinin sağladığı koruyucu kalkan, CD4+T hücrelerinin, regülatör T hücrelere doğru polarizasyonu, monositlerin anti-inflamatuar M2 makrofajlara farklılaşması ve immünosupresif sitokinlerin (IL10, TGFβ) salgılanmasıyla kolaylaştırılır (19,20).

KHL'de en sık görülen kromozomal değışiklik, 9p kolunda rekürren kazanımlar ve 9p24.1'deki fokal amplifikasyondur, bu da PD-L1/PD-L2 ekspresyon artışına yol açar (21). HRSH'lerde artmış programlanmış ölüm ligandı 1 (PD-L1) ve programlanmış ölüm ligandı 2 (PD-L2) ekspresyon seviyeleri, KHL'de immün sistemden kaçışın en önemli mekanizmasını oluşturur. Bunlar T hücresi anerjisini indükleyen PD-1 reseptör ligandlarıdır ve bu nedenle T hücreleri ile HRSH'leri arasındaki immün etkileşimin şekillendirilmesinde kritik öneme sahiptir. Ancak PD-L1 ve PD-L2'nin ekspresyonu yalnızca HRSH'lerle sınırlı değildir; bu ligandlar, tümör ilişkili makrofajlar ve dendritik hücreler gibi mikroçevre içindeki diğer önemli immün hücre popülasyonlarında da bulunur (22). PD1-PDL1/PDL2 etkileşiminin engellenmesi güncel olarak kullanılan tedavi seçenekleri arasındadır.

EBV ile enfekte HRS hücreleri EBER, EBNA1, LMP1 ve LMP2A ekspresyonu içeren bir LATENS tip II programı gösterir (23). LMP1 bir onkogendir ve aktif CD40 reseptörünü taklit eder. LMP2A B-hücresi reseptör sinyalini taklit

eder. Bu iki viral protein germinal merkez B hücreleri için sağ kalma sinyallerindendir (24,25).

2.2.1.7 Makroskopik görünüm

Tutulan lenf düğümleri büyümüş, genellikle konglomere değildir ve sert kıvamdadır. Makroskopik görünüm histolojik alt tipe göre değişiklik göstermektedir. Nodüler sklerozan alt tipte tutulum gösteren lenf düğümleri sıklıkla konglomeredir. Kesit yüzü kaba veya ince nodüler morfoloji gösterir. Mikst sellüler ve lenfositten zengin alt tipler spesifik bir farklılık göstermeyip, homojen ve etsi görünümündedir. Nekroz içerebilirler. KHL da dalak tutulumu genellikle dağınık nodüler yapılar şeklindedir, ancak bazen büyük kitleler şeklinde de görülebilir. Timus tutulumu ile sınırlı olan nadir olgular eşlik eden kistik değişimlerle ilişkili olabilirler. Tedavi sonrasında patolojik lenf düğümleri, sıklıkla tüberküloz gibi kronik bir enfeksiyon nedeniyle tedavi edilen lenf düğümlerinin görünümüne benzeyen kalıcı bir fibrotik kitle şeklinde görülür.

2.2.1.8 Kor İğne biyopsisi

Histopatolojiye ilişkin tanımlamaların çoğu lenf düğümü eksizyonel biyopsilerin bulguları üzerinden yapılmıştır. Bununla birlikte, kor iğne biyopsilerinin kullanılmasına yönelik artan bir eğilim mevcuttur. HRS hücrelerinin azlığı ve düzensiz dağılımı kor iğne biyopsilerinde tanıyı zorlaştırmaktadır. Ayrıca kor iğne biyopsilerinde nodüler sklerozan alt tip için önemli olan fibrozisin değerlendirilmesi de zordur. Özellikle ince iğne aspirasyon biyopsi yaymalarında epiteloid hücreli granülomlardan zengin morfolojik bulgular içeren olgular yanlışlıkla mikobakteriyel hastalık tanısı alabilir.

2.2.1.9 Histopatoloji

Nodüler lenfosit predominant varyantın tanımlanıp ayrı olarak sınıflandırılmasından bu yana esas olarak KHL'nin histopatolojik alt tip tanımları değişmemiştir. KHL, karakteristik bir hücrel mikroçevre içinde mononükleer Hodgkin hücreleri ve iki veya çok çekirdekli Reed Sternberg hücrelerinin varlığı ile

karakterizedir. Lenf düğümleri tamamen, kısmen veya fokal olarak tutulabilir. KHL da, etkilenen lenf düğümünde, infiltrattaki hücre sayısının %0,1 ila 10'unu oluşturabilen düşük oranda tanımlayıcı HRS hücreleri görülür. Bu nedenle, bir HRS hücresini bulmak için kapsamlı bir arama yapmak gerekebilir. Klasik RS hücresini hemen her vakada bulmak mümkündür, ancak bunlar genellikle mononükleer Hodgkin hücreleri kadar çok sayıda değildir.

HRS hücreleri çeşitli formlar gösterebilir. Arka plandaki lenfositlerin en az dört ila beş katı büyüklüğündedirler ve belirgin eozinofilik nükleoller olan büyük çekirdeklere sahiptirler. Klasik baykuş gözü görünümü veren perinükleer bir halo ile çevrili büyük eozinofilik merkezi yerleşimli nükleollere sahip en az iki çekirdeği olan prototipik RS hücresi, neoplastik azınlığı temsil edebilir. Bir Hodgkin hücresi genellikle belirgin nükleoluslu ve yuvarlak nükleusa sahiptir. Laküner hücreler NSKHL'nin karakteristik özelliğidir. Yaygın bir bulgu da yoğun sitoplazmalı ve piknotik çekirdekli "mumyalaşmış" hücrelerin varlığıdır; bunlar apoptotik hücre formlarını temsil etmektedir.

HRS hücrelerini çevreleyen hücresel mikroçevre neoplastik değildir ve progresyon, prognoz ve tedaviye yanıtta önemli bir faktör olarak giderek daha fazla kabul görmektedir. Mikroçevre, alt tipe ve EBV pozitiflik durumuna göre değişiklik göstermektedir. Çoğu vakada zemindeki hücreler, değişken sayıda eozinofil, histiyosit, nötrofil ve plazma hücrelerinin de eşlik ettiği T lenfositlerdir. Epiteloid granülomlar fokal olabileceği gibi bazen tabloya da hakim olabilirler. Lenfositten zengin alt tip ise zeminde mantle hücresi tipinde bol miktarda reaktif B lenfosit içermektedir.

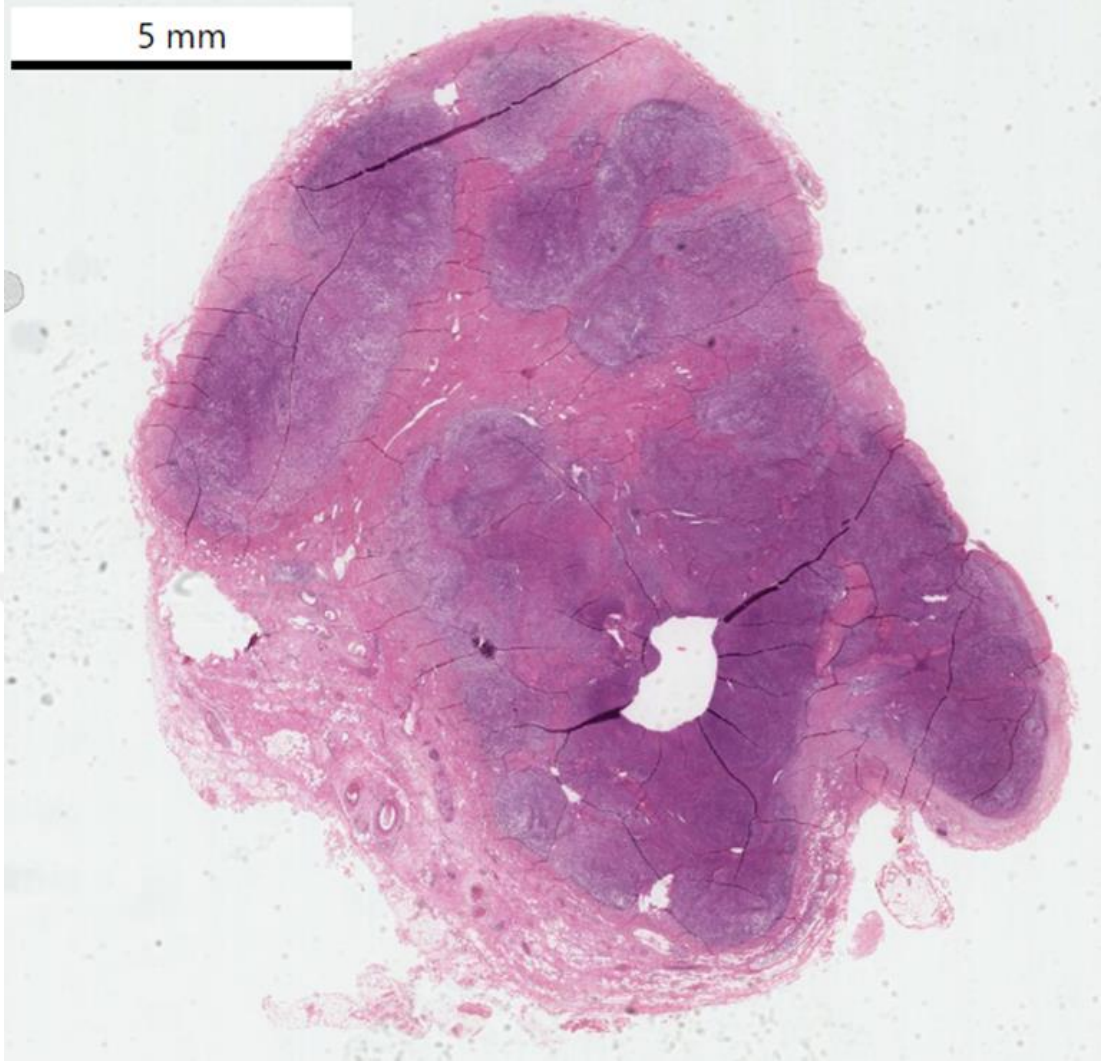
2.2.1.9.1 Alt Tipler

KHL geleneksel olarak dört gruba ayrılmıştır: NSKHL, MSKHL, LZKHL ve LFKHL. Her alt tipin tipik örnekleri histolojide kolayca tanımlanabilir; ancak aralarında bazı örtüşmeler de vardır. KHL'nin alt tiplere ayrılması modern tedavi yöntemi ilgili olmayabilir, ancak alt tipler biyolojik çeşitlilikleri yansıtır gibi

görülmektedir. Sınırlı materyalde bu alt tiplerin ayrımının mümkün olamayabileceği ve hatta tavsiye edilmediği belirtilmekte, fakat mümkün olduğunda tanımlanması ve rapor edilmesi önerilmektedir.

2.2.1.9.1.1 Nodüler Sklerozan Klasik Hodgkin Lenfoma

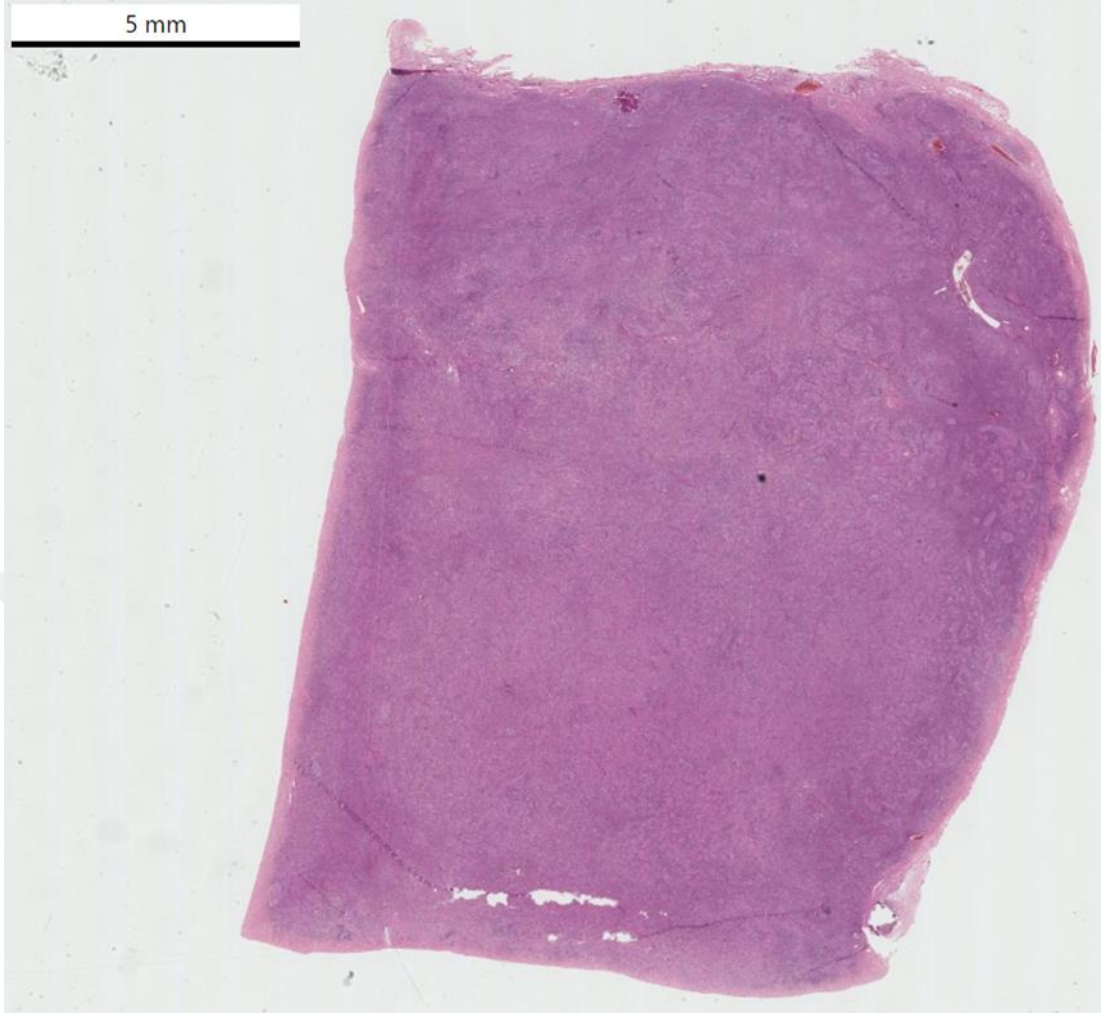
NSKHL, HRS hücreleri ve reaktif infiltrat içeren bir ya da birkaç nodülü çevreleyen sklerotik bantlarla karakterize lezyonlardır (Şekil-1). Sklerotik bantlar genellikle kapsüler fibrozis ile de ilişkilidir (26). Laküner hücreler karakteristiktir ve fiksasyon sırasında sitoplazmanın geri çekilmesinden kaynaklanır, bu da deliklerde veya lakünlerde bulunan neoplastik hücrelerin ortaya çıkmasına neden olur (27). Tipik HRS hücreleri yaygındır ve pleomorfik morfolojiye sahip Hodgkin hücreleri görülebilir. İnflamatuar infiltrat eozinofiller, histiyositler, küçük lenfositler ve bazen nötrofillerden oluşur. Bu varyantta arada kalmış reaktif lenfoid foliküller ve fokal nekroz görülebilir (28). Nadiren hücresel zemin LZKHL'ye benzemektedir. Tabakalar halinde çok sayıda neoplastik hücre içeren NSKHL vakaları sinsityal varyant olarak adlandırılır. Çok sayıda tümör hücresinin bulunduğu bölgelerde nekroz yaygındır. Geçmişte NSKHL neoplastik hücrelerin görece sayısına göre derecelendirilmiş olsa da (28,29), bu uygulama artık geçerliliğini yitirmiştir.



Şekil-1: Nodüler Sklerozan Klasik Hodgkin Lenfoma, kollajen bantlar neoplastik nodülleri sınırlar ve kapsüler fibrozis ile ilişkilidir.

2.2.1.9.1.2 Mikst Sellüler Klasik Hodgkin Lenfoma

MSKHL’da lenf nodu mimarisi yaygın olarak silinmiştir (Şekil-2). Diğer KHL alt tipleriyle karşılaştırıldığında, iki veya çok çekirdekli RS hücreleri nispeten daha sıktır. HRS hücreleri küçük lenfositler, histiyositler, eozinofiller ve plazma hücrelerinden oluşan mikst bir inflamatuvar infiltrat içinde dağınık olarak bulunur. Bu immün hücrelerin yaygınlığı vakadan vakaya değişir. Nadiren, özellikle de EBV-pozitif vakalarda epitelooid histiyositler veya granülomlar görülebilir. Fibrozis, mevcut olduğunda, ince retiküler yapıdadır ve siliktir (30). Fibröz septa ve kapsüler fibrozis izlenmez.

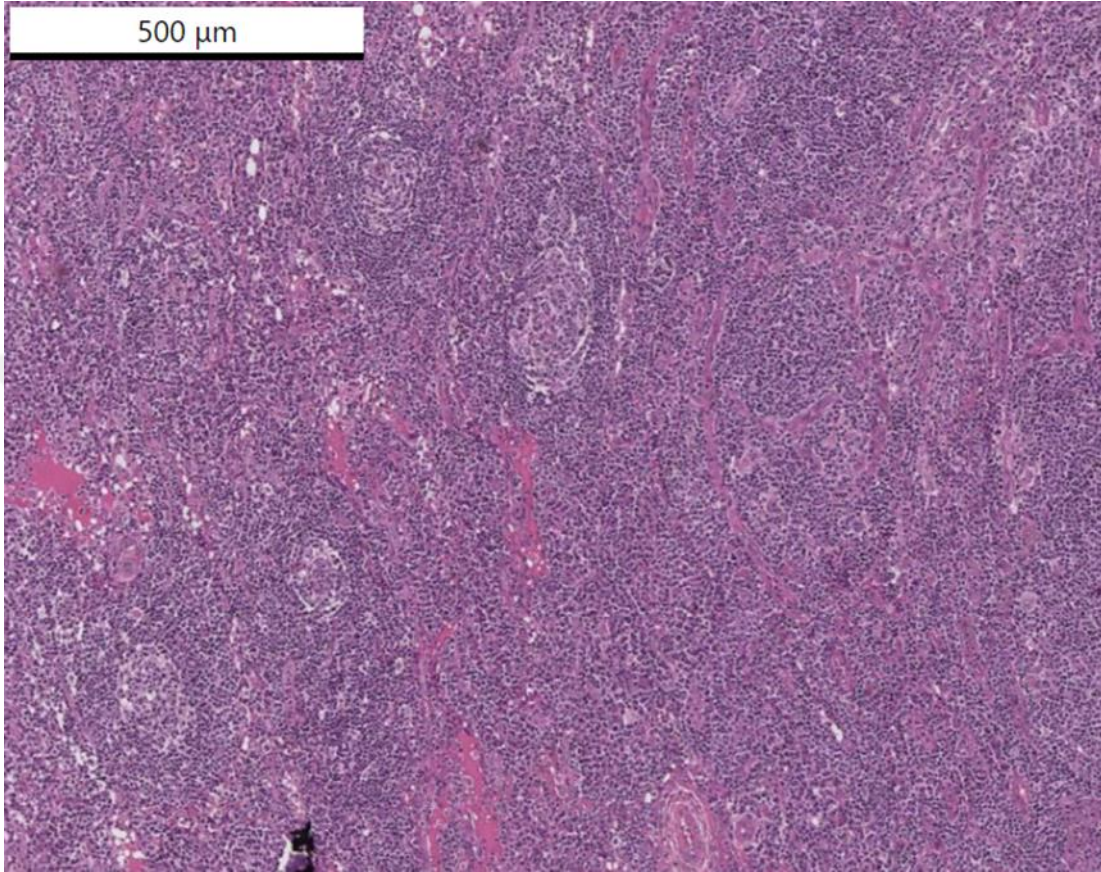


Şekil-2: Az sayıda reaktif lenfoid folikül kalıntıları içeren ve fibröz septanın izlenmediği yaygın infiltrasyon gösteren Mikst Sellüler Klasik Hodgkin Lenfoma

2.2.1.9.1.3 Lenfositten Zengin Klasik Hodgkin Lenfoma

LZKHL, bol miktarda küçük lenfosit içeren ve nötrofil ve eozinofillerin neredeyse hiç bulunmadığı nodüler veya daha az sıklıkla diffüz infiltrasyonla karakterizedir. Nodüler vakalarda, nodül yapıları tutulan dokunun çoğunu kaplar, böylece interfoliküler bölgeler sıkışır. Nodüller küçük B-lenfositlerden oluşur ve nispeten küçük veya gerilemiş ve genellikle eksantrik yerleşimli germinal merkezler barındırır (Şekil-3). HRS hücreleri ağırlıklı olarak nodüllerin içinde, ancak germinal merkezlerin dışında bulunur. Eozinofiller ve/veya nötrofiller nodüllerde bulunmaz, genelde az sayıda interfoliküler bölgelerde yer alırlar. Diffüz tutulum gösteren vakalarda, hücresel zemindeki küçük lenfositler epiteloïd özellikler taşıyan veya taşımayan histiyositlerle karışabilir. Bu alt tip kolaylıkla NLPHL ile karıştırılabilir. Geçmişte, NLPHL olarak tanı konulan vakaların yaklaşık %30'unun daha sonra

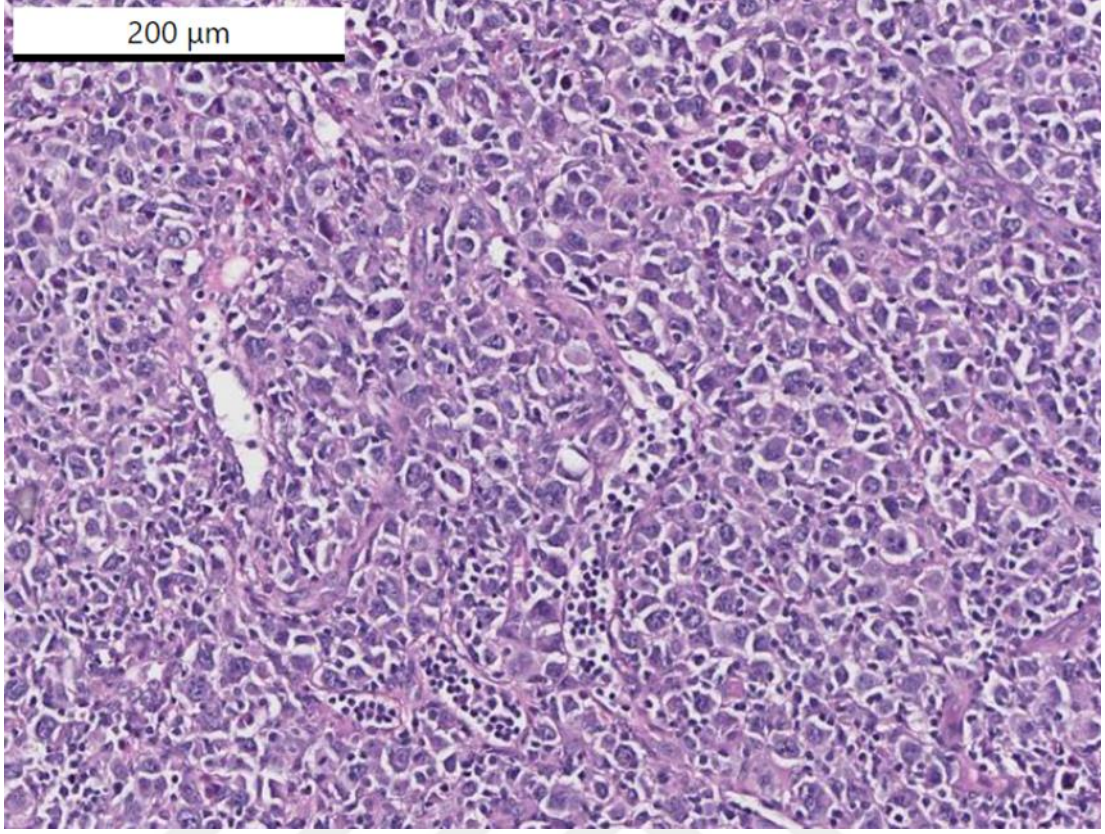
LZKHL olduğu tespit edilmiştir (31). Bu ayırım için klasik HRS hücrelerinin tipik immünofenotipin gösterilmesi esastır. Nadir vakalarda küçük lenfositik lenfoma (KLL) dağınık klasik HRS hücresi içerebilir ve LZKHL'yi taklit edebilir.



Şekil-3: LZKHL; nispeten küçük ve gerilemiş germinal merkezler

2.2.1.9.1.4 Lenfositten Fakir Klasik Hodgkin Lenfoma

LFKHL nadirdir (<%2) ve EBV ile güçlü bir ilişkisi vardır. MSKHL'yla benzer şekilde diffüz büyüme paterni, pleomorfik HRS hücre özellikleri ve EBV ile sık birliktelik gösterir (26). Bu nedenle LFKHL, MSKHL ile aynı spektrumun bir ucunu temsil edebilir (32). LFKHL'nin tanımlayıcı özellikleri HRS hücrelerinin baskınlığı ve zeminde lenfositlerin azlığıdır (Şekil-4). Eozinofiller ve plazma hücreleri de aynı oranda azdır ve fibröz bantlar yoktur. Birinde HRS hücrelerinden oluşan tabakalar izlenirken, diğerinde yaygın fibrozis ve histiyosit bulunur (33).



Şekil-4: LFKHL; Zeminde az sayıda lenfositler ve çok sayıda HRS hücreleri

2.2.1.9.2 İmmünofenotip

KHL'nin HRS hücreleri neredeyse tüm durumda CD30'u ve çoğu durumda CD15'i eksprese eder (34-37). Hem CD30 hem de CD15 tipik olarak sitoplazmanın golgi zonuna uyan bölgede membranöz paternde izlenir. Ancak CD15 aynı zamanda sitoplazmik granüler bir paternde de eksprese edilebilir. CD30 ekspresyonu genel olarak tüm HRS hücrelerinde aynı olsa da, CD15 ekspresyonu fokal olabilir. HRS hücreleri genellikle CD45 negatiftir ve J zinciri, Ig ağır ve hafif zincirler ve CD68R için daima negatiftir (38,39). HRS hücrelerinin B hücre kökenli olduğu, neredeyse tüm vakalarda (~%95 vaka) eksprese edilen PAX5 ile gösterilir. HRS hücrelerinde PAX5 ekspresyonu karakteristik olarak reaktif B hücrelerindekiinden daha zayıftır. B hücre programının çoğu KHL'de down regüle edilir. Vakaların %30-40'ında az sayıda hücrede, değişen yoğunlukta CD20 ekspresyonu saptanabilir (40,41). CD19 ve CD79a gibi diğer B hücresi belirteçleri daha az sıklıkla ifade edilir. Vakaların çoğunda OCT2, BOB1, PU1 ve BCL6 gibi B hücresi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu gözlenmez (42). OCT2 ve BOB1'in her ikisi de neredeyse %90 vakada, PU1 neredeyse tüm vakalarda negatiftir (43,44). Nadir durumlarda, HRS hücrelerinde ya OCT2 ya da BOB1 eksprese edilir, ancak genellikle her ikisi birden eksprese edilmez (33). LZKHL'da bu B hücresi transkripsiyon faktörleri, diğer KHL

alt tiplerine göre daha sık ekspresse edilir (42). HRS hücrelerinde tipik olarak Ig ekspresyonu izlenmez. Transkripsiyon faktörü MUM1, HRS hücrelerinde güçlü bir şekilde ekspresse edilir, ancak plazma hücresiyle ilişkili adhezyon molekülü olan CD138 negatiftir (45). Zayıf pozitif olabilen BCL6 dışındaki germinal merkez belirteçleri KHL'de nadiren ekspresse edilir. EBV ile kodlanan RNA'nın hibridizasyonu ile gösterilen EBER, EBV ile ilişki olgular arasında değişkenlik gösterir. EBV ile enfekte olmuş HRS hücreleri, EBV latent membran proteini 1'i (LMP1) ve EBNA1'i ekspresse eder (46-50).

Az sayıda vakada (~%5) HRS hücrelerinde bir veya daha fazla T hücresi antijeninin anormal ekspresyonu kaydedilmiştir. Ekspresyon, membranöz ve/veya sitoplazmik olarak görülebilir (51-54). Bu vakalarda CD4 ve CD2 daha sık ifade edilirken CD3 ekspresyonu daha az izlenir. Benzer şekilde sitotoksik moleküllerin ekspresyonuna da nadiren rastlanır. GATA3'ün nükleer ekspresyonu KHL vakalarının yaklaşık %80'inde mevcuttur (55). Çoğu olguda HRS hücreleri fascin ekspresse eder (56). Vakaların %40'ından fazlasında HRS hücrelerinin çoğunluğunda güçlü PDL1 ekspresyonu görülür (57). Ayrıca çoğu KHL vakasında HRS hücreleri CD23 negatiftir (56,58). HRS hücrelerinde STAT6^{YE361}'in nükleer ekspresyonu (sitoplazmik boyama ile birlikte veya sitoplazmik boyama olmadan), vakaların yaklaşık %80'inde görülen yararlı bir belirteçtir (59). Bu ek immünohistokimyasal belirteçler tanısal açıdan zorlu vakalarda faydalı olabilir.

KHL'de zemindeki küçük lenfoid hücreler, histolojik alt tipler arasında sayıları değişen B ve T lenfositlerini içerir. B lenfositleri LZKHL'de belirgin izlenirken LFKHL'de daha az izlenir. LZKHL'deki küçük B lenfositler IgM ve IgG pozitif genişlemiş mantle zonu temsil eder. LZKHL'deki B hücreli nodüllerin 'foliküler' mimarisi, CD21+ foliküler dendritik hücrelerin yoğun ağ yapısıyla gösterilir. KHL'nin tüm alt tiplerinde HRS hücrelerinin çevresinde rozet oluşturan hücreler genellikle CD4+ T hücreleridir. PD1+ T hücrelerinin (foliküler T helper hücreleri) oluşturduğu rozetler, LZKHL vakalarının neredeyse yarısında neoplastik hücreleri çevreler (42). Zeminde CD15 ekspresse eden eozinofiller-nötrofiller ve CD163/CD68 pozitif makrofajlar da izlenir (60).

2.2.1.10 Ayırıcı tanı

KHL hem NLPHL'den hem de CD30 ekspresse eden ve HRS hücrelerine benzeyen büyük hücrelerle ortaya çıkan hem reaktif hem de neoplastik çeşitli T ve B hücre proliferasyonlarından ayırt edilmelidir. HRS hücreli Hodgkin dışı lenfomalar kompozit lenfoma olarak değerlendirilmemelidir.

T-hücresi/histiyositten zengin büyük B hücreli lenfoma (THZBBHL); Histiyositler ve küçük lenfositlerden zengin bir zemin içerdiği göz önüne alındığında MSKHL veya LZKHL ile morfolojik örtüşme gösterebilir. Ancak büyük neoplastik hücreler tam bir B-hücresi immünofenotipi sergiler. BCL6 ekspresyonu, CD15 ve CD30 negatifliği THZBBHL'yi desteklerken, EBV pozitifliği bu tanıyı desteklememektedir.

Enfeksiyöz mononükleoz (EM); Enfeksiyöz mononükleozda, lenfositlerden ve plazma hücrelerinden oluşan zeminde parakortikal genişleme ve birçok immünoblastın izlendiği lenf nodu distorsiyonu daha sılıktır. İmmünoblastların bir kısmı HRS hücrelerine benzeyebilir ancak büyük hücrelerin çoğu geleneksel immünoblastların özelliklerine sahiptir. EM'deki HRS benzeri hücreler genellikle CD45+, CD20+, CD30+, CD15-, EBER+'tır. RS benzeri hücreleri içeren EM immünoblastları, kappa ve lambda hafif zincirlerinin polipitik ekspresyonunu gösterir. EM da zemindeki küçük lenfoid hücreler, CD8+ T hücrelerinin baskınlığını gösterirken, KHL'de CD4+ reaktif T hücreleri baskındır. EM'de çeşitli boyutlardaki daha küçük hücreler de EBV+'tır, oysa EBV+ KHL'de EBV daha çok HRS hücrelerinde, nadiren de küçük lenfositlerde pozitifdir (61).

EBV+ diffüz büyük B hücreli lenfoma (EBV+ DBBHL): Özellikle polimorfik alt tipteki EBV+ DBBHL, tümör hücrelerinin morfolojisi ve immün mikroçevresinin bileşimi göz önüne alındığında KHL ile morfolojik örtüşme gösterebilir. Ancak EBV+ DBBHL'de, genellikle KHL'de bulunan eozinofiller ve T hücrelerinin rozet oluşumu izlenmez. KHL'den farklı olarak EBV-pozitif DBBHL'deki neoplastik hücreler, korunmuş bir B hücresi ekspresyon programı gösterir, CD45 pozitifdir ve genellikle CD15 negatifdir.

Mediastinal gri zon lenfoması (MGZL): KHL benzeri morfoloji sergilediğinde çizilmesi en zor sınırlardan biri, NSKHL ile MGZL arasındadır. MGZL için şimdiye kadar tutarsız ve evrensel olarak kabul edilmiş kriterlerin bulunmaması bu zorluğu daha da artırmıştır. Büyük neoplastik hücrelerde B hücre immün profilinin korunduğu görüldüğünde, özellikle neoplastik hücreler tabakalar halinde ise, mediastende KHL'ye göre MGZL tanısı tercih edilmelidir.

İmmün yetmezlik/düzensizlikle ilişkili lenfoproliferatif bozukluklar (IDD-LPD): EBV-pozitif KHL'nın, çeşitli IDD-LPD'lerle örtüşen özellikleri vardır. Bunlar arasında, KHL'nin HRS hücrelerini taklit edebilen çok çekirdekli hücreler de dahil olmak üzere immünoblastların değişken oranları ve sitolojik özellikleri mevcuttur. KHL'nin lenf düğümlerinde ve mediastende lokalizasyonu, KHL'nin bazı IDD-LPD'lerden ayrılmasına yardımcı olur. Ayrıntılı klinik araştırma, evreleme ve tıbbi geçmişe ilişkin bilgiler, bu antitelerle KHL vakasının ayrımı yapılırken dikkate alınması gereken durumlardır.

Nodal T foliküler helper (TFH) hücreli lenfoma, anjiyoimmünoblastik tip (nTFHL-AI) ve diğer nodal TFH hücreli lenfomalar (nTFHL): Nodal TFH hücreli lenfoma, anjiyoimmünoblastik tipte, HRS hücrelerini taklit edebilen ve CD30'u eksprese edebilen reaktif immünoblastlar veya klonal olarak artmış büyük B hücreleri görülebilir. Bunlar EBV pozitif veya negatif olabilir. Değişken CD20 ekspresyonu gösterirler, ancak CD79a, PAX5, OCT2 ve BOB.1'i eksprese eden ve sıklıkla hafif zincirleri eksprese eden korunmuş bir B hücre programına sahiptirler. Az sayıda vakada, bu büyük hücreler yalnızca HRS hücrelerinin morfolojik özelliklerini değil, aynı zamanda HRS hücrelerinin CD30+, CD15+/- ve EBV+/- tipik immünofenotipini de gösterirler. AITL'deki HRS benzeri hücreler, TFH fenotipinde neoplastik T hücreleri tarafından rozetlenir ve buna sıklıkla tipik B-immünoblastlarda bir artış eşlik eder. Buna karşılık, TFH hücrelerinin sıklıkla HRS hücrelerinin etrafında rozet oluşturduğu LZKHL hariç, KHL'deki reaktif T hücreleri tipik olarak TFH fenotipine sahip olmayan CD4+ T hücreleridir. Zor vakalarda, ayırım yapmak için T hücresi reseptör gen yeniden düzenleme çalışmaları gerekli olacaktır (62,63).

Periferik T hücreli lenfoma, NOS ve anaplastik büyük hücreli lenfoma: EBV pozitif ve daha nadiren EBV negatif B hücre kökenli HRS benzeri hücreler bazen periferik T hücreli lenfomalarda (PTCL-NOS) bulunabilir ve KHL veya kompozit lenfoma ile karıştırılmamalıdır. Ek olarak bazı PTCL-NOS vakalarındaki neoplastik T hücreleri HRS hücrelerine benzer morfolojik özelliklere sahip olabilir (62).

ALK-negatif anaplastik büyük hücreli lenfoma (ABHL) ile KHL arasındaki ayırıcı tanı zor olabilir fakat ALK-negatif ABHL, PAX5 ekspresyonunun bulunmamasıyla KHL'dan farklıdır. HRS benzeri hücreler ayrıca Hodgkin benzeri Erişkin T hücreli lösemi/lenfomanın lenf düğümlerinde de tanımlanmıştır ve EBV ile enfekte olmuş B hücresi kökenli veya HTLV-1 ile enfekte olmuş T hücresi kökenli olabileceği düşünülmektedir. CD30-pozitif primer kutanöz lenfoproliferatif hastalıkların drene olduğu lenf nodlarındaki Hodgkin benzeri lenfoproliferasyonların çoğu ikinci bir neoplazmdan ziyade nodal yayılımı temsil etmektedir. Kutanöz lezyonların öyküsü her zaman mevcut olmadığından tanı koymak zor olabilir. PAX5 ekspresyonunun olmayışı, lenfoid proliferasyonunun KHL olmadığına dair bir ipucudur (62). PAX5 negatif KHL vakalarının tanısı her zaman dikkatle konulmalıdır (64). Ayırıcı tanı için yardımcı özellikler, zemindeki T hücrelerinin atipik özelliklerinin tanınması ve immünofenotipik sapmaların tespit edilmesidir. Zor vakalarda T hücre reseptör gen yeniden düzenlemeleri için klonalite analizi gerekli olabilir (62).

2.2.1.11 Sitoloji

KHL'nin birincil tanısı için, ayırıcı tanı çok karmaşık olabileceğinden, tek başına sitoloji, kor iğne biyopsisi veya eksizyonel lenf nodu biyopsisine alternatif olarak önerilmemelidir. Tekrarlayan hastalık durumunda sitoloji değerli olabilir ve ilgili hücre blokları üzerinde immünohistokimya veya akım sitometrisi (Flow Site Metre -FSM) ile immünofenotipleme yapılabilir. Bazı laboratuvarlar KHL'nin neoplastik hücrelerinin FSM ile ayırt edilebileceğini ve böylece doku kesitlerindeki benzer bir immünofenotip gösterdiğini ortaya koymuştur (65,66). FSM karakteristik olarak CD54 ve CD58 adhezyon makromoleküllerinin aracılık ettiği HRS hücrelerine bağlı (rozet oluşturan) T hücrelerini gösterir (67). Bu T hücreleri immünofenotipik olarak CD4 immünofenotipindedir ve çoğunluğunu regülatuar T hücreleri (Treg) oluşturur. Aynı zamanda CD4+ T hücreleri artmış CD7 ve CD45 immün ekspresyonu ile karakterizedir (68-70).

2.2.1.12 Tanısal moleküler patoloji

KHL'nin birincil tanısı ve ayırıcı tanı değerlendirmelerinde, TCR klonalite testleri seçilmiş vakalarda PTCL'nin dışlanması yardımcı olabilir. 9p24/ CD274/ PDCD1LG2 kopya sayısı durumu kontrol noktası inhibisyon tedavisine yanıtın öngörücüsü olduğundan, klinik protokoller gerektirdiğinde bu lokusun değerlendirilmesi düşünülebilir (71).

2.2.1.13 Temel ve arzu edilen tanı kriterleri

Temel:

*Primer nodal veya mediastinal prezentasyon.

*HRS hücreleri ve varyantları, değişen oranlarda küçük hücrelerden oluşan reaktif bir mikro çevrede lenfositler, eozinofiller, histiyositler, plazma hücreleri ve nötrofiller izlenir.

*HRS hücrelerinin immünofenotipi: CD30+, PAX5+ (zayıf-orta), CD20-/zayıf/ heterojen

Arzu edilen:

- *HRS hücrelerinin immünofenotipi: CD15+, CD45-, OCT2 ve BOB1 ekspresyonunda azalma
- *EBV pozitif (vakaların ~%40'ı)
- *Histolojik alt tiplendirme (mümkünse)
- *Uygun çalışma ile KHL taklitlerinin dışlanması.

2.2.1.14 Evreleme

KHL'de evreleme ve risk sınıflandırması ilkeleri, tedavi sonuçlarını etkileyen prognostik faktörlerin daha iyi anlaşılması ve hastalığı yönetmedeki ilgili değişikliklerle paralel olarak gelişmiştir.

Ann Arbor Evreleme sisteminin Cotswolds modifikasyonu halen HL'de evrelemenin temelini oluşturmaktadır. Bu, tutulan lenf nodu bölgelerinin sayısı ve bunların diyaframla ilişkisi, nodal kitle (bulky), tutulum bölgeleri gibi faktörlerin yanı sıra ESR (sedimentasyon) ve B semptomlarının (ateş, gece terlemesi, kilo kaybı) varlığı veya yokluğu gibi hastalık yükünü gösteren belirteçleri içerir (72)(Tablo-1). Lugano sınıflandırmasına göre 18-FDG-PET/BT'ye dayalı evreleme sonucun en önemli öngörücüsüdür (73). Tedavi öncesi rutin PET taramaları yapıldığında, önemli ölçüde daha yüksek oranda fokal kemik iliği tutulumu tespit edilmektedir (74).

Tablo-1: Cotswolds modifikasyonlu Ann Arbor Evreleme sistemi

EVRE	TANIM
I	Bir lenf nodu veya lenfoid yapının tutulumu, örnek: Dalak, timüs veya Waldeyer halkası (evre-I) veya bir ektranodal bölgenin tutulumu (evre-IE)
II	Diyaframın aynı tarafında farklı iki veya daha fazla lenf bezi bölgesinde (evre-II) veya ektranodal yapının tutulumu (evre-IIIE). Tutulan anatomik bölge sayısı rakam ile gösterilmeli (örnek: II3)
III	Diyaframın hem altında hem de üstünde hastalıklı lenf bezi bölgesi (evre-III) veya lokalize ekstralimfatik bir bölgenin tutulumu (evre-IIIE) ya da dalak (evre-IIIS) veya her ikisinin tutulumu (evre-IIIES)
IV	Lenf nodu tutulumu olsun veya olmasın uzak organ tutulumu (kemik iliği, kemik, beyin dokusu, karaciğer gibi) varsa evre IV
A: Sistemik semptom yok	
B: B semptomu (açıklanamayan 38C ateş, gece terlemesi, son 6 ayda açıklanamayan 10 kg ve üzeri kilo kaybı)	

Bilinen risk faktörlerinin varlığı veya yokluğu, en uygun tedaviyi seçmek için hastaları erken evre olumlu, erken evre olumsuz ve ileri evre hastalık olarak sınıflandırmak için kullanılır (75). Uluslararası Prognostik Skor(IPS), albümin, hemoglobin, erkek cinsiyet, yaş, evre IV hastalık, lökositöz ve lenfopeni gibi faktörlere dayanarak ileri evre hastalığı iyi, orta ve kötü risk gruplarına ayırır (76) (Tablo 2).

Mevcut tedavi stratejileri yalnızca bu tedavi öncesi prognostik faktörlere dayanmamaktadır. Tedavi, kemoterapiye verilen erken yanıtı göre de uyarlanmaktadır.

Tablo-2: Uluslararası Prognostik Skor (IPS 7 ve IPS 3)

IPS-7	IPS-3
Albumin <4 gr/dl Hemoglobin < 10,5 gr/dl Erkek cinsiyet Yaş ≥ 45 Evre IV hastalık Lökositoz (Lök>15000/mm ³) Lenfopeni (Lökosit sayısının %8'inden az veya mutlak lenfosit sayısı <600/mm ³)	Yaş ≥ 45 Evre IV hastalık Hemoglobin < 10,5 gr/dl
0-2 puan: düşük risk 3-4 puan: orta risk 5-7 puan: yüksek risk	0 puan: düşük risk 1-2 puan: orta risk 3 puan: yüksek risk

2.2.1.15 Prognoz

KHL hastalarının %80'inden fazlası, seçici olarak radyoterapi ile kombine edilen modern polikemoterapi ile tedavi edilebilmektedir. Uzun vadeli organ işlev bozukluğunu azaltmak ve etkinliği artırmak için, bireysel tedavi Ann Arbor evresine (FDG-PET ile veya olmadan), bulky (mediastinal) hastalık, ektranodal lokalizasyon, B semptomları ve Uluslararası Prognostik Skora göre tanımlanmış risk gruplarına uygun şekilde uyarlanır (76). Ayrıca, tedavinin idamesi/ek tedavi verilmesi veya azaltılmasına karar vermek için tedaviye yanıt ara 18-FDG-PET taraması ile değerlendirilmektedir. Bunun yanında eritrosit sedimantasyon hızı ve LDH gibi bazı belirteçler tanı anında yükselebilir ve hastalık yanıtını değerlendirmede faydalı olabilir. Ayrıca yaygın hastalığı olan hastalarda lökositoz/nötrofili ve anemi görülebilir ve bunlar daha kötü bir prognoza işaret eder (Tablo-2).

Yüksek doz kemoterapi ve otolog kök hücre naklinin ardından kurtarma polikemoterapisi, immün kontrol noktası inhibitörleri ve anti CD30-antikoru brentuksimab vedotin, nükseden veya refrakter KHL'de kabul edilebilir seçenekler olarak kabul edilmektedir (77).

Birçok çalışma, tedavi sonuçlarıyla ilişkili genomik yapıları belirlemek için gen ekspresyon profilini kullanmıştır (78-80). Tümör mikroçevresindeki yüksek sayıdaki makrofajlar ve nonneoplastik B-hücreleri sırasıyla olumsuz ve olumlu prognostik faktörler olarak doğrulanmıştır (81-83). Bununla birlikte, ne gen ekspresyon profili ne de hücrelerin sayımı klinik uygulamaya girmemiştir. HRS hücreleri veya tümör mikroçevresindeki diğer birçok doku bazlı prognostik veya öngörücü biyobelirteç, doğrulama eksikliği veya kliniğe yön verme için sınırlı olduğundan aynı şekilde uygulamaya konulamamıştır. Dolaşımdaki tümör hücresi DNA'sının veya tümör kaynaklı kemokin CCL17/TARC'ın tespit edilmesine dayanan plazmadaki tedavi yanıtının izlenmesi, yakın gelecekte PET taraması ile birlikte klinik kullanıma dahil olabilir (84).

2.2.1.16 Mikroçevre

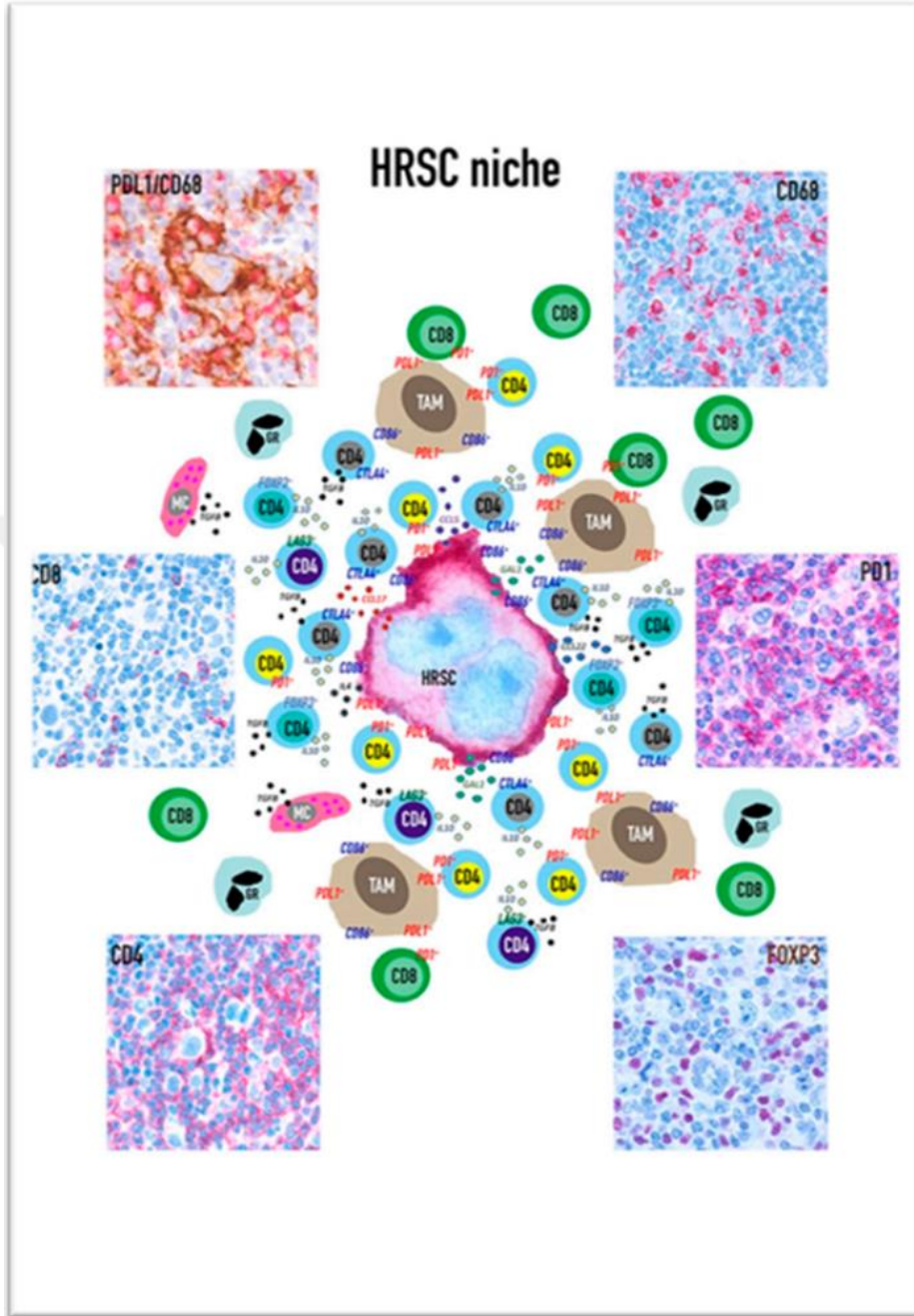
Klasik Hodgkin lenfoma'da MÇ tüm tümöral kitlenin %95'inden fazlasını temsil edebilir. Hodgkin lenfomada MÇ, B ve T lenfositleri, plazma hücreleri, eozinofiller, makrofajlar, mast hücreleri miyeloid kökenli hücreler ve değişken oranda NK hücreleri tarafından oluşturulur (85).

HRSH'leri, MÇ ortamının organizasyonunda önemli bir rol oynarlar: sadece immün hücrelerin işlevsel durumunu değil, aynı zamanda farklı hücre alt kümelerinin mekansal dağılımını da yeniden şekillendirebilirler, HRSH'lerine sağkalım sinyalleri ileten ve onları antitümöral immün yanıtı koruyan özel bir biyolojik niş yaratırlar (86)(Şekil- 5).

2.2.1.16.1 T lenfositler

T lenfositler, KHL'da MÇ'nin en çok izlenen immün bileşenidir. İnfiltrat hem CD8+ hem de CD4+ T hücrelerinden oluşur ve genellikle büyük popülasyonu CD4+ T hücreler oluşturur. İnflamatuar arka plan, immünosupresif bir MÇ'nin geliştirilmesi ve sürdürülmesinde rol oynayan bol miktarda T helper (Th)-2 ve IL-10 salgılayan T regülatuar (T-reg) hücreleri içerir (87,88). Aslında HRSH'leri CCL17/TARC, CCL22, CCL5, IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 dahil olmak üzere Th-2 ve T-reg kemoatraktanlarını üretir ve CD4+ farklılaşmasını Th-2 ve T-reg fenotiplerine doğru yönlendirerek tümör infiltre eden T hücrelerinin fonksiyonel olarak yeniden programlanmasını indükler (89,90).

Le ve arkadaşları CD4+ foliküler Th (TFH) hücreleri ile fenotipik ve işlevsel benzerlikler sergileyen, daha önce tanınmayan bir CD8+ T hücresi alt kümesi tanımlamıştır. TFH hücrelerine benzer şekilde bu CD8+ lenfositler CXCR5, indüklenebilir T-hücresi kostimülatör (ICOS) molekülü, BCL6, PD-1, BTLA, CD200 ve OX40'ı birlikte ifade eder ve CCR-7'yi down regüle eder. Bunlar yetersiz sitotoksositeye, düşük INF γ salgılama yeteneğine ve IL-4, IL-21, CXCL13 üretimi ve B hücrelerinin devamlılığını sürdürme yeteneği gibi intratümöral CD4+ TFH hücreleri ile ortak işlevsel özelliklere sahiptirler (91).



Şekil-5: Th-1 ve T-reg CD4⁺ lenfositleri, CD8⁺ sitotoksik T hücresi, tümörle ilişkili makrofajlar (TAM'lar), granüositler (GR'ler) ve mast hücrelerinin çeşitli alt tipleriyle çevrili CD30⁺ HRSH ile Hodgkin nişinin temsili şeması- Clara Bertuzzi, Elena Sabattini, Claudio Agostinelli'den alıntı yapıldı (85)

2.2.1.16.2 Makrofajlar

Makrofajlar doğuştan gelen immün sistemin temel hücrelerindendir ve kanser hücreleri de dahil olmak üzere farklı etkenlere karşı savaşabilirler. İki ana makrofaj türü vardır: pro-inflamatuar fonksiyona sahip klasik olarak aktive edilmiş makrofajlar (M1) ve anti-inflamatuar aktiviteye sahip alternatif olarak aktive edilmiş makrofajlar (M2). M2 makrofajları, tümörün ilerlemesine neden olan immün yanıtının baskılanmasına katkıda bulunur ve genellikle CD163'ün artmış ekspresyonu ile tanımlanır (92, 93). KHL tümör mikro çevresindeki (TMÇ) makrofajları araştıran ilk çalışmalar, M1 ve M2 TİM'leri tanımlamak için CD68 ve CD163'ü hedefleyen antikorlarla IHK yöntemi kullanmıştır (94-97).

Makrofajların polarizasyonu M1 ve M2 ikili sınıflandırmasından çok daha karmaşıktır ve birçok faktöre bağlıdır. Belirli koşullar altında M1'den M2'ye veya tam tersine ya da her iki hücrenin bir hibridine geçiş de mümkündür (97,98). Makrofaj hücrelerindeki iki önemli immün check point noktası olan PD-L1 ve PD-L2 'nin ligandı olan PD-1'in hedeflendiği başarılı terapötik gelişmeler nedeniyle makrofaj hücreleri KHL da inceleme altına alınmıştır (99,100).

2.2.1.16.3 B-Lenfositler ve Plazma Hücreleri

B hücrelerinin KHL'deki rolü çok net değildir ve sahip olunan bilgiler spesifik biyolojik testlerden ziyade klinik senaryodan kaynaklanmaktadır. Malign olmayan B hücreleri, anti-CD20 monoklonal antikorlarla başarılı bir şekilde tedavi edilebilen nodüler lenfosit baskın HL'de yaygındır, ancak bunlar KHL'nin MÇ'sinde de mevcuttur (101).

Mevcut çalışmalar B hücrelerinin KHL'de antitümöral bir rolü olduğunu ve lokal immün reaksiyonda seyirci olmaktan ziyade merkezi aktörler olabileceklerini göstermektedir. Bununla birlikte, tümörle ilişkili B lenfositlerin (TİB) rolüne ilişkin mevcut veriler, immünoinhibitör işlevlerinin tümör ilerlemesinde IL-10 ve TGF- β gibi inhibitör sitokinlerin kaynağı olan artan düzenleyici B hücrelerine (B-reg) benzediği solid tümörlerde olduğu gibi tümör destekleyici bir işleve işaret etmektedir (102). Ek olarak, fare kanseri modellerinde, TİB'ler de novo karsinogenezi teşvik

eden kronik bir enflamatuvar zemin oluşturmak için gerekli olduğu gözlenmiştir (103).

Plazma hücrelerinin (PH) KHL patogenezinde rol oynayıp oynamadığı henüz derinlemesine bir araştırmanın konusu olmamıştır. Klinik nemleri farklı malignitelerin TM'sinde farklılık göstermektedir: PH infiltrasyonu kolorektal kanser, meme kanseri ve over kanserinde kötü prognozla ilişkiliyken, küçük hücreli dışı akciğer kanserinin M'sinde olumlu sonuçla ilişkilidir (104-107).

PH ve eozinofiller HRSH ve HH tarafından üretilen CCL28 tarafından mikro çevreye çekilir ve bu hücreler ayrıca plazma hücresi farklılaşmasında rol oynayan interlökin-6 ve IL-21 salgılar (108). Serum IL-6 seviyesi bazı çalışmalarda plazma hücrelerinin yoğunluğunun da ilişkilendirildiği B semptomları ile ilişkilidir (109). Plazma hücrelerinin tümör hücreleri için bir şekilde destekleyici olan hangi faktörleri ürettiğine dair hiçbir ipucuna sahip olmadığımızdan, plazma hücrelerinin KHL'de bir rolü olup olmadığını kanıtlamak şimdilik için zordur (110).

3-GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 ARAŞTIRMANIN OLGULARI VE ÖRNEKLEMİ

Çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi'nde 2014-2022 yılları arasında KHL tanısı almış 106 olgu alındı. Olgulara ait H&E boyalı kesitler, formalin ile fikse edilmiş ve parafine gömülmüş bloklar arşivden çıkarılarak incelendi. Her olgu için yeterli miktarda tümör dokusu içeren birer blok seçildi. Kesiti eksik olan olgular için bloklardan yeni kesit yapılarak H&E boyası uygulandı.

Olguların çalışmaya dahil edilme kriterleri: KHL'nin primer tanı olması, hastaların ek kemoterapi, radyoterapi eklenmiş veya eklenmemiş ABVD rejimi ile birinci basamak kemoterapi alması ve olguların yapılacak İHK sal markırlar için yeterli dokuya sahip bloğunun olmasıydı. Tanılar 2016 DSÖ lenfoid neoplazm tanı kriterlerine uygun olarak konulmuştur. Klinik bulgulara hastane bilgi işletim sistemi ve patoloji raporlarından ulaşılmıştır. Her olguda dokuz klinikopatolojik değişken değerlendirildi: cinsiyet, yaş, histolojik alt tip, Cotswold modifikasyonlu Ann Arbor evresi, IPS-7 skoru, LDH düzeyi ve tanı örneklerinde B hücreleri, plazma hücreleri ve makrofaj hücrelerinin yüzdesi. Uluslararası Prognostik Skor (IPS) skoru, düşük riskli (0-2) ve yüksek riskli (3-7) olarak kategorize edilerek kaydedildi (109). Ayrıca hastaliksız sağkalım bakılması hedeflendiğinden Refrakter / Progrese hastalık, tedaviye tam yanıt durumları kayıt altına alındı. Tüm örnekler ve klinik veriler, kurumumuz teknik ve etik prosedürleri izlenerek ve Helsinki Deklarasyonu'na uygun olarak elde edilmiştir.

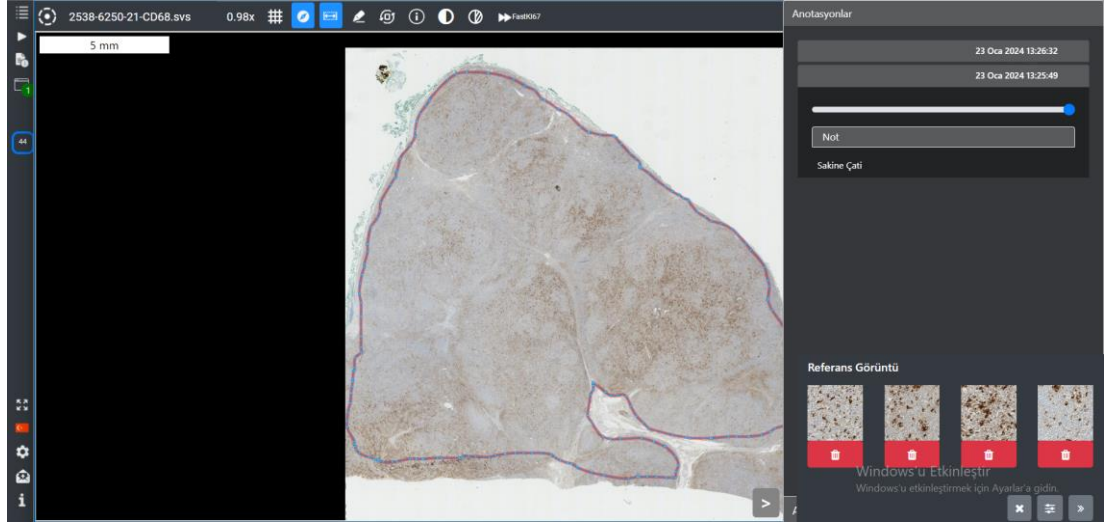
3.2 YÖNTEM

İmmünohistokimyasal boyama işlemi Ventana Medical System-Benchmark Ultra/ISH Staining ile gerçekleştirildi. Ultraview Universal DAB Detection Kit kullanılarak şu prosedürler uygulandı:

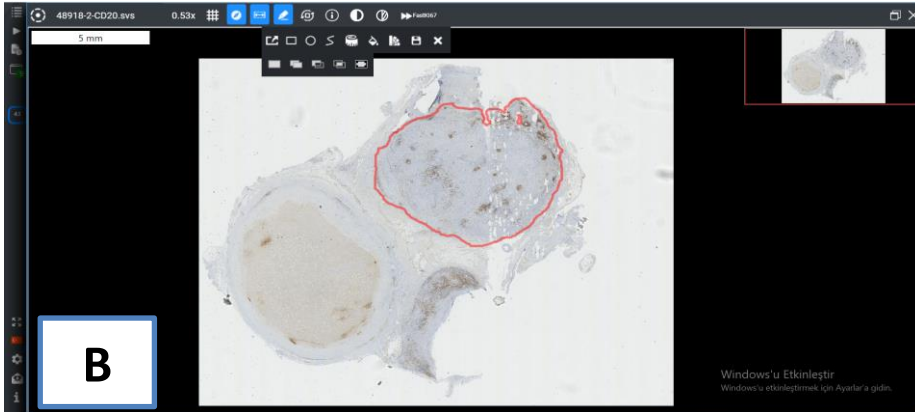
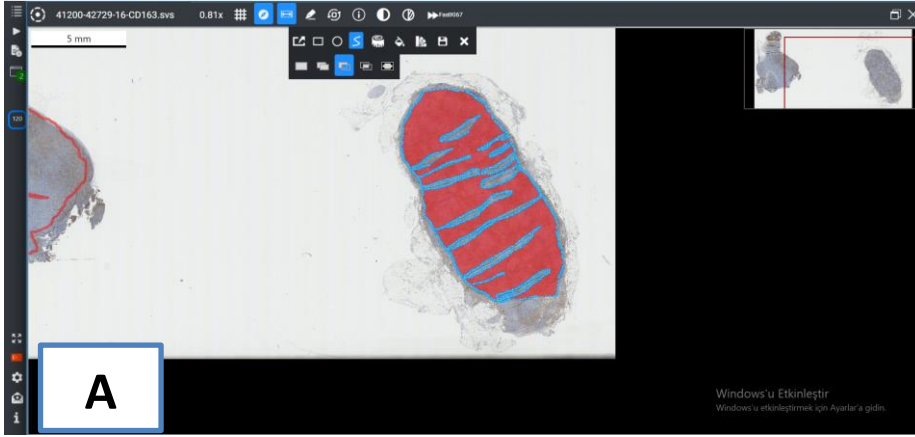
1. Parafin bloklardan 3 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı.
2. 70°C'lik etüvde 1 saat bekletildi.
3. Lamlar Benchmark Ventana Ultra marka immünohistokimya cihazına alındı.
4. Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ile pH:8'de (CC1) antijen geri kazanımı yapıldı.
5. Antikor enkübasyonu: CD138 için; CELL MARQUE Rocklin, CA – USA firmasından tedarik edilen; kullanıma hazır B-A38 klon standart dilüsyon oranıyla 48 dakika, CD20 için VENTANA marka L26 klon 1:400 dilüsyon oranıyla 44 dakika, CD163 için; CELL MARQUE Rocklin, CA – USA firmasından kullanıma hazır mro-26 klon standart dilüsyon oranıyla 20 dakika, CD68 için; VENTANA marka KP-1 klon 36 dakika antikor inkübasyonu uygulandı.
6. Arka plan boyama için Harris Hematoksilen (Ventana Medical Systems) 16 dakika uygulandı.
7. Bluing Reagent (mavileştirme solüsyonu) (Ventana Medical Systems) 4 dakika uygulandı.
8. Lamlar deterjanlı suyla yıkandı.
9. Lamlar absölü alkolde 2 kez çalkalandı.
10. Lamlar kurutulup ksilol bazlı kapatıcı ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal yöntem ile hazırlanan preparatlar, Leica Aperio AT2 tarayıcı cihazı ile 20x'lik büyütmede taranarak svf formatında dijital slaytlar elde edildi. Tüm dijital slaytlarda bir patolog ve bir biyomühendis tarafından yapılan manuel anotasyonlarla sayımın yapılması istenilen alanlar işaretlendi (Şekil-6). Bu işaretlenen alanlardan nekroz, katlantı alanları, fibröz doku, çevre matür yağ-bağ doku alanları çıkarıldı (Şekil-7). Virasoft tarafından geliştirilmiş olan Virapath uygulamasının Ki-67 görüntü analizi ile anotasyon alanları içerisindeki 4 ayrı yerden referans görüntü belirlenip bunlar üzerinden hücre seçimi için ayarlamalar yapıldı. Buna göre: Ki-67 için uyarlanmış nükleus temelli analizi çalıştırmadan önce hazırlık aşamasında kalibrasyon paneli ile lenfosit, makrofaj ve plazma hücresi nükleusları boyut, renk ve şekil özelliklerine göre sınıflandırıldı. Kahverengi eşik değeri ve kahverengi nükleus bölütlemesi özellikleri ile membranöz olan CD20 CD68,CD138,CD163 İHK boyalarının boyandığı pozitif hücreler belirlenerek kendi içinde sınıflandırıldı. Kahverengi renk değişim ayarı ile pozitif hücreler boyanma yoğunluğuna göre sınıflandırıldı. Minimum kahverengi nükleus boyutu ve artefakt hassasiyeti ayarları ile artefakt boyanmaları elendi. Mavi eşik değeri ve mavi nükleus bölütlemesi ayarları ile immün negatif hücre nükleuslarının sınırları belirlenerek bulunmaları sağlandı. Minimum mavi nükleus ayarı ile artefakt boyanmalar elendi. Stroma nükleus ayarı ile iğsi görünümlü stroma nükleusu ve immün negatif lenfoid hücre nükleusları birbirinden ayrıldı. Program; immün negatif hücre nükleusları mavi, stroma nükleuslarını kırmızı ve immün pozitif hücreleri renk yoğunluğuna göre sarı, turuncu ve kahverengi olarak tespit edildi. Renk yoğunluğu kalibrasyonu ile immün pozitif hücreler kahverengi ve turuncu olarak belirlendi. Sarı boyanmalar zemin boyanmasından kaynaklandığından mavi boyanan immün negatif hücrelere dahil edildi. Bu program ile immün pozitif boyanan hücrelerin (kahverengi+turuncu) total hücrelere oranı verilerek her olguda her bir immün için pozitif hücre indeksi hesaplandı.

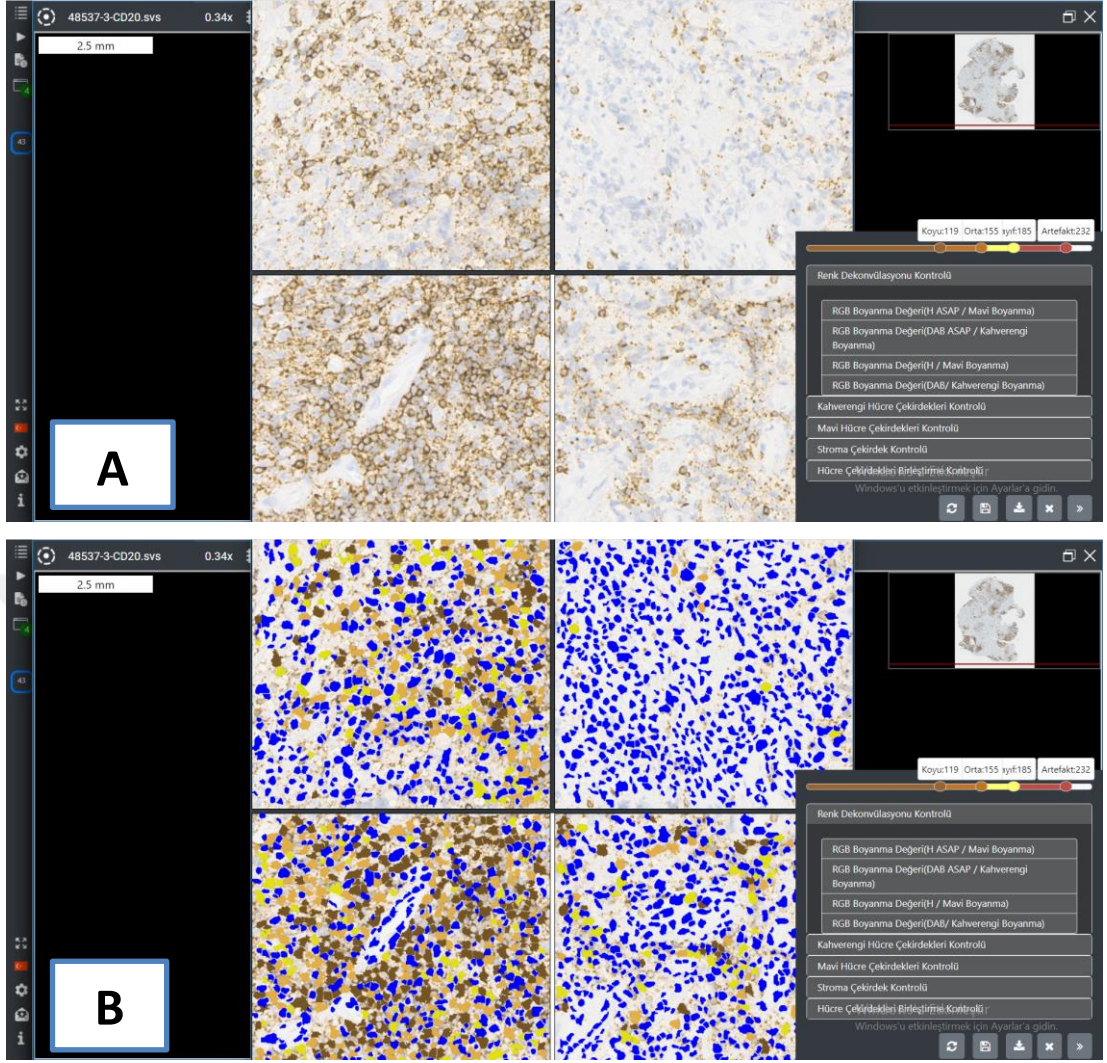
Tüm lenf nodunu analize dahil ettiğimizden, hücre dağılımındaki herhangi bir heterojenlik verilerimizi etkilemedi. Boyanma için eşik değerlerin numune üzerindeki birkaç referans konuma göre ayarlanması, her numune için analiz ayarının lenf nodunun spesifik boyamasını kapsayacak şekilde seçilmesini sağladı.



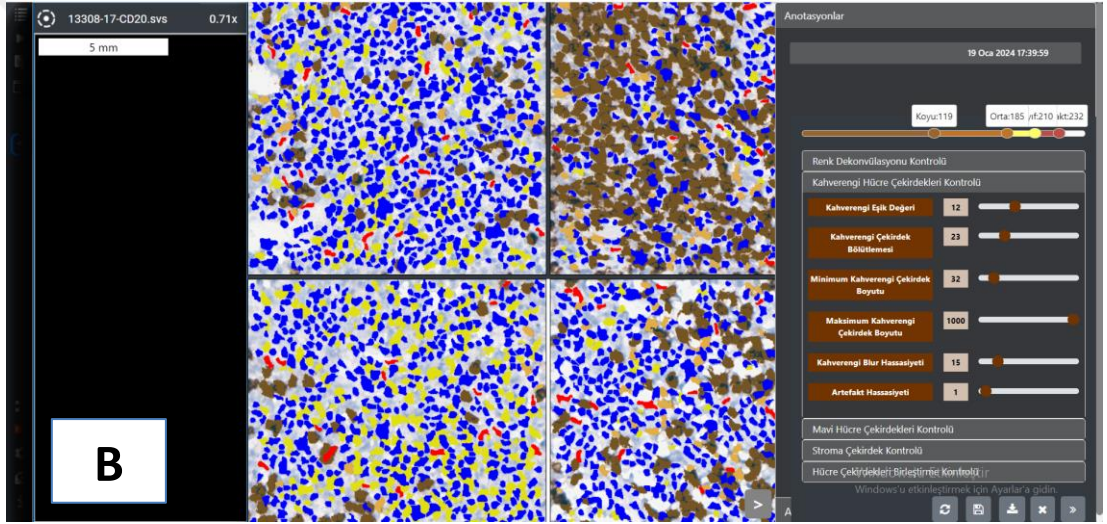
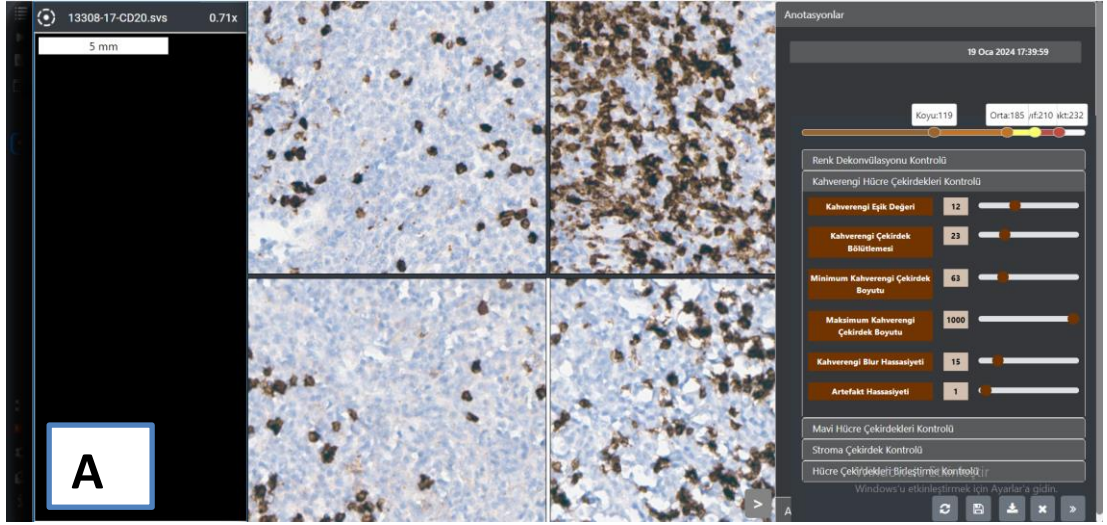
Şekil -6: Anotasyon bölgesinden seçilen referans görüntü alanlarına örnek



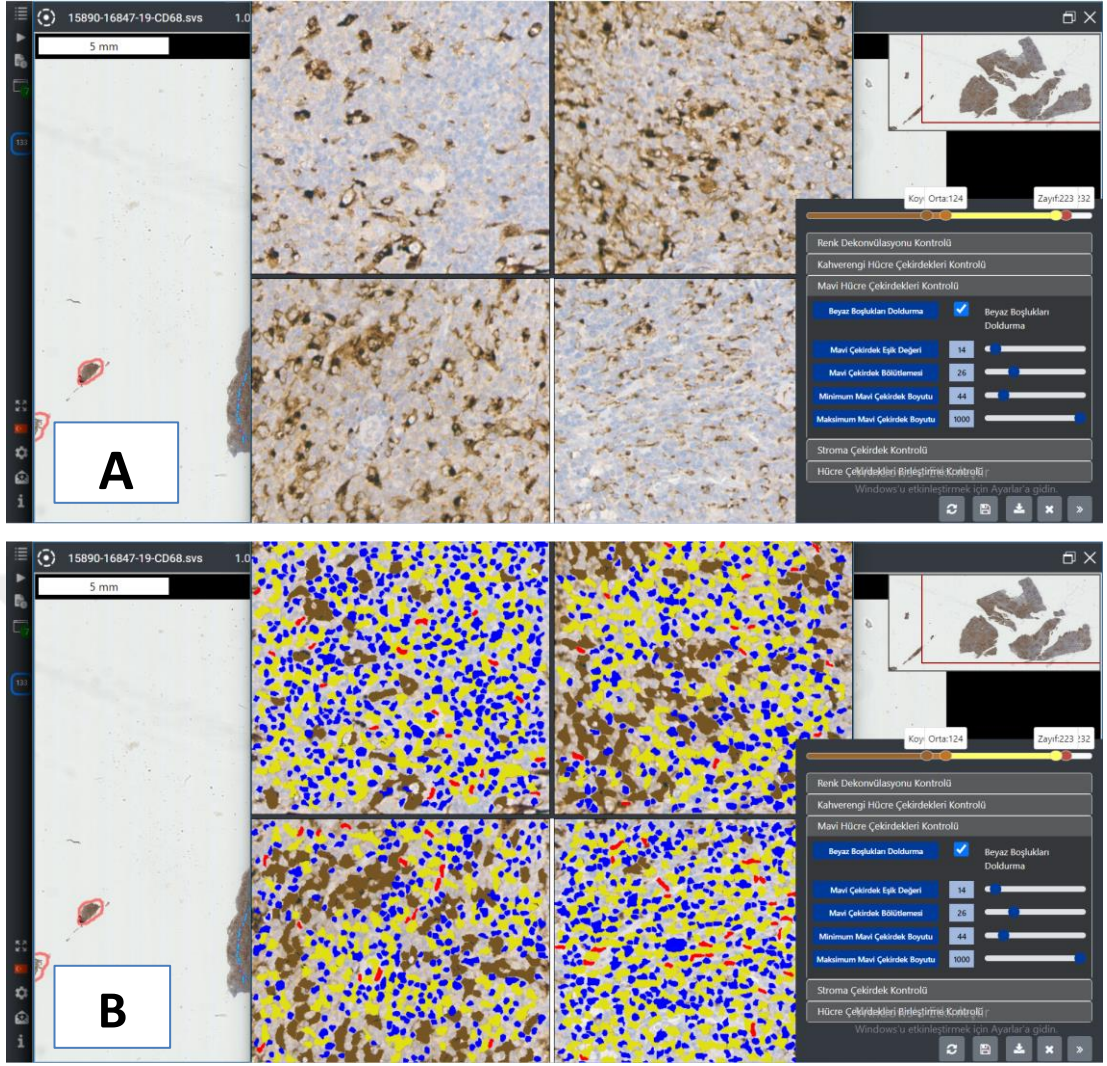
Şekil-7: Değerlendirilecek alandan non neoplastik lenfoid alan,katlantı alanları,çevre bağ doku ve nekroz alanı çıkarıldı (A,B)



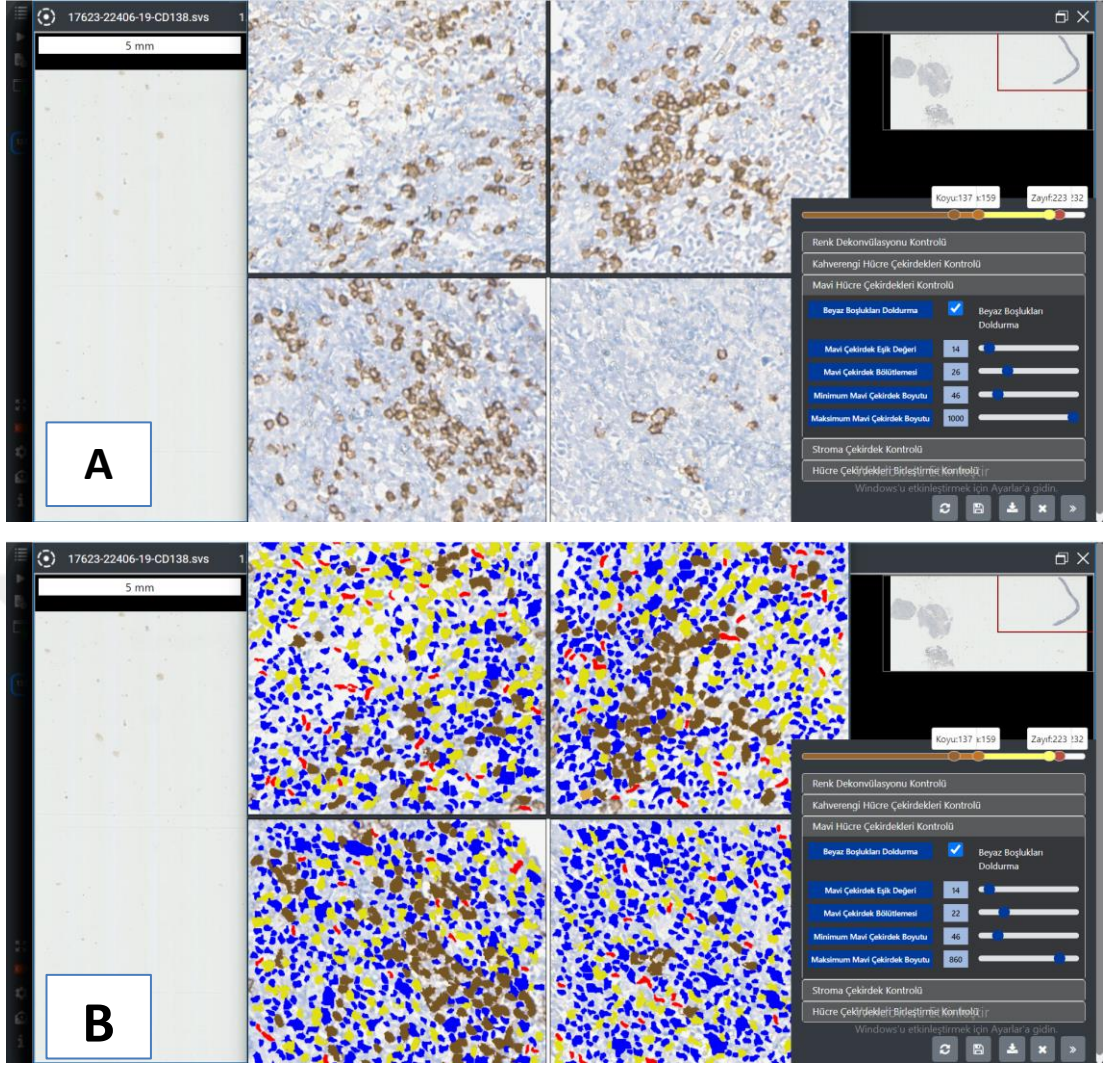
Şekil-8.1: CD20 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B)



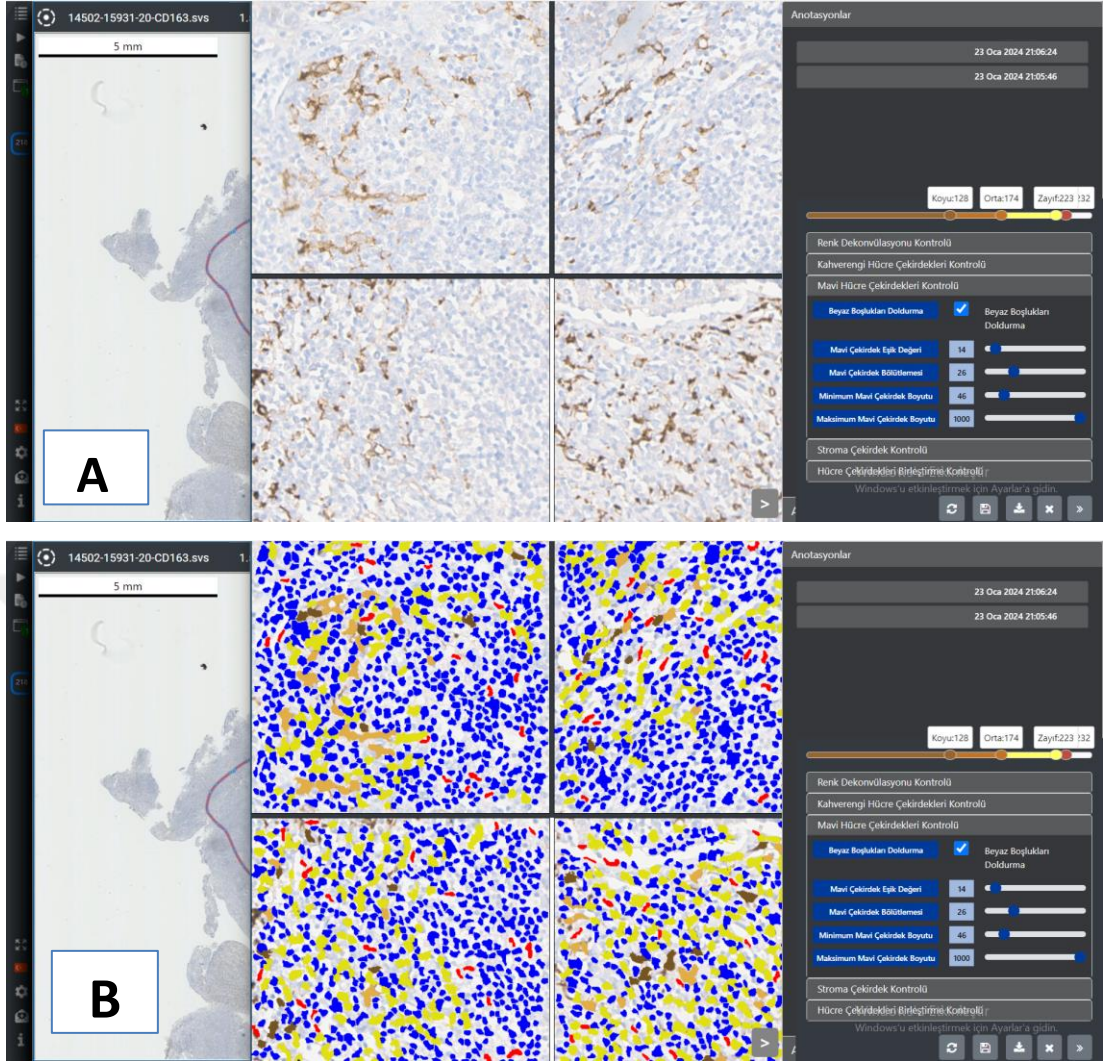
Şekil-8.2: CD20 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B)



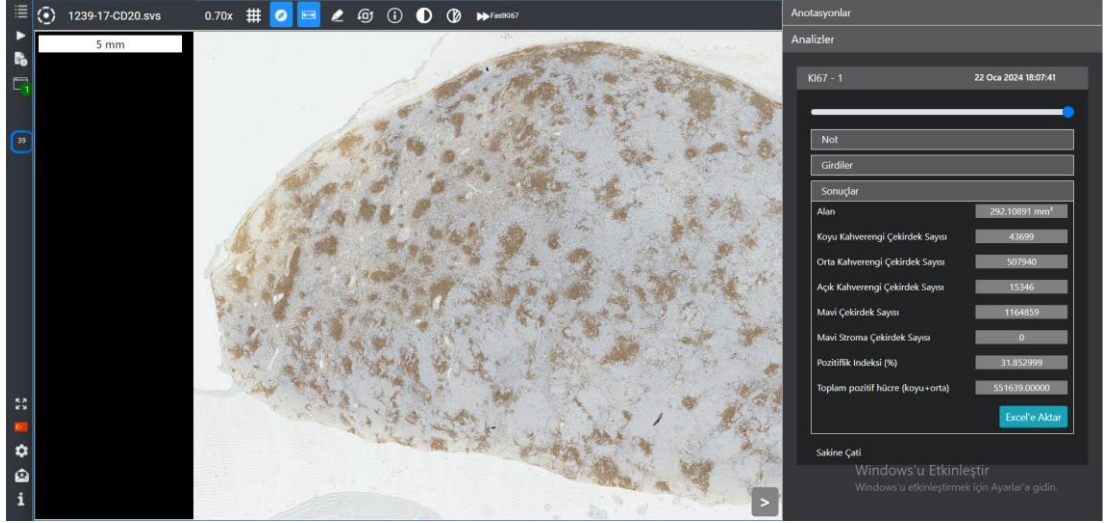
Şekil-9: CD68 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B)



Şekil-10: CD138 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B)



Şekil-11: CD163 için seçilmiş örnek referans alanları (A) ve yapılan kalibrasyon sonucu boyanan immün reaktif hücreler (turuncu+kahverengi)(B)



Not	
Girdiler	
Sonuçlar	
Alan	151.90543 mm ²
Koyu Kahverengi Çekirdek Sayısı	23522
Orta Kahverengi Çekirdek Sayısı	2
Açık Kahverengi Çekirdek Sayısı	612517
Mavi Çekirdek Sayısı	936800
Mavi Stroma Çekirdek Sayısı	63063
Pozitiflik İndeksi (%)	1.496
Toplam pozitif hücre (koyu+orta)	23524.00000
Excel'e Aktar	

Şekil-12: Yapılan analiz sonucu elde edilen verileri gösteren tabloya örnek

3.3 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 27 (IBM SPSS Inc. ,Chicago, IL) programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Sayısal değişkenlerden normal dağılım sergileyenler ortalama±standart sapma olarak, normal dağılım sergilemeyenler ortanca (min-max) olarak gösterildi. CD20,CD68,CD138 ve CD163'ün progresyon üzerindeki tanısal performansı ROC Curve analizi ile incelendi. CD20,CD68,CD138 ve CD163'ün oranına ait kestirim değeri ROC Curve analizi Youden index metodu ile belirlendi. CD20,CD68,CD138 ve CD163 ile klinik ve laboratuvar belirteçler arasındaki ilişki Kikare testi, Mann Witney U ve Kruskal Wallis testi ile belirlendi. Genel sağkalım ve progressionsuz sağkalım süresi Kaplan-Meier yöntemiyle tahmin edildi ve log-rank testi ile incelendi. Değişkenlerin genel ve progresyonsuz sağkalım ile ilişkisi tek değişkenli ve çok değişkenli Cox regresyon modelleriyle daha ayrıntılı olarak analiz edildi. İstatistiksel analizlerde $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

3.4 ARAŞTIRMANIN ETİK YÖNÜ

Çalışmanın yürütülebilmesi için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr. Lütüfi Kırdar Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'na başvuruldu. 19.07.2023 tarihinde 2023/514/254/43 karar numarasıyla onaylandı (bkz. EK-2).

3.5 ÖZGÜNLÜK

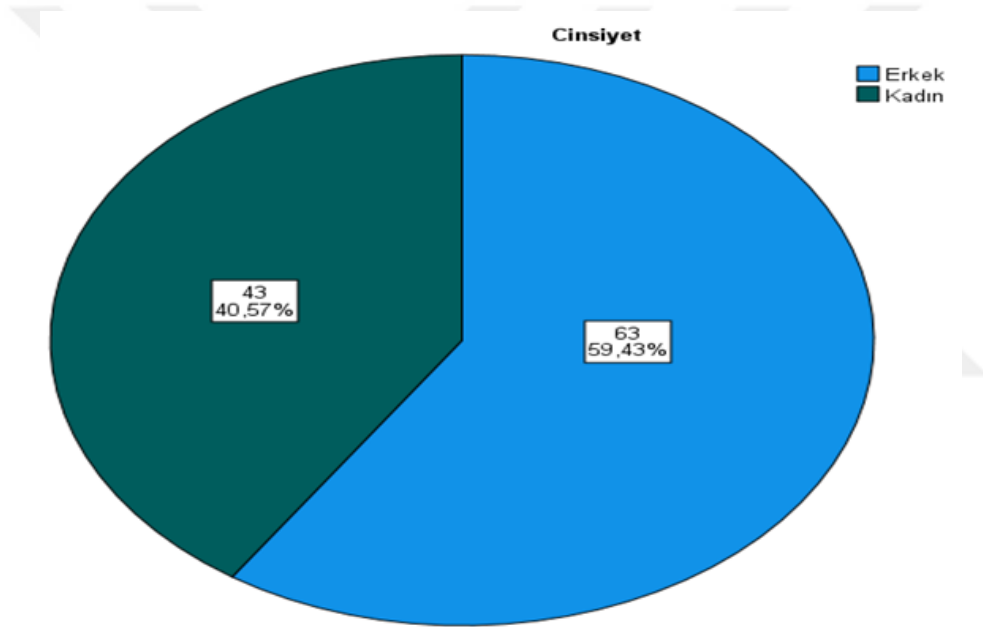
Çalışmanın özgünlük açısından değerlendirilmesi için “Turnitin” intihal analiz programı kullanılmış olup “Kaynaklar” bölümü hariç %8 benzerlik oranı tespit edilmiştir (bkz. EK-3).

4-BULGULAR

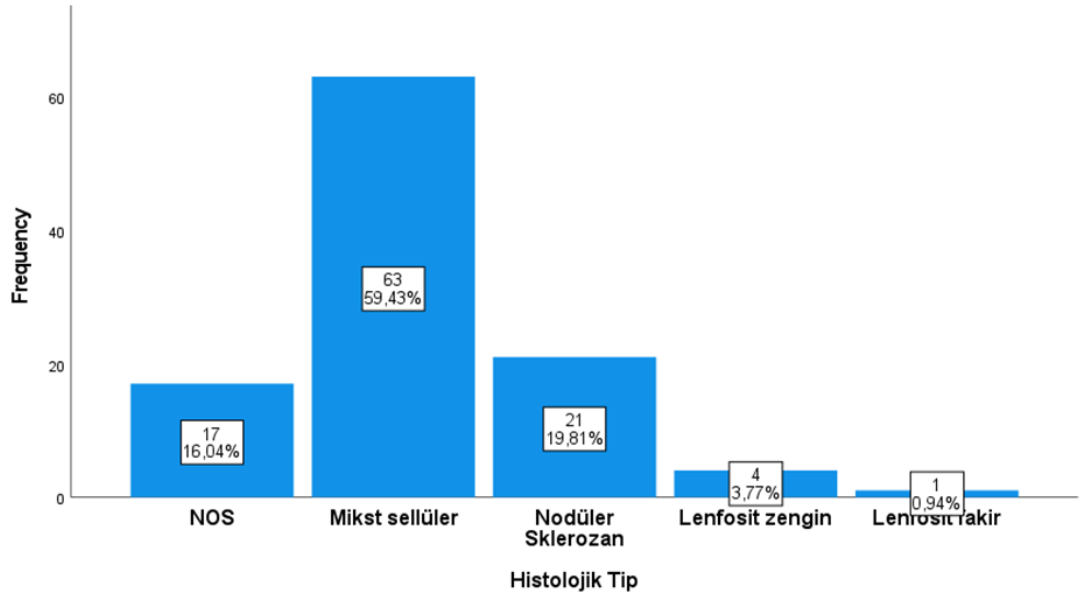
4.1 DEMOGRAFİK, KLİNİK VE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda Ocak 2014-Aralık 2022 tarihleri arasında Klasik Hodgkin lenfoma tanısı konulan 106 olgu incelendi.

Çalışmamızda olguların yaş aralığı 18-83 olup ortalama yaş $41,3 \pm 16,7$ 'ydi. Yüz altı olgunun 64'ü (%60,4) 45 yaş altında, 42'si (%39,6) 45 yaş veya üzerinde idi. Olguların 63'ünü (%59,4) erkek, 43'ünü (%40,6) ise kadın cinsiyet oluşturmaktaydı.



Şekil-13: Cinsiyet dağılımı

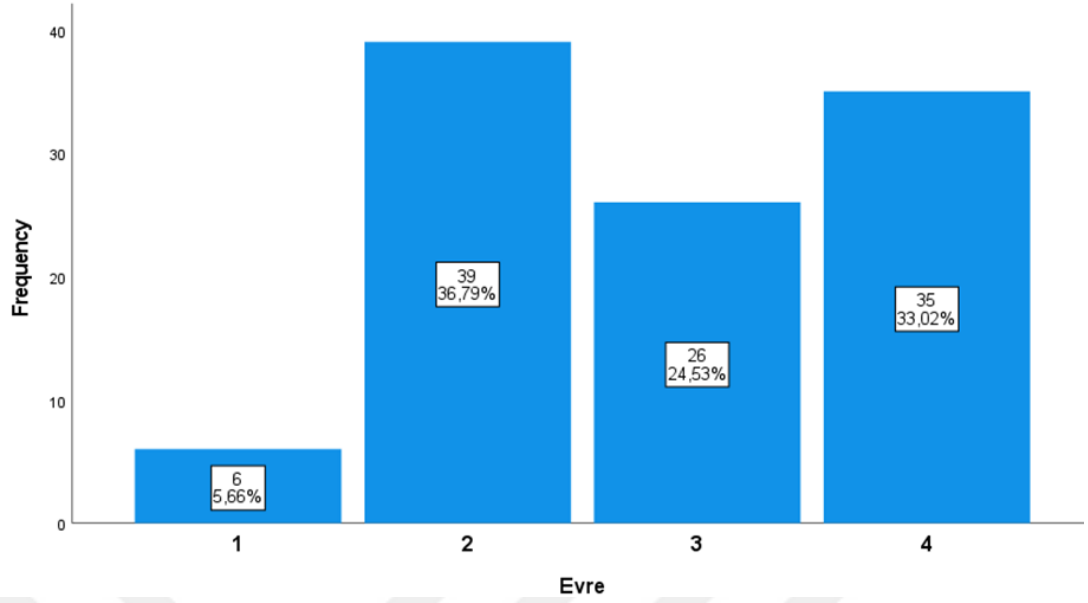


Şekil-14: KHL Histolojik alt tip dağılımı

Çalışmamızda 106 olgunun histolojik tipi incelendiğinde; 63'ü (%59,4) mikst sellüler, 21'i (%19,8) nodüler sklerozan, 4'ü (%3,8) lenfosit zengin, 1'i (%0,9) lenfosit fakir ve 17'si (%16) özel olarak tiplendirilemeyen (NOS) histolojik alt tipindeydi. Özel tip olmayanların %64,7'sini ve mikst sellüler tipin %65,1'ini erkek cinsiyet oluştururken; nodüler sklerozan tipin %57,1'ini kadın cinsiyet oluşturmaktaydı.

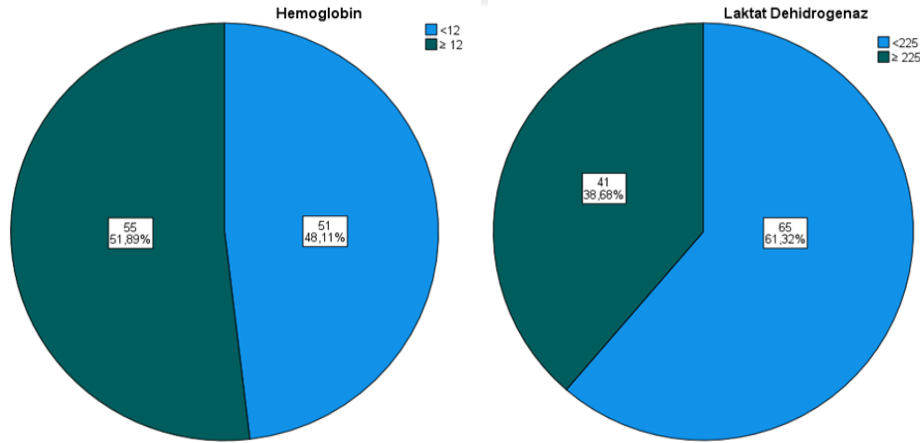
Olguların 62'sinde (%58,5) İPS düşük (0-2), 44'ünde (%41,5) ise İPS yüksek (3-7) idi. 45 yaş altında İPS olguların %74,2'sinde düşük, 45 yaş ve üzerinde ise 59,1'inde yüksek bulundu. İPS, özel tip olmayanda yüksek, diğer histolojik alt tiplerde ise düşük olarak görüldü. Evre 1 olguların tamamında İPS düşük, evre 2 olguların %89,2'sinde İPS düşük, evre 3 olguların ise %57,4'ünde İPS düşük bulundu. Evre 4 olguların %74,3'ünde İPS yüksek görüldü.

Yetmiş yedi olguda uygulanan tedaviye tam yanıt izlenirken, 29 olguda kısmi yanıt görüldü. Tedavi tam yanıtı olanların 47'si (%61) düşük İPS, kısmi yanıt olanlarında 15'i (%51,7) düşük İPS'ye sahipti. Özel tip olmayanların %58,8'inde, mikst sellüler olanların %77,8'inde ve lenfosit zengin olanlarınsa tamamında düşük İPS vardı. Lenfosit zengin olan tek olguda ise yüksek İPS vardı.



Şekil-15: Evre dağılımı

Olguların Ann Arbor evreleri incelendiğinde 6'sı (%5,7) evre 1 (IA ve IB), 39'u (%36,8) evre 2 (IIA ve IIB), 26'sı (%24,5) evre 3 (IIIA ve IIIB) ve 35'i (%33) evre 4 (IVA, IVB ve IVS)'tü.



Şekil-16: Ortalama Hemoglobin(g / dL) ve Laktat Dehidrogenaz (U/L) dağılımı

Olguların ortalama Hemoglobin değeri 12 olup; 12 altında 51 ve 12 ve üzerinde ise 55 olgu vardı. Ortalama Laktat Dehidrogenaz 225 olup; olguların %61,3'ünde 225 altı ve %38,7'sinde ise 225 ve üzeri bulundu.

Olguların %86,8'sine ABVD $\pm$ RT tedavisi değişik dozlarda uygulanmış olup %13,2'si bunun yanında BEACOPP, ICE, OKİT (otolog kemik iliği transplantasyonu) gibi daha agresif tedavi protokolleri uygulandı.

Takipleri sırasında hastaların 20'sinde (%18,9) nüks ve ölüm görüldü. Olgulara ait klinik ve patolojik veriler Tablo-3' te özetlenmiştir.

Tablo-3: Olgulara ait klinikopatolojik özellikler

Kategorik özellikler		n	%
Yaş	<45	64	60,4%
	≥ 45	42	39,6%
Cinsiyet	Erkek	63	59,4%
	Kadın	43	40,6%
Histolojik tip	NOS	17	16,0%
	Mikst sellüler	63	59,4%
	Nodüler sklerozan	21	19,8%
	Lenfositten Zengin	4	3,8%
	Lenfositten Fakir	1	0,9%
İPS	Düşük	62	58,5%
	Yüksek	44	41,5%
Tedavi yanıtı	Komplet yanıt	77	72,6%
	Kısmi yanıt	29	27,4%
Evre	1-2	45	42,5%
	3-4	61	57,5%
Hemogloblin	<12	51	48,1%
	≥ 12	55	51,9%
Laktat Dehidrogenaz	<225	65	61,3%
	≥ 225	41	38,7%

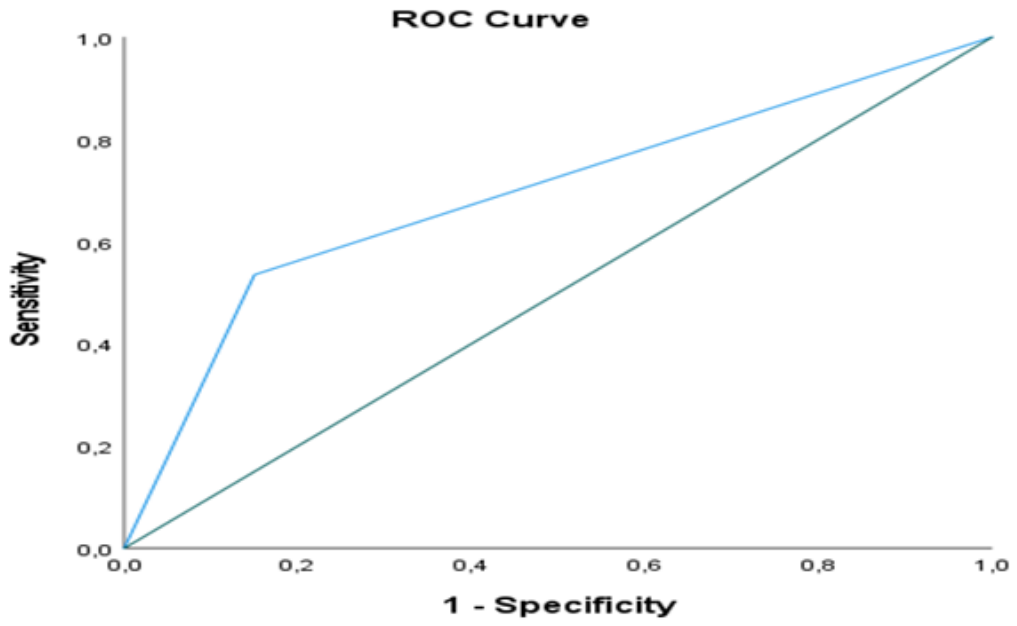
NOS: Özel tip olmayan, İPS: International Prognostic Score.

4.2 İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Tümörde CD20,CD138,CD68 ve CD163 için 5 yıl içinde nüks edenler için kesme değeri belirlendi.

4.2.1 CD20 ile ekspresyon

Tümörde CD20 ekspresyonun progresyon açısından kesme değeri 21,5 olarak bulundu (Şekil-17) . Ortalama CD20 değeri $22,7 \pm 14,5$ (0-81)'di.



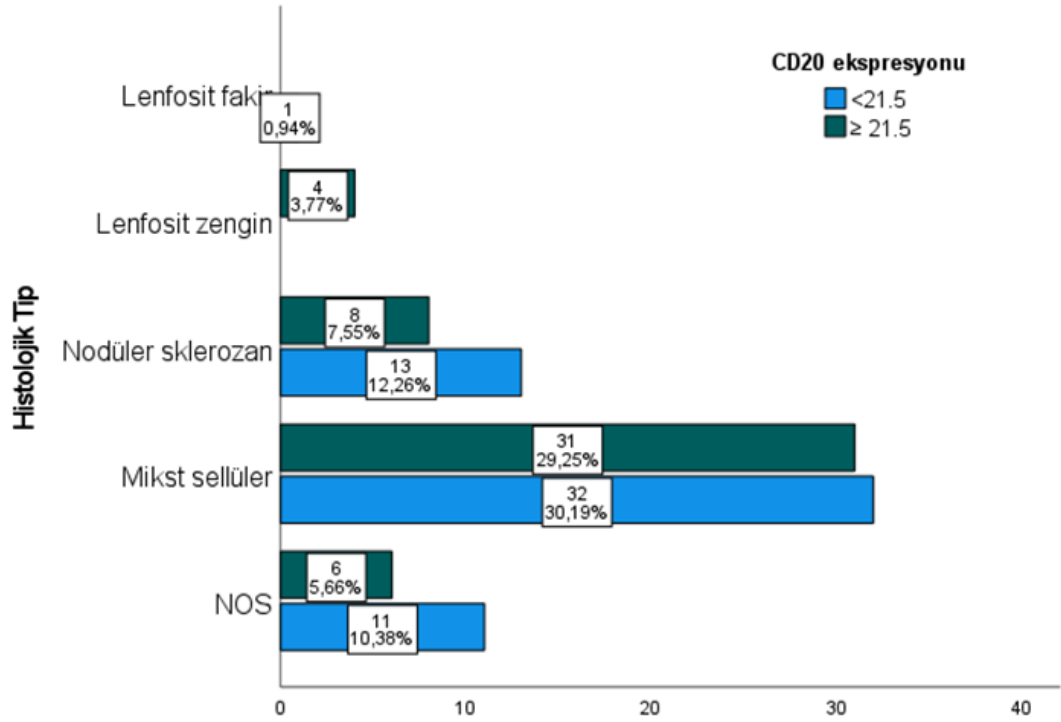
Şekil-17: CD20'nin progresyon için ROC eğrisi

AUC	Std. Error	%95CI	P
0,692	0,06	0,574-0,811	0,008

AUC: Eğri altında kalan, CI: Confidence interval

Yaş ile CD20 ekspresyonu incelendiğinde; CD20 ekspresyonu düşük olguların %61,4'ü 45 yaş altı hastalardan, %38,6'sı 45 yaş ve üzerindeki hastalardan oluşuyordu. CD20 ekspresyonu yüksek olguların %59,2'si 45 yaş altı hastalardan, %40,8'i 45 yaş ve üzerindeki hastalardan oluşuyordu. CD20 ekspresyonu ile yaş arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,486$).

Düşük ve yüksek CD20 ekspresyonu erkeklerde kadınlara göre daha fazla izlendi. CD20 ekspresyonu ile cinsiyet arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,09$).



Şekil-18: CD20 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi

Histolojik tip ile CD20 ekspresyonu incelendiğinde; CD20 ekspresyonu mikst sellüler olanların 32'sinde, nodüler sklerozan olanların 13'ünde ve lenfosit fakir olanların ise tamamında düşük olarak izlendi. Lenfosit zengin olanların ise tamamında yüksek ekspresyon görüldü. CD20 ekspresyonu ile histolojik tip arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,433$).

İPS düşük olan olgularda yüksek olanlara göre daha yüksek CD20 ekspresyonu izlenmiş olup; İPS ile CD20 ekspresyonu ile istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi ($p<0,001$).

Tedaviye tam yanıt gösteren olguların %66,7'sinde, kısmi yanıt gösterenlerin ise %33,3'ünde düşük CD20 ekspresyonu görüldü. CD20 ekspresyonu yüksek olanların %79,6'sında tam yanıt, %20,4'ünde ise kısmi yanıt görüldü. Tedavi yanıtı ile CD20 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,102$).

Düşük CD20 ekspresyonu ileri evre (3-4) olguların %72,2'sinde görüldü. Yüksek CD20 ekspresyonu ise evre 4 olgularda diğer evrelere göre daha düşük görüldü. Düşük CD20 ekspresyonu ileri evrelerde daha fazla görülmüş olup istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,004$).

CD20 ekspresyonu düşük olan 29 olguda Laktat dehidrogenaz düşük, 28 olguda ise yüksek bulundu. CD20 ekspresyonu yüksek olan olguların ise %73,5'inde Laktat dehidrogenaz düşük, %26,5'inde ise yüksek bulundu. CD20 ekspresyonu yüksek olanlarda Laktat dehidrogenaz daha düşük bulunmuş olup istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p=0,014$).

CD20 ekspresyonu anemi olan olguların %59,4'ünde düşük izlendi. CD20 ekspresyonu yüksek olan olguların ise %34,7'sinde anemi izlendi. Anemi olmayanlarda daha yüksek CD20 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,009$).

Nüks olan olguların %29,8'inde düşük, %6,1'inde ise yüksek CD20 ekspresyonu görüldü. CD20 ekspresyonu düşük olanlarda nüks daha fazla izlenmiş olup istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p=0,002$).

Takipleri sırasında ölen olguların 13'ünde CD20 ile düşük ekspresyon, 7'sinde ise yüksek ekspresyon görüldü. CD20 ekspresyonu ile ölüm arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,193$).

CD20 ekspresyonu ile CD68 ekspresyonu incelendiğinde: CD20 ekspresyonu düşük olguların %49,1'inde CD68 ekspresyonu düşük, %50,9'unda ise yüksek bulundu. CD20 ekspresyonu yüksek olgularınsa %53,1'inde CD68 ekspresyonu düşük, %46,9'unda ise yüksek bulundu. CD20 ekspresyonu ile CD68 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,417$).

CD20 ekspresyonu düşük olanların 25'inde CD138 ekspresyonu düşük, 32'sinde ise yüksek izlendi. CD20 ekspresyonu yüksek olan olgularınsa 26'sında CD138 ekspresyonu düşük, 23'ünde yüksek bulundu. CD20 ekspresyonu ile CD138 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,227$).

CD20 ekspresyonu ile CD163 ekspresyonu arasındaki ilişki incelendiğinde: CD20 ekspresyonu yüksek olanlarda daha düşük CD163 ekspresyonu görülmüş olup istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi ($p=0,004$). CD20 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki Tablo-4'de gösterilmiştir.

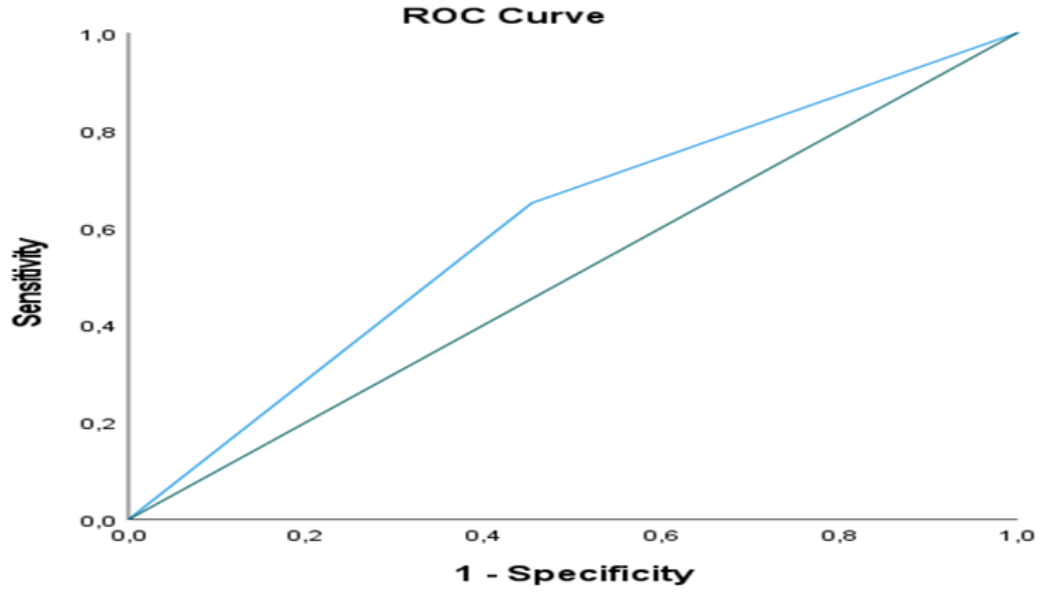
Tablo-4: CD20 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki

		CD20 ekspresyonu				
		<21,5		≥ 21,5		
		n	%	n	%	p
Yaş	<45	35	61,4%	29	59,2%	
	≥ 45	22	38,6%	20	40,8%	0,486
Cinsiyet	Erkek	30	52,6%	33	67,3%	
	Kadın	27	47,4%	16	32,7%	0,09
Histolojik tip	NOS	11	19,3%	6	12,2%	
	Mikst sellüler	32	56,1%	31	63,3%	
	Nodüler sklerozan	13	22,8%	8	16,3%	0,433
	Lenfositten Zengin	0	0,0%	4	8,2%	
	Lenfositten Fakir	1	1,8%	0	0,0%	
İPS	Düşük	25	43,9%	37	75,5%	
	Yüksek	32	56,1%	12	24,5%	<0,001
Tedavi yanıtı	Komplet yanıt	38	66,7%	39	79,6%	
	Kısmi yanıt	19	33,3%	10	20,4%	0,102
Evre	1-2	17	29,8%	28	57,1%	
	3-4	40	72,2%	21	42,9%	0,004
Laktat Dehidrogenaz	<225	29	50,9%	36	73,5%	
	≥ 225	28	49,1%	13	26,5%	0,014
Hemoglobin	<12	34	59,6%	17	34,7%	
	≥ 12	23	40,4%	32	65,3%	0,009
Nüks	Yok	40	70,2%	46	93,9%	
	Var	17	29,8%	3	6,1%	0,002
Ölüm	Yok	44	77,2%	42	85,7%	
	Var	13	22,8%	7	14,3%	0,193
CD68	<7,5	28	49,1%	26	53,1%	
	≥7,5	29	50,9%	23	46,9%	0,417
CD138	<0,5	25	43,9%	26	53,1%	
	≥0,5	32	56,1%	23	46,9%	0,227
CD163	<5,5	25	43,9%	35	71,4%	
	≥5,5	32	56,1%	14	28,6%	0,004

NOS: Özel olarak tiplendirilemeyen, İPS: İnternational Prognostic Score.

4.2.2 CD68 ile ekspresyon

Tümörde CD68 ekspresyonunun progresyon açısından kesme değeri 7,5 olarak bulundu (Şekil-19) . Ortalama CD68 değeri $9,9 \pm 7,3$ (1-35)'du.



Şekil-19: CD68'in progresyon için ROC eğrisi

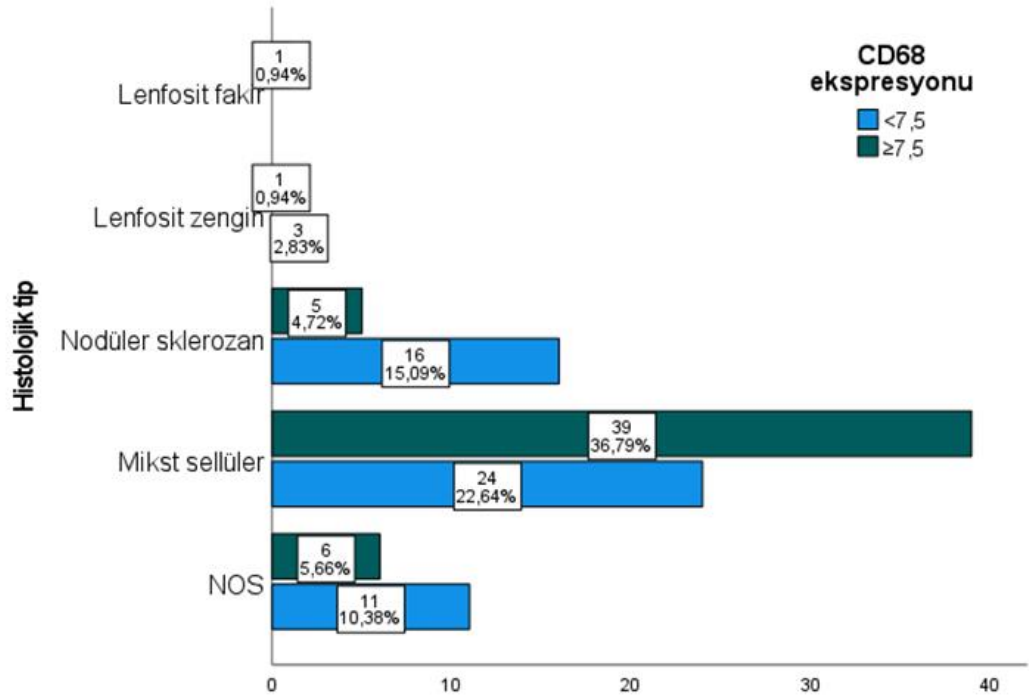
AUC	Std. Error	%95CI	p
0,598	0,07	0,462-0,735	0,042

AUC: Eğri altında kalan, CI: Confidence interval

CD68 ekspresyonu kesme değerinin (7,5) altında olanlar düşük, üstünde ve eşit olanlar yüksek CD68 ekspresyonuna sahip olarak değerlendirildi.

Yaş ile CD68 ekspresyonu incelendiğinde; CD68 ekspresyonu 45 yaş altındaki olguların %66,7'inde, 45 yaş ve üzerindekiilerin ise %33,3'ünde düşük izlendi. Kırk beş yaş altındaki olguların %53,8'inde, 45 yaş ve üzerindekiilerin ise %46,2'sinde yüksek ekspresyon izlenmiş olup; CD68 ekspresyonu ile yaş arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,125$).

Düşük ve yüksek CD68 ekspresyonu erkeklerde kadınlara göre daha fazla izlendi. CD20 ekspresyonu ile cinsiyet arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,077$).



Şekil-20: CD68 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi

Histolojik tip ile CD68 ekspresyonu incelendiğinde; CD68 ekspresyonu mikst sellüler olanların 24'ünde, nodüler sklerozan olanların 16'sında ve lenfosit zengin olanların ise 3'ünde düşük ekspresyon izlendi. Mikst sellüler olanların %75'inde lenfosit zengin olanlarınsa tamamında yüksek CD68 ekspresyonu görüldü. CD68 ekspresyonu ile histolojik tip arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,391$).

İPS düşük olan olguların 38'inde CD68 ile düşük ekspresyon; İPS yüksek olanlarınsa 28'inde yüksek CD68 ekspresyonu izlendi. CD68 ekspresyonu yüksek olanlarda daha yüksek İPS bulundu. İPS ile CD68 ekspresyonu ile istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p=<0,01$).

Tedaviye tam yanıt gösteren olguların %64,8'inde, kısmi yanıt gösterenlerinse %35,2'sinde düşük CD68 ekspresyonu görüldü. CD68 ekspresyonu yüksek olanların %80,8'inde tam yanıt, %19,2'sinde ise kısmi yanıt görüldü. Tedavi yanıtı ile CD68 ekspresyonu ile sınırda istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,052$).

Düşük CD68 ekspresyonu evre 1-2 olguların %66,7'sinde, evre 3-4 olgularınsa %33,3'ünde görüldü. Yüksek CD68 ekspresyonu ise evre 1-2 olguların %39,3'ünde, evre 3-4 olgularınsa %60,7'sinde görüldü. Yüksek CD68 ekspresyonu ileri evrelerde daha fazla görülmüş olup istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,005$).

CD68 ekspresyonu düşük olan 40 olguda Laktat dehidrogenaz düşük, 14 olguda ise yüksek bulundu. CD68 ekspresyonu yüksek olan olgularınsa %48,1'inde Laktat dehidrogenaz düşük, %51,9'unda ise yüksek bulundu. CD68 ekspresyonu düşük olanlarda Laktat dehidrogenaz daha yüksek bulunmuş olup istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p=0,005$).

CD68 ekspresyonu anemi olan olguların %51,9'unda düşük izlendi. CD68 ekspresyonu yüksek olan olgularınsa %44,2'sinde anemi izlendi. Anemi olmayanlarda daha yüksek CD68 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,278$).

Nüks olan olguların %13'ünde düşük, %25'inde ise yüksek CD68 ekspresyonu görüldü. CD68 ekspresyonu yüksek olanlarda nüks daha fazla bulunmuş olup istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p=0,011$).

Takipleri sırasında ölen olguların 6'sında CD68 ile düşük ekspresyon, 14'ünde ise yüksek ekspresyon görüldü. CD68 ekspresyonu ile ölüm arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,033$).

CD68 ekspresyonu düşük olanların 24'ünde CD138 ekspresyonu düşük, 30'unda ise yüksek izlendi. CD68 ekspresyonu yüksek olan olgularınsa 27'sinde CD138 ekspresyonu düşük, 25'inde yüksek bulundu. CD68 ekspresyonu ile CD138 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,282$).

CD68 ekspresyonu ile CD163 ekspresyonu incelendiğinde: CD68 ekspresyonu yüksek olanlarda daha yüksek CD163 ekspresyonu görülmüş olup istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi ($p=0,001$). CD68 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki Tablo-5'de gösterilmiştir.

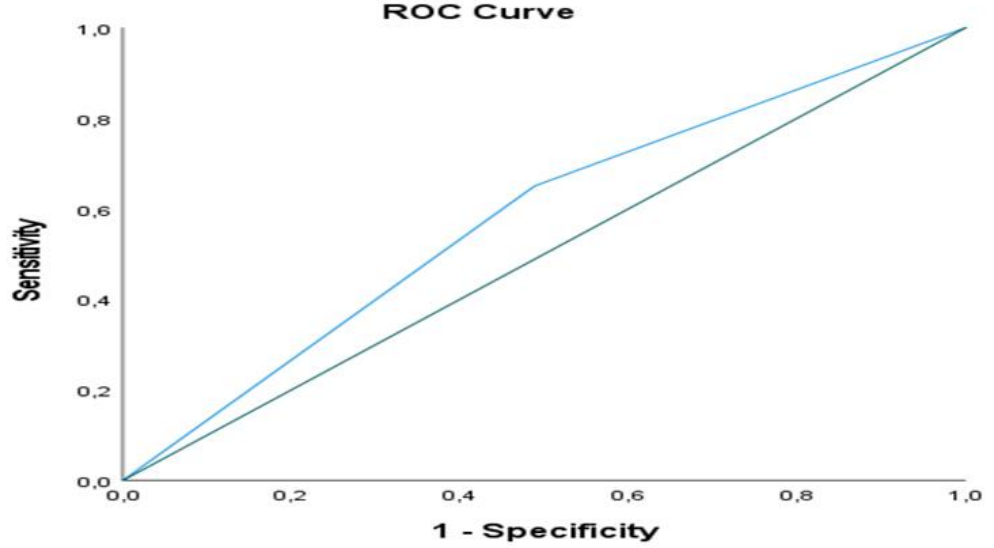
Tablo-5: CD68 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki

		CD68 ekspresyonu				
		<7,5		≥7,5		
		n	%	n	%	
Yaş	<45	36	66,7%	28	53,8%	0,125
	≥ 45	18	33,3%	24	46,2%	
Cinsiyet	Erkek	28	51,9%	35	67,3%	0,077
	Kadın	26	48,1%	17	32,7%	
Histolojik tip	NOS	11	20,4%	6	11,5%	0,391
	Mikst sellüler	24	44,4%	39	75,0%	
	Nodüler sklerozan	16	29,6%	5	9,6%	
	Lenfosit Zengin	3	5,6%	1	1,9%	
	Lenfosit Fakir	0	0,0%	1	1,9%	
İPS	Düşük	38	70,4%	24	46,2%	0,01
	Yüksek	16	29,6%	28	53,8%	
Tedavi yanıtı	Komplet yanıt	35	64,8%	42	80,8%	0,052
	Kısmi yanıt	19	35,2%	10	19,2%	
Evre	1-2	30	66,7%	24	39,3%	0,005
	3-4	15	33,3%	37	60,7%	
Hemoglobin	<12	28	51,9%	23	44,2%	0,278
	≥ 12	26	48,1%	29	55,8%	
Laktat Dehidrogenaz	<225	40	74,1%	25	48,1%	0,005
	≥ 225	14	25,9%	27	51,9%	
Nüks	Yok	47	87,0%	39	75,0%	0,011
	Var	7	13,0%	13	25,0%	
Ölüm	Yok	48	88,9%	38	73,1%	0,033
	Var	6	11,1%	14	26,9%	
CD20	<21,5	28	51,9%	29	55,8%	0,417
	≥21,5	26	48,1%	23	44,2%	
CD138	<0,5	24	44,4%	27	51,9%	0,282
	≥0,5	30	55,6%	25	48,1%	
CD163	<5,5	42	77,8%	18	34,6%	0,001
	≥5,5	12	22,2%	34	65,4%	

NOS: Özel olarak tiplendirilemeyen, İPS: İnternational Prognostic Score.

4.2.3 CD138 ile ekspresyon

Tümörde CD138 ekspresyonunun progresyon açısından kesme değeri 0,5 olarak bulundu (Şekil-21) . Ortalama CD138 değeri $1,3 \pm 2,3$ (0-14)'dü.



Şekil-21: CD138'in progresyon için ROC eğrisi

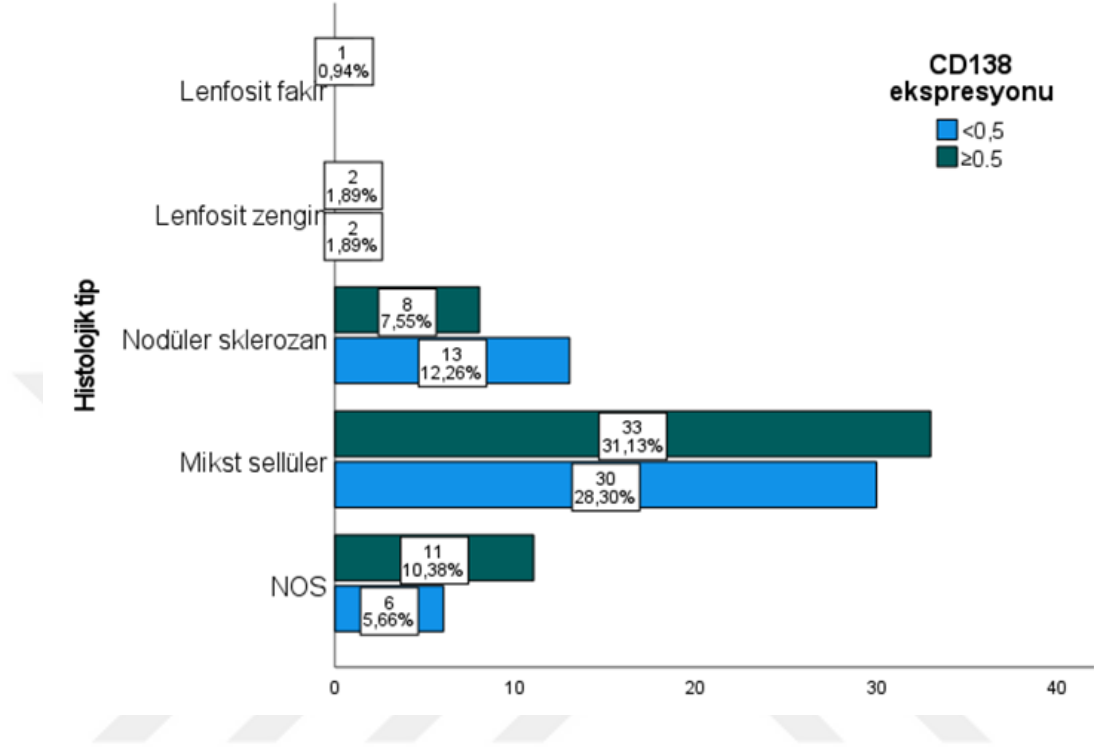
AUC	Std.Error	%95CI	p
0,581	0,07	0,444-0,718	0,051

AUC: Eğri altında kalan, CI: Confidence interval

CD138 ekspresyonu kesme değerinin (0,5) altında olanlar düşük, üstünde ve eşit olanlar yüksek CD138 ekspresyonuna sahip olarak değerlendirildi.

Yaş ile CD138 ekspresyonu incelendiğinde; CD138 ekspresyonu 45 yaş altındaki olguların %56,9'unda, 45 yaş ve üzerindekiilerin ise %43,1'inde düşük olarak izlendi. Kırk beş yaş altındaki olguların %63,6'sında, 45 yaş ve üzerindekiilerin ise %36,4'ünde yüksek ekspresyon izlenmiş olup; CD138 ekspresyonu ile yaş arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,304$).

Erkek cinsiyette CD138 ekspresyonu kadınlara göre daha fazla izlendi. Yüksek CD138 erkeklerin %63,6'sında izlenmiş olup, istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,237$).



Şekil-22: CD138 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi

Histolojik tip ile CD138 ekspresyonu incelendiğinde; CD138 ekspresyonu mikst sellüler olanların %58,8'inde, nodüler sklerozan olanların %25,5'unda ve lenfosit zengin tipin %3,9'unda düşük olarak izlendi. Mikst sellüler tipin %60'ında lenfosit zengin olanlarınsa tamamında yüksek ekspresyon görüldü. CD138 ekspresyonu ile histolojik tip arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,334$).

İPS düşük olan olguların 33'ünde CD138 ile düşük ekspresyon; İPS yüksek olanlarınsa 29'unda yüksek CD138 ekspresyonu izlendi. Düşük İPS olanlarda CD138 ekspresyonu düşük görüldü. İPS ile CD138 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,146$).

Tedaviye tam yanıt gösteren olguların %78,4'ünde, kısmi yanıt gösterenlerin ise %21,6'sında düşük CD138 ekspresyonu görüldü. CD138 ekspresyonu yüksek

olanların %67,3'ünde tam yanıt, %32,7'sinde ise kısmi yanıt görüldü. Tedavi yanıtı ile CD138 ekspresyonu ile istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,142$).

Evre 1-2 olguların %44,4'ünde, evre 3-4 olgularınsa %55,6'sında düşük CD138 ekspresyonu izlendi. Yüksek CD138 ekspresyonu evre 1-2 olguların %50,8'inde, evre 3-4 olgularınsa %49,2'sinde görüldü. İleri evrelerde CD138 ekspresyonu daha düşük bulunmuş olup istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,326$).

CD138 ekspresyonu düşük olan 31 olguda Laktat dehidrogenaz düşük, 20 olguda ise yüksek bulundu. CD138 ekspresyonu yüksek olan olgularınsa %61,8'inde Laktat dehidrogenaz düşük, %38,2'sinde ise yüksek bulundu. CD138 ekspresyonu ile Laktat dehidrogenaz arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,536$).

CD138 ekspresyonu anemisi olan olguların 18'inde düşük izlendi. CD138 ekspresyonu yüksek olan olgularınsa %60'ında anemi izlendi. Anemi olanlarda olmayanlara göre daha yüksek CD138 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,009$).

Nüks olan olguların %13,7'sinde düşük, %23,6'sında ise yüksek CD138 ekspresyonu görüldü. CD138 ekspresyonu yüksek olanlarda nüks oranı daha fazla bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,046$).

Takipleri sırasında ölen olguların 8'inde CD138 ile düşük ekspresyon, 12'sinde ise yüksek ekspresyon görüldü. CD138 ekspresyonu ile ölüm arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,289$).

CD138 ekspresyonu ile CD163 ekspresyonu incelendiğinde: CD138 ekspresyonu düşük olanların %58,8'inde düşük CD163 ekspresyonu görüldü. CD138 ekspresyonu yüksek olanlarınsa %45,5'inde yüksek CD163 ekspresyonu görüldü. CD138 ekspresyonu ile CD163 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,402$).

CD138 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki Tablo-6'da gösterilmiştir.

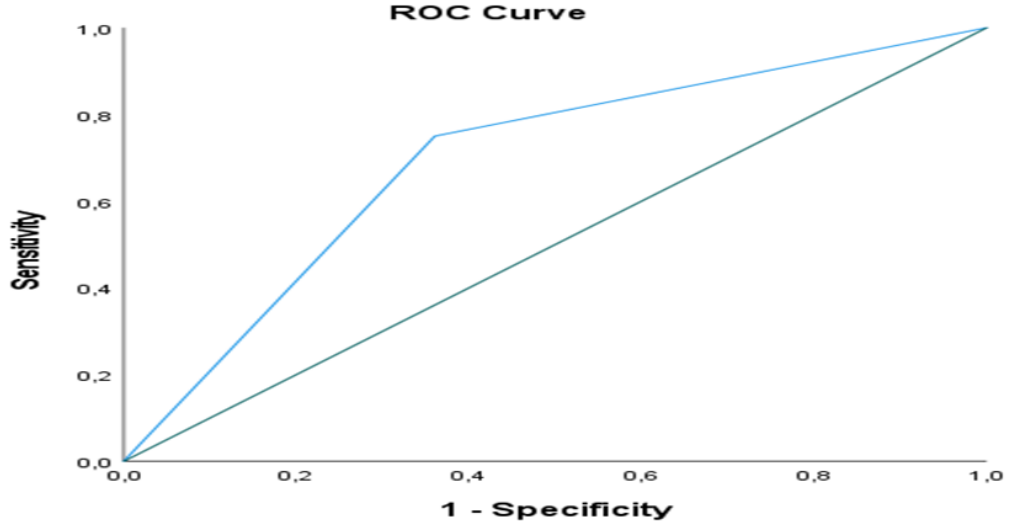
Tablo-6: CD138 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki

		CD138 ekspresyonu				
		<0,5		≥0,5		
		n	%	n	%	
Yaş	<45	29	56,9%	35	63,6%	0,304
	≥ 45	22	43,1%	20	36,4%	
Cinsiyet	Erkek	28	54,9%	35	63,6%	0,237
	Kadın	23	45,1%	20	36,4%	
Histolojik tip	NOS	6	11,8%	11	20,0%	0,334
	Mikst sellüler	30	58,8%	33	60,0%	
	Nodüler sklerozan	13	25,5%	8	14,5%	
	Lenfositten Zengin	2	3,9%	2	3,6%	
	Lenfositten Fakir	0	0,0%	1	1,8%	
İPS	Düşük	33	64,7%	29	52,7%	0,146
	Yüksek	18	35,3%	26	47,3%	
Tedavi yanıtı	Komplet yanıt	40	78,4%	37	67,3%	0,142
	Kısmi yanıt	11	21,6%	18	32,7%	
Evre	1-2	20	44,4%	31	50,8%	0,326
	3-4	25	55,6%	30	49,2%	
Hemoglobin	<12	18	35,3%	33	60,0%	0,009
	≥ 12	33	64,7%	22	40,0%	
Laktat Dehidrogenaz	<225	31	60,8%	34	61,8%	0,536
	≥ 225	20	39,2%	21	38,2%	
Nüks	Yok	44	86,3%	42	76,4%	0,046
	Var	7	13,7%	13	23,6%	
Ölüm	Yok	43	84,3%	43	78,2%	0,289
	Var	8	15,7%	12	21,8%	
CD20	<21,5	25	49,0%	32	58,2%	0,207
	≥21,5	26	51,0%	23	41,8%	
CD68	<7,5	24	47,1%	30	54,5%	0,282
	≥7,5	27	52,9%	25	45,5%	
CD163	<5,5	30	58,8%	30	54,5%	0,402
	≥5,5	21	41,2%	25	45,5%	

NOS: Özel tip olmayan, İPS: International Prognostic Score.

4.2.4 CD163 ekspresyonu

Tümörde CD163 ekspresyonunun progresyon açısından kesme değeri 5,5 olarak bulundu (Şekil-23) . Ortalama CD163 değeri $7,2 \pm 7,4$ (0-38)'tü.



Şekil-23: CD163'in progresyon için ROC eğrisi

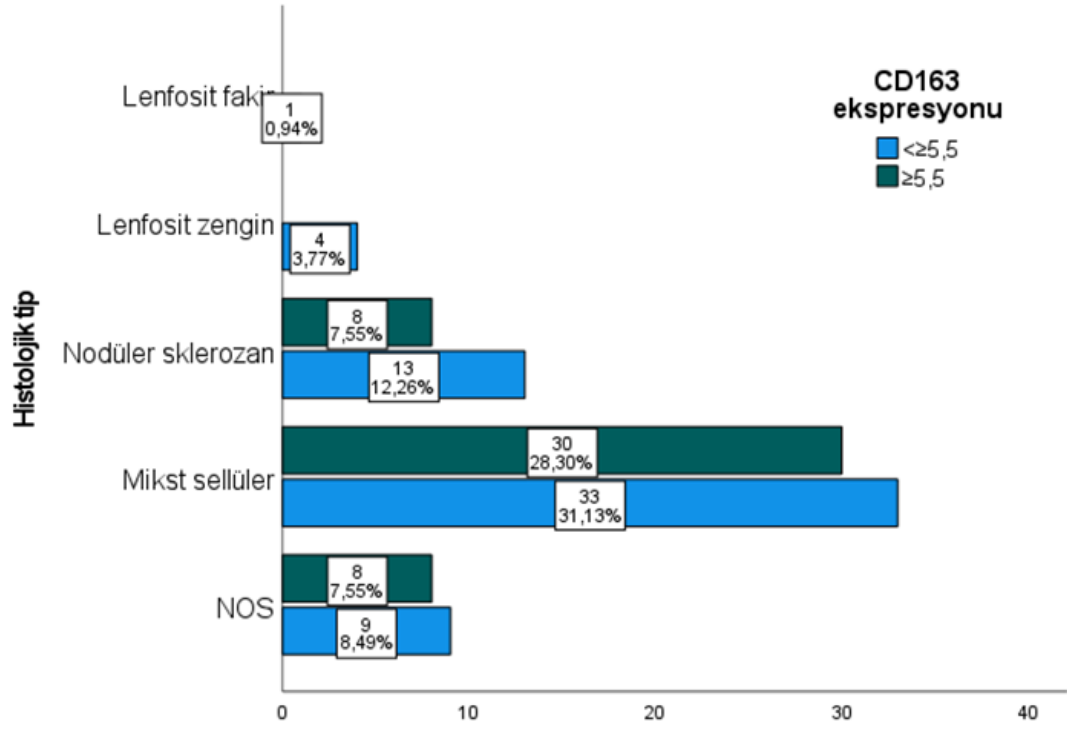
AUC	Std.Error	%95CI	p
0,695	0,064	0,569-0,821	0,007

AUC: Eğri altında kalan, CI: Confidence interval

CD163 ekspresyonu kesme değerinin altında olanlar düşük, üstünde ve eşit olanlar yüksek CD163 ekspresyonuna sahip olarak değerlendirildi.

Yaş ile CD163 ekspresyonu incelendiğinde; CD163 ekspresyonu 45 yaş altındaki olguların %61,7'sinde, 45 yaş ve üzerindekiilerin ise %38,3'ünde düşük izlendi. Kırk beş yaş altındaki olguların %58,7'sinde, 45 yaş ve üzerindekiilerin ise %41,3'ünde yüksek ekspresyon izlenmiş olup; CD163 ekspresyonu ile yaş arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamadı ($p=0,456$).

Hem düşük hem de yüksek CD163 ekspresyonu erkeklerde kadınlara göre daha fazla izlendi. CD163 ekspresyonu ile cinsiyet arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,475$).



Şekil-24: CD163 ekspresyonu ve histolojik tip ilişkisi

Histolojik tip ile CD163 ekspresyonu incelendiğinde (şekil-24); CD163 ekspresyonu mikst sellüler olanların 33’ünde, nodüler sklerozan olanların 13’ünde ve lenfosit zengin ve fakir olanlarınsa tamamında düşük ekspresyon izlendi. Mikst sellüler olanların %65,2’sinde nodüler sklerozan olanlarınsa %17,4’ünde yüksek ekspresyon görüldü. CD163 ekspresyonu ile histolojik tip arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,094$).

İPS düşük olan olguların 42’sinde CD163 ile düşük ekspresyon; İPS yüksek olanlarınsa 20’sinde yüksek CD163 ekspresyonu izlendi. CD163 ekspresyonu yüksek olanlarda daha yüksek İPS bulundu. İPS ile CD163 ekspresyonu ile istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p<0,005$).

Tedaviye tam yanıt gösteren olguların %71,4’ünde, kısmi yanıt gösterenlerin ise %28,3’ünde düşük CD163 ekspresyonu görüldü. CD163 ekspresyonu yüksek olanların %73,9’unda tam yanıt, %26,1’nde ise kısmi yanıt görüldü. Tedavi yanıtı ile CD163 ekspresyonu ile istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,487$).

Yüksek CD163 ekspresyonu ileri evrelerde daha fazla olup istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,023$).

CD163 ekspresyonu düşük olan 43 olguda Laktat dehidrogenaz düşük, 22 olguda ise yüksek bulundu. CD163 ekspresyonu yüksek olan olguların 1'inde Laktat dehidrogenaz düşük, 24'ünde ise yüksek bulundu. CD163 ekspresyonu düşük olanlarda Laktat dehidrogenaz daha yüksek bulunmuş olup istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p=0,011$).

CD163 ekspresyonu anemi olan olguların %51,9'unda düşük izlendi. CD163 ekspresyonu yüksek olan olguların %44,2'sinde anemi izlendi. Anemi olmayanlarda daha yüksek CD163 ekspresyonu izlenmiş olup istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,278$).

Nüks olan olguların %8,3'ünde düşük, %15'inde ise yüksek CD163 ekspresyonu görüldü. CD163 ekspresyonu yüksek olanlarda nüks daha fazla bulunmuş olup istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p=0,002$).

Takipleri sırasında ölen olguların 6'sında CD163 ile düşük ekspresyon, 14'ünde ise yüksek ekspresyon görüldü. CD163 ekspresyonu ile ölüm arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p=0,008$).

CD163 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki Tablo-7'de gösterilmiştir.

4.3 SURVİVAL ANALİZ

Medyan takip süresi $75,0 \pm 20,6$ (1-238) aydır. Çalışmada 106 hastanın takip süresince 20'sinde (%18,9) mortalite gözlemlendi. Hastaların medyan genel sağkalım süresi $61,0 \pm 3,5$ (%95CI 54,0-69,7) ay olarak bulundu.

Laktat Dehidrogenaz düşük olanlarda, CD68 ve CD163 ekspresyonu düşük olanlarda genel sağkalım daha yüksek olup istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p<0,05$). Diğer klinik veriler ile genel sağkalım arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Genel sağkalım ile klinikopatolojik veriler arasında ilişki Tablo-8'de özetlenmiştir.

Tablo-7: CD163 ekspresyonu ile klinikopatolojik veriler arasındaki ilişki

		CD163 ekspresyonu				
		<5,5		≥5,5		
		n	%	n	%	
Yaş	<45	37	61,7%	27	58,7%	0,456
	≥ 45	23	38,3%	19	41,3%	
Cinsiyet	Erkek	35	58,3%	28	60,9%	0,475
	Kadın	25	41,7%	18	39,1%	
Histolojik tip	NOS	9	15,0%	8	17,4%	0,094
	Mikst sellüler	33	55,0%	30	65,2%	
	Nodüler sklerozan	13	21,7%	8	17,4%	
	Lenfositten Zengin	4	6,7%	0	0,0%	
	Lenfositten Fakir	1	1,7%	0	0,0%	
İPS	Düşük	42	70,0%	20	43,5%	0,005
	Yüksek	18	30,0%	26	56,5%	
Tedavi yanıtı	Komplet yanıt	43	71,7%	34	73,9%	0,487
	Kısmi yanıt	17	68,9%	12	27,1%	
Evre	1-2	31	31,1%	29	47,5%	0,023
	3-4	14	23,3%	32	52,5%	
Hemoglobin	<12	24	40,0%	27	58,7%	0,043
	≥ 12	36	60,0%	19	41,3%	
Laktat Dehidrogenaz	<225	43	71,7%	22	47,8%	0,011
	≥ 225	17	28,3%	24	52,2%	
Nüks	Yok	55	91,7%	31	67,4%	0,002
	Var	5	8,3%	15	32,6%	
Ölüm	Yok	54	90,0%	32	69,6%	0,008
	Var	6	10,0%	14	30,4%	
CD20	<21,5	25	41,7%	32	69,6%	0,004
	≥21,5	35	58,3%	14	30,4%	
CD138	<0,5	30	50,0%	21	45,7%	0,402
	≥0,5	30	50,0%	25	54,3%	
CD68	<7,5	42	70,0%	12	26,1%	<0,001
	≥7,5	18	30,0%	34	73,9%	

NOS: Özel tip olmayan, İPS: İnternational Prognostic Score.

Tablo-8: Genel sağkalım ile klinikopatolojik veriler arasında ilişki

		OS				
		Estimated median survival time	Std. Error	95% Confidence Interval		
				Lower Bound	Upper Bound	
Yaş	<45	61	2,7	55,8	66,2	0,591
	≥ 45	63	6,5	50,3	75,7	
Cinsiyet	Erkek	60	2,9	54,2	65,8	0,808
	Kadın	63	9,4	44,6	81,4	
Histolojik tip	NOS	56	14,9	26,9	85,1	
	Mikst sellüler	60	3,4	53,4	66,6	
	Nodüler sklerozan	62	16,5	29,7	94,3	0,799
	Lenfositten Zengin	68	23,0	22,9	113,1	
	Lenfositten Fakir	49	-	-	-	
İPS	Düşük	83	13,1	57,4	108,6	0,100
	Yüksek	58	4,2	49,8	66,3	
Tedavi yanıtı	Komplet yanıt	65	4,9	55,4	74,6	0,465
	Kısmi	40	2,2	35,6	44,4	
Evre	1-2	62	4,7	53,1	71,0	0,230
	3-4	57	6,1	42,9	71,1	
Hemoglobin	<12	80	11,9	56,8	103,3	0,447
	≥ 12	58	1,9	54,3	61,7	
Laktat Dehidrogenaz	<225	83	8,5	66,3	99,7	0,043
	≥ 225	57	4,2	48,7	65,3	
CD20	<21,5	60	5,6	49,1	70,9	0,801
	≥21,5	66	8,8	48,7	83,3	
CD68	<7,5	80	7,0	66,3	93,7	0,004
	≥7,5	49	7,2	34,9	63,1	
CD138	<0,5	62	3,1	55,8	68,1	0,840
	≥0,5	60	7,5	45,3	74,8	
CD163	<5,5	83	5,4	72,3	93,7	<0,001
	≥5,5	51	5,4	40,5	61,5	

NOS: Özel tip olmayan, İPS: International Prognostic Score.

Olguların takip süresince 20'sinde (%18,9) nüks/progresyon gözlemlendi. Hastaların medyan progresyonsuz sağkalım süresi 58,0±4,9 (%95CI 48,5-67,6) ay olarak bulundu. CD68 ve CD163 ekspresyonu yüksek olanlarda progresyonsuz

sağkalım daha düşük olup istatistiksel anlamlı ilişki bulundu ($p<0,05$). Diğer klinik veriler ile progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Progresyonsuz sağkalım ile klinikopatolojik veriler arasında ilişki Tablo-9’de özetlenmiştir.

Tablo-9: Proresyonsuz sağkalım (PFS) ile klinikopatolojik veriler arasında ilişki

		PFS				
		Estimated median survival time	Std. Error	95% Confidence Interval		p
				Lower Bound	Upper Bound	
Yaş	<45	57	7,0	43,3	70,7	
	≥ 45	60	8,8	42,8	77,2	0,663
Cinsiyet	Erkek	57	4,7	47,9	66,1	
	Kadın	62	9,6	43,2	80,8	0,697
Histolojik tip	NOS	56	15,0	26,6	85,4	
	Mikst sellüler	58	4,4	49,4	66,6	
	Nodüler sklerozan	49	14,2	21,1	76,9	0,547
	Lenfositten Zengin	68	23,0	22,9	113,1	
	Lenfositten Fakir	49	-	-	-	
İPS	Düşük	52	7,4	37,5	66,5	
	Yüksek	68	9,3	49,6	86,2	0,059
Tedavi yanıtı	Komplet yanıt	62	2,9	56,3	67,7	
	Kısmi	39	2,24	34,6	43,4	0,111
Evre	1-2	62	2,4	57,2	66,8	
	3-4	51	5,2	40,8	61,2	0,181
CD20	<21,5	51	6,7	37,9	64,1	
	≥21,5	62	6,3	49,6	74,4	0,529
CD68	<7,5	71	7,4	56,6	85,4	
	≥7,5	44	4,9	34,5	53,5	0,007
CD138	<0,5	60	5,7	48,8	71,2	
	≥0,5	57	4,9	47,3	66,7	0,734
CD163	<5,5	72	8,9	54,5	89,5	
	≥5,5	49	4,6	40,0	58,0	0,008

Genel sağkalım için univariate ve multivariate cox regresyon analizi

Çalışmada tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerle hastaların klinik ve patolojik özelliklerinin sağkalım üzerine etkileri Cox regresyon analizi ile incelendi. Tek değişkenli analizlerde yaş, cinsiyet, histolojik tip, evre, tedavi yanıtı,

hemoglobin düzeyi, CD20 ve CD138 ekspresyonun istatistiksel anlamlı düzeyde bir etkisi saptanmadı ($p>0,05$). İPS'nin yüksek olması (HR, 0,549; $p=0,012$), Laktat dehidrogenazın yüksek olması (HR, 0,629; $p=0,047$), CD68 ekspresyonun yüksek olması (HR, 0,534; $p=0,005$) ve CD163 ekspresyonun yüksek olmasının (HR, 0,432; $p=0,0001$) sağ kalım üzerine istatistiksel anlamlı düzeyde etki ettiği saptandı (Tablo-10).

Tablo-10: Genel sağkalım için cox regresyon univarite analizi

	HR	95,0% CI for Exp(B)		p
		Lower	Upper	
Yaş	0,884	0,561	1,393	0,596
Cinsiyet	1,568	0,652	3,771	0,315
Histolojik tip				0,814
NOS	1,197	0,632	2,267	0,582
Mikst sellüler	1,112	0,528	2,344	0,780
Nodüler sklerozan	0,767	0,246	2,390	0,647
Lenfosit zengin	2,564	0,326	20,144	0,371
Evre	1,296	0,844	1,911	0,237
İPS	0,549	0,344	0,876	0,012
Tedavi yanıtı	1,209	0,721	2,029	0,472
Nüks	0,416	0,213	0,813	0,010
Hemoglobin	1,180	0,766	1,818	0,453
Laktat dehidrogenaz	0,629	0,397	0,995	0,047
CD20	0,540	0,215	1,357	0,190
CD68	0,534	0,345	0,826	0,005
CD138	1,393	0,569	3,409	0,468
CD163	0,432	0,273	0,686	0,000

HR: Hazard Ratio, NOS: Özel tip olmayan, İPS: International Prognostic Score.

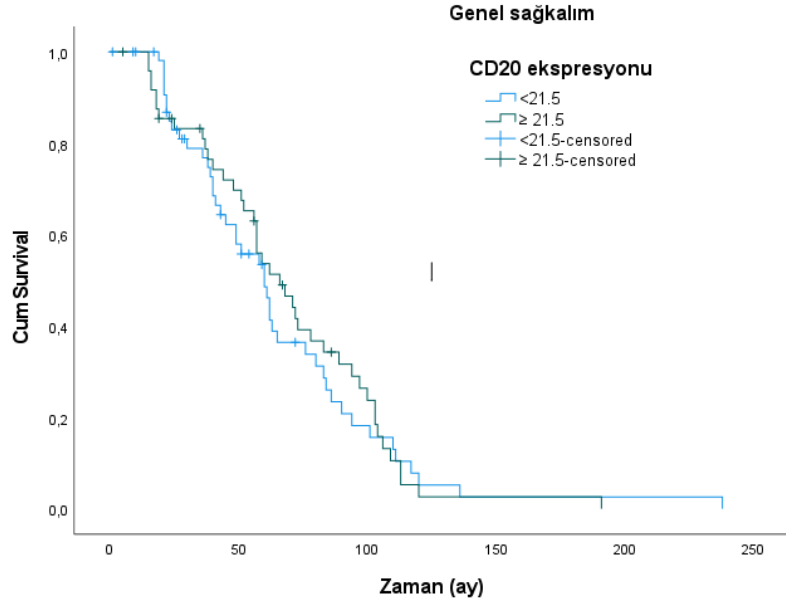
Çok değişkenli analizde ise tedavi yanıtının tam olması (HR, 1,997; $p=0,027$), İPS (HR, 0,492; $p=0,028$), nüks varlığının (HR,0,375; $p=0,017$) ve CD20

ekspresyonu (HR, 0,582; p=0,029) genel sağkalım için bağımsız prognostik faktör oldukları bulundu (Tablo-11).

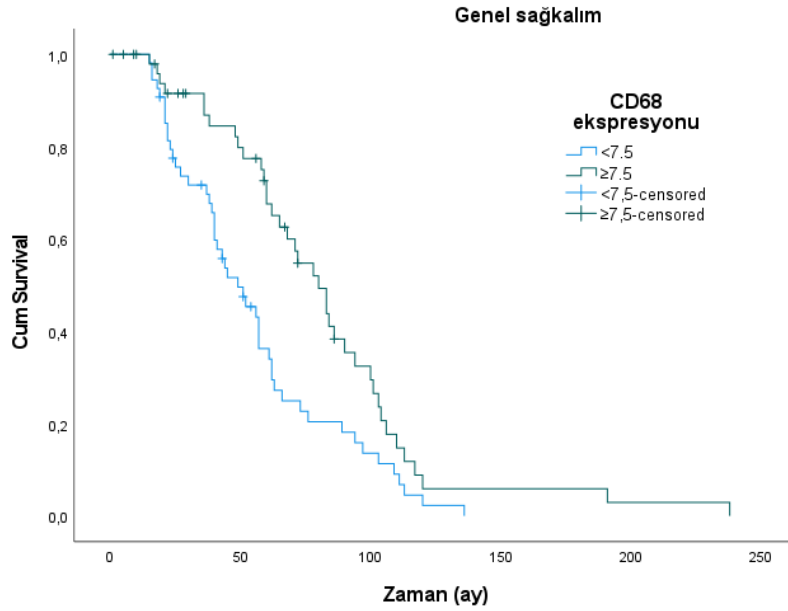
Tablo-11: Genel sağkalım için cox regresyon multivariate analizi

	HR	95,0% CI for Exp(B)		p
		Lower	Upper	
Yaş	1,262	0,736	2,164	0,397
Cinsiyet	0,718	0,403	1,281	0,262
Histolojik tip				0,104
NOS	1,522	0,693	3,343	0,295
Mikst sellüler	0,755	0,321	1,774	0,519
Nodüler sklerozan	0,455	0,120	1,719	0,246
Lenfosit zengin	3,308	0,255	42,891	0,360
İPS	0,492	0,261	0,928	0,028
Evre	1,069	0,630	1,815	0,804
Tedavi yanıtı	1,997	1,080	3,693	0,027
Nüks	0,375	0,167	0,841	0,017
Hemoglobin	0,961	0,542	1,705	0,893
Laktat dehidrogenaz	0,598	0,340	1,049	0,073
CD20	0,582	0,358	0,945	0,029
CD68	0,792	0,440	1,425	0,436
CD138	1,192	0,722	1,968	0,492
CD163	0,581	0,334	1,011	0,055

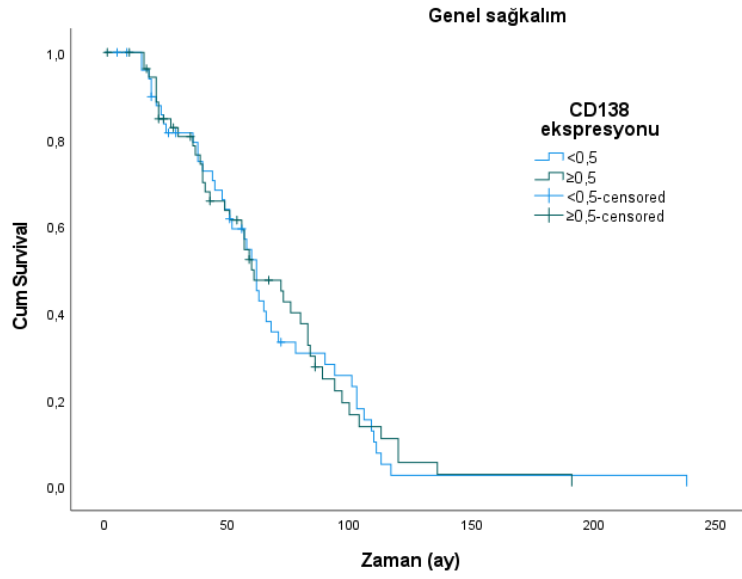
HR: Hazard Ratio, NOS: Özel tip olmayan, İPS: International Prognostic Score.



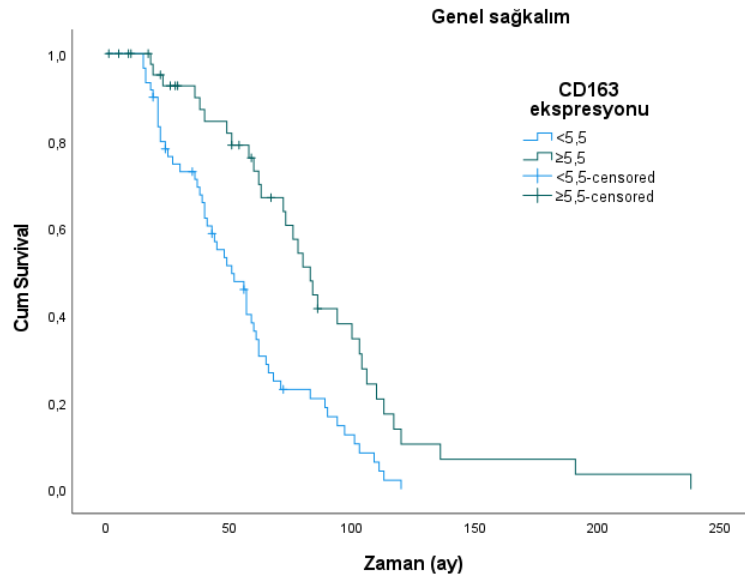
Şekil-25: B lenfositlerdeki CD20 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği



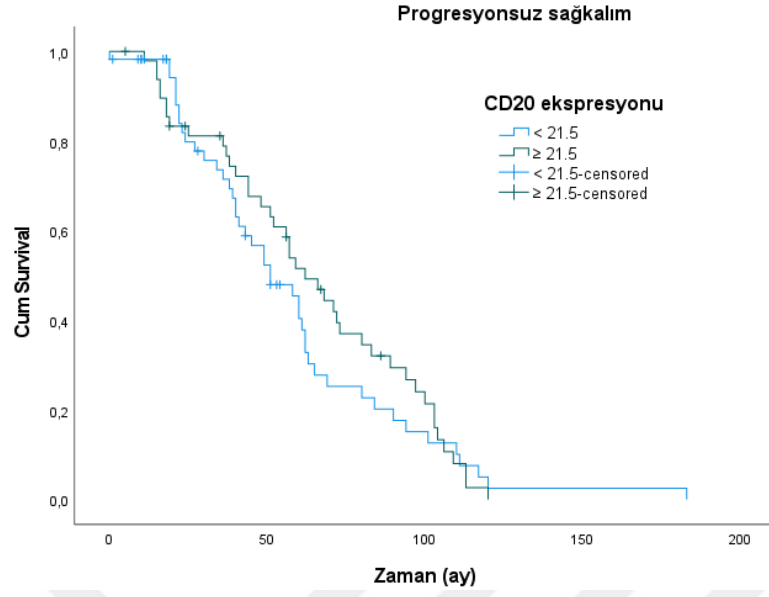
Şekil-26: Makrofaj hücrelerindeki CD68 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği



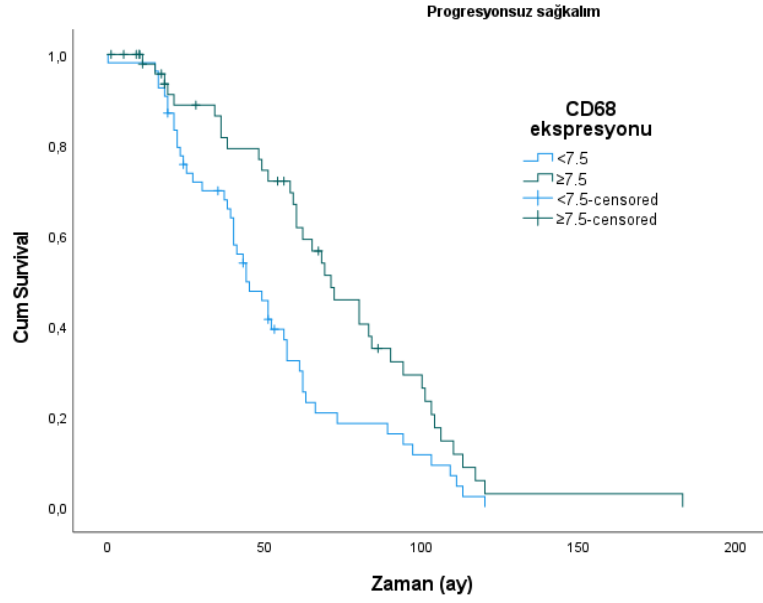
Şekil-27: Plazma hücrelerindeki CD138 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği



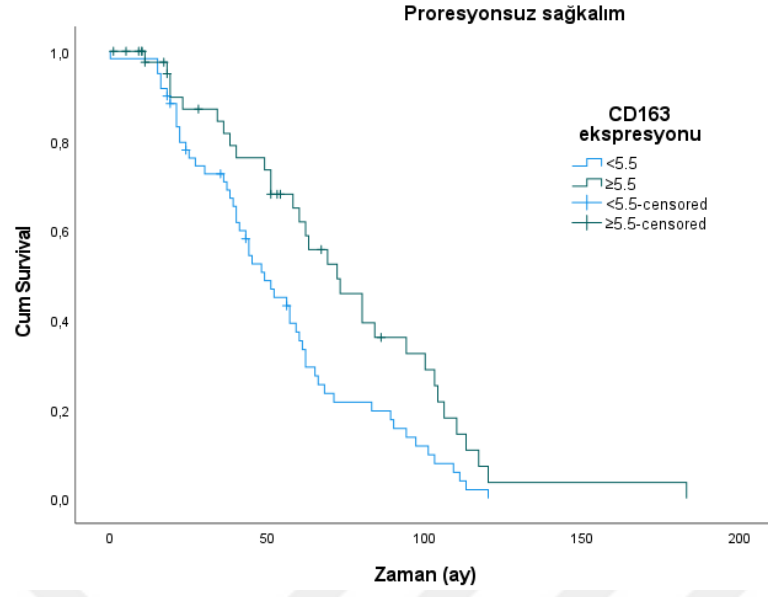
Şekil-28: Makrofaj hücrelerindeki CD163 ekspresyonu ile genel sağkalım arasındaki ilişki grafiği



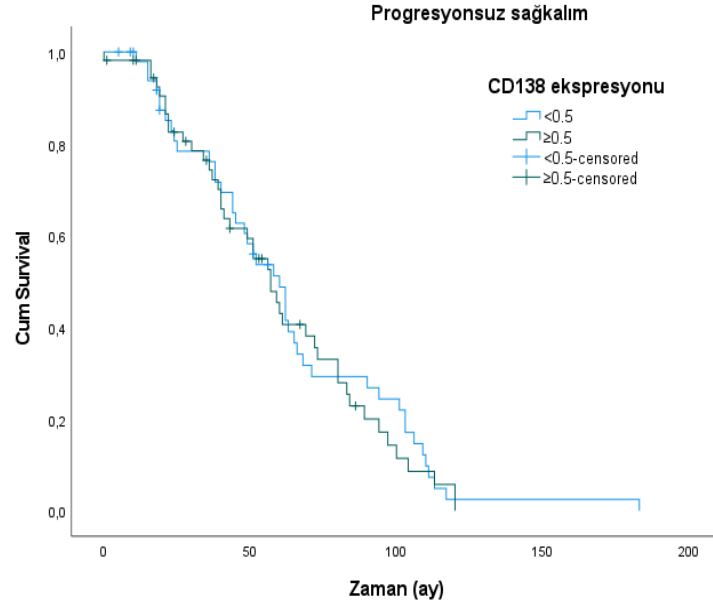
Şekil-29: B lenfositlerdeki CD20 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği



Şekil-30: Makrofaj hücrelerindeki CD68 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği



Şekil-31: Makrofaj hücrelerindeki CD163 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği



Şekil-32: Plazma hücrelerindeki CD138 ekspresyonu ile progresyonsuz sağkalım arasındaki ilişki grafiği

5-TARTIŖMA

Klasik Hodgkin lenfoma (KHL) genç erişkinleri etkileyen en yaygın malignitelerden biridir ve çoğunlukla iyi bir prognoza sahiptir. Tümör hücrelerinin genel populasyonun %1'inden azını ve mikroçevredeki reaktif infiltratın populasyonun %99'unu oluşturan KHL'deki sıradışı hücre bileşimi, uzun zamandır çalışmalar için ilgi odağı haline gelmiştir. Son 20-25 yılda, Klasik Hodgkin lenfomanın (KHL) patofizyolojisinde, özellikle prognostik belirteçleri ve terapötik hedefleri belirlemek için mikroçevredeki neoplastik olmayan hücrelerin etkisine odaklanmış çalışmalar artmaktadır.

Klasik Hodgkin lenfoma (KHL) tedavisindeki ilerlemelere rağmen, mevcut tedaviler hastaların %10-30'inde yeterince iyileştirmemekte ve aynı oranda hasta aşırı tedavi edilerek hem kısa hem de uzun vadede tedaviye bağılı komplikasyonlara neden olabilmektedir. Uluslararası Prognostik Faktörler Projesi (IPS) skoru, ileri evre KHL hastalarının risk sınıflandırması için hali hazırda kullanılamasına rağmen tedavi başarısızlığını ve yüksek riskli hastaları belirlemedeki öngörü yeteneğı zayıftır. Bu nedenle, tanı anında hastaları daha iyi risk gruplarına ayırmak ve hasta spesifik yeni tedavi modalitelerini saptamak için güvenilir sağlam biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

KHL'daki mikroçevre bileşenini incelemek ve olası yeni biyobelirteçler saptamak için son yıllarda uygulanan gen ekspresyon profil (GEP) analizi ve tüm slayt görüntü analizi (WSI) ile daha somut/sayısal değerler elde edilip objektif sonuçlar elde edilmesi hedefleniyor.

Genellikle mikroçevre dahil toplu tümör dokusunu inceleyen gen ekspresyon analizinin aksine, klasik immünohistokimyasal çalışmalar ve doku mikrodizi analizi yöntemi sınırlı büyüklükteki tümör bölgelerini analiz ederler ve intratümöral heterojenlik ve analiz edilen alanların gözlemciye bağılı seçimi ile yanlı (subjektif) olabilir. Ayrıca, mikroçevresel biyobelirteçlerin incelenmesi nadiren büyük klinik araştırma kohortlarında gerçekleştirilmiştir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek, KHL'da tümör mikroçevresinin prognostik rolünü araştırmak ve yeni terapötik hedeflere yol göstermek için, heterojen KT kombinasyonları (ABVD, RT,

BEACOPP, OKİT vs.) ile tedavi edilen 106 hastadan oluşan çalışmamızda B hücreleri (CD20), Plazma hücreleri (CD138) ve makrofajları (CD68,CD163) tüm slayt görüntü analizi (WSI) ile değerlendirdik.

Çalışmamızdaki hastaların çoğu gençti (<45 yaş) (n:64, (%60,4)) ve erkek cinsiyet hakimiyeti (n:63, (%59,4)) mevcuttu. Histolojik alt tipler açısından olgularımızın dağılımı gelişmekte olan ülkelere benzer özellikte olup en sık MSKHL(n:63,(%59) tip olmak üzere sırasıyla NSKHL (n:21,(%19,8)), LZKHL (n:4, (%3,8)), LFKHL(n:1 (%0,9)) idi. KHL'nın genellikle iyi klinik gidişli olduğunu göz önünde bulunduracak olursak olgularımızın çoğunluğunun IPS skoru düşüklüğü, düşük LDH düzeyi, düşük nüks ve ölüm oranı ve tedaviye tam yanıt göstermesi bakımından güncel literatür ve DSÖ verileri (1) ile uyumluydu.

5.1 B LENFOSİTLER

B lenfositlerle KHL hastalarındaki klinik prognostik verilerin ilişkileri konusunda literatür tartışmalıdır. KHL mikroçevredeki B hücrelerinin uzun zamandır homojen bir hücre popülasyonu olduğu düşünülmekteydi. Ancak bu görüş yapılan çalışmalarla giderek değişmektedir. Mevcut bulgular, B hücrelerinin, KHL'de immün yanıtta katkıda bulunan değişken işlevlere sahip çeşitli farklı alt kümelerden oluşabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda çok sayıda foliküler dendritik hücre ağı, agregat oluşturmayan B hücreleri, IgM+ hücreler ve CD20+ agregatlar daha iyi bir prognozla ilişkilendirilmiştir. Buna karşılık farklı B hücresi alt kümelerinin kötü prognostik etkiler gösterebileceğini savunan bulgular da mevcuttur (111). Mevcut çalışmalar mikroçevrede karmaşık bir B hücresi ağı varlığına işaret etmektedir.

Histopatolojik olarak, B hücrelerinin KHL'da tedaviye yanıt üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etkisini destekleyen çalışmalardan biri Tudor ve ark.'nın çalışmasıdır. Yaptıkları çalışmada çok sayıda agregat oluşturmuş CD20+ B hücrelerin ve IgM+ hücrelerin daha iyi prognozla ilişkili olduğunu; bunun da anti-tümöral immün yanıtı desteklediğini; Buna karşılık, çok sayıda Pax5+/CD38+ hücresinin KHL'da olumsuz bir prognostik etki gösterdiğini ve farklı B hücresi alt

kümelerinin pro-tümöral veya anti-tümöral etkiler gösterebileceği fikrini savunmuştur (111).

Yine Cirillo ve ark.'nın (112) belirttiği gibi, KHL'deki B hücrelerinin anti-tümör aktivitesindeki rolü, lenf nodunun mimarisinin daha iyi korunması ve hastalığın daha iyi seyirli olması ile açıklanabilir şekilde görüş bildirmişlerdir. Bunu destekler nitelikte Panico L ve ark.'ı (113) CD20 B hücrelerinin hastalığın gidişatını belirlemede aktif bir rol oynadığını, koruyucu bir etki sağladığını ve prognozu iyi yönde desteklediğini düşünmüştür. Bunların aksine B hücrelerinin, CD30L ve CD40L ekspresyonu yoluyla HRS hücre büyümesini tetikleyebileceğini böylece protümöral olabileceğini düşünen çalışmalar da mevcut (114).

Ann Arbor Evreleme sisteminin Cotswolds modifikasyonu halen HL'da evrelemenin temelini oluşturmaktadır. Literatürde B lenfosit yoğunluğunun evre ile ilişkisi konusunda farklı bulgular mevcuttur. WSI yöntemi kullanılan önceki çalışmalardan biri olan Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın Alman Hodgkin Çalışma Grubu (GHSG) tarafından yürütülen 2021 deki çalışmasında, BEACOPP ile tedavi edilen ileri evre 340 KHL tanılı hasta değerlendirilmiş olup çalışmada B hücre içeriği ile hastalığın evresi arasında anlamlı ilişkili saptanmamıştır (83). Daha sonra yapılan Antonio Santisteban-Espejo ve ark.'nın yaptığı analiz edilen tüm hastalara ABVD verilen 85 KHL tanılı olgunun incelendiği 2022 deki bir çalışmada düşük B hücre içeriği, ileri evre ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili saptanmıştır (115). Benzer şekilde Panico L ve ark.'nın yaptığı farklı bir çalışmada yüksek B hücre içeriği ile düşük evre arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (113). Yine Steidl ve ark.'nın yaptığı gen ekspresyon profillemesi sonuçlarıyla kanıtlanan immünohistokimya yönteminin kullanıldığı bir çalışmaya göre CD20+ küçük B hücrelerinin sayısının ileri evre hastalıkla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır (94). Biz de çalışmamızda literatürün çoğu ile uyumlu olarak düşük B hücre içeriğinin ileri evre ile anlamlı ilişki gösterdiğini saptadık. İlk çalışmadaki (83) farklılık sadece ileri evre hastaların seçilmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Uluslararası Prognostik Skor (IPS), albümin, hemoglobin, erkek cinsiyet, yaş, evre IV hastalık, lökositöz ve lenfopeni gibi faktörlere dayanarak ileri evre hastalığı değerlendiren bir skora yöntemi olup hali hazırda kriterlerinden biri lenfopeni

olduğundan ve muhtemelen hemen daima anlamlı olacağından literatürde B lenfosit ile ilişkisi pek fazla incelenmemiştir. Aradaki ilişkiyi araştıran nadir çalışmalardan biri olan ve çalışmamızla benzer sonuç gösteren Panico L ve ark.'nın yaptığı çalışmada yüksek B hücre içeriği ile IPS düşüklüğü arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (113). Bu sonuçlar da B lenfosit yoğunluğunun iyi klinik prognostik verilerle ilişkisini destekler niteliktedir.

Laktat dehidrogenaz(LDH) tanı anında yükselebilir ve hastalık yanıtını değerlendirmede 18-FDG-PET taraması ve eritrosit sedimentasyon hızına ek olarak faydalı olabilir. Literatürde LDH düzeyi ile B lenfosit yoğunluğu arasındaki ilişkiye değinen çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda yüksek B hücre içeriğinin, düşük LDH düzeyi ile anlamlı ilişki gösterdiğini saptadık.

Hem IPS-7 hem de IPS-3 skorlamasında bulunan nadir parametrelerden biri olan hemoglobin literatürde pek fazla irdelenmemiştir. Çalışmamızda yüksek B hücre içeriğinin düşük olmayan(normal-yüksek) Hg düzeyi ile anlamlı ilişki gösterdiğini saptadık.

İleri evre klasik Hodgkin lenfomalı (KHL) hastaların bir grubu (%10-30) standart tedaviyi takiben nüks etmekte veya ilerlemektedir. Bu hasta grubunun önceden tanınması amacıyla nüks oranının B lenfositlerle ilişkisi irdelenmiştir. Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın çalışmasında düşük CD20+ B hücre içeriğinin artmış nüks riski ve tedavi başarısızlığı ile anlamlı ilişkili olduğu saptanmıştır (83). Biz de çalışmamızda düşük B hücre içeriğinin artmış nüks riski ile anlamlı ilişki gösterdiğini saptadık. Fakat bu konuda destekleyici kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın çalışmasında hem progresyonsuz sağkalım hem de genel sağkalımın düşük B hücre içeriği saptanan hastalarda anlamlı bir şekilde daha düşük olarak değerlendirilmiştir (83). Yine Johanna Grund ve ark.'ı WSI ile değerlendirilmiş KHL tanılı hasta grubunda yüksek B hücre içeriğinin hem yüksek progresyonsuz sağkalım hem de yüksek genel sağkalımla ilişkili olduğunu saptamıştır (116). Panico L ve ark.'nın çalışmasında B hücreleri ile sağkalım arasında OS ile belirgin, PFS ile sınırda anlamlı ilişkili saptanmış olup çok değişkenli

analizde artmış CD20+ B hücrelerinin hem artmış PFS hem de artmış OS için bağımsız prognostik faktör olduğu gözlenmiştir (113). Bunlar dışında gen ekspresyon profillemesi veya immünohistokimya analizinin kullanıldığı birçok çalışmada da mikroçevredeki B hücre içeriği iyi prognoz ve sağkalım ile ilişkilendirmiştir (79, 94,111,117,118). Görüldüğü gibi çok sayıda çalışmada mikroçevredeki yüksek sayıda CD20 B hücresi, iyi bir sağkalım ile ilişkilendirilmiş ve bu bulgunun B hücrelerinin büyüme sinyalleri için neoplastik hücrelerle rekabetine bağlı olabileceği düşünülmüştür (119).

WSI ile yapılan Antonio Santisteban-Espejo ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise B hücrelerinin ne OS ne de PFS için prognostik öneminin olmadığı sonucuna varılmıştır (115). Biz de çalışmamızda KHL'lı hastaların B hücre içeriğinin tek değişkenli analizde ne OS ne de PFS ile arasında anlamlı ilişki olmamakla birlikte çok değişkenli analizde CD20+ B hücrelerinin artışının OS için bağımsız prognostik faktör olduğunu saptadık.

Çalışmamız ile Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın çalışmasındaki (83) sağkalım farklılığının nedenleri örneklem büyüklüğü, hastaların aldığı tedavi modalitelerindeki ve daha da önemlisi hasta seçimindeki farklılık gibi görünmektedir. Üstte bahsi geçen çalışmada BEACOPP ile tedavi edilen tümü ileri evre olan hasta seçiminin aksine, çalışmamızda analiz edilen evreden bağımsız tüm hastalara standart birinci basamak kemoterapi olan ABVD'ye ek olarak ileri evre progrese hastalara kombine RT, KT ajanları ve diğer agresif tedavi yöntemleri (BEACOPP, ICE, OKİT vs) uygulanmıştır. Bu da hastalar arasında sağkalım açısından önemli bir heterojenite/farklılık oluşturmaktadır.

Daha önce yapılmış İHK ve diğer yöntemlerin kullanıldığı; sağkalım ve B hücre arasında anlamlı ilişki gözlenmeyen çalışmalarla olan farklılıkları Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'ı; İHK çalışmalarındaki mikroçevrenin küçük bir alanını ya da "hot spot" denebilecek kısıtlı bir alanı analiz edildiğinden gözlemciler arası farklılıklara bağlamıştır (83). Gen ekspresyon profillemesi uygulanan çalışmalarda ise farklı teknolojilerin kullanılmasının birçok çalışmada farklı prognostik ekspresyon paternlerine yol açtığı gözlemlendiği belirtilmiştir (94,117,120). Bunların aksine WSI'nin tüm lenf nodunu (veya dokuyu) analiz ederek hastanın

immün sistemi hakkında daha gerçekçi bir sonuç verdiği düşünülmektedir. Çalışmamız da WSI ile yapılmış olup Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın görüşünü destekler niteliktedir ve çok değişkenli analizde OS ile artmış CD20 B hücreleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Çalışmamız dahil mevcut çalışmalardaki bulgular gözlemseldir. Bu nedenle B hücresine bağlı intratümöral immün sistemde hangi mekanizmaların rol oynadığını net olarak yanıtlayamazlar. Bununla birlikte B hücrelerinin TMÇ'deki kesin prognostik önemini, zengin B hücresi infiltrat rolünün tam olarak açıklığa kavuşturmak ve geliştirilecek ek terapötik hedeflerin belirlenmesi için ismi geçen yöntemlerin kombinasyonlarının ve geniş B hücre panellerinin kullanıldığı daha büyük homojen hasta kohortu içeren gelecekteki çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

5.2 PLAZMA HÜCRELERİ

KHL'nin TMÇ'sinde plazma hücrelerinin rolü ile ilgili çalışmalar ve literatürdeki veriler sınırlı sayıdadır. TMÇ'sindeki plazma hücrelerinin klinik önemi tümör tiplerine göre farklılık göstermektedir. Örneğin; CD138 ile tespit edilen plazma hücrelerinin prognoz üzerine pozitif (kolorektal, özofagus ve mide kanserlerinde ve melanomda) veya negatif (meme kanseri, over kanseri ve melanom) etkisi olduğu bildirilen çalışmalar hala tartışmalıdır.

KHL'nin TMÇ'sinde plazma hücrelerinin rolü ile ilgili veriler az olsa da çalışmalara ilgi giderek artmaktadır. Bu konuda yapılan az sayıda çalışmalardan biri olan Gholiha ve ark.'nın 2019'da, plazma hücrelerinin KHL'nin sağkalım ve klinik parametrelerindeki rolünü araştırdığı tek tip tedavi almış 120 hastadan oluşan bir çalışmada CD138+ PH lerini hem dijital analiz hem de manuel skrolama ile değerlendirilmiş ve yüksek plazma hücresi infiltrasyonunun ileri evre ile ilişkili olduğu saptanmıştır (121). Yine Thompson ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, KHL hastalarında serumda serbest immünoglobulin hafif zincir artışı ileri evre ile ilişkilendirilmiştir (108). Çalışmamızda ise plazma hücre içeriği ile evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Çalışma ile bulgularımızın farklılığı plazma hücre skrolama ve yöntem farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Uluslararası Prognostik Skor (IPS) kriterlerinden biri lenfopenidir. Tam kan sayımında plazma hücreleri de lenfositlere dahildir. Thompson ve ark.'nın çalışmasında, KHL hastalarında yüksek düzeyde serum serbest immünoglobulin kappa ve lambda hafif zincirleri yüksek IPS ile ilişkilendirilmiştir (108). Böylece dolaylı olarak plazma hücre yoğunluğu ve IPS ilişkisi incelenmiştir. Çalışmamızda Plazma hücre içeriği ile IPS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bu farklılık olgularımızın bazılarının 2014 yılı dahil eski yıllara ait olması ve bu nedenle İHK sal ekspresyon düşüklüğünün aynı dönem tam kan sayımı ile korele olamamasından kaynaklanıyor olabileceğini düşündük.

Literatürde plazma hücreleri ve LDH ile ilişkisine yönelik çalışma saptanmamıştır. Çalışmamızda plazma hücre artışı ile LDH düzeyi arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulamadık.

Thompson ve ark.'nın çalışmasında, KHL hastalarında yüksek düzeyde serum serbest immünoglobulin hafif zincirleri düşük hemoglobin düzeyi ile ilişkilendirilmiştir (108). Biz de çalışmamızda yüksek PH içeriğinin düşük Hg düzeyi (anemi) ile anlamlı ilişki gösterdiğini saptadık. Her iki çalışmanın yöntemleri farklı olmasına rağmen benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Daha önce KHL dışı çeşitli malignitelerde yapılmış birçok çalışmada, tümör mikroçevresindeki yüksek sayıda plazma hücresinin daha kötü prognozla ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (104-106, 122-124). Örneğin Shalapour, S. ve ark.'nın çalışmasında dirençli prostat kanserinde (125), Affara N.I. ve ark.'nın çalışmasında skuamöz hücreli karsinomda plazma hücre artışının kötü prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır ve bunun; tümör gelişimi sırasında PH'ler tarafından otoantikor üretiminin neoplastik doku içinde immün komplekslerin birikmesine yol açtığı, bunların daha sonra, FcγR'yi aktive ederek, anjiyogenik, doku yeniden düzenlenimi ve pro-survival yollar dahil olmak üzere çeşitli protümöral yolları tetiklediğini savunmuşlardır (126).

Bunların aksine Kotlan B. ve ark.'ının çalışmasında medüller meme kanserinde plazma hücrelerinin tümörün prognozu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceği gösterilmiş (127). Biz çalışmamızda yüksek PH içeriğinin artmış nüks riski ile

anlamli iliski gosterdigiini saptadik. Calismamizdaki CD138 yogunlugunun prognostik bulgularla (nüks riski ve anemi) anlamli iliskisi literatürle uyumludur (104-106, 122-124,126).

Plazma hücrelerinin KHL'da sagkalımla iliskisi son yıllarda daha çok arastırılmakta olup; Gholiha ve ark.'nın calismasında CD138 yüksek plazma hücresi infiltrasyonunun daha düşük progresyonsuz sagkalım ve düşük genel sagkalım ile iliskili olduğu saptanmıştır (121). Yine Thompson ve ark.'nın yaptığı calismada, KHL hastalarının %30'unda periferik kanında bulunan yüksek düzeyde serum serbest immünoglobulin kappa ve lambda hafif zincirleri düşük PFS ve OS ile iliskilendirilmiştir. HRS hücrelerinin immünoglobulinleri salgılayamadığı düşünöldüğünden, bu hafif zincirlerin TMÇ'nin plazma hücreleri tarafından üretildiğı varsayılmıştır (108).

Fakat Tudor ve arkadaşları tarafından yapılan 102 hastalık bir klinikopatolojik calismada, farklı B-hücresi belirteçleri kullanılmış olup yüksek sayıda CD138 plazma hücresinin sagkalımı etkilemediğı saptanmıştır (111). Benzer şekilde Chetaille ve ark.'ı da yaptıkları calismada KHL'da plazma hücresi ile sagkalım arasında anlamli iliski saptamamıştır (117). Biz de calismamızda KHL'lı hastaların plazma hücre içeriğinin ne OS ne de PFS ile arasında anlamli iliskili saptamadık. Bizim calismamızla farklı yöntem ve skorum sistemleri kullanılmış olsa da sagkalımla ilgili benzer sonuçlar elde edilmiştir. Gholiha ve ark.'nın calışmanın, calismamızın aksine güçlü yanı tek tip protokole göre tedavi edilen hasta kohortu içermesi bakımından daha homojen olmasıdır. Bu calismada ayrıca CD138 plazma hücreleri artmış eozinofil infiltrasyonu ve B semptomlarının varlığı ile de iliskili bulunmuştur (121). B semptomları, plazma hücresi farklılaşmasında rol oynayan interlökin-6' ya bağlanmış (108) olup, serum IL-6 seviyesinin hem OS hem de hastalıksız sagkalımla iliskili olduğu ayrıca tek değişkenli ve çok değişkenli analizlerde bağımsız prognostik faktör olduğı gözlenen calışma da mevcuttur (128).Bu calışmalar PH'nin prognozu olumsuz yönde etkileyebileceğini gösterse de, neoplastik hücrelerin sagkalmasını nasıl kolaylaştırdıkları hala bilinmemektedir.

Özetle; literatürde plazma hücrelerinin makrofajlar, B lenfosit, eozinofiller ve T düzenleyici hücreleri gibi KHL mikroçevresinde bulunduğı, ayrıca yüksek sayıda

plazma hücrelerinin B semptomları ile ilişkili olduğu ve prognoz üzerinde şimdilik az da olsa bir etkiye sahip olduğu belirtilmektedir. Bunun doğrudan KHL tedavisinde yönlendirici olmadığı düşünülse de yeni veriler elde edilene kadar bu konuda yorumdan kaçınılmaktadır. Ayrıca mikroçevre portresinin daha eksiksiz ve net anlaşılması için plazma hücrelerinin etkisinin aydınlatılması gerektiği düşünülmektedir (110).

Sonuç olarak, çalışmamızdaki CD138+ plazma hücreleri sağkalım ile doğrudan ilişkili olmamakla birlikte sağkalımı etkileyen nüks ve düşük hemoglobin düzeyi ile ilişkili olması plazma hücre artışının kötü prognozla ilişkili olduğu yönünde yorumlanabilir.

5.3 MAKROFAJLAR

Makrofajlar genellikle hem solid tümörlerde hem de hematolojik kanserlerde malign lezyonlara infiltredir. Tümörü infiltre eden makrofajların en az iki farklı alt tipinin varlığı hipotezi ortaya atılmıştır (129,130). Bu iki alt tipin farklı fenotipik ve immünolojik işlevler (pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar) uyguladıkları öne sürülmüştür (131). Pro-inflamatuar işlevler, tipik olarak interferon- γ veya bakteriyel ürünler tarafından indüklenen ve tip 1 hücresel bağışıklık tepkisinin aktivasyonu yoluyla antijen sunumu yapabilen klasik (M1) makrofajlara atfedilirken alternatif olarak aktive edilen (M2) makrofajların zayıf antijen sunma kapasitesine, immünosüpresif, anjiyogenezi arttırıcı ve muhtemelen tümör destekleyici aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (132).

Ancak, M1/M2 modelinin çok daha karmaşık bir makrofaj biyolojisini aşırı basitleştirdiği ileri sürülmektedir. Makrofajların, mutajenik ve büyümeyi artıran bir inflammatuar ortam sağlayarak kanser gelişimini teşvik ettiğine ve anjiyogenezi, tümör hücresi göçünü uyararak ve antitümör bağışıklığını baskılayarak tümör ilerlemesini desteklediğine dair artan deneysel kanıtlar bulunmaktadır (133).

Tan KL. ve ark'nın yaptığı çok merkezli faz 3 randomize kontrollü klinik bir çalışmada CD68 ve CD163 ekspresyonu ile hastalığın evresi arasında anlamlı ilişki

saptanmamıştır (134). Aynı şekilde Kayal S. ve ark.'nın yaptığı CD68'in semikantitatif olarak skorlandığı çalışmasına göre CD68 makrofaj hücre yoğunluğu ile evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (135). Yine Azambuja D. ve ark.'nın yaptığı standart ABVD kemoterapi rejimiyle tedavi edilen 265 KHL hastasından oluşan bir kohortta, skorlanan CD68 ve CD163 makrofaj sayısı ile klinik sonuçlar arasındaki ilişkinin doku mikrodizi analiz yöntemi kullanılarak incelenen bir çalışmada yüksek CD68 ve CD163 ekspresyonun düzeyleri ile ileri evre arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (136).

Bunların aksine Panico L ve ark.'nın çalışmasında düşük CD68 makrofaj hücre içeriği ile düşük evre arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (113). Yine Kamper ve arkadaşlarının, CD68 ve CD163 IHK'yı değerlendirmede bilgisayar destekli analiz sayım yöntemini kullanarak yaptığı çalışmada hem CD68 hem de CD163'ün artmış ekspresyonunun KHL'da ileri evre ile ilişkili olduğu saptanmıştır (95). Biz de çalışmamızda hem CD68(p=0,005) hem de CD163(p=0,023) yüksek makrofaj içeriği ile ileri evre arasında anlamlı ilişki saptadık ve CD68'in bu konuda CD163'e nispeten daha üstün olduğunu gözlemledik.

Çalışmalar arasındaki sonuç farklılıklarının esasen kullanılan yöntemlerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çünkü hem bizim çalışmamız hem de Kamper ve ark.'nın çalışması daha objektif dijital görüntüleme- yapay zeka destekli çalışmalar olup ikisinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Oysa anlamlı sonuç izlenmeyen çalışmalarda manuel skorelama sistemleri kullanılmıştır.

Uluslararası Prognostik Skor (IPS) makrofaj sayısına yönelik herhangi bir kriter içermemekte olup, buna yönelik hem Steidl ve ark.'nın (94) hem de Kayal S. ve ark.'nın (135) çalışmalarına göre CD68 makrofaj hücre yoğunluğu ile IPS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Benzer şekilde Tan KL. ve ark.'nın yaptığı çalışmada CD68 ve CD163 ekspresyonu ile hastanın IPS değeri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (134). Azambuja D. ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise artmış CD68 düzeyi yüksek IPS ile anlamlı ilişki gösterirken, CD163 ekspresyon düzeyi ile IPS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (136). Fakat bunun tam aksine; Kamper ve ark.'nın yaptığı çalışmada CD68 ile IPS arasında ilişki gözlenmezken, artmış CD163 ile IPS yüksekliği arasında anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır (95).

Çalışmamızda yüksek makrofaj hücre içeriği hem CD68(p=0,01) hem de CD163(p=0,005) ile yüksek IPS(>2) arasında anlamlı ilişki saptanmış olup CD163'ün bu konuda CD68'e nispeten daha üstün olduğu gözlemledik.

Panico ve ark.'ı yaptığı çalışmada CD68 TAM artışının, düşük LDH seviyesi ile anlamlı biçimde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (113). Biz de çalışmamızda yüksek makrofaj hücre içeriği hem CD68(p=0,005) hem de CD163(p=0,011) ile düşük LDH düzeyi arasında anlamlı ilişki saptamış olup CD68'in bu konuda CD163'e üstün olduğu gözlemledik.

IPS skorlaması içerisindeki parametrelerden biri olduğundan ayrıca hemoglobin ile makrofaj düzeyleri arasındaki ilişki çok fazla çalışmada araştırma konusu olmasa da Tan KL. ve ark.'nın yaptığı klinik bir çalışmada artmış CD68 ve CD163 ekspresyonu ile hemoglobin (Hg<10,5) düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (134). Yine Azambuja D. ve ark.'nın yaptığı çalışmada da CD68 ve CD163 ekspresyonun düzeyleri ile hemoglobin düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (136). Biz de çalışmamızda makrofaj hücre içeriği ile hemoglobin düzeyi arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptamadık. Çalışmamız ile diğer çalışmaların yöntemleri farklı olsa da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın çalışmasında CD68 makrofaj hücre içeriği ile nüks riski veya tedavi başarısızlığı arasında anlamlı ilişkili saptanmamıştır (83). Bunun aksine Steidl ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre artmış sayıda CD68 tümör infiltrate eden makrofajların sayısının artmış nüks olasılığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (94). Çalışmamızda yüksek makrofaj hücre içeriği hem CD68(p=0,011) hem de CD163(p=0,002) ile artmış nüks oranı arasında anlamlı ilişki saptanmış olup CD163'ün bu konuda CD68'e daha üstün olduğunu gözlemledik.

Son yıllarda KHL hastalarında tümör ilişkili makrofajların prognostik ve sağkalım üzerine etkilerini araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bunlardan biri Steidl ve arkadaşlarının ilk olarak daha önce gen ekspresyon profillemesi sonuçlarıyla kanıtlanan immünohistokimya yönteminin kullanıldığı çalışmadır.

Bu çalışmaya göre artmış sayıda CD68+ makrofajın daha kısa progresyonsuz sağkalım (PFS) ve hem tek değişkenli hem de çok değişkenli analizde hastalığa özgü sağkalımla (DSS) ilişkili olduğu saptanmıştır (94). Greaves P. ve ark.'nın yaptığı 122 KHL tanılı hastanın İHK lamlarının otomatik bir sistem kullanılarak 10 ila 20 BBA ile bakılan çalışmasında düşük CD68 yoğunluğunun daha yüksek OS ve PFS ile ilişkili olduğu saptanmıştır (118). Yine Panico L ve ark.'nın TAM ve B hücrelerin KHL daki prognostik etkilerini araştırdığı çalışmasında TAM'lar ile sağkalım arasında OS ile belirgin, PFS ile sınırda anlamlı ilişkili saptanmış olup tek değişkenli analizde artmış TAM'ların kötü prognostik verilerle ilişkili olduğu gözlenmiştir (113).

M1(CD68) ve M2(CD163) makrofajlarının prognostik değerinin ve birbirine üstünlüklerinin araştırıldığı Tan KL. ve ark.'nın çalışmasında CD68 ve CD163 İHK sonuçları bilgisayar görüntü analizi ile analiz edilmiş olup doğrulama kohortunda lokal yaygın ve ileri evre KHL'da artan CD68 ve CD163 ekspresyonunun anlamlı olarak düşük FFS (failure-free survival) ve OS ile ilişkili olduğu saptanmıştır (134). Yine Kamper ve ark.'nın çalışmasında artmış CD68 ve CD163 ekspresyonunun tek değişkenli analizde yüksek CD68 ve CD163 ekspresyon düzeylerinin sağkalım üzerine istatistiksel düzeyde anlamlı etki ettiği saptanmıştır. Ancak çok değişkenli analizde CD68'in genel sağkalım üzerinde önemli bir etkiye sahipken, CD163'ün sağkalım üzerinde etkili olmadığı gösterilmiştir (95). Zawati I. ve ark.'ı yaptığı bir çalışmada ne kombine FOXP3+ ve CD68+ ne de FOXP3 veya CD68'in ayrı ayrı KHL'da OS ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olmadığını ancak yüksek FOXP3+/CD68+ oranının daha uzun OS ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada da düşük CD68 oranının daha yüksek sağkalımla ilişkili olduğu gözlenmektedir (137).

Bu çalışmaların aksine Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın çalışmasında KHL'de makrofaj içeriği ile genel sağkalım (OS) arasında anlamlı bir korelasyon gözlemlenmemiştir (83). Benzer şekilde Kayal S. ve ark.'nın çalışmasına göre CD68 makrofaj hücre yoğunluğu ile OS veya PFS arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (135). Sanchez-Espiridion ve ark.'nın çok merkezli iki farklı hasta serisinde dört farklı makrofaj belirteci olan CD68, CD163, LYZ ve STAT1 İHK'larını kullanarak

doku mikrodizilerinin incelendiği çalışmasında her iki vaka serisinde de CD68, CD163, LYZ veya STAT1 ile hastalıksız sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış olup vaka serilerinin yalnızca birinde kesme değerinden bağımsız olarak, daha yüksek CD68 seviyeleri ile daha kısa hastalığa özgü sağkalım (DSS) arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (138). Azambuja D. ve ark.'nın çalışmasında yüksek CD68 ve CD163 ekspresyon düzeyleri ile hastalığa özgü sağkalım (DSS) veya progresyonsuz (PFS) sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (136). Sonuçlar arasındaki farklılıklar kullanılan klonlar (CD68 için KP1 ve/veya PGM1), skorlama ve kesme değerlerindeki farklılıklar, hasta serilerinin sayısı ve uygulanan tedavi modalitelerindeki farklılıklar ile açıklanabilir.

Ron Daniel Jachimowicz ve ark.'nın (83) çalışmasında ise bu sonuç farklılıkları; çeşitli yollarla açıklanmıştır. Birincisi, makrofaj sayılarını değerlendirmek için kullanılan yöntem-teknolojinin farklı olduğu vurgulanmıştır. Birden fazla genin mRNA ekspresyon seviyesini kullanan gen ekspresyon analizinin makrofajları WSI'den farklı bir şekilde değerlendirdiğinin göz ardı edilmemesi gerektiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, geleneksel İHK görüntü analizini veya küçük büyütme alanlarının görsel incelemesini karşılaştırarak, WSI'nin makrofaj içeriğini daha doğru bir şekilde ölçtüğü düşünülmüştür. İkincisinin ise çalışmalardaki vaka serilerinin kompozisyonundaki farklılıklar ve TAM belirteçlerinin ekspresyonu için farklı kesme noktalarının kullanılması olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda KHL'lı hastaların hem CD68+ hem de CD163+ ile gösterilen yüksek makrofaj hücre içeriğinin OS ve PFS ile arasında anlamlı ilişkili saptanmış olup bu tür immünohistokimyasal belirteçlerin bilinen klinik risk faktörleriyle birlikte kullanılmasının sağkalım öngörü değerini iyileştirebileceğini düşünmekteyiz. Çünkü Uluslararası Prognostik Puanlamanın (IPS) uygulanabilirliği ileri evre hastalıkla sınırlıdır. Bu nedenle CD68+/CD163+ makrofaj içeriği, Klasik Hodgkin lenfomanın tüm evrelerinde, hem tanı anında hem de relaps anında klinik uygulanabilirliği olabilecek bir biyobelirteçtir (94).

Görüldüğü gibi kuvvetle anlamlı sonuç veren çalışmaların aksine anlamsız sonuçlanan çalışmalar da mevcuttur. Gözlemlenen tutarsızlıkları potansiyel olarak açıklayabilecek nedenler çoktur ve bunlar arasında hücre popülasyonlarını

tanımlamak için kullanılan teknikler (immünohistokimya, akım sitometrisi veya immünohistokimya ile dijital görüntü analizinin kombinasyonu) ve klonlar(CD68 için KP1 ve PGM1), çalışmalara dahil edilen hastaların kemoterapi rejimlerine göre homojenliğinin olmaması (ABVD, BEACOPP veya diğerleri) ve son olarak sağkalım analizini gerçekleştirmek için seçilen klinik son noktalar ve kullanılan farklı istatistiksel yöntemlerin etkisi yer almaktadır.

Bu nedenlerden biri olan klon farklılığının etkisi şu şekilde açıklanabilir; KP1 antikörünün, PGM1 gibi daha spesifik bir klonun aksine, TAM'a ek olarak miyeloid ve fibroblastik alt popülasyonlarla da reaksiyona girdiği bilinmektedir (139).

Yöntem açısından, çalışmamızda tüm slayt görüntü analizi (WSI) sistemini kullanarak immünohistokimyasal boyaların değerlerini sayısallaştırdık. Bu yöntemin rutin bir tanı aracı olarak yer bulabileceğini düşünmekteyiz. Çünkü mevcut multimodal kemoterapiye rağmen hala dirençli veya nüks olan hastalar (%10-30) bulunmaktadır (140).Bu, KHL'da TMÇ'nin önemi ve prognoz üzerindeki kritik rolünü incelerken sayısal, tekrarlanabilir ve kesin ölçeklenebilir yaklaşımların benimsenmesi ve uygulanması ihtiyacını doğurmaktadır. Bu bağlamda, tüm slayt görüntüleme (WSI) ve dijital görüntü analiz araçları, KHL hastaları için TMÇ tabanlı bir risk belirleme modeli geliştirme fırsatı sunmaktadır. Bununla, KHL araştırmalarında önemli bir ihtiyaç olan objektif değerlendirme yönteminin sağlanabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca dijital görüntü analizinin(WSI) NGS verileriyle birleştirilmesi, hem KHL'nın moleküler patogenezi hem de histopatolojik ve genomik özelliklerin tedaviye yanıtla korelasyonunu daha iyi anlamaya katkıda bulunabilir.

Özetle, çalışmamız tanısal biyopsi (çoğunlukla lenf nodu) örneklerinde CD68+/CD163+ makrofajların sayılmasının prognostik sonucun öngörülmesi açısından değerli olduğunu göstermiştir. Bundan önce yapılan çalışmaların çoğunda KHL'nın neoplastik olmayan mikroçevresinde CD68 ve CD163 ekspresyonunun kantifikasyonu ile gösterilen tümör infiltre eden makrofajların sayısının bu lenfomada önemli bir prognostik faktör olduğu belirtilmiştir ve WHO 5. Edisyonda

buna birkaç cümle ile değinilmiştir (1). CD68 ile CD163'ün birbirine çeşitli üstünlükleri olduğunu gözlemleyen çeşitli çalışmaların aksine biz CD163 veya CD68'in prognostik açıdan birbirine belirgin bir üstünlüğünü gözlemlemedik. CD163'ün üstün olduğu alanlar olduğu gibi CD68'in de CD163'e üstün olduğu alanlar mevcuttu. KHL'da, diğer lenfoma alt tiplerinde olduğu gibi, mikroçevrenin hastalığın gelişiminde ve prognozunda önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu çalışmaların, KHL patogenezinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunabileceği ve sağkalım-prognoz tahmini ve yeni terapötik hedefler için yeni biyobelirteçlerin keşfedilmesine yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz.

Eksikliklerimiz;

İlk olarak, hücre popülasyonlarını tanımlamak için tek kromojenik immünobelirteçler kullandık. Bu yaklaşım, tanımlanabilen hücresel alt tiplerin değerlendirilmesini sınırlandırmaktadır.

İkinci olarak, farklı kemoterapi şemaları (ABVD, BEACOPP vb.) ile tedavi edilen KHL hastalarının dahil edilmesi nedeniyle sonuçların herhangi bir tedaviye genellenebilirliği sınırlıdır.

Üçüncüsü; Çalışmamızda yapılan görüntü analiz yöntemi sonuçları herhangi bir doğrulama kohortu ile kıyaslanıp desteklenmedi.

6-SONUÇLAR

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kartal Dr.Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda yaptığımız çalışmada, 2014-2022 yılları arasında Klasik Hodgkin Lenfoma tanısı almış olgularda CD20, CD68, CD163 ve CD138 ekspresyonu ile olguların yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri ile histolojik alt tip, Ann arbor evresi, IPS skoru, LDH düzeyi gibi klinikopatolojik parametreler ve sağ kalım arasındaki ilişki araştırılmış olup şu sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Mikroçevredeki lenfositlerde daha yüksek CD20 pozitifliği olan hastalar, negatif olanlardan daha düşük IPS'na, düşük evreye, düşük LDH düzeyine, düşük nüks oranına, normal sınırlarda Hg düzeyine, azalmış CD163 düzeyine sahip olup CD20 düzeyi ile bu değerler arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.
2. CD20 ekspresyon düzeyi ile tedavi yanıtı, histolojik alt tip, CD68 düzeyi, CD138 düzeyi, medyan genel sağkalım(OS) ve progresyonsuz sağkalım(PFS) arasında anlamlı ilişki izlenmemiştir.
3. Çok değişkenli analizde CD20 ekspresyon düzeyi OS için bağımsız prognostik faktörlerdendir.
4. Yüksek CD138 pozitif plazma hücresi bulunan hastalar, düşük bulunan hastalardan daha yüksek nüks oranına ve Hg düşüklüğüne(anemi) sahip olduğu saptanmıştır.
5. CD138+ plazma hücre yoğunluğu ile sağkalım, yaş, cinsiyet, histolojik tip, IPS, tedavi yanıtı, evre, LDH arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

6. Hem CD68 hem de CD163 makrofaj hücreleri ile medyan genel sağkalım(OS) ve progresyonsuz sağkalım(PFS) arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.
7. Hem CD68 hem de CD163 makrofaj içeriği, nüks riski, ileri evre, IPS ve LDH düzeyi ile ilişki iken yaş, cinsiyet, histolojik tip ve Hg düzeyi ile aralarında istatistiksel anlamlı ilişkili saptanmamıştır.
8. CD163 ile tedavi yanıtı arasında anlamlı ilişkili izlenmezken, CD68 ile tedavi yanıtı arasında sınırda anlamlı ilişki saptanmıştır.
9. Tek değişkenli analizde CD68 ve CD163 ekspresyon düzeyinin sağ kalım üzerine istatistiksel anlamlı düzeyde etki ettiği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Hematolymphoid tumors [Internet; beta version ahead of print (in progress)]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022. [cited 2022 Aug 29]. (WHO classification of tumors series, 5th ed.). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int>.
2. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994;84(5):1361–92. [PubMed] [Google Scholar]
3. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 3th edition ed. Lyon: IARC Press; 2001. [Google Scholar]
4. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition ed. Lyon: IARC; 2008. [Google Scholar]
5. Thomas A Ollila, John L Reagan, Adam J Olszewski et al. Clinical features and survival of patients with T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma: analysis of the National Cancer Data Base. *Leuk Lymphoma*. 2019 Dec;60(14):3426-3433.
6. Silvia Montoto 1, Kate Shaw, Jessica Okosun et al. HIV status does not influence outcome in patients with classical Hodgkin lymphoma treated with chemotherapy using doxorubicin, bleomycin, vinblastine, and dacarbazine in the highly active antiretroviral therapy era. *J Clin Oncol*. 2012 Nov 20;30(33):4111-6.
7. Adam J Olszewski 1, Jorge J Castillo et al. Outcomes of HIV-associated Hodgkin lymphoma in the era of antiretroviral therapy. *Observational Study AIDS*. 2016 Mar 13;30(5):787-96.
8. J Ferlay, M Colombet, I Soerjomataram, C Mathers, D M Parkin, M Piñeros, A Znaor, F Bray et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*. 2019 Apr 15;144(8):1941-1953.
9. A M Evens, M Antillón, B Aschebrook-Kilfoy, B C-H Chiu et al. Racial disparities in Hodgkin's lymphoma: a comprehensive population-based analysis. *Ann Oncol*. 2012 Aug;23(8):2128-2137.
10. Henrik Hjalgrim 1, Johan Askling, Klaus Rostgaard, Stephen Hamilton-Dutoit, Morten Frisch, Jin-Song Zhang, Mette Madsen, Nils Rosdahl, Helle Bossen Konradsen, Hans H Storm, Mads Melbye et al. Characteristics of Hodgkin's lymphoma after infectious mononucleosis. *N Engl J Med*. 2003 Oct 2;349(14):1324-32.
11. A Diepstra 1, M Niens, E Vellenga, G W van Imhoff, I M Nolte, M Schaapveld, G van der Steege, A van den Berg, R E Kibbelaar, G J te Meerman, S Poppema. Association with HLA class I in Epstein-Barr-virus-positive and with HLA class III in Epstein-Barr-virus-negative Hodgkin's lymphoma. *Lancet*. 2005;365(9478):2216-24.
12. Kevin Y Urayama 1, Ruth F Jarrett, Henrik Hjalgrim et al. Genome-wide association study of classical Hodgkin lymphoma and Epstein-Barr virus status-defined subgroups. *J Natl Cancer Inst*. 2012 Feb 8;104(3):240-53.
13. Matthew Frampton 1, Miguel Inacio da Silva Filho, Peter Broderick et al. Variation at 3p24.1 and 6q23.3 influences the risk of Hodgkin's lymphoma. *Nat Commun* . 2013;4:2549.
14. Elham Kharazmi, Mahdi Fallah et al. Risk of familial classical Hodgkin lymphoma by relationship, histology, age, and sex: a joint study from five Nordic countries. *Blood*. 2015 Oct 22;126(17):1990-5.

15. Benjamin Rengstl, Sebastian Newrzela et al. Incomplete cytokinesis and re-fusion of small mononucleated Hodgkin cells lead to giant multinucleated Reed-Sternberg cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013 Dec 17;110(51):20729-34.
16. H Kanzler 1, R Küppers, M L Hansmann et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease represent the outgrowth of a dominant tumor clone derived from (crippled) germinal center B cells. *J Exp Med*. 1996 Oct 1;184(4):1495-505.
17. Ines Schwering, Andreas Bräuninger et al. Loss of the B-lineage-specific gene expression program in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2003 Feb 15;101(4):1505-12.
18. K Weber-Matthiesen 1, J Deerberg, M Poetsch et al. Numerical chromosome aberrations are present within the CD30+ Hodgkin and Reed-Sternberg cells in 100% of analyzed cases of Hodgkin's disease. *Blood*. 1995 Aug 15;86(4):1464-8.
19. Marc A Weniger, Ralf Küppers. Molecular biology of Hodgkin lymphoma. *Leukemia*. 2021 Apr;35(4):968-981.
20. Yuxuan Liu 1, Ahmad Sattarzadeh et al. The microenvironment in classical Hodgkin lymphoma: an actively shaped and essential tumor component. *Semin Cancer Biol*. 2014 Feb;24: 15-22.
21. Wienand, K.; Chapuy, B.; Stewart, C.; Dunford, A.J.; Wu, D.; Kim, J.; Kamburov, A.; Wood, T.R.; Cader, F.Z.; Ducar, M.D.; et al. Genomic analyses of flow-sorted Hodgkin Reed-Sternberg cells reveal complementary mechanisms of immune evasion. *Blood Adv*. 2019, 3, 4065–4080.
22. Xie, M.; Huang, X.; Ye, X.; Qian, W. Prognostic and clinicopathological significance of PD-1/PD-L1 expression in the tumor microenvironment and neoplastic cells for lymphoma. *Int. Immunopharmacol*. 2019, 77, 105999.
23. G Kapatai 1, P Murray. Contribution of the Epstein Barr virus to the molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma. *J Clin Pathol* . 2007 Dec;60(12):1342-9.
24. E Kilger 1, A Kieser, M Baumann, W Hammerschmidt. Epstein-Barr virus-mediated B-cell proliferation is dependent upon latent membrane protein 1, which simulates an activated CD40 receptor. *EMBO J* . 1998 Mar 16;17(6):1700-9.
25. Christoph Mancao 1, Wolfgang Hammerschmidt. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A is a B-cell receptor mimic and essential for B-cell survival. *Blood*. 2007 Nov 15;110(10):3715-21.
26. Hao-Wei Wang 1, Jayalakshmi P Balakrishna 1, Stefania Pittaluga 1, Elaine S Jaffe 1. Diagnosis of Hodgkin lymphoma in the modern era. *Br J Haematol*. 2019 Jan;184(1):45-59.
27. Miguel A Piris 1, L Jeffrey Medeiros 2, Kung-Chao Chang 3. Hodgkin lymphoma: a review of pathological features and recent advances in pathogenesis. *Pathology*. 2020 Jan;52(1):154-165.
28. Haresh Mani 1, Elaine S Jaffe. Hodgkin lymphoma: an update on its biology with new insights into classification. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2009 Jun;9(3):206-16.

29. K A MacLennan 1, M H Bennett et al. 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.
30. R J Lukes, J J Butler. The pathology and nomenclature of Hodgkin's disease. *Cancer Res*. 1966 Jun;26(6):1063-83.
31. I Anagnostopoulos 1, M L Hansmann, K Franssila, M Harris, N L Harris et al. European Task Force on Lymphoma project on lymphocyte predominance Hodgkin disease: histologic and immunohistologic analysis of submitted cases reveals 2 types of Hodgkin disease with a nodular growth pattern and abundant lymphocytes. *Blood*. 2000 Sep 1;96(5):1889-99.
32. Franziska C Eberle 1, Haresh Mani, Elaine S Jaffe. Histopathology of Hodgkin's lymphoma. *Cancer J*. 2009 Mar-Apr;15(2):129-37.
33. Graham W Slack 1, Judith A Ferry, Robert P Hasserjian, Aliyah R Sohani, Janina A Longtine, Nancy L Harris, Lawrence R Zukerberg. Lymphocyte depleted Hodgkin lymphoma: an evaluation with immunophenotyping and genetic analysis. *Leuk Lymphoma*. 2009 Jun;50(6):937-43.
34. R Schwarting 1, J Gerdes, H Dürkop, B Falini, S Pileri, H Stein. BER-H2: a new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formol-resistant epitope. *Blood*. 1989 Oct;74(5):1678-89.
35. H Stein, J Gerdes, H Kirchner, M Schaadt, V Diehl. Hodgkin and sternberg-reed cell antigen(s) detected by an antiserum to a cell line (L428) derived from Hodgkin's disease. *Int J Cancer*. 1981 Oct 15;28(4):425-9.
36. S M Hsu, E S Jaffe. Leu M1 and peanut agglutinin stain the neoplastic cells of Hodgkin's disease. *Am J Clin Pathol*. 1984 Jul;82(1):29-32.
37. H Stein, B Uchńska-Ziegler, J Gerdes, A Ziegler, P Wernet. Hodgkin and Sternberg-Reed cells contain antigens specific to late cells of granulopoiesis. *Int J Cancer*. 1982 Mar 15;29(3):283-90.
38. S M Chittal 1, P Caverivière, R Schwarting, J Gerdes, T Al Saati, F Rigal-Huguet, H Stein, G Delsol. Monoclonal antibodies in the diagnosis of Hodgkin's disease. The search for a rational panel. *Am J Surg Pathol*. 1988 Jan;12(1):9-21.
39. B Falini 1, L Flenghi, S Pileri, M Gambacorta, B Bigerna, H Durkop, F Eitelbach, J Thiele, R Pacini, A Cavaliere, et al. PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. *Am J Pathol*. 1993 May;142(5):1359-72.
40. C Schmid 1, L Pan, T Diss, P G Isaacson. Expression of B-cell antigens by Hodgkin's and Reed-Sternberg cells. *Am J Pathol*. 1991 Oct;139(4):701-7.
41. L R Zukerberg 1, A B Collins, J A Ferry, N L Harris. Coexpression of CD15 and CD20 by Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. *Am J Pathol*. 1991 Sep;139(3):475-83.
42. Syong H Nam-Cha 1, Santiago Montes-Moreno, Maria T Salcedo, Josefina Sanjuan, Juan F Garcia, Miguel A Piris. Lymphocyte-rich classical Hodgkin's lymphoma: distinctive tumor and microenvironment markers. *Mod Pathol*. 2009 Aug;22(8):1006-15.

43. Christoph Loddenkemper 1, Ioannis Anagnostopoulos, Michael Hummel, Korinna Jöhrens-Leder, Hans-Dieter Foss, Franziska Jundt, Thomas Wirth, Bernd Dörken, Harald Stein. Differential Emu enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non-Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. *J Pathol.*2004 an;202(1):60-9.
44. E Torlakovic 1, A Tierens, H D Dang, J Delabie. The transcription factor PU.1, necessary for B-cell development is expressed in lymphocyte predominance, but not classical Hodgkin's disease. *Am J Pathol.* 2001 Nov;159(5):1807-14.
45. Maike Buettner 1, Axel Greiner, Athanasia Avramidou, Hans-Martin Jäck, Gerald Niedobitek. Evidence of abortive plasma cell differentiation in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin lymphoma. *Hematol Oncol.* 2005 Sep-Dec;23(3-4):127-32.
46. H Herbst 1, F Dallenbach, M Hummel, G Niedobitek, S Pileri, N Müller-Lantzsch, H Stein. Epstein-Barr virus latent membrane protein expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.*1991 Jun 1;88(11):4766-70.
47. H Herbst 1, G Niedobitek, M Kneba, M Hummel, T Finn, I Anagnostopoulos, M Bergholz, G Krieger, H Stein. High incidence of Epstein-Barr virus genomes in Hodgkin's disease. *Am J Pathol.* 1990 Jul;137(1):13-8.
48. V D Vacquier, D S O'Dell. Concanavalin A inhibits the dispersion of the cortical granule contents of sand dollar eggs. *Exp Cell Res.* 1975 Feb;90(2):465-8.
49. L M Weiss 1, L A Movahed, R A Warnke, J Sklar. Detection of Epstein-Barr viral genomes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *N Engl J Med.* 1989 Feb 23;320(8):502-6.
50. L Mirels 1, W D Ball. Neonatal rat submandibular gland protein SMG-A and parotidsecretory protein are alternatively regulated members of a salivary protein multigene family. *J Biol Chem.* 1992 Feb 5;267(4):2679-87.
51. Alexandar Tzankov 1, Caroline Bourgau, Alexandra Kaiser, Annette Zimpfer, Robert Maurer, Stefano A Pileri, Philip Went, Stephan Dirnhofer. Rare expression of T-cell markers in classical Hodgkin's lymphoma. *Mod Pathol.* 2005 Dec;18(12):1542-9.
52. Naoko Asano 1, Aya Oshiro, Keitaro Matsuo, Yoshitoyo Kagami, Fumihiro Ishida, Ritsuro Suzuki et al. Prognostic significance of T-cell or cytotoxic molecules phenotype in classical Hodgkin's lymphoma: a clinicopathologic study. *J Clin Oncol.* 2006 Oct 1;24(28):4626-33.
53. Girish Venkataraman 1, Joo Y Song, Alexandar Tzankov, Stephan Dirnhofer, Georg Heinze, Maria Kohl et al. Aberrant T-cell antigen expression in classical Hodgkin lymphoma is associated with decreased event-free survival and overall survival. *Blood.*2013 Mar ;121(10):1795-804.
54. F E Dallenbach 1, H Stein. Expression of T-cell-receptor beta chain in Reed-Sternberg cells. *Lancet.*1989 Oct 7;2(8667):828-30.
55. Brie Kezlarian 1, Mohammad Alhyari 2, Girish Venkataraman 3, Kristin Karner 1, Kedar V Inamdar 1, Madhu P Menon 1. GATA3 Immunohistochemical Staining in Hodgkin Lymphoma: Diagnostic Utility in Differentiating Classic Hodgkin Lymphoma From Nodular Lymphocyte Predominant Hodgkin Lymphoma and Other Mimicking Entities. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2019 Mar;27(3):180-184.

56. Mohamed E Salama 1, M Rajan Mariappan, Kedar Inamdar, Sheryl R Tripp, Sherrie L Perkins. The value of CD23 expression as an additional marker in distinguishing mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma from Hodgkin lymphoma. *Int J Surg Pathol*. 2010 Apr;18(2):121-8.
57. Ashley Volaric 1, Carlos E Bacchi 2, Alejandro A Gru 1. PD-1 and PD-L1 Immunohistochemistry as a Diagnostic Tool for Classic Hodgkin Lymphoma in Small-volume Biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2020 Oct;44(10):1353-1366.
58. Tariq N Aladily 1, Ahmad Mansour 2, Anas Alsughayer 2, Maher Sughayer 3, L Jeffrey Medeiros 4. The utility of CD83, fascin and CD23 in the differential diagnosis of primary mediastinal large B-cell lymphoma versus classic Hodgkin lymphoma. *Ann Diagn Pathol*. 2019 Jun;40:72-76.
59. Charles Van Slambrouck 1 2 3 4, Jooryung Huh 5 6, Cheolwon Suh 5 6, Joo Y Song 7, Madhu P Menon 8, Aliyah R Sohani 9 et al. Diagnostic utility of STAT6YE361 expression in classical Hodgkin lymphoma and related entities. *Mod Pathol*. 2020 May;33(5):834-845.
60. Jonathan L Klein 1, TuDung T Nguyen, Gabriel A Bien-Willner, Ling Chen, Kelley V Foyil, Nancy L Bartlett, Eric J Duncavage, Anjum Hassan, John L Frater, Friederike Kreisel. CD163 immunohistochemistry is superior to CD68 in predicting outcome in classical Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2014 Mar;141(3):381-7.
61. Abner Louissaint Jr 1, Judith A Ferry, Chad P Soupir, Robert P Hasserjian, Nancy L Harris, Lawrence R Zukerberg. Infectious mononucleosis mimicking lymphoma: distinguishing morphological and immunophenotypic features. *Mod Pathol*. 2012 Aug;25(8):1149-59.
62. Ayoma D Attygalle 1, José Cabeçadas, Philippe Gaulard, Elaine S Jaffe, Daphne de Jong, Young Hyeh Ko, Jonathan Said, Wolfram Klapper. Peripheral T-cell and NK-cell lymphomas and their mimics; taking a step forward - report on the lymphoma workshop of the XVIth meeting of the European Association for Haematopathology and the Society for Hematopathology. *Histopathology*. 2014 Jan;64(2):171-99.
63. K N Naresh, L P Menasce, P Shenjere, S S Banerjee. 'Precursors' of classical Hodgkin lymphoma in samples of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2008 Apr;141(1):124-6.
64. Jun-Ichi Tamaru 1, Michihide Tokuhira, Nozomi Nittsu, Shigeo Nakamura, Ryo Ichinohasama, Ritsuro Suzuki, Hiraki Mori et al. Hodgkin-like anaplastic large cell lymphoma (previously designated in the REAL classification) has same immunophenotypic features to classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2007 Jun;48(6):1127-38.
65. Jonathan R Fromm 1, Anju Thomas, Brent L Wood. Flow cytometry can diagnose classical hodgkin lymphoma in lymph nodes with high sensitivity and specificity. *Am J Clin Pathol*. 2009 Mar;131(3):322-32.
66. Alexander Chan 1, Jose Victor Scarpa Carniello 2, Qi Gao 1, Allison Sigler 1, Jeeyeon Baik 1, Mikhail Roshal 1, Oscar Lin 1 2. Role of Flow Cytometric Immunophenotyping for Classic Hodgkin Lymphoma in Small Biopsy and Cytology Specimens. *Arch Pathol Lab Med*. 2022 Apr 1;146(4):462-468.
67. Jonathan R Fromm 1, Steven J Kussick, Brent L Wood. Identification and purification of classical Hodgkin cells from lymph nodes by flow cytometry and flow cytometric cell sorting. *Am J Clin Pathol*. 2006 Nov;126(5):764-80.

68. S David Hudnall 1, Eve Betancourt, Erin Barnhart, Jyoti Patel. Comparative flow immunophenotypic features of the inflammatory infiltrates of Hodgkin lymphoma and lymphoid hyperplasia. *Cytometry B Clin Cytom.* 2008 Jan;74(1):1-8
69. Neil A Marshall 1, Linsey E Christie, Laura R Munro, Dominic J Culligan, Peter W Johnston, Robert N Barker, Mark A Vickers. Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2004 Mar 1;103(5):1755-62.
70. Yue Ma 1, Lydia Visser, Tjasso Blokzijl, Geert Harms, Cigdem Atayar, Sibrand Poppema, Anke van den Berg. The CD4+CD26- T-cell population in classical Hodgkin's lymphoma displays a distinctive regulatory T-cell profile. *Lab Invest.* 2008 May;88(5):482-90.
71. Margaretha G M Roemer 1, Robert A Redd 1, Fathima Zumla Cader 1, Christine J Pak 1, Sara Abdelrahman 1, Jing Ouyang 1 et al. Major Histocompatibility Complex Class II and Programmed Death Ligand 1 Expression Predict Outcome After Programmed Death 1 Blockade in Classic Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2018 Apr 1;36(10):942-950.
72. T A Lister 1, D Crowther, S B Sutcliffe, E Glatstein, G P Canellos, R C Young, S A Rosenberg, C A Coltman, M Tubiana. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol.* 1989 Nov;7(11):1630-6.
73. Bruce D Cheson, Richard I Fisher, Sally F Barrington, Franco Cavalli, Lawrence H Schwartz, Emanuele Zucca et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol.* 2014 Sep 20;32(27):3059-68.
74. C-A Voltin 1, H Goergen 2, C Baues 3, M Fuchs 2, J Mettler 1, S Kreissl 4 et al. Value of bone marrow biopsy in Hodgkin lymphoma patients staged by FDG PET: results from the German Hodgkin Study Group trials HD16, HD17, and HD18. *Ann Oncol.* 2018 Sep 1;29(9):1926-1931.
75. B Klimm 1, H Goergen, M Fuchs, B von Tresckow, B Böll, J Meissner, A Glunz, V Diehl, H T Eich, A Engert, P Borchmann. Impact of risk factors on outcomes in early-stage Hodgkin's lymphoma: an analysis of international staging definitions. *Ann Oncol.* 2013 Dec;24(12):3070-6.
76. D Hasenclever 1, V Diehl. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med.* 1998 Nov 19;339(21):1506-14.
77. Jesko Momotow 1, Sven Borchmann 1, Dennis A Eichenauer 1, Andreas Engert 1, Stephanie Sasse 2. Hodgkin Lymphoma-Review on Pathogenesis, Diagnosis, Current and Future Treatment Approaches for Adult Patients. *J Clin Med.* 2021 Mar 8;10(5):1125.
78. Elisabeth Devillard 1, François Bertucci, Pascal Trepapat, Reda Bouabdallah, Béatrice Loricod, Aurélie Giaconia et al. Gene expression profiling defines molecular subtypes of classical Hodgkin's disease. *Oncogene.* 2002 May 2;21(19):3095-102.
79. Abel Sánchez-Aguilera 1, Carlos Montalbán, Paloma de la Cueva, Lydia Sánchez-Verde, Manuel M Morente, Mónica García-Cosío et al. Tumor microenvironment and mitotic

checkpoint are key factors in the outcome of classic Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2006 Jul 15;108(2):662-8.

80. David W Scott 1, Fong Chun Chan, Fangxin Hong, Sanja Rogic, King L Tan, Barbara Meissner, et al. Gene expression-based model using formalin-fixed paraffin-embedded biopsies predicts overall survival in advanced-stage classical Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol*. 2013 Feb 20;31(6):692-700.
81. Christian Steidl 1, Tang Lee, Sohrab P Shah, Pedro Farinha, Guangming Han, Tarun Nayar, Allen Delaney et al. Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 2010 Mar 11;362(10):875-85.
82. Fong Chun Chan 1, Anja Mottok 1, Alina S Gerrie 1, Maryse Power 1, Marcel Nijland 1, Arjan Diepstra 1 et al. Prognostic Model to Predict Post-Autologous Stem-Cell Transplantation Outcomes in Classical Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017 Nov 10;35(32):3722-3733.
83. Ron Daniel Jachimowicz 1, Luise Pieper 2, Sarah Reinke 2, Artur Gontarewicz 2, Annette Plütschow 3, Heinz Haverkamp 3 et al. Whole-slide image analysis of the tumor microenvironment identifies low B-cell content as a predictor of adverse outcome in patients with advanced-stage classical Hodgkin lymphoma treated with BEACOPP. *Haematologica*. 2021 Jun 1;106(6):1684-1692.
84. Melita Cirillo 1, Sven Borchmann 1 2 5. An update on disease biomarkers for Hodgkin lymphoma. *Expert Rev Hematol*. 2020 May;13(5):481-488.
85. Clara Bertuzzi 1, Elena Sabattini 1, Claudio Agostinelli 1 2. Immune Microenvironment Features and Dynamics in Hodgkin Lymphoma. *Cancers (Basel)*. 2021 Jul 20;13(14):3634.
86. Arina Martynchyk 1, Rakin Chowdhury 2 3, Eliza A Hawkes 1 4, Colm Keane 2 3. Prognostic Markers within the Tumour Microenvironment in Classical Hodgkin Lymphoma. *Cancers (Basel)*. 2023 Oct 30;15(21):5217.
87. Steidl C., Connors J.M., Gascoyne R.D. Molecular pathogenesis of Hodgkin's lymphoma: Increasing evidence of the importance of the microenvironment. *J. Clin. Oncol*. 2011;29:1812–1826.
88. Marshall N.A. Christie L.E., Munro L.R., Culligan D.J., Johnston P.W., Barker R.N., Vickers M.A. Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2004;103:1755–1762.
89. Skinnider B.F. Mak T.W. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2002;99: 4283–4297.
90. Chen W. Jin W. Hardegen N. Lei K.J., Li L., Marinos N., McGrady G., Wahl S.M. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J. Exp. Med*. 2003;198:1875–1886.
91. Le K.-S., Amé-Thomas P., Tarte K., Gondois-Rey F., Granjeaud S., Orlanducci F., Foucher E.D., Broussais F., Bouabdallah R., Fest T., et al. CXCR5 and ICOS expression identifies a CD8 T-cell subset with T FH features in Hodgkin lymphomas. *Blood Adv*. 2018;2:1889–1900.

92. Komohara, Y.; Jinushi, M.; Takeya, M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. *Cancer Sci.* 2014, 105, 1–8.
93. Moeini, P.; Niedźwiedzka-Rystwej, P. Tumor-Associated Macrophages: Combination of Therapies, the Approach to Improve Cancer Treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 7239.
94. Steidl, C.; Lee, T.; Shah, S.P.; Farinha, P.; Han, G.; Nayar, T.; Delaney, A.; Jones, S.J.; Iqbal, J.; Weisenburger, D.D.; et al. Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2010, 362, 875–885.
95. Kamper, P.; Bendix, K.; Hamilton-Dutoit, S.; Honoré, B.; Nyengaard, J.R.; d'Amore, F. Tumor-infiltrating macrophages correlate with adverse prognosis and Epstein-Barr virus status in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2011, 96, 269–276.
96. Gotti, M.; Nicola, M.; Lucioni, M.; Fiaccadori, V.; Ferretti, V.; Sciarra, R.; Costanza, M.; Bono, E.; Molo, S.; Maffi, A.; et al. Independent prognostic impact of tumour-infiltrating macrophages in early-stage Hodgkin's lymphoma. *Hematol. Oncol.* 2017, 35, 296–302.
97. Boutilier, A.J.; Elsaywa, S.F. Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 6995.
98. Orecchioni, M.; Ghosheh, Y.; Pramod, A.B.; Ley, K. Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated Macrophages. *Front. Immunol.* 2019, 10, 1084
99. Ansell, S.M.; Lesokhin, A.M.; Borrello, I.; Halwani, A.; Scott, E.C.; Gutierrez, M.; Schuster, S.J.; Millenson, M.M.; Cattry, D.; Freeman, G.J.; et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2015, 372, 311–319.
100. Kuruvilla, J.; Ramchandren, R.; Santoro, A.; Paszkiewicz-Kozik, E.; Gasiorowski, R.; Johnson, N.; Melnichenko, V.; Fogliatto, L.M.; Goncalves, I.; de Oliveira, J.; et al. KEYNOTE-204: Randomized, open-label, phase III study of pembrolizumab (pembro) versus brentuximab vedotin (BV) in relapsed or refractory classic Hodgkin lymphoma (R/R cHL). *J. Clin. Oncol.* 2020, 38, 8005.
101. Advani, R.H.; Horning, S.J.; Hoppe, R.T.; Daadi, S.; Allen, J.; Natkunam, Y.; Bartlett, N.L. Mature results of a phase II study of rituximab therapy for nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2014, 32, 912–918.
102. Inoue, S.; Leitner, W.W.; Golding, B.; Scott, D. Inhibitory effects of B cells on antitumor immunity. *Cancer Res.* 2006, 66, 7741–7747.
103. de Visser, K.E.; Korets, L.V.; Coussens, L.M. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent. *Cancer Cell* 2005, 7, 411–423.
104. Mohammed, Z.M.A.; Going, J.J.; Edwards, J.; Elsberger, B.; McMillan, D.C. The relationship between lymphocyte subsets and clinico-pathological determinants of survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer. *J. Cancer* 2013, 109, 1676–1684.
105. Berntsson, J.; Nodin, B.; Eberhard, J.; Micke, P.; Jirstrom, K. Prognostic impact of tumour-infiltrating B cells and plasma cells in colorectal cancer. *Int. J. Cancer* 2016, 139, 1129–1139.

106. Lundgren, S.; Berntsson, J.; Nodin, B.; Mücke, P.; Jirstrom, K. Prognostic impact of tumour-associated B cells and plasma cells in epithelial ovarian cancer. *J. Ovarian. Res.* 2016, 9, 21.
107. Lohr, M.; Edlund, K.; Botling, J.; Hammad, S.; Hellwig, B.; Othman, A.; Berglund, A.; Lambe, M.; Holmberg, L.; Ekman, S.; et al. The prognostic relevance of tumour-infiltrating plasma cells and immunoglobulin kappa C indicates an important role of the humoral immune response in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2013, 333, 222–228.
108. Thompson, C.A.; Maurer, M.J.; Cerhan, J.; Katzmman, J.A.; Ansell, S.M.; Habermann, T.M.; Macon, W.R.; Weiner, G.; Link, B.; Witzig, T.E. Elevated serum free light chains are associated with inferior event free and overall survival in Hodgkin lymphoma. *Am. J. Hematol.* 2011, 86, 998–1000.
109. Gaiolla, R.D., Domingues, M.A.C., Niero-Melo, L. & de Oliveira, D.E. (2011) Serum levels of interleukins 6, 10, 13 before and after treatment of classic Hodgkin lymphoma. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 135, 483– 489.
110. Lydia Visser. Plasma cells in classical Hodgkin lymphoma: a new player in the microenvironment?. *Br J Haematol.* 2019 Jan;184(2):119-120
111. Tudor, C.S., Distel, L.V., Eckhardt, J., Hartmann, A., Niedobitek, G. & Buettner, M. (2013) B cells in classical Hodgkin lymphoma are important actors rather than bystanders in the local immune reaction. *Human Pathology*, 44, 2475–2486.
112. Cirillo M, Reinke S, Klapper W, Borchmann S. The translational science of hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* (2019) 184(1):30–44.
113. Panico L, Tenneriello V, Ronconi F, et al. High CD20+ background cells predict a favorable outcome in classical Hodgkin lymphoma and antagonize CD68+ macrophages. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(6): 1636-1642.
114. Clodi K, Asgari Z, Younes M, et al. Expression of CD40 ligand (CD154) in B and T lymphocytes of Hodgkin disease: potential therapeutic significance. *Cancer* 2002;94:1-5
115. Antonio Santisteban-Espejo 1 2 3, Irene Bernal-Florindo 2 4, Jose Perez-Requena 1, Lidia Atienza-Cuevas 1, Nieves Maira-Gonzalez 5, Marcial Garcia-Rojo 2 4. Whole-slide image analysis identifies a high content of Hodgkin Reed-Sternberg cells and a low content of T lymphocytes in tumor microenvironment as predictors of adverse outcome in patients with classic Hodgkin lymphoma treated with ABVD. *Front Oncol.* 2022 Oct 20;12:1000762. doi: 10.3389/fonc.2022.1000762. eCollection 2022.
116. Johanna Grund 1, Katharina Iben 1, Sarah Reinke 1, Ina Bühnen 2 3, Annette Plütschow 2 3, Berit Müller-Meinhard et al. Low B-cell content is associated with a CD73-low tumour microenvironment and unfavourable prognosis in classic Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol.* 2023 Jun;201(6):1097-1102.
117. Chetaille B, Bertucci F, Finetti P, et al. Molecular profiling of classical Hodgkin lymphoma tissues uncovers variations in the tumor microenvironment and correlations with EBV infection and outcome. *Blood.* 2009;113(12):2765-3775.
118. Greaves P, Clear A, Coutinho R, et al. Expression of FOXP3, CD68, and CD20 at diagnosis in the microenvironment of classical Hodgkin lymphoma is predictive of outcome. *J Clin Oncol.* 2013;31(2):256-262.

119. Calabretta, E.; D'amore, F.; Carlo-Stella, C. Immune and Inflammatory Cells of the Tumor Microenvironment Represent Novel Therapeutic Targets in Classical Hodgkin Lymphoma. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20, 5503.
120. Sanchez-Espiridion B, Montalban C, Lopez A, et al. A molecular risk score based on 4 functional pathways for advanced classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2010;116(8): e12-17.
121. Gholiha, A, Hollander, P., Hedstrom, G., Sundstrom, C., Molin, D., Smedby, K., Hjalgrim, H., Glimelius, I., Amini, R.-A. & Enblad, G. (2019) High tumour plasma cell infiltration reflects an important microenvironmental component in classic Hodgkin lymphoma linked to presence of B-symptoms. *British Journal of Haematology*, in press.
122. Yip, G.W., Smollich, M. & Gotte, M. (2006) Therapeutic value of glycosaminoglycans in cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5, 2139–2148.
123. Zhang, H.W., Chen, Z.W., Wang, J.F. & Cheng, N.L. (2011) Significance of CD138 in immunohistochemical profiles and its correlation with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Chinese Journal of Oncology*, 33, 115–120.
124. Bodoor, K., Ismail, M., Rami, H., Yazan, H. & Waleed, G. (2012) Evaluation of BCL-6, CD10, CD138 and MUM-1 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients: CD138 is a marker of poor prognosis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7, 3037–3046.
125. Shalapour, S.; Font-Burgada, J.; Di Caro, G.; Zhong, Z.; Sanchez-Lopez, E.; Dhar, D.; Willimsky, G.; Ammirante, M.; Strasner, A.; Hansel, D.E.; et al. Immunosuppressive plasma cells impede T-cell-dependent immunogenic chemotherapy. *Nature* 2015, 521, 94–98.
126. Affara, N.I.; Ruffell, B.; Medler, T.R.; Gunderson, A.J.; Johansson, M.; Bornstein, S.; Bergsland, E.; Steinhoff, M.; Li, Y.; Gong, Q.; et al. B cells regulate macrophage phenotype and response to chemotherapy in squamous carcinomas. *Cancer Cell* 2014, 25, 809–821
127. Kotlan B, Simsa P, Foldi J, et al. Immunoglobulin repertoire of B lymphocytes infiltrating breast medullary carcinoma. *Hum Antibodies* 2003;12:113-21.
128. René-Olivier Casasnovas 1, Nicolas Mounier, Pauline Brice, Marine Divine, Franck Morschhauser, Jean Gabarre, Jean-Yves Blay et al. Plasma cytokine and soluble receptor signature predicts outcome of patients with classical Hodgkin's lymphoma: a study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol.* 2007 May 1;25(13):1732-40.
129. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, Greenall M, Clarke J, Harris AL. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res.* 1996;56(20):4625–9.
130. Shabo I, Stal O, Olsson H, Dore S, Svanvik J. Breast cancer expression of CD163, a macrophage scavenger receptor, is related to early distant recurrence and reduced patient survival. *Int J Cancer.* 2008;123(4):780–6.
131. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(1):23–35.
132. Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. *Immunol Rev.* 2008;222:155–61.

133. Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010;141(1):39–51.
134. Tan KL, Scott DW, Hong F, et al.. Tumor-associated macrophages predict inferior outcomes in classic Hodgkin lymphoma: a correlative study from the E2496 Intergroup trial. *Blood*. 2012;120(16):3280-3287
135. Kayal S, Mathur S, Karak AK, Kumar L, Sharma A, Bakhshi S, Raina V. CD68 tumor-associated macrophage marker is not prognostic of clinical outcome in classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2014 May;55(5):1031-7.
136. Azambuja D, Natkunam Y, Biasoli I, Lossos IS, Anderson MW, Morais JC, et al.. Lack of association of tumor-associated macrophages with clinical outcome in patients with classical Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* (2012) 23(3):736–42.
137. Zawati I, Adouni O, Manai M, Nagara M, Tacam M, Reduzzi C, Gamoudi A, Manai M. FOXP3+/CD68+ ratio within the tumor microenvironment may serve as a potential prognostic factor in classical Hodgkin lymphoma. *Hum Immunol*. 2022 Dec;83(12):843-856.
138. Sanchez-Espiridion B, Martin-Moreno AM, Montalban C, et al.. Immunohistochemical markers for tumor associated macrophages and survival in advanced classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2012;97(7): 1080-1084.
139. Kunisch E, Fuhrmann R, Roth A, Winter R, Lungershausen W, Kinne RW. Macrophage specificity of three anti-CD68 monoclonal antibodies (KP1, EBM11, and PGM1) widely used for immunohistochemistry and flow cytometry. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(7):774–84.
140. Townsend, W. & Linch, D. (2012) Hodgkin's lymphoma in adults. *Lancet*, 380.