



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KLASİK HODGKİN LENFOMA'DA BCL-2, CD68, CD163,
NFkB, C-MET EKSPRESYONLARININ PROGNOSTİK
ÖNEMİ**

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

DR. DERYA ŞEKER

DANIŞMAN

DOÇ.DR. İRFAN YAVAŞOĞLU

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KLASİK HODGKİN LENFOMA ‘DA BCL-2,CD68,
CD163, NFKB,C-MET EKSPRESYONLARININ
PROGNOSTİK ÖNEMİ

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

DR. DERYA ŞEKER

DANIŞMAN

DOÇ. DR. İRFAN YAVAŞOĞLU

AYDIN-2015

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **TPF-15010** numaralı proje olarak desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca yanında çalışmaktan onur duyduğum, meslek hayatıma kattığı değerlerle kendisini örnek aldığım tez danışmanı hocam Doç. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU hocama, ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği olan Prof. Dr. V. Gürhan KADIKÖYLÜ, Prof. Dr. Zahit BOLAMAN, Prof. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU, Prof. Dr. Abdulvahit YÜKSELEN, Prof. Dr. Ali Önder KARAOĞLU, Prof. Dr. Engin GÜNEY, Prof. Dr. M. Hadi YAŞA, Prof. Dr. Nezih MEYDAN, Prof. Dr. Sabri BARUTCA, Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK, Prof. Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Yard. Doç. Dr. Hilal Bektaş UYSAL, Yard. Doç. Dr. Adil COŞKUN, Yard. Doç. Dr. Hakan AKDAM, Yard. Doç. Dr. Mediha AYHAN, Yard. Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL ve Yard. Doç. Dr. Songül ÇILDAĞ'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez konumla ilgili yardımlarını esirgemeyen patoloji ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Firüzan Kaçar DÖGER'e,

Maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan ve bu günlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Derya ŞEKER

Aydın, 2015

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hodgkin lenfoma	3
2.1.1 Etyoloji	3
2.1.2 Fizyopatoloji	5
2.1.3 Klinik Özellikler	6
2.1.4 Laboratuvar Bulguları	6
2.1.5 Tanısı	7
2.1.6 Evrelemesi	8
2.1.7 Prognostik Faktörler	9
2.1.8 Tanı ve Takipte Kullanılan Bazı Prognostik Faktörler	10
2.1.8.1 Nükleer Faktör Kappa –B (NFkB)	10
2.1.8.2 Tümör İlişkili Makrofajlar	11
2.1.8.3 BCL-2	12
2.1.8.4 c-MET	14
3. GEREÇ ve YÖNTEM	15
3.1.Araştırmanın Yeri ve Zamanı	15
3.2.Araştırma Grubu	15
3.3.Vaka Grubu	15
3.4.Kontrol Grubu	15
3.5.Araştırmanın Tipi	15
3.7.Veri Toplama Aracı	15
3.8.Verilerin Toplanması	15
3.9.Laboratuvar Analizleri	16
3.10.İstatistik Yöntem	21
3.11.İzinler Ve Etik Konular	21
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	35
7. ÖZET	36

8. SUMMARY	37
9. KAYNAKLAR	38

KISALTMALAR DİZİNİ

Bcl-2 : B hücre lösemi lenfoma

DBBHL: Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma

EBV: Ebstein Barr Virüs

EGF: Epidermal Growth Factor

ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı

EORTC: European Organization for Research and Treatment of Cancer

GHSG: German Hodgkin Study Group

HGF: Hepatosit Growth Factor

HL: Hodgkin Lenfoma

HRS: Hodgkin Reed Stenberg

IL-1: Interlökin 1

IL-12: Interlökin 12

IPS: Uluslararası prognostik skor

KHL: Klasik Hodgkin Lenfoma

KT: Kemoterapi

NFkB: Nükleer faktör kapa-B

NHL: Non Hodgkin Lenfoma

NO: Nitrik oksid

RT: Radyoterapi

SSS: Santral Sinir Sistemi

TNF:TümörNekrozisFaktör

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo I: Hodgkin Lenfoma'da Ann-Arbor Evrelemesi	9
Tablo II: Geç Evre HL'da Uluslararası Prognostik Skor (IPS)	9
Tablo III: : Hodgkin Hastaların Yaş ve Cinsiyetlerinin Dağılımı	22
Tablo IV: Hastaların Laboratuvar Bulgularının Dağılımı	23
Tablo V: Hastaların Prognostik Belirteçleri	24
Tablo VI: Hastaların Tedaviye Yanıtlarının Değerlendirilmesi	25
Tablo VII: Hasta Grubuna Göre Boyama Sonuçlarının Dağılımı	26
Tablo VIII: Lenfoma Alt Tipine Göre Boyama Sonuçlarının Dağılımı	27
Tablo IX: Boyanma Özelliklerine Göre Ortalama Yaşam Sürelerinin Dağılımı	27

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. : HL'lı Bir Olguda c-Met Pozitifliği. C-Met x 40	16
Resim 2. : HL'lı Bir Olguda CD68 Pozitifliği. CD68 x	16
Resim 3. HL'lı Bir Olguda CD163 Pozitifliği. CD163 x 4	17
Resim 4. HL'lı Bir Olguda Bcl-2 Pozitifliği. BCL-2 x 40	18
Resim 5. HL'lı Bir Olguda NFkB Pozitifliği. HE x 40	18
Resim 6: Kontrol Grubunda NFkB Pozitifliği. NFKB x 40	19
Resim 7: Kontrol Grubunda CD163 Pozitifliği. CD163 x 40	19
Resim 8: Kontrol Grubunda CD68 Pozitifliği. CD68 x 40	20
Resim 9: Kontrol Grubunda c-Met Pozitifliği. C-MET x 40	20
Resim 10: Kontrol Grubunda Bcl-2 Pozitifliği. BCL-2 x 40	21

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hodgkin lenfoma (HL), 1832 yılında Sir Thomas Hodgkin tarafından tanımlanan, Reed Stenberg ve Hodgkin hücreleri ve uygun sellüler yapı ile karakterize lenfoid dokunun malignitesidir. HL, tüm kanserlerin %1'ini, lenfomaların ise %25-40'ını oluşturmaktadır (1).

Ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde iki tepeli yaş dağılımı gösterir, 10 yaşından sonra görülme sıklığı giderek artar ve 20'li yaşlarda pik yapar, 45 yaşından sonra ikinci pikini yapar. Gelişmemiş ülkelerde HL'nın görülme sıklığı azalır, bu ülkelerde 15 yaşından önce görülme sıklığı artarken adolesan ve genç erişkinlerde pik daha az belirgindir (2-3).

Lenfomalar genel olarak histolojik ve immünofenotip özellikleri ve klinik davranışlarına göre HL ve NonHodgkin lenfoma (NHL) olarak ikiye ayrılır (4).

HL kompleks bir lenfoproliferatif neoplazidir. Morfolojik ve immünofenotipik özelliklerine göre Klasik Hodgkin lenfoma (KHL) ve Nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfomaya (NLPHL) ayrılır. KHL'de histolojik tanı Hodgkin-Reed Sternberg (HRS) hücrelerinin varlığına bağlıdır. Reed Sternberg (RS) hücreleri stromada reaktif lenfositler, plazma hücreleri, histiositler, nötrofiller, eozinofillerden oluşan hücresel bir infiltrat ile çevrelenmiştir. Neoplastik hücre popülasyonu olduğu kabul edilen mononükleer Hodgkin ve multinükleer HRS hücreleri tutulan dokunun %1'inden azını oluşturur (5).

Diğer birçok malign tümörün aksine, KHL çok sayıda proliferatif tümör hücrelerinden oluşmaz. Tersine HRS hücreleri dağınıktır ve birçok aktive non-neoplastik lenfositler ile çevrilmiştir (6).

HL'nın nedeni ve patogenezi henüz bilinmemektedir. En fazla tedavi edilebilir malignansiler arasında olmasına rağmen, bu hastalık için en iyi başlangıç tedavi seçeneğinin uzun dönem sonuçları hakkında anlaşmazlık vardır. İlerlemiş hastalığı olanların yaklaşık %30-40'ı primer rezistan veya relaps yapan hastalık olmadığı halde agresif tedavi yaklaşımına ihtiyaç duyar. Diğer taraftan yoğun kemoterapi kombinasyonu, sekonder malignansileri de içeren uzun dönem morbiditede artmış risk taşır. Klinik gidişatı daha iyi tahmin edebilmek için biyolojik özellikler mümkün olduğunca tanımlanmaya çalışılmaktadır. Hücre siklusunu ve apoptozu kontrol eden yollardan sorumlu değişiklikleri içerdiğine dair güçlü bulgular vardır. Bu anlamda Bcl-2 (B hücre lösemi lenfoma) ekspresyonunun HL dokularının büyük bir bölümünde HRS hücrelerinde saptanabileceğine dair yayınlar vardır (6-8).

HL yüksek sosyo-ekonomik düzey, yüksek eğitimli, küçük aile topluluklarında daha sık görülmektedir. Ayrıca aynı aile bireyleri arasında daha sık görülmesi de genetik yatkınlığı düşündürmektedir (1,9).

B lenfositlerin çekirdeğinde bulunan nükleer faktör kappa-B (NFkB) immunglobulin κ hafif zincirine bağlanan bir faktördür. NFkB, RS hücrelerinin transformasyonunda rol oynar. Sitoplazmada inaktif durumda iken aktive edildiğinde çekirdeğe transloke olur, DNA'ya bağlanır ve 200'den fazla genin aşırı ekspresyonunu düzenler (10).

Bcl-2 proteini apoptozun inhibitörü olup mitokondrial sitoplazma, endoplazmik retikulum ve nükleer membranda lokalizedir (11,12). Bcl-2 onkogeni 18.kromozomda yerleşik olup t(14;18) kromozomları arasında translokasyon söz konusudur (13). Bcl-2'nin aşırı ekspresyonu kemoterapötik ilaçlara ve radyoterapiye direnç gelişimine yol açmaktadır. Bunun yanında aşırı ekspresyon hücrelerin G₀ fazında duraksamasına da neden olmaktadır (11,12). Bcl-2 ekspresyonunda artış hem Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) gibi yüksek dereceli hem de folliküler lenfoma gibi düşük dereceli lenfoma hastalarında relaps ve tedaviye direnç ile ilişkili yanında agresif lenfomalarda prognostik belirteç olduğu saptanmıştır (11,14,15). HRS hücrelerindeki Bcl-2'nin artmış ekspresyonunun bağımsız bir prognostik belirteç olduğu ve progresyonu gösterebileceğine yönelik çalışmalar da mevcuttur (11, 16-18).

Tümör ilişkili makrofajlar NHL'da ve son yıllarda da HL'da kötü prognoz ile ilişkili olarak bulunmuştur. Klasik HL'da makrofajların belirteçleri olan CD163 ve CD68 ekspresyonlarında artışın kötü prognostik olduğu ve hastalığın relaps ve progresyon için yüksek risk taşıdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (19,20).

Hepatosit büyüme faktörü (HGF)/HGF ligandı c-Met sinyal yolağı proliferasyon, yaşam süresi ve migrasyon gibi çeşitli biyolojik olayları düzenlemektedir (21,22). Bu yolağın gen amplifikasyonu, translokasyon, mutasyon veya otokrin ya da parakrin sinyali nedeniyle düzensizleşmesi birçok malign hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Özellikle c-Met proto-onkogeninin DBBHL, mesane, meme, over ve kolorektal kanserlerde prognostik rolü vardır (21, 23-25). KHL hastalarının doku örneklerinin %33-100'ünde c-Met ekspresyonu saptanmıştır (21,26-27).

Bu çalışmanın amacı, Klasik Hodgkin lenfomalı hastalarda lenf bezi örneklerinde CD163, CD68, c-Met, Bcl-2 ve NFkB RelA ekspresyonlarının prognoz üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. HODGKİN LENFOMA

Lenfoma, bağışıklık sistem hücrelerinin ayrışma aşamasından köken alan ve morfoloji, immünoloji ve klinik bulguları birbirinden farklı olabilen lenfoid hücre kanserleridir (28).

HL Thomas Hodgkin tarafından 7 kişilik vaka serisi ile 1832 yılında ilk kez tanımlanmıştır. HL, tedavi edilebilen hematopoietik/lenfoid dokulara ait tanımlanmış ilk malign hastalık olması sebebiyle önemli bir yere sahiptir (29).

HL’da, hastalığın anatomik yayılımı ve daha az oranda histolojik alt tipi, prognozu belirlemede ve en uygun tedavi seçiminde belirleyici faktörlerdir. Tedavide amaç, hastalarda minimal komplikasyon ile kür elde etmektir. Kemoterapi (KT) ve radyoterapi (RT) ile tek başına kür elde edilebilmekle birlikte, kombine tedavi ile optimal sonuç elde edilmektedir (29).

HL’ da, lenfomaların %25-40’ını oluşturmaktadır. HL’nın yaşla dağılımı bimodal bir özellik göstermektedir. İlk birikim üçüncü dekatta ikinci birikim ise 50 yaş üzeridir. Erkek / kadın oranı 1.4:1 olarak bildirilmektedir. Gelişmiş ülkelerde HL’nın genç yaşlarda, anne eğitimi yüksek olanlarda ve kardeş sayısı az olanlarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Gelişmemiş ülkelerde HL’nın görülme sıklığı azalır, bu ülkelerde 15 yaşından önce görülme sıklığı artarken, adolesan ve genç erişkinlerde hastalıkta artma daha az belirgindir (30).

2.1 .1 Etiyoloji

HL’nın etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak etyolojisinde rol alan risk faktörleri immünite, enfeksiyöz faktörler ve genetik yatkınlık olarak 3 alt grupta toplanabilir (31).

Genetik Yatkınlık

Ailesel HL tüm vakaların yaklaşık % 5’i kadardır. Birinci derece akrabalarda HL gelişim riski 3 kat daha artmıştır. Bu bağlantı genç yaştaki hastalarda, erkeklerde ve kardeşlerde daha güçlüdür. HL gelişim riskinin monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre daha fazladır. Birden fazla çocuğunda HL saptanan ailelerde HLA gruplarından A1, B5, B8 ve B18 tiplerinin sık görüldüğü de bildirilmiştir (32).

Enfeksiyöz Faktörler

HL'nin, epidemiyolojik özellikleri hastalığın etyolojisinin tanı yaşı ile değiştiğini bildirmektedir. Genç erişkin tipinin paralitık poliomyelite benzer özellikleri olduğu için enfeksiyon ajanlarına gecikmiş maruziyetin HL gelişimi için risk oluşturduğu düşünülmüştür. Epstein Barr Virüs (EBV)'nin HL ile birlikteliğı birçok epidemiyolojik ve serolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Geçirilmiş enfeksiyöz mononükleoz 30 yıldan fazla zamandır HL gelişimi için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (33).

Yapılan bir çalışmada 15-34 yaş arasındaki enfeksiyöz mononükleozlu geniş bir hasta popülasyonunda HL gelişim riski belirgin olarak artmış ve bu artışın 20 seneyi aşan dönem içinde de devam ettiğı bildirilmiştir. HL biyopsi materyallerinin yaklaşık %25-50'sinde, Reed Sternberg (RS) hücrelerinde, EBV DNA ve gen ürünleri pozitif bulunmuştur, bu da HL ve EBV arasındaki ilişkinin bir göstergesi olarak kabul görmüştür (34). Yapılan başka bir çalışmada HL insidansındaki artışın özellikle çocukluk çağı ve 55- 74 yaş arası dönemindeki EBV ile ilişkili olduğu, 15-34 yaş arası genç erişkinlik dönemindeki EBV ile ilgili olmadığı bildirilmiştir (35). HL'li hastaların büyük bir kısmında EBV antikor titresinin yüksek olması, EBV'nin HL gelişimini kolaylaştırdığını düşündürmüştür. Bu hipotez aynı zamanda in situ hibridizasyon ile RS hücrelerinde EBV genomunun tespit edilmesi ve virüse ait erkek RNA (EBER1-EBER2) dizilerinin gösterilmesi ile desteklenmiştir. EBV ile ilişkili vakalarda virus RS hücrelerine ve variantlarına lokalizedir(36).

İmmünite

İmmünolojik bozukluklarla birlikte HL yüksek miktarda görölmektedir. Bazı çalışmalarda çocuk ve gençlerde görülen HL ile orta ve ileri yaşlarda saptanan hastalığın farklı epidemiyolojik nedenlerle oluştuğı belirtilmektedir. Primer immün yetmezliğı olan hastalarda lenfoma gelişme riski çok fazladır. Primer immün yetmezlik sendromları dışında, immün-supresif tedavi verilen böbrek ve kalp transplantasyonu yapılan hastalarda veya AIDS dahil çeşitli kazanılmış immünite bozukluğu olan bireylede de HL'yi de içeren çeşitli malign lenfomalar artmış oranlarda saptanmaktadır (37).

Son yıllarda mikrodiseksiyon ve polimeraz zincir reaksiyonu tekniklerinin gelişmesi tümör hücre sayısının in vitro olarak artırılmasını ve tümör hücrelerinin benign poliklonal zeminden ayrılabilmesini sağlamıştır. Bu çalışmalar sonucunda RS hücrelerinin klonal immüngloblin (Ig) rearanjmanları içerdiği ve bu sebeple neoplazinin B hücre kökenli olduğı gösterilmiştir (38). Hodgkin enfomada neoplastik hücrelerin çeşitli sitokinler saldığı tesbit edilmiş, bu salınımın özellikle hastalığın iki ana alt tipinde, belirgin bir histopatolojik görünüm ve klinik bulgularla ilişkili olduğı sonucuna varılmıştır. RS hücrelerinde CD30 ve

CD40 ekspresyonundaki artış NFkB ve c-jun N-terminal kinaz yolunun aktivasyonu ve sonuç olarak da RS hücre proliferasyonu, adhezyon moleküllerinin ekspresyonu, sitokin salınımı ile ilişkilendirilmiştir. KHL'da eozinofili ve kollajen skleroz gibi histopatolojik bulgular IL-4, IL-5, eotaksin, IL-6, IL-7, IL-13, Tümör nekroz faktör (TNF), lenfotoksin, Transform Büyüme Faktörü Beta (TGF- β) ve basic fibroblast growth faktör salınımına bağlanmıştır. Sitokinler tarafından düzenlenen adhezyon moleküllerinin de RS hücrelerine ve çevreleyen komşu T lenfositlere etki ederek hastalığın metastatik kapasitesini belirlediği düşünülmüştür. Sistemik semptomlar en fazla artmış IL-6 seviyesi ile ve tedavi almamış hastalardaki immünsüpresyon da en fazla TGF- β seviyesi ile korelasyon göstermiştir (39).

2.1.2.Fizyopatoloji

Makroskopik Bulgular

Yayılımı sıklıkla bir lenf nodundan komşu bir lenf noduna sıçrama şeklindedir. Genelde sol supraklaviküler lenf nodu tutulumunu abdominal paraaortik lenf nodututulumu takip eder. Sağ supraklaviküler lenf nodu tutulumu mediastinal adenopati ile ilişkili olmaya eğilimlidir. Paraaortik lenf nodu tutulumu sıklıkla dalak tutulumu ile birlikte ve takiben karaciğer ve/veya kemik iliği tutulumuyla da birlikte görülür. Histopatolojik tiplerin içinde komşuluk yoluyla yayılım eğilimi en sık nodüler sklerozan tipindedir (32).

Mikroskopik Bulgular

Tümör karakterinde malign hücre popülasyonu total hücre popülasyonunun % 0.1-% 10'dur. Tümör hücrelerinin çoğu sitokin salınımı sonucu gelişen inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrozis yapısındadır. Tanısal RS hücresi büyük, (15-45 μ m çapında ya da daha büyük) hafif bazofilik sitoplazmalı, iki nükleus veya iki nükleer lobu olan hücrelerdir. Bu hücreler kalın bir nükleer membrana, soluk boyanan kromatine ve iki geniş eozinofilik nükleolusa sahiptir. Nükleoluslar karakteristik olarak makronükleolus görünümünde olup, büyüklükleri komşu lenfositlere eşittir. RS hücrelerinin variantları da vardır. Bunlar laküner hücre, mumya hücre ve L&H hücre (popcorn hücre) olarak adlandırılırlar. Patogenezinde germinal merkezlerdeki B-hücrelerinden köken alan RS hücreleri istenmeyen mutasyonlar sonucu B-hücre reseptör afinite kapasitesini kaybetmiş, klonal seleksiyona karşı koyarak, apoptozisden (programlı hücre ölümünden) kaçmayı başarmıştır. Apoptozdan bu kaçışta, sinyal aktivasyonu yolundaki fas aracılı apoptoz inhibitörü (FLIP) reseptörünün artması ve

transkripsiyon faktörlerinden nükleer faktör κ (NF- κ) seviyesinde artma sorumlu tutulmaktadır (41,42).

2.1.3. Klinik Özellikler

HL 'lı hastalarda görülen ilk bulgu genellikle lenf bezlerinin büyümesidir. Tutulan lenf nodu lastik kıvamında elastik ve ağrısızdır. Lenfadenopatilerin en sık görüldüğü yer servikal bölgedir. İlk gelişte mediastinal bölgenin %60, aksiller bölgenin %6-20, inguinal bölgenin %6 oranında tutulduğu bildirilmiştir. Bir lenf nodu veya nodal kitlenin ≥ 10 cm olmasına “*bulky*” denir. Mediastinal lenfadenopatisi olan hastalar, klinik olarak asemptomatik olabileceği gibi nonproduktif öksürük, soluk borusu veya bronş basısına bağlı bulgular da gösterebilir. Mediastinumda en çok paratrakeal ve trakeobronşial lenf nodu grupları tutulur. Sırt ağrısı, kemik ağrıları ve spinal kord kompresyon semptom ve bulguları tespit edilebilir. Santral sinir sisteminde (SSS) tutulumu nadirdir (43,44).

HL lenf nodu tutulumu genellikle boyundan mediastene, çölyak lenf nodlarına, buradan da dalak, karaciğer ve kemik iliğine doğru olmak üzere aşama aşama olarak gerçekleşir. HL'da diffüz hematojen yayılımdan önceki son aşama dalak tutulumudur. Bu nedenle karaciğer tutulumu varsa dalak da mutlaka tutulmuştur. Kemik iliği tutulumu, yaygın hastalığı olan ve B semptomları bulunan kötü prognozlu histolojik alt gruplarda saptanır. Ateş (38°C ve üzeri), gece terlemesi ve son 6 ayda %10'dan fazla kilo kaybı, B semptomları olarak tanımlanır. HL'da %25-40 olguda B semptomları saptanır. En sık saptanan bulgu ateştir. Ateş tanısı anında hastaların %27'sinde görülür ve genellikle düşük derecede ve düzensizdir. Nadiren 1-2 haftalık ateşli ve ateşsiz dönemleri izleyen, yüksek derecede ateş izlenebilir. Bu ‘Pel Ebstein’ tipi ateş tanısaldır. Yaygın kaşıntı, olguların %10'unda başlangıç belirtisi olabilir, fakat prognostik önemi gösterilememiştir. B semptomları; tedavi seçimi, evreleme ve prognozun belirlenmesinde önemlidir (30).

2.1.4 Laboratuvar Bulguları

Hematolojik ve kimyasal kan parametreleri hastalığın yaygınlığıyla ilişki göstermeyen, özellikli olmayan değişiklikler gösterebilir. Normokrom normositer anemi, lökomoid reaksiyon, eozinofili (özellikle kaşıntısı olan hastalarda), lenfopeni (ileri evre ve kötü prognostik tipte) görülebilir (28). Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) yüksek olabilir ve hastalık aktivitesini gösteren testlerden biridir. Hastalık aktivitesi ile ilişkili olarak C-reaktif

protein (CRP), ferritin gibi akut faz reaktanları da artabilir. Anemi ilerlemiş hastalığın bir bulgusu olabilir ve genellikle demir depolarının kullanımının bozulmasından kaynaklanır. Aynı zamanda hastalığa eşlik eden Coomb's pozitif hemolitik anemi şeklinde de olup retikülositoz ve kemik iliği hiperplazisi tespit edilebilir (28).

2.1.5. Hodgkin Lenfoma Tanısı

HL'da biyopsi dışında tanı koydurucu nitelikte bir laboratuvar bulgusu yoktur. Bazı tümör tanımlayıcılar, prognostik belirteçler tanı ve takipte yardımcı olabilir. CRP, LDH, ferritin, $\beta 2$ mikroglobulin yükselebilir ve prognozunu kötü olduğunu gösterir. Tanı için periferik lenf nodundan yapılan eksizyonel biyopsinin patolojik olarak değerlendirilmesi tercih edilmelidir, çünkü spesifik histolojik alt tipin belirlenmesi için karakteristik yapısal zemindeki malign RS hücrelerinin değerlendirilmesi gerekir. Dikkatli bir fizik muayene esnasında bütün açık alan lenf nodları palpe edilmeli ve büyümüş olan lenf nodları ölçülmelidir. Eğer üst servikal lenf nodları da tutulmuşsa boyundaki Waldeyer halkasını da içine alan bilgisayarlı tomografi ile görüntüleme yapılmalıdır. Mutlaka ateş, gece terlemesi, kilo kaybı, kaşıntı ve kardiyopulmoner şikayetleri de içeren iyi bir hikaye alınmalıdır. Biyokimyasal çalışmalarda karaciğer, böbrek fonksiyon testleri istenmelidir. Hematolojik testlerden de tam kan sayımı ve ESH istenmelidir. CRP, LDH, ferritin, haptoglobulin, $\beta 2$ mikroglobulin ve fibrinojen tümör yükü veya tedaviye verileceğinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda CD25, CD30, CD4, CD8 ve IL-10 prognoz açısından önemli belirteçler olduğu vurgulanmıştır, ancak günümüzde bu testler rutin olarak uygulanmamaktadır (28,30).

Akciğer radyografisi mediastinal tutulum ve intratorasik yapılar hakkında bir ön değerlendirme sağlar. Akciğer parankimi, göğüs duvarı, plevra ve perikard en sık tutulan ektranodal bölgelerdir ve ileri tetkiki için bilgisayarlı tomografi ile görüntülenmelidir. Yapılan bir çalışmada tanı aşamasındaki hastaların yaklaşık % 50 sinde akciğer radyografisindeatlanan retrokardiyak bölge, perikard, akciğer parankimi ve göğüs duvarı tutulumunubilgisayarlı tomografide görüntülenmiştir. Manyetik rezonans görüntüleme intratorasik yapıları incelemede etkili bir yöntem olmasına rağmen, akciğer parankimi en iyibilgisayarlı tomografi ile görüntülenir (28,30,44).

Dalak HL hastaların % 30-40'ında tutulur ve dalak boyutları hastalığın tutulum derecesi ile korelasyon göstermeyebilir. Karaciğer boyutları ve karaciğer fonksiyon testleri de hepatik hastalıkla ilgili güvenilmeyen belirleyicilerdir ve organ boyutu ve tutulum derecesi ile

sıkı bir korelasyon göstermez, çünkü tümör hücrelerinin birikimi 1 cm çapından küçükse teşhis sırasında çekilen görüntülemelerde gözükmebilir. Teşhis sırasında kullanılan görüntüleme yöntemlerindeki sınırlamalar sebebiyle, dalak ve karaciğer incelenmesinde en kesin değerlendirme histolojik olarak yapılır. Ancak teşhiste kullanılan görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler ve standard sistemik kemoterapötik rejimler sayesinde, organların cerrahi evrelemesinin günümüzde kullanımı çok sınırlı endikasyonlardadır (28).

2.1.6. Hodgkin Lenfoma Evrelemesi

HL' da prognoz ve tedavi seçimini etkileyen en önemli parametrelerden biri klinik evrelemedir. Evreleme için laparotomi gerekli değildir. Evreleme Ann Arbor sınıflandırmasına göre yapılır (45).

Avrupa Kanser Araştırma ve Tedavi Teşkilatı (European Organization for Research and Treatment of Cancer, EORTC) HL'yi üç guruba ayırarak evre I/II'de bulunan ancak mediastinal bulky (>10 cm) kitle, yaşı >50 olması, ≥ 4 nodal bölge tutulumunun bulunması ve ESH hızının artışı (asemptomatiklerde >50 mm/s, B semptomlularda >30 mm/s) gibi dört risk faktöründen hiçbirinin bulunmadığı hastaları sınırlı evre hastalık, evre I/II'de ancak bu risk faktörlerinden en az birinin bulunduğu hastaları orta evre hastalık, evre III-IV'deki hastaları ise ileri evre hastalık olarak sınıflandırmıştır (8,9,46). Daha sonra Alman Hodgkin Çalışma Grubu (German Hodgkin Study Group, GHSG) benzer bir sınıflama yaparak evre I/II'de ancak mediastinal bulky (diafragmanın ön-arka çapının $>1/3$) kitle, ≥ 3 nodal bölge tutulumunun bulunması, ektranodal hastalık ve ESH hızının artışı gibi dört risk faktöründen hiçbirinin olmadığı hastaları sınırlı evre hastalık, ektranodal hastalık ve/veya ESH hızının artışının olduğu evre IIB'deki hastalar ve evre I/II'de ancak bu risk faktörlerinden en az birinin bulunduğu hastaları orta evre hastalık, mediastinal bulky kitle ve/veya ≥ 3 nodal bölge tutulumunun bulunduğu evre IIB hastaları ile evre III/IV' deki hastalar ileri evre hastalık olarak sınıflandırmıştır.

HL'da kemik iliği tutulumu fokal ve genellikle fibrozis ile birlikte olduğu için biyopsi yapmak gerekir, sadece aspirayon yetersizdir (25,30,45). Fizik muayene ve düz akciğer grafisi ile hastaların yaklaşık %90'ı evre I veya II olarak değerlendirilmektedir. Tüm evreleme işlemleri tamamlandıktan sonra olguların %60'ının ileri evrede (Evre III-IV) olduğu görülmektedir. HL'da tanı ve evrelendirme için yapılması kesin gerekli işlemler, histopatolojik tanı doğrulanmalı ve fizik muayenede lenf nodu ve organomegali muayenesi, B semptomları incelenmelidir. Ayrıca laboratuvar testleri olarak tam kan sayımı, ESH, periferik

kan yayması, LDH ve alkalen fosfataz, bilirubin, kalsiyum, albümin, AST, BUN, kreatinin, direk akciğer grafisi, toraks, abdominal ve pelvik BT, PET BT ve kemik iliği biyopsisi yapılmalıdır.

Tablo 1. Hodgkin Lenfoma'da Ann-Arbor Evrelemesi (28,30)

Evre	Hastalık Bölgeleri
I	Tek bir lenf nodu bölgesi
IE	Tek bir ekstralenfatik organ
II	Diyafragmanın aynı tarafında iki yada daha fazla lenf nodu bölgesi
IIE	Evre II+diyafragmanın aynı tarafında ekstralenfatik organda lokal tutulum
III	Diyafragmanın her iki tarafında birden çok lenf nodu bölgesi
IIIE	Evre III+bir ekstralenfatik organda lokal tutulum
IIIS	Evre III+dalak tutulumu
IIISE	Evre III+dalak ve bir ekstralenfatik organda tutulum
IV	Bir veya daha fazla ekstralenfatik organda lenf nodu tutulumu ile birlikte olan veya olmayan diffüz tutulum kemik iliği tutulumu
A	Sistemik semptom yok
B	Ateş (38 °C'nin üstünde), gece terlemesi ve kilo kaybı (son 6 ayda vücut ağırlığının %10'dan fazlası)

2.1.7. Prognostik Faktörler

HL'da 45 yaş üzerinde olunması, erkek cinsiyet, ateş, kilo kaybı, gece terlemesinin olması kötü prognostik kriterlerdendir. Evre en önemli prognostik faktör olup, evre IV hastalık kötü prognoza sahiptir. Bulky hastalığın olması da kötü prognoz göstergesidir(47).

Laboratuvarda ESH, ferritin, hemoglobin seviyesi, serum albumin ve serum CD8 antijen seviyesi kötü prognostik faktörlerdendir. Total remisyondaki hastalar remisyonu olmayan ve kısmi remisyonu olan hastalara göre daha iyi prognozu vardır (49).

Hodgkin lenfoma için, IPS sistemi kullanılmaktadır (Tablo 2) (47,49).

Tablo 2. Geç Evre HL'da Uluslararası Prognostik Skor (IPS)

1. Yaş(≥45)
2. Erkek cinsiyet
3. Hemoglobin <10.5 g/dl
4. Evre IV hastalık
5. Lökosit sayısı ≥ 15.000/mm ³
6. Lenfosit sayısı < 600/mm ³ veya lökosit sayısının %6'ından az olması
7. Albumin <4 g/dl

2.1.8 Tanı ve Takipte Kullanılan Bazı Prognostik Faktörler

2.1.8.1 Nükleer Faktör Kappa-B (NFκB)

B lenfositlerin çekirdeğinde bulunan immunglobulin κ hafif zincirine bağlanan bir faktördür. NFκB (nükleer faktör kappa B), immün yanıtta yer alan, hücre proliferasyonuna ve apoptoza katılan yaygın bulunan enhancer bağlayıcı bir transkripsiyon faktörü olup 50 ve 65 kDa alt birimlerden (p50 ve p65) oluşur, p50 DNA'ya bağlanır, p65 ise transkripsiyonel aktivasyon yapar. p65, IκB denen inhibitör sitoplazmik protein ailesine bağlı halde bulunur. Bu bağlanma, NF-κB'nin çekirdeğe translokasyonunu ve dolayısıyla DNA'ya bağlanmasını engeller. IκB, proteolizle regüle edilir ve yıkımı NF-κB'nin serbest kalarak, örneğin transkripsiyonel aktivasyon yapar. NFκB ve AP1 gibi diğer transkripsiyon faktörleri aracılı hücrel yanıt, kanser kaşeksisinde önemli rol oynar (49,50).

NFκB transkripsiyon faktörünün sitokinleri, adhezyon faktörleri, kemokinleri ve apoptoz inhibitörlerini (IAPs) encode eden anahtar genlerin ekspresyonunun regule ederek immün sistemde uzun süredir önemli, bir rolü olduğu bilinmektedir. Bu transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, CHOP rejimi içerenler gibi kemoteropatik ajanlar ile kanser hücrelerinin apoptoza girmesi engellenebilir. NFκB lenfomaya dirençte major katkısı vardır ve hücreleri apoptoza girmelerinden koruma özelliğine sahiptir. NFκB bir transkripsiyon faktörü olarak iyi saptanmıştır ki stimulu zararına karşı oluşan (radyasyon, hipoksi, pro-inflamatuar sitokinlerin rol aldığı infeksiyon mikroorganizmalarına karşı savaşta) hücrel savunma mekanizmalarında aktive olur (51).

NFκB Reed-Sternberg hücrelerinin transformasyonunda rol oynar (52). Sitoplazmada inaktif durumda iken aktive edildiğinde çekirdeğe transloke olur, DNA'ya bağlanır ve 200'den fazla genin aşırı ekspresyonunu düzenler. Hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda HL hücre serilerinde NFκB ile düzenlenen 45 genin overekspresyonu saptanmıştır. Bu genlerin kemokin, sitokin, reseptörler, apoptotik düzenleyiciler, hücre içi sinyal molekülleri ve transkripsiyon faktörlerini düzenlemektedirler (52-54). Bununla birlikte NFκB aktivasyonunun RANK ve RANKL, CD40 ve CD40 ligandı, CD70 ve CD27 ilişkileri, tümör nekrozu oluşturunca faktör alfa (TNF-α) ile reseptörünün, CD30 ve reseptörünün bağlanması üzerinde etkileri de HL'da gösterilmiştir (10,52,55). KHL'lı ve DBBHL'lı hastalarda yapılan doku mikroyarray ve immunhistokimyasal çalışmada NFκB aktivasyonu gösterilmiştir (56). Klasik HL'da yapılan çalışmaların hemen tümü hücre çalışmaları olup prognozla ilgili yapılan bir çalışma literatürde yoktur.

NFkB yolağının aktivasyonu, mikrobiyal veya inflamatuvar uyarılara karşı makrofajların yanıt vermesinde (TNF-alfa, IL-1, IL-12 ve NO üretimi gibi) kritik öneme sahip olup, NFkB'nin aktive olması klasik M1 polarizasyonu ile sonuçlanmaktadır. Bunun için p50/p65 NFkB heterodimerleri inflamatuvar genlere bağlanarak, onarı aktif hale getirmektedir. Tümör ilişkili makrofajlarda ise NFkB aktivasyonu kusurlu olup, NFkB bağımlı inflamatuvar fonksiyonlar (NO üretimi, TNF- α , IL-1 ve IL-12 gibi sitokinlerin üretimi) yerine getirilememektedir . Tümör ilişkili makrofajlardaki kusurlu NFkB aktivite, P50 NF- κ B homodimerlerinin hücre içinde birikmesi sonucunda oluşmaktadır. P50'nin eksik olduğu farelerde ise, M1 makrofaja polarizasyon ve bununla ilişkili olarak inflamasyonda artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca NF- κ B yolağı TİM'de aktive edildiğinde, TİM'lerin tümörisidal bir fonksiyon kazanarak, tümör regresyonu sağladığı gösterilmiştir. Bütün bu çalışmalar, tümör tedavisinde TİM'de NFkB yolağını ciddi bir hedef haline getirmektedir (57-60).

2.1.8.2.Tümör İlişkili Makrofajlar

Tümör ilişkili makrofajlar; epidermal büyüme faktörü (EGF), IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler ve CXCL12 gibi kemokinler salgılayarak doğrudan tümör hücrelerinin yaşamasını, çoğalmasını, migrasyonunu ve metastazını desteklemektedir (61).

Tümör ilişkili makrofajların önemli fonksiyonları; tümör büyümesi ve ilerlemesinde çok önemli bir yere sahip olan anjiogenez ve dokunun yeniden yapılandırılmasındaki etkileridir. Tümör ilişkili makrofajlar genellikle tümör dokusunun avasküler, nekrotik ve hipoksik bölgelerini infiltre etmektedir (61-64).

Tümör ilişkili makrofajların histopatolojik olarak tespiti edilmesi

Monosit/makrofaj hücrelerin saptanabilmesi için birçok yüzey farklılaşma antijeni (CD)'ine karşı monoklonal antikor geliştirilmiştir. Ancak formolin ile fikse edilerek; parafin bloklama yapılan dokuda bu antikorların birçoğu çalışmamaktadır. Bu monoklonal antikorlardan en sık kullanılanı CD68'e karşı oluşturulan monoklonal antikordur. Diğer yüzey antijenlerinden farklı olarak CD68 molekülü heterojen olup Y2/131, Y1/82A, EBM11, Ki-M6, KiM7, macrosialin antibody (KIP1) ve phosphoglucomutase (PG-M1) monoklonal antikorları tarafından tanınır. Parafin bloklama yapılan dokularda, PG-M1 monoklonal antikor sadece monosit/makrofaj sistemi hücrelerini boyarken, örneğin KP1 ve EBM11 monoklonal antikorlar granülosit ve myeloid prekürsörleri de boyamaktadır. Dolayısıyla özgül ve güçlü

bir boyama yapması ve örneklerin hazırlanması sırasında uygulanan işlemlerde çok hassas olmaması sebebi ile monosit/makrofaj sistemi hücrelerinin tespitinde C68'e karşı oluşturulan antikorlardan PG-M1 monoklonal antikoruna daha uygun bulunmaktadır (65-66).

Ancak PG-M1 monoklonal antikoruna ile makrofajların boyanması özgöl olmayıp, makrofajların alt gruplarının tespiti için başka moleküller gündeme gelmiştir. M2 makrofajlar için CD163 ifadenmesi oldukça özgöl olup, in vitro olarak, monositler IFN- γ , TNF- α ve lipopolisakkarit gibi M1 makrofaj aktivasyonu sağlayan sitokinler ile inkübe edildiğinde CD163 ifadenmesinin azaldığı, IL-4, IL-10 ve G-CSF gibi M2 makrofaj polarizasyonu sağlayan sitokinler ile CD163 ifadenmesinin arttığı gözlenmiştir. CD163 transmembran bir protein olup hemoglobin-haptoglobin kompleksinin endositozundan sorumludur. Tümör ilişkili makrofajlar CD163 reseptör aracılığı ile haptoglobin-hemoglobin kompleksini hücre içerisine alarak, tümör hücreleri için gerekli olan demir için kaynak oluşturmaktadır. Parafinize edilmiş dokularda da CD163'ün monosit/makrofaj sistemine özgöl boyama yaptığı gösterilmiştir (67-69).

Tümör ilişkili makrofajlar NHL'da ve son yıllarda da HL'da kötü prognoz ile ilişkili olarak bulunmuştur (19,20). Klasik HL'da makrofajların belirteçleri olan CD163 ve CD68 ekspresyonlarında artışın kötü prognostik olduğu ve hastalığın relaps ve progresyon için yüksek risk taşıdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir. CD163 bunun yanı sıra makrofajların aktivasyonunu da göstermektedir. İmmunhistokimyasal olarak yapılan çalışmalarda CD68 ile CD163'ün yüksek ekspresyonlarının ve CD163/CD68 oranında artışın daha kısa hastalıksız sağkalım ve ilerlemesiz sağkalım süresi ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bazı çalışmalarda da CD68'in makrofajlar için spesifik olmadığı CD163'ün daha spesifik olduğu da ileri sürülmüştür (18, 70-73).

2.1.8.3 Bcl-2

Lenfoid hücrelerin büyümesi, hücrenin yaşam şansı ve hücre ölümünü kontrol eden moleküller arasındaki hassas denge ile düzenlenir. Fizyolojik hücre ölümünün düzenlenmesinde bozukluk aberran hücre birikimine ve tümör büyümesine neden olur. Apoptoz farklı morfolojik değişiklikler ve nükleus içi DNA fragmentasyonu ile karakterizedir. Apoptozun morfolojik özellikleri iyi tanımlanmış olmasına rağmen apoptoz arkasındaki moleküler mekanizmalar hala açık değildir. Bcl-2 geni mitokondride yerleşmiş bir antiapoptotik membran ilişkili moleküldür. Bcl-2 proteini antiapoptotik fonksiyonlarını, mitokondriden sitokrom c salınımını ve kaspas 9 ve Bax (Bcl-2 ilişkili x proteini) ile apoptoz

aktive edici faktör (Apaf-1) arası ilişkiyi düzenleyerek gösterir . Bcl-2 geni, onkogenik etkisini apoptozu inhibe ederek gösterir (74-76).

Lenfomalarda BCL-2 Ekspresyonu

Bcl-2'nin keşfi B hücreli folliküler lenfomaların yaklaşık %85'inde Bcl-2 geni 18q21 bölgesinin 14q32 üzerindeki immünglobulin ağır zincir lokusuna transloke olduğu karakteristik t(14;18) (q32;q31) translokasyonu taşıdığının gözlenmesiyle başlamıştır. Böylece bu translokasyon folliküler lenfoma vakalarında Bcl-2'nin aşırı ekspresyonuna neden olur (77). Bcl-2 proteini matür lenfoid dokuda topografik dağılım gösterir ve esasen germinal merkezde yoktur. Zararlı veya arızalı mutasyona sahip germinal merkez B hücreleri genellikle apoptoz ile hızlıca elimine edilirler. Germinal merkez B hücrelerinde apoptozu neden olan zararlı mutasyonların sadece bir bölümü arızalı mutasyonlar olarak tanınıp elimine edilirse, bu durumda HRS hücrelerinin transforme edici bir olay tarafından kurtularak preapoptotik germinal merkez B hücrelerini temsil edebilir. Germinal merkez B hücrelerinde Bcl-2 down regülasyonunda başarısızlığın bu hücrelerde malign transformasyonu tetikleyebileceği söylenmiştir. Hodgkin lenfomayı da içeren bazı hematopoetik malignansilerin patogenezi araştırılan çalışmalarda HL'da Bcl-2 ekspresyonu bildirilmiştir. Bir çalışmada HL materyallerinde immünohistokimyasal Bcl-2 ekspresyonunun apoptoz ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir (74-76).

Bcl-2 proteini apoptozun inhibitörü olup mitokondrial sitoplazma, endoplazmik retikulum ve nükleer membranda lokalizedir (11,12). Bcl-2 onkogeni 18.kromozomda yerleşik olup t(14;18) kromozomları arasında translokasyon söz konusudur (13). Bcl-2'nin aşırı ekspresyonu kemoterapötik ilaçlara ve radyoterapiye direnç gelişimine yol açmaktadır. Bunun yanında aşırı ekspresyon hücrelerin G₀ fazında duraksamasına da neden olmaktadır (11). Bcl-2 ekspresyonunda artış hem DBBHL gibi yüksek dereceli hem de folliküler lenfoma gibi düşük dereceli lenfoma hastalarında relaps ve tedaviye direnç ile ilişkili yanında agresif lenfomalarda prognostik belirteç olduğu saptanmıştır (11,14,15). HRS hücrelerindeki Bcl-2'nin artmış ekspresyonunun bağımsız bir prognostik belirteç olduğu ve progresyonu gösterebileceğine yönelik çalışmalar da mevcuttur (11, 16,18).

2.1.8.4. c-Met

HGF geni 18 exon, 17 introndan oluşur, yaklaşık 70 kb'dır. 1989 yılında HGF molekülünün aminoasit dizisi saptanmış ve c DNA'ları tanımlanmıştır. HGF geni ve reseptörü c-met'in 7. kromozomda kodlandığı saptanmıştır (78). Bazı faktörler HGF üretimini regüle eder. Hem IL-1 α hem de IL-1 β HGF gen ekspresyonunu ve üretimini artırır. Buna karşılık transforming growth factor β (TGF β) ve glukokortikoidler fibroblastlardan HGF salınımında inhibitör etkiye sahiptir (79). İnsan deri fibroblastlarından HGF salınımı, hem cAMP hem de membran geçirgen cAMP analogu aracılığıyla oldukça artar. HGF ile yüksek afiniteli reseptörü olarak bilinen c-met arasındaki ilişki 1991'de tanımlanmıştır (80). c-met 190 kD molekül ağırlığındadır. Disülfid bağlarıyla bağlı heterodimerik formdan oluşur . Bu protein α (145kD) ve β (50kD) subünitten oluşur ve c-met protoonkogeni ile kodlanır (81). Tüm etkinliği β subününün intrasellüler kısmı gösterir ve tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Reseptör hepatosit, fibroblast, keratinosit ve melanositin yüzeyinde gösterilebilir ve uterus, böbrek, karaciğer, dalakta saptanabilir. Hematopoetik hücreler aynı zamanda c-met reseptörü taşırlar (82). Değişik tümörlerin reseptör durumuna bakıldığında hepatoma ve melenoma hücreleri, bazı gastrointestinal tümörler ve tiroid ile akciğer kanserinde HGF reseptörü ekspresyonu saptanmıştır. İnsan lösemi ve lenfomasında c-met geninin aşırı ekspresyonu rapor edilmiştir (79). Heparan sülfat proteoglikanları HGF'yi güçlü bir şekilde bağlar ve düşük afiniteli reseptör olarak hizmet eder (82). Fare embriyosunda c-met ve HGF ekspresyonu varlığı, HGF'nin organ gelişimindeki rolünü gösterir. HGF renal tubulus hücrelerinde DNA sentezini artırır ve aynı zamanda epitelde tubul formasyonu artar. Renal hasardan sonra dolaşımdaki HGF konsantrasyonu artar. Bazı deneylerde HGF replasmanı sonrası akut renal hasarda düzelme görülmüştür (79).

c-Met sinyaline yanıt olarak, hücre tipi ve kültür şartlarına bağlı karakteristik hücresel yanıtlar ortaya çıkar. HGF/SF ve c-Met sinyalleri çeşitli hücre tiplerinde proliferatif ve antiapoptotik yanıtları indükler. Epitelyal hücreler HGF/SF ve c-Met sinyaline yanıt olarak koloni ayrılması ve epitelyal-mezenşimal geçiş gösterirler. Ayrıca bu hücrelerin motiliteleri artar. Böyle hücreler kollajen matriks içine invaze olurlar ve dallanan tübüller oluştururlar. Tübüler dallanma, kültürde gözlenen karmaşık morfolojik bir olaydır ve hücre büyümesinin, polaritesinin, hareketinin sıkı bir koordinasyonunu gerektirir (79, 82).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Araştırmanın Yeri ve Zaman

Araştırma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı'nda 2014-2015 tarihleri arasında yapılmıştır.

3.2.Araştırma Grubu

Araştırma kapsamında, 18 yaş ve üzeri HL tanısı alanlar araştırma grubunu oluşturmuştur.

3.3.Vaka Grubu

Adnan Menderes Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı'nda Takip Edilen 41 HL Tanılı hasta.

3.4.Kontrol Grubu

Lenf nodu biyopsi sonucu reaktif hiperplazi olarak değerlendirilen 16 kontrol grubu hastası

3.5.Araştırmanın Tipi

Girişimsel olmayan gözlemsel klinik çalışmadır.

3.6.Hasta Seçme İşlemi

Çalışmaya dahil edilen hastalar Adnan Menderes Üniversitesi Hematoloji BD'da takip edilen HL hastaları arasından seçildi. HL tanısı alan hastaların tanı anında ki patoloji blokları tarandı.

3.7.Veri Toplama Aracı

Veri toplamak amacıyla, 18 yaş ve üzeri HL hastalarının bilgilerinin kaydedildiği bilgi toplama formu oluşturulmuştur (EK-1). Formda hastaların yaş, cinsiyet bilgileri ile klinik bilgilerinin olduğu 47 soru mevcuttur.

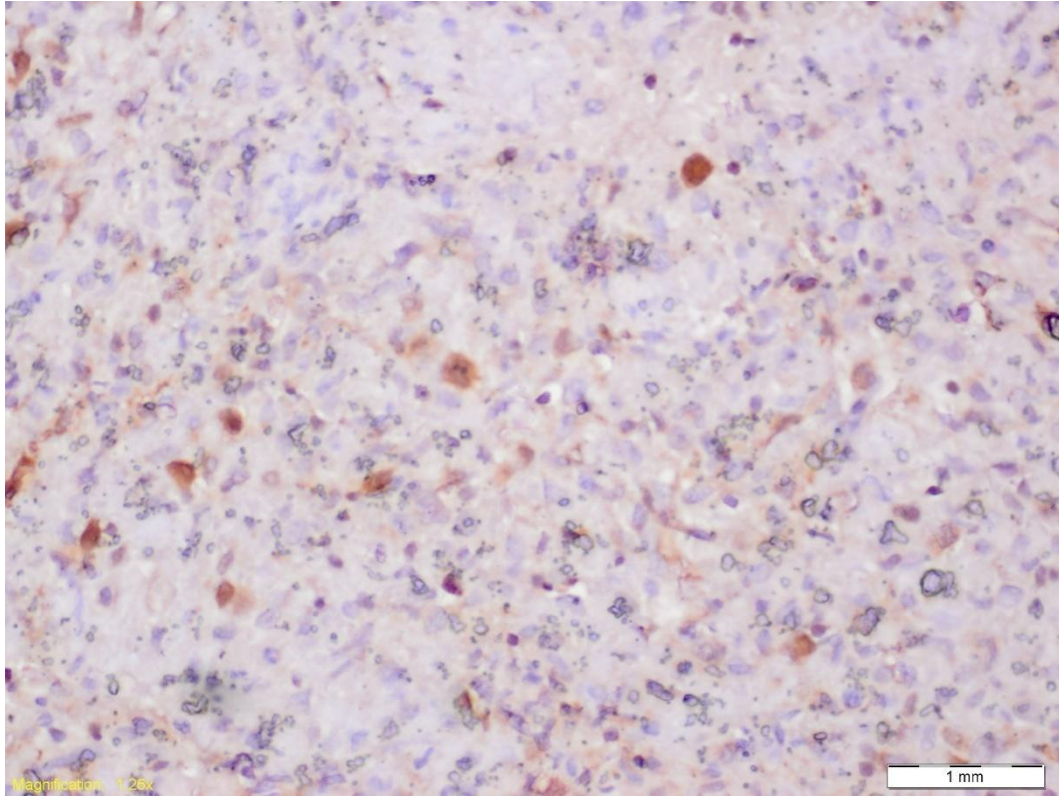
3.8.Verilerin Toplanması

HL tanılı hastaların patoloji blokları patoloji bölümü tarafından tekrar boyanarak boyama sonuçları elde edildi. Hastaların tanı anında ki laboratuvar bulguları geçmişe yönelik laboratuvar sonuçları taranarak elde edildi. Kontrol grubu olarak patoloji bölümünde lenf nodu biyopsi sonucu reaktif hiperplazi olarak değerlendirilen 15 hasta seçildi. Kontrol

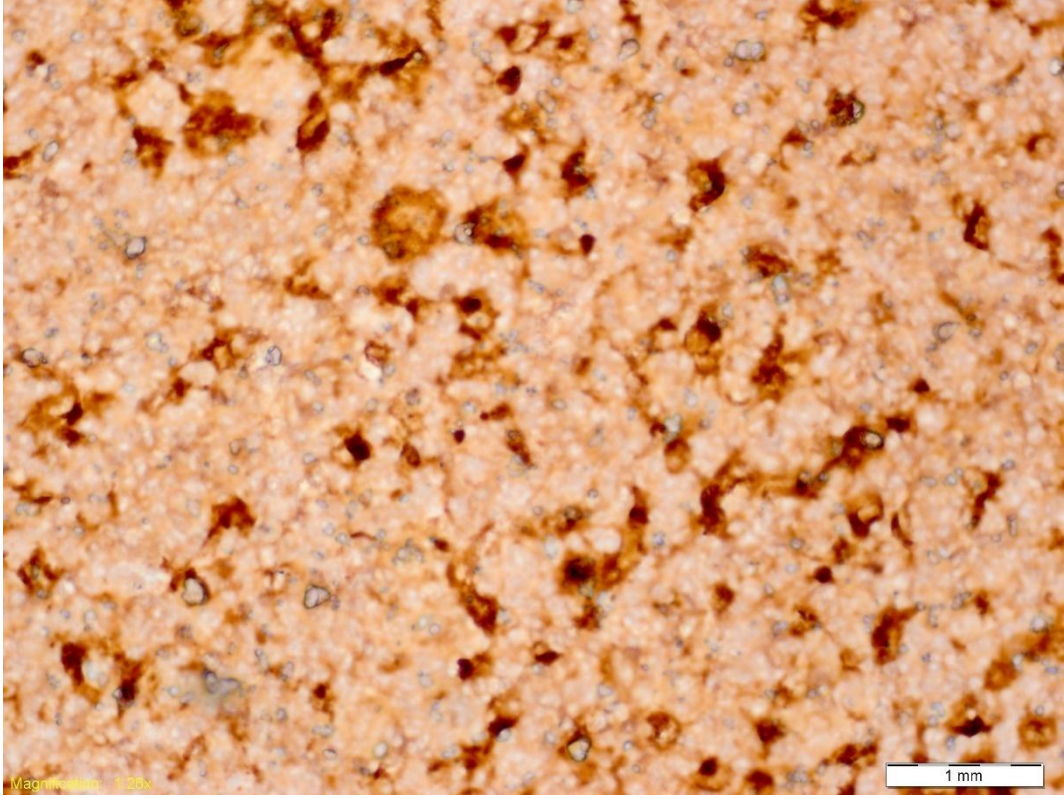
grubu hastalarının lenf nodu preparatları patoloji bölümü tarafından boyanarak boyama sonuçları elde edildi.

3.9.Laboratuvar Analizleri

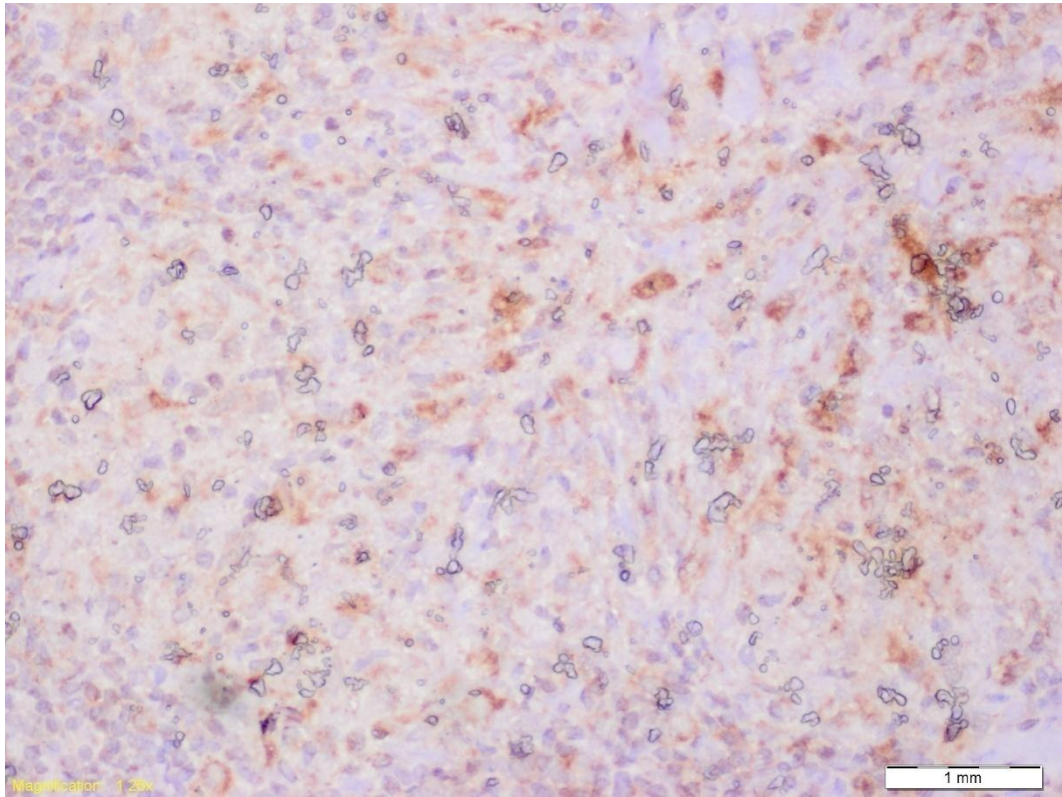
Tüm Hemotoksilen Eozin kesitler tekrar değerlendirilerek HL tanısı, alt tiplendirmesi yeniden gözden geçirilmiştir. Immunhistokimyasal boyama için CD 30 un en yoğun olduğu kesitler seçilmiştir. Kesitler üretici firma tarafından tarif edildiği gibi monoklonal antikor CD-68 (KP 1) SC 20060 , santa cruz), Bcl-2 (N-19, SC-492, santa cruz), CD -163 (K20-T, Novus) , NFkappa beta(RelA p65 scL 109, santa cruz), c-Met (C-12 sc -10, santa cruz) kullanılarak immunhistokimya boyama yapılmıştır. Işık mikroskopunda klinik bilgilerden habersiz patoloğ tarafından yapılmıştır. Yayınlarda belirtildiği gibi CD 68 için %5 altı: (-), %5-25 : (+1), %25 üstü : (+2) stoplazmik boyanma şeklinde kabul edilmiştir. (A), CD 163 stoplazmik ve membranöz %20 cut off bcl -2 için cut off değeri: %10 kabul edilerek (+) ve (-) olarak ve stoplazmik boyanma paterninde değerlendirilmiştir. (83). c-Met stoplazmik ve membranöz salınım paterninde %30 cut-off değerine göre (+) ve (-) olarak değerlendirilmiştir.



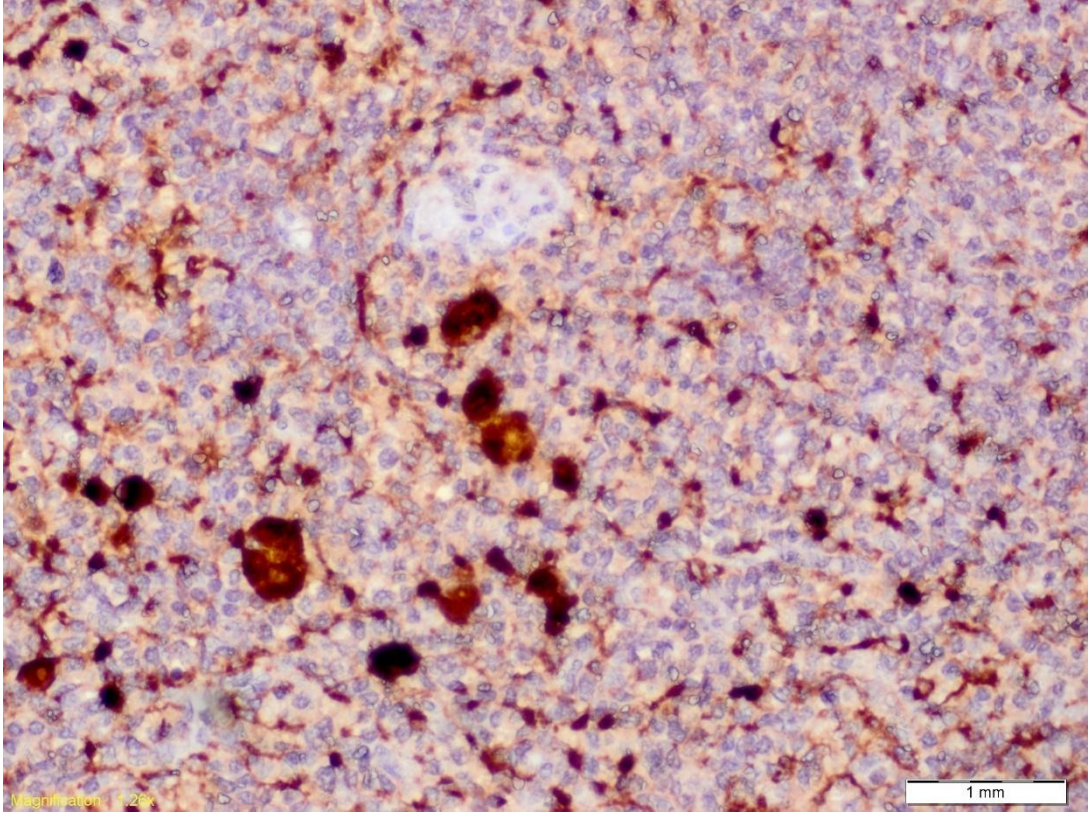
Resim 1: HL'lı Bir Olguda c-Met Pozitifliği. C-Met x 40



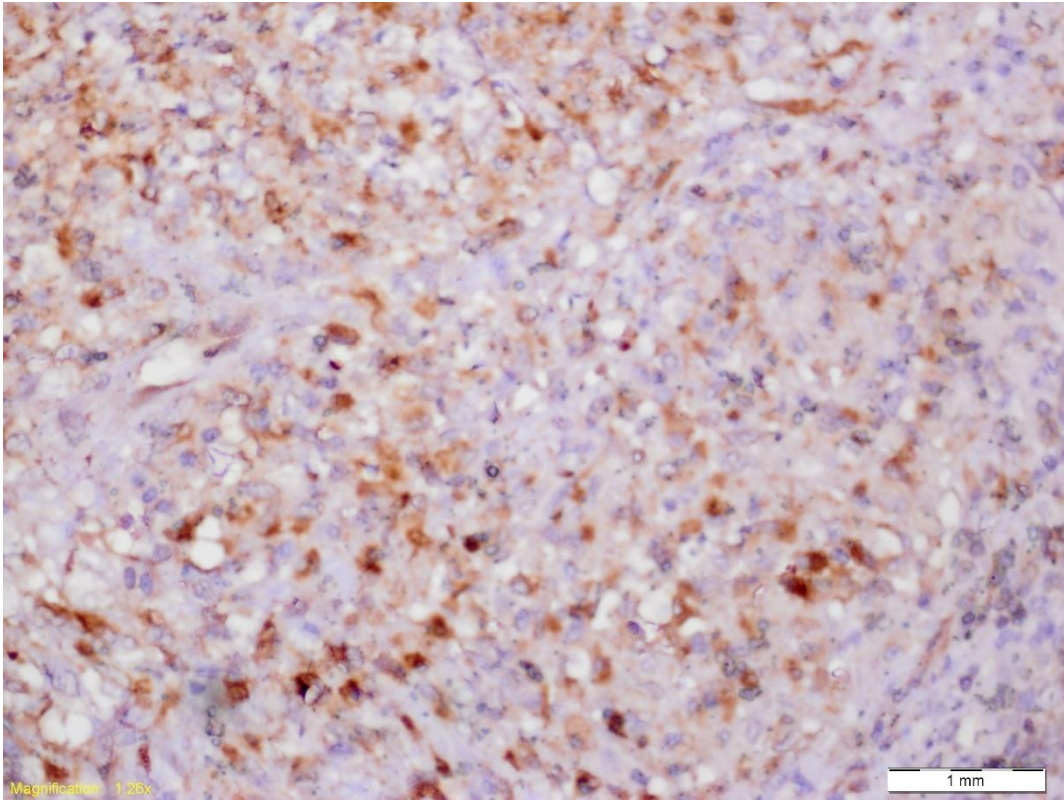
Resim 2: HL'lı Bir Olguda CD68 Pozitifliği. CD68 x 40



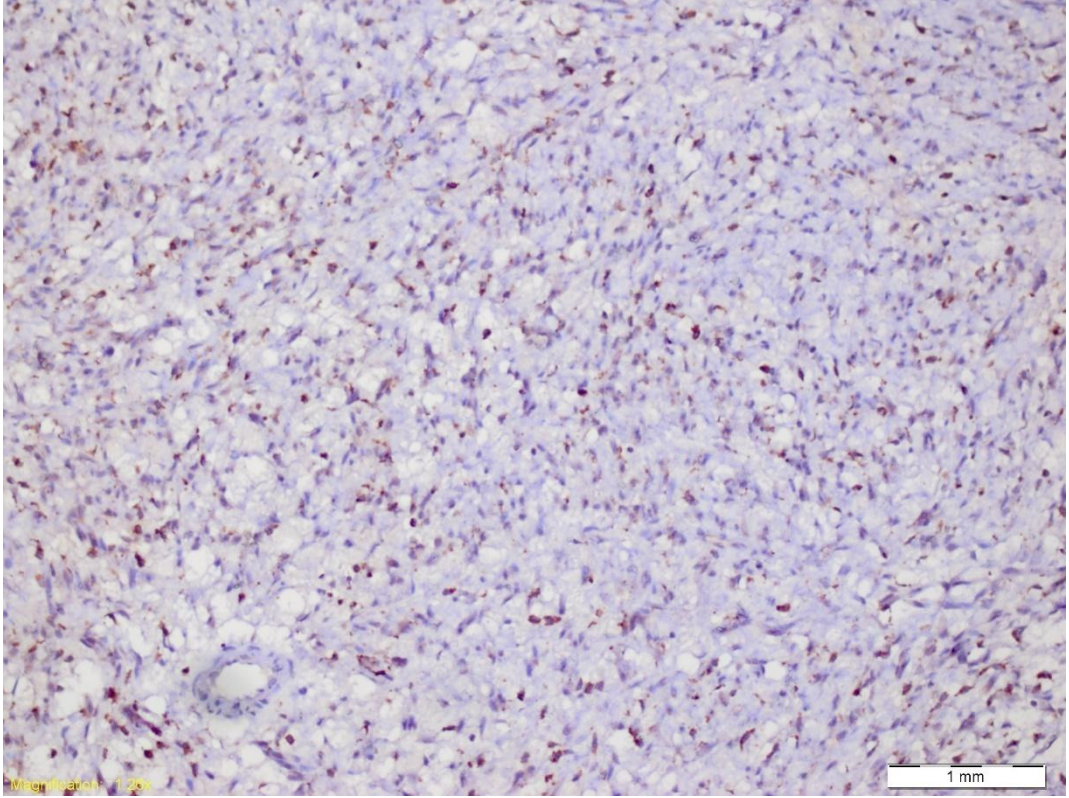
Resim 3: HL'lı Bir Olguda CD163 Pozitifliği. CD163 x 40



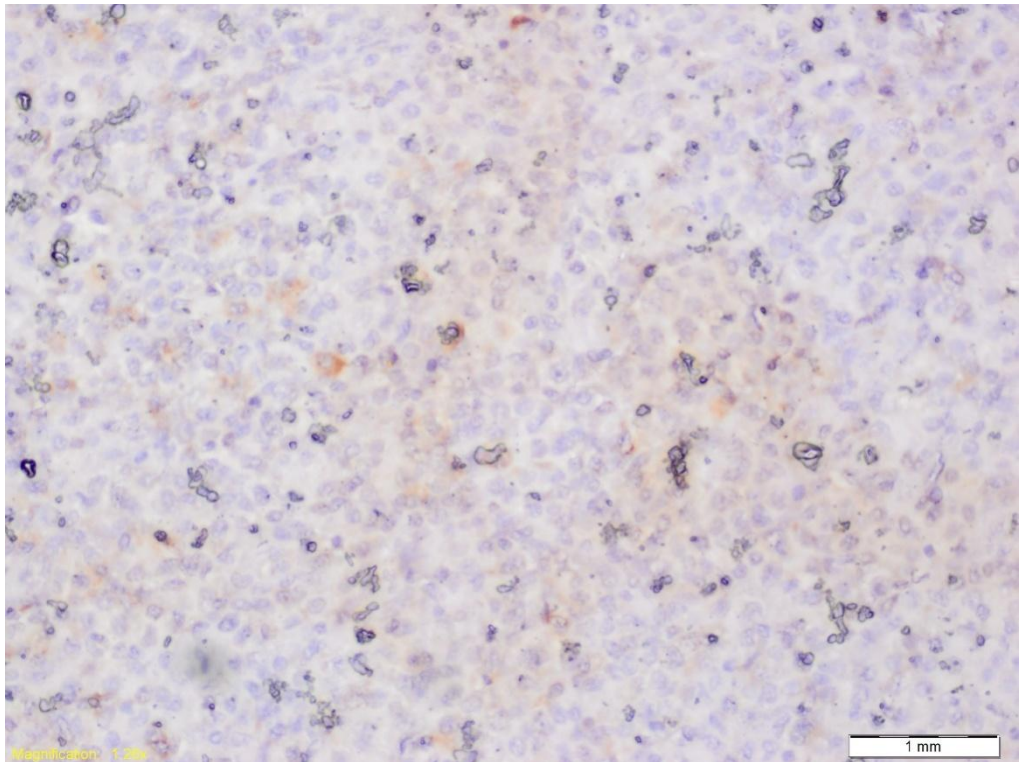
Resim 4: HL'lı Bir Olguda Bcl-2 Pozitifliği. Bcl-2 x 40



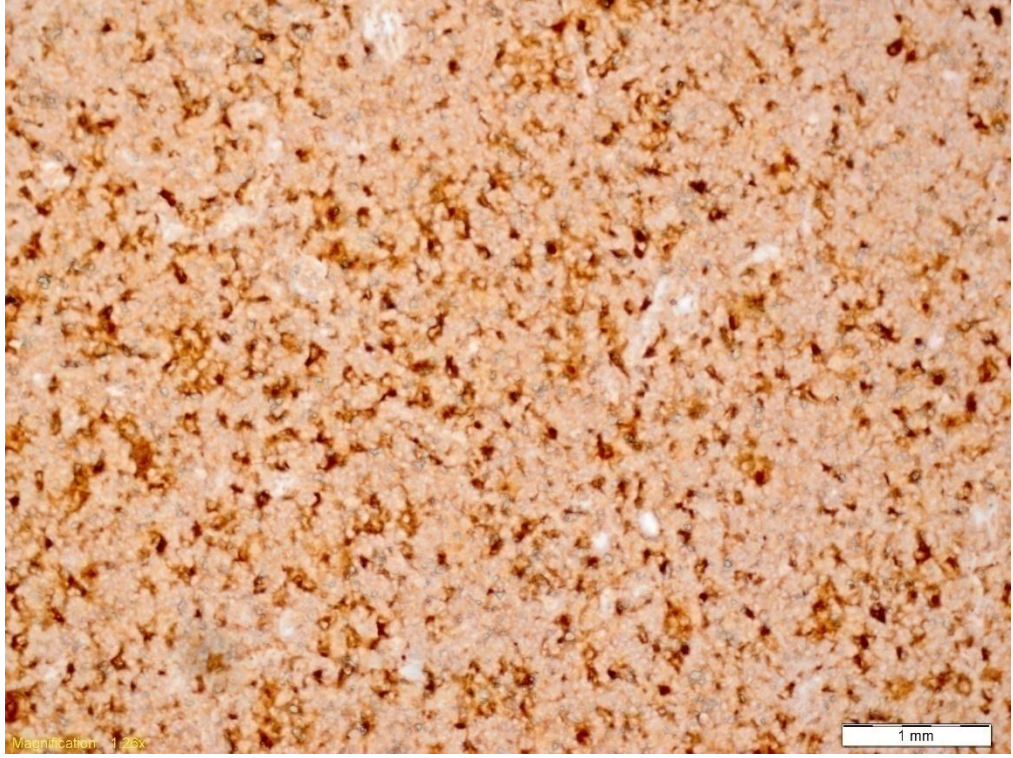
Resim 5: HL'lı Bir Olguda NFkB Pozitifliği. HE x 40



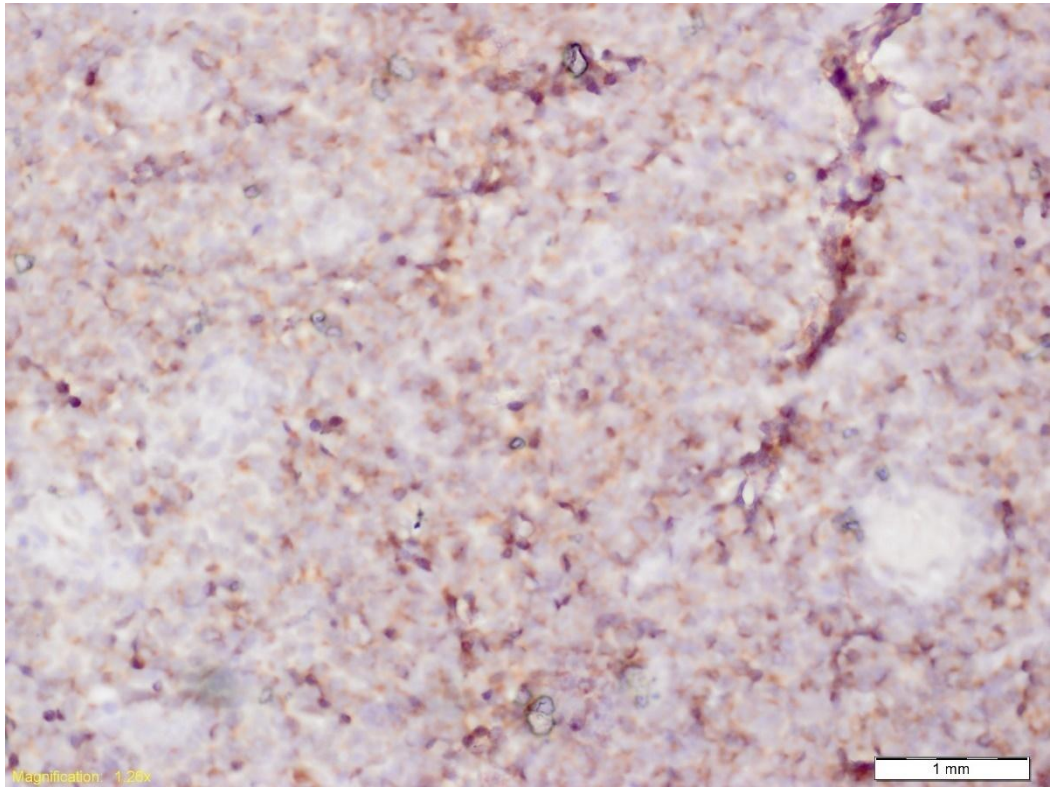
Resim 6: Kontrol Grubunda NFkB Pozitifliği. NFkB x 40



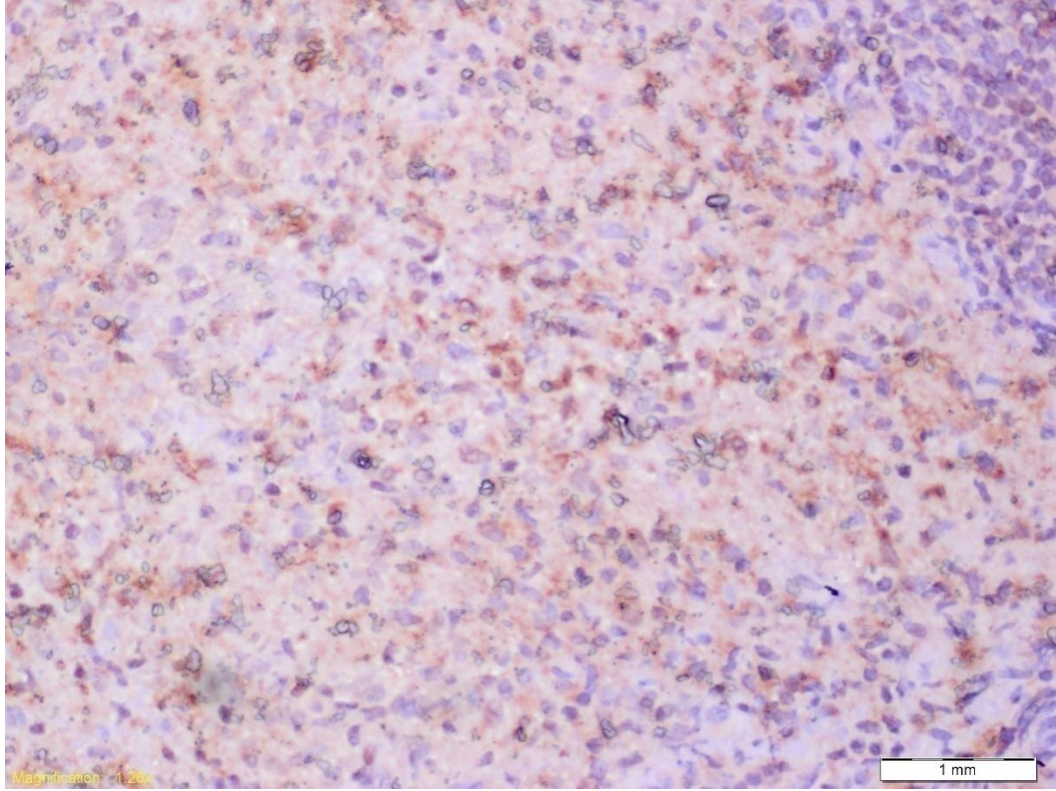
Resim 7: Kontrol Grubunda CD163 Pozitifliği. CD163 x 40



Resim 8: Kontrol Grubunda CD68 Pozitifliği. CD68 x 40



Resim 9: Kontrol Grubunda c-Met Pozitifliği. C-Met x 40



Resim 10: Kontrol Grubunda Bcl-2 Pozitifliği. Bcl-2 x 40

3.10.İstatistik Yöntem

Araştırmanın verileri SPSS 18.0 istatistik paket programı kullanılarak analiz edildi. Gruplu değişkenlerin karşılaştırılması için ki- kare testi, gerekli yerlerde Fisher'in Kesin testi, normal dağılıma uymayan bağımsız iki gruplu sürekli değişkenlerin karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi, ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Kruskal Vallis Testi, değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorow Smirnow ve Shapiro Wilk testleri ile kontrol edildi. İstatistiksel anlamlılık için tip 1 hata düzeyi (alfa) 0,05'ten küçük olan değerler istatistik olarak anlamlı kabul edildi. Normal dağılıma uymayan üç grup karşılaştırılmasında tip 1 hata düzeyi (alfa) 0,017'den küçük olan değerler istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

3.11.İzinler ve Etik Konular

Araştırmaya başlamadan önce Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2014/420 protokolo numaralı yazılı izin alınmıştır (EK-2). Araştırma kapsamında elde edilen kişisel bilgiler araştırma dışında kullanılmamış olup üçüncü kişiler ile kesinlikle paylaşılmamıştır.

4-BULGULAR

Araştırmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 48,2 yıl olup %68,3'ü erkektir. Ayrıca bütün hastaların %30,0'ı lenfositten zengin tip, %45'i karışık hücreli, %20'si nodüler sklerozan ve %5'i lenfositten yoksun tip olarak bulunmuştur (Tablo 3).

Tablo 3: Hodgkin Hastaların Yaş ve Cinsiyetlerinin Dağılımı

Özellik	Sayı	Yüzde
Yaş (Yıl) (n:40)		
≤50	20	50,0
≥51	20	50,0
Ortalama±SS:48,2±17,0 Ortanca:49 En Küçük:19 En Büyük:82		
Cinsiyet		
Erkek	28	68,3
Kadın	13	31,7
Lenfoma Tipi (n:40)		
Lenfositten Zengin	12	30,0
Lenfositten Yoksun	2	5,0
Nodüler Sklerozan	8	20,0
Karışık Hücreli	18	45,0
Toplam	41	100,0

Bütün hastaların ortalama hemoglobin değeri 12, lökosit 9756,3, trombosit 323024 ve lenfosit 1869,5 olarak bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 4: Hastaların Laboratuvar Bulgularının Dağılımı

Grup	N	Ortalama	SS	Ortanca	En Küçük	En Büyük
Hemoglobin	41	12,0	1,9	12,5	8,2	16,3
Lökosit	41	9756,3	6907,5	7600	1790	31480
Trombosit	41	323024,4	212463,0	273000	74000	1370000
Lenfosit	40	1869,5	1590,8	1400	430	6730
Monosit	40	708,5	661,8	565,0	40,0	3800,0
Eozinofil	40	507,5	985,1	240	0	5270
Rdw	41	15,7	2,7	14,9	12,1	22,7
Mpv	41	9,0	1,3	8,9	5,8	11,7
ESH	40	48,0	30,3	39,5	6	105
Üre	41	30,7	12,4	27,0	13,0	60,0
Kreatinin	41	0,7	0,1	0,7	0,5	0,9
Ldh	41	235,8	139,2	197	103	775
Kalsiyum	41	10,2	8,2	8,8	7,9	61
Total protein	41	7,0	0,6	7,1	5,7	8
Albumin	41	3,6	0,7	3,8	2,3	4,8
Ürikasit	41	4,8	1,2	4,8	1,6	8,7
Ast	41	25,0	15,6	21	11	90
Alt	41	26,1	23,1	19	6	124
Ggt	41	84,7	134,3	40	7	729
Alp	41	139,3	136,1	103,0	28,0	687,0

Hastaların %91,7'sinde ekstrasnodal tutulum bulunmamakta, %34,2'sinin Ann Arbor evresi III-A, %2,7'sinde Bulky kitle mevcut, %50'sinde EORTC orta derece, %55'inde GHSG derecesi orta ve %25,6'sında IPSS derecesi 2 olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Tablo 5: Hastaların Prognostik Belirteçleri

Özellik	Sayı	Yüzde
Ekstrasnodal Tutulum		
Var	3	8,3
Yok	33	91,7
Ann Arbor		
I-A	3	7,9
II-A	12	31,6
III-A	13	34,2
IV-A	10	26,3
Bulky Kitle		
Var	1	2,7
Yok	36	97,3
EORTC		
Sınırlı	9	22,5
Orta	20	50,0
İleri	8	20,0
Çok İleri	3	7,5
GHSG		
Sınırlı	18	45,0
Orta	22	55,0
IPSS		
0	3	7,7
1	9	23,1
2	10	25,6
3	10	25,6
4	6	15,4
5	1	2,6

Hastaların %35'inin KT (ABVD) sayısı 8, %59,5'inde KT yanıtı kısmi, %22,2'sinde relaps var, %8,1'ine otolog nakil yapılmış, hiçbir hastaya allonakil yapılmamış, %79,5'inde ikinci tedavi yok ve %82,5'inde ABVD tamamlanmıştır (Tablo 6).

Tablo 6: Hastaların Tedaviye Yanıtlarının Değerlendirilmesi

Özellik	Sayı	Yüzde
KT (ABVD) Sayısı		
2	2	5,0
3	1	2,5
4	12	30,0
5	1	2,5
6	8	20,0
7	2	5,0
8	14	35,0
KT (ABVD) Yanıt		
Yanıt Yok	8	21,6
Tam Yanıt	22	59,5
Kısmi Yanıt	7	18,9
Relaps		
Var	8	22,2
Yok	28	77,8
Otolog Nakil		
Yapılmadı	34	91,9
Yapıldı	3	8,1
Allo Nakil		
Yapılmadı	39	100,0
Yapıldı	0	0,0
İkinci Tedavi		
Yok	31	79,5
Eshap	5	12,8
Beacopp	2	5,1
Mine	1	2,6
KT (ABVD) Sonuç		
Tamamlandı	33	82,5
Devam Ediyor	7	17,5

Araştırmada HL grubunun %56,1'i CD163 ile boyanmamış, %39'u zayıf, %4,9'u ise güçlü boyanmıştır. Aynı değerler kontrol grubunda sırasıyla %33,3, %66 ve %0 olarak bulunmuştur.

HL grubunun %22,0'ı CD68 ile boyanmamış, %61'i zayıf, %17,1'i ise güçlü boyanmıştır. Aynı değerler kontrol grubunda sırasıyla %13,3, %86,7 ve %0 olarak bulunmuştur.

HL grubunun %61,0'ı c-Met ile boyanmamış, %39,0'ı zayıf boyanmıştır. Aynı değerler kontrol grubunda sırasıyla %73,3 ve %26,7 olarak bulunmuştur.

HL grubunun %70,7'si Bcl-2 ile boyanmamış, %29,3'ü zayıf boyanmıştır. Aynı değerler kontrol grubunda sırasıyla %86,7 ve %13,3 olarak bulunmuştur.

HL grubunun %78,0'ı NFkB ile boyanmamış, %22,0'ı zayıf boyanmıştır. Aynı değerler kontrol grubunda sırasıyla %73,3 ve %26,7 olarak bulunmuştur.

HL grubu ile kontrol grubu arasında c-Met, Bcl-2 ve NFkB boyanmaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 7).

Tablo 7: Hasta Grubuna Göre Boyama Sonuçlarının Dağılımı

	Hasta Grubu				
Özellik	Hodgkin		Kontrol		p
CD 163	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
Yok	23	56,1	5	33,3	-
Zayıf	16	39,0	10	66,7	
Güçlü	2	4,9	0	0,0	
CD 68					
Yok	9	22,0	2	13,3	-
Zayıf	25	61,0	13	86,7	
Güçlü	7	17,1	0	0,0	
c-Met					
Yok	25	61,0	11	73,3	0,393
Zayıf	16	39,0	4	26,7	
Bcl-2					
Yok	29	70,7	13	86,7	0,307
Zayıf	12	29,3	2	13,3	
NFkB					
Yok	32	78,0	11	73,3	0,730*
Zayıf	9	22,0	4	26,7	
*Fisher'in Kesin testi					

Lenfositten zengin tip HL hastalarının %58,3'ü CD163 boyanmamış, %41,7'si ise zayıf boyanmıştır. Lenfositten yoksun tip 2 hastanın 1 tanesi CD163 boyanmamış, bir tanesi de zayıf boyanmıştır. Noduler sklerozan tip hastaların %50'si boyanmamış, %50'si de zayıf boyanmıştır. Karışık hücreli hastaların %61,1'i CD163 boyanmamış, %27,8'i zayıf, %11,1'i de güçlü boyanmıştır.

Lenfositten zengin tip HL hastalarının %25,0'ı CD68 boyanmamış, %58,3'ü zayıf, %16,7'si de güçlü boyanmıştır. Lenfositten yoksun tip 2 hastanın 1 tanesi CD68 zayıf, bir tanesi de güçlü boyanmıştır. Noduler sklerozan tip hastaların tamamı CD68 zayıf boyanmıştır. Karışık hücreli hastaların %33,3'ü CD68 boyanmamış, %50'si'i zayıf, %16,7'si de güçlü boyanmıştır.

Lenfositten zengin tip HL hastalarının %75,0'ı c-Met boyanmamış, %25,0'ı zayıf boyanmıştır. Lenfositten yoksun tip 2 hastanın 1 tanesi c-Met boyanmamış, bir tanesi de zayıf boyanmıştır. Noduler sklerozan tip hastaların %37,5'i c-Met boyanmamış, %62,5'i de zayıf boyanmıştır. Karışık hücreli hastaların %66,7'si c-Met boyanmamış, %33,3'ü zayıf boyanmıştır.

Lenfositten zengin tip HL hastalarının %83,3'ü Bcl-2 boyanmamış, %16,7'si zayıf boyanmıştır. Lenfositten yoksun tip 2 hastanın 1 tanesi Bcl-2 boyanmamış, bir tanesi de zayıf boyanmıştır. Noduler sklerozan tip hastaların %87,5'i Bcl-2 boyanmamış, %12,5'i de zayıf boyanmıştır. Karışık hücreli hastaların %61,1'i Bcl-2 boyanmamış, %38,9'u zayıf boyanmıştır.

Lenfositten zengin tip HL hastalarının %91,7'si NFkB boyanmamış, %8,1'i zayıf boyanmıştır. Lenfositten yoksun tip 2 hastanın tamamı NFkB boyanmamıştır. Noduler sklerozan tip hastaların %50'si NFkB boyanmamış, %50'si de zayıf boyanmıştır. Karışık hücreli hastaların %83,3'ü NFkB boyanmamış, %16,7'si zayıf boyanmıştır (Tablo 8).

Tablo 8: Lenfoma Alt Tipine Göre Boyama Sonuçlarının Dağılımı

Özellik	L.Zengin		L. Yoksun		Nodüler Sklerozan		Karışık Hücreli	
CD 163	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Yok	7	58,3	1	50,0	4	50,0	11	61,1
Zayıf	5	41,7	1	50,0	4	50,0	5	27,8
Güçlü	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	11,1
CD 68								
Yok	3	25,0	0	0,0	0	0,0	6	33,3
Zayıf	7	58,3	1	50,0	8	100,0	9	50,0
Güçlü	2	16,7	1	50,0	0	0,0	3	16,7
c-Met								
Yok	9	75,0	1	50,0	3	37,5	12	66,7
Zayıf	3	25,0	1	50,0	5	62,5	6	33,3
Bcl-2								
Yok	10	83,3	1	50,0	7	87,5	11	61,1
Zayıf	2	16,7	1	50,0	1	12,5	7	38,9
NFkB								
Yok	11	91,7	2	100,0	4	50,0	15	83,3
Zayıf	1	8,3	0	0,0	4	50,0	3	16,7

Araştırmada hastaların tanı konduktan sonra araştırma tarihine kadar olan yaşam süreleri boyanma özelliklerine göre incelenmiştir. Bu kapsamda CD163, CD 68, c-Met, Bcl-2 ve NFkB boyanma sonucu ile yaşam süreleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına rağmen, zayıf boyanan hastaların ortalama yaşam süreleri, hiç boyanmayan hastalardan fazla bulunmuştur (Tablo 9).

Tablo 9: Boyanma Özelliklerine Göre Ortalama Yaşam Sürelerinin Dağılımı

Özellik	Boyanma	N	Ortalama	SS	Ortanca	p
CD163*	Yok	23	30,7	12,2	26,0	0,293
	Zayıf	16	40,8	19,1	42,0	
	Güçlü	2	27,5	2,1	27,5	
CD68*	Yok	9	27,8	14,2	22,0	0,248
	Zayıf	25	36,9	16,5	36,0	
	Güçlü	7	34,6	13,3	29,0	
c-MetT	Yok	25	31,08	14,25	26,0	0,069
	Zayıf	16	39,88	16,65	42,0	
Bcl-2	Yok	29	32,45	14,60	28,0	0,207
	Zayıf	12	39,50	17,58	39,5	
NFkB	Yok	32	32,78	14,48	27,5	0,201
	Zayıf	9	40,67	18,87	42,0	
*Kruskal Wallis testinde 3 grup karşılaştırıldığı için $p=0,017$ ($0,05/3$) ve altında olan değerler anlamlı kabul edilmiştir. (Bonferroni Düzeltmeli p değeri)						

5- TARTIŞMA

Çalışmamıza dahil olan hastaların 28'i erkek (%68,3) olup, hastaların yaş ortalaması 48 yıl idi. HL'nın ikinci pik yaptığı dönemim 50'li yaşlar olduğu düşünüldüğünde (1), araştırmaya dahil edilen hastaların yaş ortalamasının 50'li yaşlardaki pik ile uygunluk gösterdiği görülmektedir. Ayrıca hastaların %68,3'ünün erkek olması da literatür ile uyumludur. Çünkü HL erkeklerde kadınlardan daha fazla görülmekte olup, erkek kadın oranı 1,4'tür (30). İnan'ın HL ile ilgili yaptığı benzer bir araştırmada (84), HL hastalarının %67,8'inin, Yavuz'un yaptığı bir araştırmada (85) ise %64,5'inin erkek olduğu bulunmuştur. Yıldırım ve arkadaşlarının Antalya'da yaptığı çalışmada (86), HL hastalarının %62,6'sının erkek olduğu ve hastalığın 50 yaşından sonra ikinci kez pik yaptığı bulunmuştur.

Araştırmamızda bütün hastaların %30,0'ı lenfositten zengin tip, %45'i karışık hücreli (mikst), %20'si nodüler sklerozan ve %5'i lenfositten yoksun tip olarak bulunmuştur (Tablo 1). HL'nın histolojik alt tiplerinin dağılımı incelendiğinde, gelişmiş ülkelerde Nodüler sklerozan tip HL'nın, KHL 'ların %70'ini oluşturduğu görülmektedir (87).

Mikst tip HL, gelişmiş ülkelerde %15-30 arasında görülmekte olup, gelişmekte olan ülkelerde en sık görülen KHL alt grubudur. Lenfositten zengin tip HL Klasik HL vakalarının %5-6'sını oluşturmaktadır. Lenfositten yoksun tip HL, daha nadir görülmekte olup, KHL vakalarının %1'ini oluşturmaktadır (88). Bizim çalışmamızda da en sık görülen alt tip, mikst HL olup, bunu lenfositten zengin tip ve nodüler sklerozan tip takip etmiştir. Çalışmamızda lenfositten yoksun tip HL'nın düşük düzeyde görülmesi gelişmekte olan ülke profili ile uyumluluk göstermektedir.

Steidl ve arkadaşlarının Kanada'da yaptığı bir çalışmada, tüm HL hastalarının %55'i erkek olup, %76,1'i nodüler sklerozan tip, %16,1'i mikst, %3'ü lenfositten zengin, %3'ü de lenfositten fakir tip olarak ulunmuştur. Bu çalışma, gelişmiş ülkede yapıldığı için HL alt tipi olarak en sık nodüler sklerozan HL çıkması beklenen bir sonuçtur (89).

Türkiye'de HL histopatolojik alt sınıfların görülme sıklıkları incelendiğinde, tüm HL hastalarının %5-10 lenfositten zengin tip, %25-35 nodüler sklerozan tip, %35-50 mikst tip ve %5-10 lenfositten yoksun tip olduğu tespit edilmiştir. Kayseri'de yapılan bir çalışmada, HL hastalarının %19,9'u lenfositten zengin tip, %23'ü nodüler sklerozan, %47,8'i mikst selüler, %9,3'ü lenfositten yoksun tip olduğu görülmüştür (90).

Tüzüner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 1976-1986 yılları arasında incelenen 665 HL vakası incelenmiş olup, bu hastaların %57'si mikst, %15'i nodüler sklerozan, %12'si lenfositten yoksun ve %9'u kenfositten zengin tip HL olduğu tespit edilmiştir (91).

Yavuz'un yaptığı benzer bir çalışmada tüm hastaların %61,8'i nodüler sklerozan, %29,4'ü de mikst hücreli HL olarak bulunmuştur. Başsüllü'nün yaptığı çalışmada ise, klasik HL hastalarının %46,9'u mikst, %34,3'ünü nodüler sklerozan ve %8,2'sini ise lenfositten zengin tip HL hastaları oluşturmuştur (88).

Yıldırım ve arkadaşlarının Antalya'da yaptığı çalışmada, tüm vakaların %52,7'si Nodüler Sklerozan, %32,5'i mikst, %8,5'i lenfositten zengin tip ve %4,2'si ise lenfositten fakir tip olarak bulunmuştur (86).

Şeker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, vakaların %50,3'ü erkek olup ortalama yaşı 40,2 yıl olarak bulunmuştur (92). Aynı çalışmada, en sık izlenen histopatolojik alt tip nodüler sklerozan (%52,5) iken mikst tip HL ise (%35,6) ikinci sıklıkta bulunmuştur. Bu sonuçlar daha çok gelişmiş ülke HL alt tiplerine benzemektedir. Ayrıca hastaların %7,5'i lenfositten zengin tip ve %3,1'i ise lenfositten fakir tip olarak tespit edilmiştir.

Şermet'in yaptığı bir çalışmada, HL'li hastaların yaş ortalaması 42.76 ± 4.33 yıl olarak bulunmuştur. Aynı araştırmada 21 hastanın %57.1'i erkektir. HL'li 21 hastadan 6'sı (%28.6) nodüler sklerozan, 2'si (%9.5) mikst sellüler, 1'i (%4.8) lenfositten zengin, 1'i (%4.8) lenfositten fakir, 5'i (%23.8) nodüler lenfosit predominant HL olarak bulunmuştur. İki (%9.5) hasta evre 1, 7 (%33.3) hasta evre 2, 6 (%28.6) hasta evre 3 ve 6 (%28.6) hasta evre 4'tür. Hastaların yalnızca 9'unda (%42.9) ektranodal tutulum mevcuttu (93).

Hastalarımızın %91,7'sinde ektranodal tutulum bulunmamakta, %34,2'sinin Ann Arbor evresi III-A, %2,7'sinde Bulky kitle mevcut, %50'sinde EORTC orta derece, %55'inde GHSG derecesi orta ve %25,6'sında IPSS derecesi 2 olarak bulunmuştur (Tablo 3).

Yavuz'un yaptığı çalışmada (85), Hodgkin Lenfoma hastalarının %8,8'inde ekstra nodal tutulum bulunmakta, %35,3'ünün Ann Arbor evresi Evre III, %8,8'inde Bulky kitle mevcut olup, %14,6'sının EORTC evresi orta olarak bulunmuştur. Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (86), hastaların %3,5'inde ektranodal tutulum bulunmakta idi. Yavuz'un yaptığı çalışma ile bizim çalışmamız evre ve ektranodal tutulum sıklığı açısından benzerlik göstermektedir.

Şeker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (92), tanı anında 14 hasta evre I, 84 hasta evre II olmak üzere %59.4 hasta erken evrede, 31 hasta evre III, 27 hasta evre IV olmak üzere %35.2 hasta ileri evrede bulunmuştur. Bulky hastalık hastaların %19.4'unda gözlemlendi. Ekstranodal tutulum en sık karaciğerde olmak üzere %17 hastada görüldü.

Steidl ve arkadaşlarının çalışmasında, HL tedavisi başarılı olan hastaların %14'ü evre I, %60'ı evre II, %16'sı evre III ve %10'u evre IV hastalardır. Aynı çalışmada, tedavisi tamamlanan hastaların %18'inde, tedavisi tamamlanamayan hastaların %26'sında Bulky kitle mevcut olup, tedavisi tamamlanan hastaların %14'ünün IPS skoru 4 (Yüksek Risk) ve üzerinde tedavisi tamamlanmayan hastaların %18'inin IPS skoru 4 ve üzerindedir. Ayrıca hastalara ikincil tedavi ve otolog nakil yapılmamıştır (89).

Hastalarımızın %35'inin KT (ABVD) sayısı 8, %30'unun 4 ve %20'sinin 6, %59,5'inde KT yanıtı tam, %18,9'unda kısmi, %22,2'sinde relaps var, %8,1'ine otolog nakil yapılmış, %79,5'inde ikinci tedavi yok ve %82,5'inde KT tamamlanmıştır (Tablo 4).

Steidl ve arkadaşlarının çalışmasında, hastalara ikincil tedavi verilmemiş ve otolog kök hücre nakli yapılmamıştır (89).

Yavuz'un yaptığı araştırmada (85), HL hastalarının %66'sı 8 kür, %17,6'si ise 4 kür KT (ABVD) almıştır. Aynı araştırmada tedavi sonrası 31 (%91.2) hasta komplet remisyona (tam cevap) girmiştir. Üç (%8.8) hasta ise primer refrakter olarak değerlendirilmiştir.

Şermet'in Eskişehir'de yaptığı çalışmada (94), HL hastalarında verilen 2-3 kür ABVD sonrası ara dönemde yanıt değerlendirme amaçlı çekilen PET BT'de 11 (%68.8) hastada tam, 3 (%18.8) hastada kısmi remisyon gözlemlendi. Tedavi sonrası yapılan değerlendirmede ise 15 (%88.2) hastada tam, 1 (%5.9) hastada kısmi remisyon mevcuttu. Bir (%5.9) hastada progresyon saptandı.

Şeker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (92), tüm hastalara 1. sıra kemoterapi protokolü olarak ABVD uygulanmıştır. Takip süresince 39 (%23.6) hastada relaps geliştiği görülmüş, 31 (%17.4) hasta primer refrakter hastalık veya nüks nedeniyle 2. sıra kemoterapi verilmiştir. İkinci sıra kemoterapi rejimi olarak 20 hastaya ICE, 3 hastaya DHAP, 3 hastaya ABVD, 2 hastaya COPP, 2 hastaya GDS ve 1 hastaya EVAP rejimi uygulanmıştır. Aynı çalışmada on altı hastaya ise kurtarma tedavisi sonrası, otolog nakil yapılmıştır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hastaların %20,5'ine ikinci sıra KT verilmiş ve %8,1'ine de otolog nakil yapılmıştır.

Araştırmamızda, boyanma özellikleri ile tanı anından araştırmamızın yapıldığı ana kadar geçen süreler incelendiğinde, bütün boyamalarda (CD163, CD 68, c-Met, Bcl-2 ve NFkB), zayıf boyanan hastaların, bugüne kadar ki yaşam sürelerinin hiç boyanmayan hastalardan daha uzun olduğu sonucu elde edilmiştir (Tablo 7). Bu sonuç literatür ile çelişkili bir durum olarak değerlendirilmiştir.

Hepatosit büyüme faktörü (HGF)/HGF ligandı c-Met sinyal yolağı proliferasyon, yaşam süresi ve migrasyon gibi çeşitli biyolojik olayları düzenlemektedir (21,22). Bu yolağın gen amplifikasyonu, translokasyon, mutasyon veya otokrin ya da parakrin sinyali nedeniyle düzensizleşmesi birçok malign hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Özellikle c-Met proto-onkogeninin DBBHL, mesane, meme, over ve kolorektal kanserlerde prognostik rolü olduğu gösterilmiştir (21, 23-25). Klasik HL hastalarının doku örneklerinin %33-100'ünde c-Met ekspresyonu saptanmıştır (21, 26-27). Diğer malign hastalıkların aksine HRS hücrelerindeki c-Met ekspresyonunun olumlu prognostik önem taşıdığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (21, 94). Buna karşın Bedewy ve ark. (95) CD163 ve c-Met ekspresyonlarının birlikteliğinin klasik HL'da kötü prognozu gösterdiğini immunhistokimyasal olarak göstermişlerdir.

Xu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, c-Met ekspresyonu olan HL hastalarında 5 yıllık hastalıksız sağkalım %94 iken, c-Met ekspresyonu olmayan HL hastalarında 5 yıllık hastalıksız sağkalım %73 olarak bulunmuştur (96).

Wha Koh'un yaptığı bir çalışmada c-Met ekspresyonu olan HL hastalarının genel sağkalımının daha iyi olduğu bulunmuştur (97).

Steidl'in yaptığı çalışmada, HL hastalarında artmış CD68 makrofaj düzeyinin hastalıksız geçen sürenin azalmasına, relaps riskinin artmasına ve tedaviye yanıtın azalmasına neden olduğu ve kötü prognoz gösterdiği bulunmuştur. Bu nedenle hastalığın prognozunda yeni bir risk faktörü olarak değerlendirilmesini önermişlerdir (89).

Azambuja'nın yaptığı başka bir çalışmada ise, ABVD KT protokolü uygulanan 265 HL hastası incelenmiş olup, CD68 ve CD163 ile HL hastalarının kliniği arasında her hangi bir ilişki bulunamamıştır (98). Ancak aynı çalışmada, HRS hücrelerinde EBV pozitifliği ile CD68 ve CD163 arasında ilişki bulunmuş olup, prognostik sınıflamada bu belirteçlerin önemli olabileceği vurgulanmıştır.

Yoon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, artmış CD68 ve 163 ekspresyonlarının, hastalıksız sağkalım süresini azalttığı ve tedavi ile ilişkili ölümleri artırdığı bulunmuştur (99).

Koh'un yaptığı bir çalışmada, CD68 ve CD163'ün HL'da hastalıksız geçen süreyi kısalttığı bulunmuş olup, CD68 ve 163'ün yüksek olmasının kötü prognozu gösterdiğini belirtmişlerdir(74). Ancak Harris ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, CD68 ve CD163'ün yüksek olmasının hastalığın tekrarlamasında her hangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (100).

Jakovic ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ileri evre HL hastası 52 kişi incelenmiş ve artmış CD68 düzeyinin 5 yıllık genel sağkalımı ve hastalıksız geçen süreyi azalttığı bulunmuştur (101).

Klein ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise, 88 HL hastasında CD68 ve CD163 miktarı ile genel sağkalım arasındaki ilişki incelenmiş, artmış CD163 seviyesinin genel sağkalımı azalttığı, ancak CD68 seviyesi ile genel sağkalım arasında her hangi bir ilişki olmadığı bulunmuştur (73).

Jakovic ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise, Bcl-2 ve CD68 düzeyinin artmasının, HL hastalarında genel sağkalımı azalttığı bulunmuştur (102). Aynı çalışmada, HL'da genel sağkalımı azaltan 5 önemli faktör tespit edilmiştir. Bunlar Bcl-2 ve CD68 ekspresyonu, IPS'ni 2'nin üzerinde olması, Bulky kitle olması ve total lenf nodu tutulumunun olmasıdır.

Sup ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Bcl-2 ekspresyonunun artması ile genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım arasında negatif ilişki olduğu bulunmuştur(16). Aynı çalışmada, BCL2 ekspresyonunun yeni tanı almış HL hastalarında, hastalığın prognozunun nasıl olabileceği konusunda fikir verebilecek bağımsız bir belirteç olabileceği vurgulanmıştır.

Jakovic'in yaptığı bir çalışmada, tümör hücrelerindeki Bcl-2 ekspresyonunun %50'nin altında olması, HL hastalarının remisyona girme olasılığını artırdığı bulunmuştur (18).

Rassidakis'in yaptığı bir çalışmada, Bcl-2 ekspresyonu olan HL hastalarında 5 yıllık hastalıksız sağkalım %74 iken, Bcl-2 ekspresyonunun olmadığı hastalarda ise 5 yıllık hastalıksız sağkalım %84 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, ABVD tedavisi alan ve Bcl-2 ekspresyonu olan HL hastalarında 5 yıllık hastalıksız sağkalım %74 iken, Bcl-2 ekspresyonu olmayanlarda bu değer %88 olarak bulunmuştur. Bcl-2 ekspresyonunun olması, 45 yaş ve üzeri HL hastalarında 5 yıllık hastalıksız sağkalım süresini kısalttığı bulunmuştur (103).

Yapılan çalışmalarda genellikle CD68, CD163 ve Bcl-2 ekspresyonunun artması ile HL prognozunun olumsuz etkilendiği sonucuna ulaşılmıştır. Ancak c-Met ekspresyonu ile HL prognozu arasında pozitif bir ilişki olduğu söylenebilir.

Diğer lenfoid ve nonlenfoid hücrelerin aksine, Hodgkin RS hücrelerinin proliferasyonu, NFkB aktivasyonuna bağlıdır. Dahası, NFkB p50 RelA'lar, stres durumunda lenfoma hücrelerinin apoptoza gidişine engel olmaktadır (104). Bu nedenle HL patogenezinin anlamak için NFkB önemli bir komponent olmaktadır.

NF-kB hematopoietik veya solid çoğu tümör hücresi gelişiminde aktif rol oynamaktadır. Öte yandan NFkB normal hücrelerde nadiren aktiftir. Proliferatif fazdayken normal T hücreleri, B hücreleri, timositler, monositler ve astrositlerde aktif NF-kB bulunur. Tümörlerde NFkB'nin baskılanmasının proliferasyonu inhibe ettiği, hücre siklusunu durdurduğu ve apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca NFkB inhibisyonunun tümör hücrelerini kemoterapiye duyarlı hale getirdiği belirtilmektedir. Öte yandan, NF-kB immün sistemin normal çalışması için gereklidir. Sonuç olarak, onkogenler, viral proteinler, karsinojenler, tümör promoterları ve inflamatuvar uyaranlar NFkB'yi aktive etmekte, aktive NFkB de hematopoez, transformasyon, apoptozis, proliferasyon, immünite, invazyon, anjiogenez ve metastaz ile ilgili genleri denetim altında tutmaktadır (105).

Benharroch ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, NFkB'lerin, Hodgkin RS hücrelerindeki apoptozis inhibisyonundan sorumlu olduğu bulunmuştur (106).

Izban ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Hodgkin RS hücrelerinde NFkB açısından yüksek bir immünpozitiflik bulunmuştur. Aynı çalışmada NFkB'nin kimyasal olarak inhibe edilmesi ile spontan olarak kaspaz bağımsız apoptozis gösterilmiş ve bu durum Hodgkin RS hücrelerinin yaşam süresinin kısalmasına neden olmuştur (107).

Bu araştırma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi İç Hastalıkları Hematoloji ABD ' da takip edilen bütün HL hastaları araştırmaya dahil edilmiştir. Bu kapsamda takip edilen bütün hastalar içinde sadece 1 tane ölüm olayı gerçekleştiği için araştırmada sağkalım (Survival) değerlendirilememiştir. Yaşam süresi olarak hastalık tanısı konulduktan araştırmaya dahil edilinceye kadar geçen sürelerin ortalamaları karşılaştırılmış olup, yaşam süresi konusunda fikir vermek amaçlanmıştır. Ancak araştırmada bahsedilen yaşam süresi, sağkalım konusunda yeterince fikir vermemektedir. Hasta sayımızın azlığı sonuçları etkilemiş olabilir.

6- SONUÇ

Araştırmamızda HL hastalarının yaş ve cinsiyet dağılımı literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Hastaların büyük kısmında ektranodal tutulum bulunmamaktadır.

Hastaların %59,5'i KT'ye tam yanıt vermiştir.

Hodgkin grubunun %56,1'i CD163 ile boyanmamış, %39'u zayıf, %4,9'u ise güçlü boyanmıştır.

Hodgkin grubunun %22,0'ı CD68 ile boyanmamış, %61'i zayıf, %17,1'i ise güçlü boyanmıştır.

Hodgkin grubunun %61,0'ı c-Met ile boyanmamış, %39,0'ı zayıf boyanmıştır.

Hodgkin grubunun %70,7'si Bcl-2 ile boyanmamış, %29,3'ü zayıf boyanmıştır.

Hodgkin grubunun %78,0'ı NFkB ile boyanmamış, %22,0'ı zayıf boyanmıştır.

Hodgkin hastalarının CD68, CD163, c-Met ,Bcl-2 ve NFkB boyanma durumu %22 ile %61 arasında değişmektedir.

Nodüler Sklerozan HL hastalarının tamamı, Lenfositten zengin hastaların %58'i CD68 ile zayıf boyanmıştır.

Karışık Hücreli hastaların %11'i CD163, %16'sı CD68 güçlü olarak boyanmıştır.

CD68, CD163, c-Met, Bcl-2, NFkB ile prognoz arasında ilişki bulamadık.

IPSS ile CD68, CD163, c-Met, Bcl-2, NFkB boyanması arasında ilişki bulamadık.

7- ÖZET

Giriş-Amaç: Bu çalışmanın amacı, KHL'lı hastalarda lenf bezi örneklerinde CD163, CD68, c-Met, Bcl-2 ve NFkB ekspresyonlarının prognoz üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

Metot: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi İç Hastalıkları Hematoloji BD'da yürütülen bu araştırmaya 41 HL hastası, 16 kontrol hastası olmak üzere 57 kişi dahil edilmiştir. Araştırmada hasta verileri retrospektif olarak dosyalardan elde edilmiştir. Immunhistokimyasal boyama için CD 30'un en yoğun olduğu kesitler seçilmiştir. Yaymalar ışık mikroskopunda klinik bilgilerden habersiz patoloğtarafından yapılmıştır. Araştırmanın verileri SPSS 18.0 istatistik paket programı kullanılarak analiz edildi. Analizlerde ki kare testi, Fisher'in Kesin testi, Mann Whitney U testi ve Kruskal Vallis Testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için tip 1 hata düzeyi (alfa) 0,05'ten küçük olan değerler istatistik olarak anlamlı kabul edildi. Araştırma için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan yazılı izin alınmıştır.

Bulgular: Araştırmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 48 yıl olup %68,3'ü erkektir. HL hastalarının %30,0'ı lenfositten zengin tip, %45'i karışık hücreli, %20'si nodülerskerozan ve %5'i lenfositten yoksun tip olarak bulunmuştur. Hastaların %59,5'i KT'ye tam yanıt vermiştir. Hodgkin grubunun %39'u zayıf, %4,9'u ise güçlü, %61'i CD68 ile zayıf, %17,1'i ise güçlü boyanmıştır. Hastaların %39'u c-Met, %29,3'ü Bcl-2 ve %22'si NFkB ile zayıf boyanmıştır. Hasta grubu ile kontrol grubunun boyanma özellikleri arasında istatistiksel açıdan her hangi bir fark bulunmamıştır. Ayrıca CD163, CD 68, c-Met, Bcl-2 ve NFkB boyanma sonucu ile yaşam süreleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına rağmen, zayıf boyanan hastaların ortalama yaşam süreleri, hiç boyanmayan hastalardan fazla bulunmuştur.

Sonuç: Araştırmada hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı literatür ile uyumlu bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu arasında boyanma özellikleri açısından her hangi bir fark bulunamamıştır. Ayrıca hastaların boyanma özellikleri ile yaşam süreleri arasında her hangi bir fark bulunamamıştır. Ancak araştırmanın sonuçlarının ihtiyatlı yorumlanmasında fayda olup, yaşam süreleri ile boyanma özelliklerini değerlendiren ileri araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

8- PROGNOSTIC IMPORTANCE OF CD163, CD68, C-MET, BCL-2 AND NFkB EXPRESSIONS IN CLASSICAL HODGKIN LYMPHOMA PATIENTS

PREAMBLE - PURPOSE The purpose of this study is researching effects of CD163, CD68, c-Met, Bcl-2 and NFkB RelA expressions on prognosis in lymph node samples from Classical Hodgkin lymphoma patients.

METHOD: 41 Hodgkin lymphoma (HL) patients and 16 control patients, 57 persons in total were included in this study which was conducted in Aydın Adnan Menderes University Internal Medicine Hematology Clinic. In the study patient data were obtained from files retrospectively. Sections which have highest concentration of CD 30 were chosen for immuno - histo - chemical staining. Smearing was carried out in light microscope by a pathologist who was uninformed about clinical information. Research data were analyzed by using SPSS 18.0 statistics package program. Chi - square test, Fisher exact test, Mann Whitney U test and Kruskal Vallis test were used in analyses. Values which their type - 1 error level (alfa) are less than 0,05 were considered as statistically significant for statistical significance. A written permission was obtained from Aydın Adnan Menderes University Non - Invasive Clinical Studies Ethics Committee for the study.

FINDINGS: The average age of the patients who were included in the study were 48 and 68,3 % of them were male. 30,0 % of HL patients were found lymphocyte - rich type, 45 % of HL patients were found mixed - cell type, 20 % of HL patients were found nodular sclerosant type and 5 % of HL patients were found devoid of lymphocyte. 59,5 of patients fully responded to KT. 39 % of Hodgkin group were stained weak, 4,9 % of Hodgkin group were stained strong, 61 % of Hodgkin group were stained weak with CD68 and 17,1 % of Hodgkin group were stained strong with CD68. 39 % of patients were stained weak with c-Met, 29,3 % of patients were stained weak with Bcl - 2 and 22 % of patients were stained weak with Nfkb. No difference was found in terms of statistics between staining properties of patient group and control group. Also no significant difference was found in terms of statistics between lengths of life and CD163, CD 68, c-Met, Bcl2 and NFkB staining result. In spite of there is no significant statistical difference, it was found that average length of life of weakly stained patients was longer than average length of life of non - stained patients.

CONCLUSION: Age and gender distributions of patients were found in concordance with literature in the study. No difference was found in terms of staining properties between patient and control groups. Also no difference was found between staining properties and length of life of patients. However, it is better to construe the results of the study temperately and there is a need for further studies evaluating length of life and staining properties.

9- KAYNAKLAR

- 1- Horning JH. Hodgkin Lymphoma. In: Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds). Williams Hematology. 6 th ed. Mc Graw-hill. 2001; 1215-35.
- 2- Rosen PJ, Lavey RS, Haskell CM. Hodgkin's Disease In: Haskell CM (ed). Cancer treatment. 4th ed. Philadelphia. W.B. Saunder Company. 1995; 951-79.
- 3- Bernhards J, Fischer R, Hubner K, Schwarze EW, Georgii A. Histopatological classification of Hodgkin's lymphoma. Results from the reference pathology of the German Hodgkin's trial. Annals of Oncology 1992; 3: 31-3.
- 4- Bayerl MG, Bentley G, Bellan C, Leoncini L, Ehmann WC, Palutke M. Lacunar and reedsternberg-like cells in follicular lymphomas are clonally related to the centrocytic and centroblastic cells as demonstrated by laser capture microdissection. Am J Clin Pathol 2004; 122, 858-64.
- 5- Türeci O, Schmitt H, Fadle N, Pfreundschuh M, Sahin U. Molecular definition of a novel human galectin which is immunogenic in patients with Hodgkin's disease. J Biol Chem 1997; 272: 6416-22.
- 6- Tzankov A, Zimpfer A, Went P, Maurer R, Pileri SA, Geley S, Dirnhofer S. Aberrant expression of cell cycle regulators in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's lymphoma. Mod Pathol 2005; 18: 90-6.
- 7- Spector N, Milito CB, Biasoli I, Luiz RR, Pulcheri W, Morais JC. The prognostic value of the expression of BCL-2, p53 and LMP-1 in patients with Hodgkin's lymphoma. Leuk Lymphoma 2005; 46: 1301-6.
- 8- Kobayashi M, Nakamura S, Shibata K, Sahara N, Shigeno K, Shinjo K, et al. Etodolac inhibits EBER expression and induces BCL-2-regulated apoptosis in Burkitt's lymphoma cells. Eur J Haematol 2005; 75: 212-20.
- 9- Portlock CS, Glick J. In: Hofmann R, Benz EJ, Jr, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P (eds). Hematology: Basic Principles and Practise. 16 th. ed. USA. Churchill Livingstone 2008; 1241-62.
- 10- Farrell K, Jarrett RF. The molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma. Histopathology 2011; 58: 15-25.

- 11-Flangea C, Potencz E, Mihaescu R, Giju S, Anghel A. Bcl-2 expression in Hodgkin's lymphoma progression. *Rom J Morphology Embryology* 2008; 49: 357-63.
- 12-Winter JN. Targeting CD20. *Blood*, 2003; 101: 4227.
- 13- Tsujimoto T, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM: Cloning the chromosome breakpoint of neoplastic B-cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226: 1097
- 14-Hussein MR, AL-Sabae TM, Georgis MN. Analysis of Bcl-2 and p53 protein expression in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2004; 15: 1849–50.
- 15-Hermine O, Haioun C, Lepage E, d'Agay MF, Briere J, Lavignac C, Fillet G, Salles G, Marolleau JP, Diebold J, Reyas F, Gaulard P. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1996; 87: 265-72.
- 16-Sup SJ, Alemany CA, Pohlman NB, Elson P, Malhi S, Thakkar S, Steinle R, Hsi ED. Expression of bcl-2 in classical Hodgkin's lymphoma: an independent predictor of poor outcome, *J Clin Oncol* 2005; 23: 3773–9.
- 17-Franklin J, Paulus U., Lieberz D, Breuer K, Tesch H, Diehl V. Is the international prognostic score for advanced stage Hodgkin's disease applicable to early stage patients? German Hodgkin Lymphoma Study Group, *Ann Oncol*, 2000; 11: 617–23.
- 18-Jakovic LR, Mihaljevic BS, Jovanovic MD, Bogdanovic AD, Martinovic VM, Kravic TK, Bumbasirevic VZ; Serbian Lymphoma Study Group. The expression of Ki-67 and Bcl-2 in Hodgkin's lymphoma: correlation with the International Prognostic Score and bulky disease: a study by the Serbian Lymphoma Study Group (SLG). *Med Oncol* 2007; 24: 45-53.
- 19- Sánchez-Espiridión B, Martin-Moreno AM, Montalbán C, Medeiros LJ, Vega F, Younes A, Piris MA, Garcia JF Immunohistochemical markers for tumor associated macrophages and survival in advanced classical Hodgkin's Lymphoma .*Haematologica* 2012; 97: 1080-4.
- 20- Farinha P, Masoudi H, Skinnider BF, Shumansky K, Spinelli JJ, Gill K, et al. Analysis of multiple biomarkers shows that lymphoma-associated macrophage (LAM) content is an independent predictor of survival in follicular lymphoma (FL) *Blood* 2005; 106: 2169–74.

- 21-Xu C, Plattel W, van den Berg A, Rüther N, Huang X, Wang M, et al. Expression of the c-Met oncogene by tumor cells predicts a favorable outcome in classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2012; 97: 572-8.
- 22-Renne C, Willenbrock K, Küppers R, Hansmann ML, Bräuninger A. Autocrine and paracrine activated receptor tyrosine kinases in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2005;105: 4051–9.
- 23-Kawano R, Ohsima K, Karube K, Yamaguchi T, Kohno S, Suzumiya J, et al. Prognostic significance of hepatocyte growth factor and c-MET expression in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2004; 127: 305–7.
- 24-Lengyel E, Prechtel D, Resau JH, Gauger K, Welk A, Lindemann K, et al. C-Met overexpression in node-positive breast cancer identifies patients with poor clinical outcome independent of Her2/neu. *Int J Cancer* 2005; 113: 678–82.
- 25-Lee CT, Chow N, Su PF, Lin SC, Lin PC, Lee JC. The prognostic significance of RON and MET receptor coexpression in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1268–74.
- 26- Weimar IS, de Jong D, Muller EJ, Nakamura T, van Gorp JM, de Gast GC, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor promotes adhesion of lymphoma cells to extracellular matrix molecules via alpha 4beta 1 and alpha 5beta 1 Integrins. *Blood* 1997; 89: 990–1000.
- 27-Teofili L, di Febo AL, Pierconti F, Maggiano N, Bendandi M, Rutella S, et al. Expression of the c-met proto-oncogene and its ligand, hepatocyte growth factor, in Hodgkin disease. *Blood* 2001, 97: 1063–9.
- 28- Kasper D.L., Braunwold E.,Fauci A.,Hauser S.L,Longo D.L., Jameson J.L, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 19th Edition, 2015; 698-9.
- 29-Stein RS. Hodgkin's Disease. In: Lee RG, Foerster J, Lukens J,Paraskevas F, Greer JP and Rodger G.M. (eds).*Wintrobe's Clinical Hematology*. 13th ed Egypt. Mass Pub. 2013; 2538-71.
- 30- Thomas RK, Re D, Zander T et al. Epidemiology and etiology of Hodgkin'sLymphoma. *ESMO* 2002; 147-52.

- 31-Lanzkowsky P. Manual of pediatric hematology and oncology.4th ed. Elsevier NY 2005; 453-91.
- 32- Robertson SI, Lowman IT, Grufferman S, Kostyu D, Van Der Horst C.M, Mathhew TJ. et al. Familial Hodgkin's disease. Aclinical and laboratory investigation. Cancer 1987; 59: 1314-9.
- 33-Rosdahl N, Larson SO, Clemmesen J. Hodgkin's disease in patients with previousinfectious mononucleosis: 30 years' experience. Br Med J. 1974; 253-6.
- 34-Jarrett RF. Viruses and Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol. 2002; 13: 23-9.
- 35-Jarrett RF, Armstrong AA, Alexander E. Epidemiology of EBV Hodgkin'slymphoma. Ann Oncol. 1996; 7: 5-10
- 36- Weiss LM, Movahed LA, Warnke RA, Sklar J. Detection of Epstein Barr viralgenomes in Reed Sternberg cells of Hodgkin's disease N Engl J Med 1989; 320: 502-6.
- 37- Gözdaşoğlu S. Çocukluk Çağı HL. Klinik Gelişim, 2007; 20: 51
- 38- The origin of Hodgkin and Reed/Sternberg cells in Hodgkin's disease Annu RevImmunol 1998; 16: 471-93.
- 39- Kadin ME, Liebowitz DN. Cytokine and cytokine receptors in Hodgkin'sdisease.In Mauch PM, Armitage JO, Harris NL, Coiffier B, Dalla –Favera R,Harris NL, eds Hodgkin's Disease Philadelphia:Lippincott Williams&Wilkins; 1999: 139-157.
- 40- Brauninger A, Schmitz R, Bechtel D, Renne C, Hansmann M.L, Küppers R et al. Mini review: molecular biology ofHodgkin's and Reed/Sternberg cells in Hodgkin's lymphoma. Int J Cancer. 2005; 118: 1853-61.
41. Re D, Kuppers R, Diehl V. Molecular pathogenesis of Hodgkin's lymphoma. JClin Oncol. 2005; 23: 6379-86.
- 42- Rosen PJ, Lavey Rs, Haskell CM, Hodgkin's Disease In: Haskell CM (ed).Cancer Treatment. 4.th ed. Philadelphia. W.B. Saunder Company. 1995; 951-79.
43. DeVita VT, Mauch PM, Harris NL. Hodgkin's Disesase In: DeVita VT, HellmanS, Rosenberg SA (eds). Cancer Principles and Practice of Oncology. 5th ed.Philadelphia, Lippincoltt-Raven 1997; 2242-83.

- 44- Philip A Pizzo, David G Poplock Principles and Practice of Pediatric Oncology.Sixth Edition Lippincott Raven, 2010; 523-43.
- 45- Greer J.P., Foerster J., Lukens J.N, Rodgers G.M., Paraskevas F., Glader B.,Hodgkin Disease, Chapter 95, 2.nd Edition Wintrobe's Clinical Hematology, 2014; 2521-24.
- 46- Tubiana M, Henry-Amar M, Burgers MV, van der Werf-Messing B, Hayat M. Prognostic significance of erythrocyte sedimentation rate in clinical stages I-II of Hodgkin's disease. J Clin Oncol 1984; 2: 194-200.
- 47- Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease.N Engl J Med 2013; 339: 1506-14.
- 48-Moccia AA, Donaldson J, Chhanabhai M, Hoskins PJ, Klasa RJ, Savage KJ, Shenkier TN, Slack GW, Skinnider B, Gascoyne RD, Connors JM, Sehn LH. International Prognostic Score in advanced-stage Hodgkin's lymphoma: altered utility in the modern era.J Clin Oncol 2012; 30: 3383-8.
- 49- Specht L. Prognostics factors in Hodgkin's disease. Sem Radiat Oncol 1996; 6: 146-61.
50. Bossola M, Pacelli F, Tortorelli A. Skeletal muscle in cancer cachexia: the ideal target of drug therapy. Current Cancer Drug Targets 2008: 285-98.
- 51- Küçük O. Lösemi Lenfomada Koruyucu Tedavi. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi VIII. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu (<http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/losemikoruyucu.pdf>) Erişim Tarihi: 09.06.2015.
- 52- Poppema S, Connors JM, Bartlet NL. Immunobiology and Pathophysiology of Hodgkin Lymphomas. Hematology (ASH Education Book) 2005; 231-8.
- 53-Bargou RC, Emmerich F, Krappmann D , Bommert K, Mapara MY,Arnold W , et al. Constitutive nuclear factor-kappaB-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin lymphoma tumor cells. J Clin Invest 1997; 100: 2961-9.
- 54- Hinz M, Lemke P, Anagnostopoulos I, Hacker C, Krappmann D, Mathas S, et al. Nuclear factor kappaB-dependent gene expression profiling of Hodgkin lymphoma tumor cells, pathogenetic significance, and link to constitutive signal transducer and activator of transcription 5a activity. J Exp Med 2002; 196: 605-17.

- 55- Watanabe M, Nakano K, Togano T, Nakashima M, Higashihara M, Kadin ME, Watanabe T, Horie R. Targeted repression of overexpressed CD30 downregulates NF-kappaB and ERK1/2 pathway in Hodgkin lymphoma celllines. *Oncol Res* 2011; 19: 463-9.
- 56- De J, Brown RE. Tissue-microarray based immunohistochemical analysis of survival pathways in nodular sclerosing classical Hodgkin lymphoma as compared with Non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Clin Exp Med* 2010; 3: 55-68.
57. Hagemann T, Biswas SK, Lawrence T, Sica A, Lewis CE. Regulation of macrophage function in tumors: the multifaceted role of NF-kappaB. *Blood* 2009; 113: 3139-46.
58. Sacconi A, Schioppa T, Porta C, Biswas SK, Nebuloni M, Vago L, et al. p50 nuclear factor-kappaB overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance. *Cancer Res* 2006; 66: 11432-40.
59. Porta C, Rimoldi M, Raes G, Brys L, Ghezzi P, Di Liberto D, et al. Tolerance and M2 (alternative) macrophage polarization are related processes orchestrated by p50 nuclear factor kappaB. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 14978-83.
60. Hagemann T, Lawrence T, McNeish I, Charles KA, Kulbe H, Thompson RG, et al. "Re-educating" tumor-associated macrophages by targeting NF-kappaB. *J Exp Med* 2008; 205: 1261-8.
61. Allavena P, Sica A, Solinas G, Porta C, Mantovani A. The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008; 66: 1-9.
62. Sica A, Larghi P, Mancino A, Rubino L, Porta C, Totaro MG, et al. Macrophage polarization in tumour progression. *Semin Cancer Biol* 2008; 18: 349-55.
63. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002; 23: 549-55.
64. Ribatti D, Nico B, Crivellato E, Vacca A. Macrophages and tumor angiogenesis. *Leukemia* 2007; 21: 2085-9.
65. Falini B, Flenghi L, Pileri S, Gambacorta M, Bigerna B, Durkop H, 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; 142: 1359-72.

66. Pulford KA, Rigney EM, Micklem KJ, Jones M, Stross WP, Gatter KC, Mason DY. KP1: a new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections. *J Clin Pathol* 1989; 42: 414-21.
67. Lau SK, Chu PG, Weiss LM. CD163: a specific marker of macrophages in paraffin-embedded tissue samples. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 794-801.
68. Buechler C, Ritter M, Orsó E, Langmann T, Klucken J, Schmitz G. Regulation of scavenger receptor CD163 expression in human monocytes and macrophages by pro- and antiinflammatory stimuli. *J Leukoc Biol* 2000; 67: 97-103.
69. Nguyen TT, Schwartz EJ, West RB, Warnke RA, Arber DA, Natkunam Y. Expression of CD163 (hemoglobin scavenger receptor) in normal tissues, lymphomas, carcinomas, and sarcomas is largely restricted to the monocyte/macrophage lineage. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 617-24.
- 70-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: 736-42.
- 71-Agostinelli C, Gallamini A, Rigacci L, Vitolo U, Stracqualursi L, Piccaluga P, et al. The prognostic value of biologic markers in classical Hodgkin lymphoma (cHL) patients. *Ann Oncol* 2011; 22: 153-4.
- 72- Koh YW, Park CS, Yoon DH, Suh C, Huh J. CD163 expression was associated with angiogenesis and shortened survival in patients with uniformly treated classical Hodgkin lymphoma. *PLoS One* 2014; 29; 9: 1-7
- 73-Klein JL, Nguyen TT, Bien-Willner GA, Chen L, Foyil KV, Bartlett NL, et al. CD163 immunohistochemistry is superior to CD68 in predicting outcome in classical Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2014; 141: 381-7.
- 74- Kim LH, Nadarajah VS, Peh SC, Poppema S. Expression of BCL-2 family members and presence of Epstein-Barr virus in the regulation of cell growth and death in classical Hodgkin's lymphoma. *Histopathology* 2004; 44: 257-267.
- 75- Hussein MR, Al-Sabae TM, Georgis MN. Analysis of the BCL-2 and p53 protein expression in the lymphoproliferative lesions in the upper Egypt. *Cancer Biol Ther* 2005; 324-8.

- 76- Brauningner A, Wacker H, Rajewsky K, Küppers R, Hansmann M.L. Typing the histogenetic origin of the tumor cells of lymphocyte-rich classical Hodgkin's lymphoma in relation to tumor cells of classical and lymphocyte predominance Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2003; 63: 1644–51.
- 77- Aster JC. Disease of White Blood Cells, Lymph Nodes, Spleen, and Thymus. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: 7 th Ed. Elsevier Saunders, 2005; 686-90.
- 78- Weidner M, Arakaki N, Hartmann G, Vandekerckhove J, Weingart S, Rieder H, Fonatsch C, et al. Evidence for the identity of human scatter factor and human hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7001-5.
- 79- Peter B, Charles M. Hepatocyte growth factor: a multifunctional cytokine. *Lancet* 1995; 345: 293-5.
- 80- Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, Chan AM, Kmiecik TE, Vande Woude GF, Aaronson SA. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met protooncogene product. *Science* 1991; 251: 802-4.
- 81- Michalopoulos GK, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor. *Hepatology* 1992; 15: 149-55.
- 82- Jucker M, Gunther A, Gradl G, Fonatsch C, Krueger G, Diehl V, et al. The met/hepatocyte growth factor receptor (HGFR) gene is overexpressed in some cases of human leukemia and lymphoma. *Leuk Res* 1994; 18: 7-16.
- 83- Tzankov A, Matter MS, Drinhofer S. Refined Prognostic Role of CD-68 Positive Tumor Macrophages in the Context of the cellular Microenvironment of Classical Hodgkin Lymphoma. *Pathobiology*, 2010; 77: 301-8.
- 84- İnan G. Hodgkin Lenfomada COX-2, BCL-2 ve LMP-1 Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal Yöntemle Araştırılması ve Prognoz ile İlişkilerinin İncelenmesi. Patoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi. Isparta, 2009.
- 85- Yavuz D. Hodgkin Lenfomalı Hastalarda Tedavi Öncesi ve Sonrası Laboratuvar Değerleri ile Kemoterapi ve Radyoterapinin Kardiyopulmoner Fonksiyonlar Üzerine Etkisi. Dahiliye Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi 3. Dahiliye Kliniği, 2009.

- 86- Yıldırım M, Yıldız M, Kurtoğlu E, Karakılınç H, Dönem Dilli U, Göktaş S. Epidemiology and histological subtypes of Hodgkin lymphoma in the south-west of Turkey. *Gülhane Med J* 2012; 54: 216-9.
- 87- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: 4th Ed. IARC, 2008; 323-34.
- 88- Başsüllü N. Hodgkin Lenfoma'da İmmünohistokimya: Uygulama Öncesi ve Sonrasında Tanı Değişiklikleri, Morfolojik ve Biyolojik Gri Zon Lenfomaların Tanınabilmesi. Patoloji Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, 2003.
- 89- Steidl C, Lee T, Shah SP, Farinha P, Han G, Nayar T, et al. Tumor Associated Macrophages and Survival in Classic Hodgkin's Lymphoma. *NEJM* 2010; 875-85.
- 90- Ünal A. Hodgkin Lenfoma. Türk Hematoloji Derneği, Klinisyen-Patolog Ortak Lenfoma Kursu. http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/hodgkin_lenfoma.pdf / 06.05.2015.
- 91- Tüzüner N, Maya M, Şenocak M. Hodgkin Hastalığında Epidemiyoloji, Yaşa Özgü İnsidans ve Histolojik Alt Gruplar. *Türk Onkol Derg.* 1987; 2: 455-61.
- 92- Şeker M, Mengi A, Bilici A, Ustaalioglu BB, Kefeli U, Işık Özşeker N, et al. Hodgkin lenfoma olgularının retrospektif değerlendirilmesi ve prognostik faktörlerin saptanması. *Türk Onkoloji Dergisi* 2011; 3: 108-14.
- 93- Şermet S. Lenfomalı Hastalarda Periferik Kan CD4 + CD25 + FOXP3 + Düzenleyici T Hücre Düzeyleri ve Klinik Özellikler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2015
- 94- Diepstra A, van Imhoff GW, Karim-Kos HE, van den Berg A, Niens M, et al. HLA class II expression by Hodgkin Reed-Sternberg cells is an independent prognostic factor in classical Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3101-8.
- 95-Bedewy M, El-Maghraby S, Bedewy A. CD163 and c-Met expression in the lymph node and the correlations between elevated levels of serum free light chain and the different clinicopathological parameters of advanced classical Hodgkin's lymphoma. *Blood Res* 2013; 48: 121-7.

- 96- Xu C, Plattel W, Berg AVD, Rüther N, Huang X, Wang M, et al. Expression of c_met Oncogene by Tumor Cells Predict a Favorable Outcome in Classical Hodgkin's Lymphoma. *Hematologica* 2012; 97: 572-8.
- 97- Wha Koh Y, Park C, Hyun Yoon D, Suh C, Huh J. MET and MST1R as prognostic factors for classical Hodgkin's lymphoma. *Mod Pathol*. 2013; 1172-82.
- 98- Azambua D, Natkunam Y, Biasoli I, Lossos IS, Anderson MW, et al. Lack of association of tumor-associated macrophages with clinical outcome in patients with classical Hodgkin's lymphoma. *Annals of Oncology* 2012; 23: 736–42.
- 99- Yoon DH, Koh YW, Kang HJ, Kim S, Park CS, Lee SW. CD68 and CD163 as prognostic factors for Korean patients with Hodgkin lymphoma. *Eur J Haematol*. 2012; 292-305.
- 100- Harris JA, Jain S, Ren Q, Zarineh A, Liu C, Ibrahim S. CD163 versus CD68 in tumor associated macrophages of classical hodgekin lymphoma. *Diagnostic Pathology* 2012; 7,12.
- 101- Jakovic LR, Mihaljevic BS, Perunicic Jovanonic MD, Bogdanovic AD, Andjelic BM, et al. The prognostic relevance of tumor associated macrophages in advanced stage classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2011; 1913-9.
- 102- Jakovic LR, Mihaljevic BS, Jovanovic MD, Bogdanovic AD, Andelic BM, Bumbasirevc VZ. Prognostic significance of Bcl-2, tumor-associated macrophages, and total neoplastic and inflammatory lymph node involvement in advanced stage classical Hodgkin's lymphoma.

1

Onkologie. 2012; 733-9.
- 103- Rassidakis GZ, Medeiros LJ, Vassilakopoulos TP, Viviani S, Bonfante V, Nadali G, et al. BCL-2 expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin disease predicts a poorer prognosis in patients treated with ABVD or equivalent regimens.

1

Blood. 2002; 3935-41.
- 104- Bargau RC, Emmerich F, Krappmann D, Bommert K, Mapara MY, Arnold W. et al. Constitutive Nuclear Factor- κ B-RelA Activation Is Required for Proliferation and Survival of Hodgkin's Disease Tumor Cells. *J. Clin. Invest*. 1997; 2961–69.

- 105- Ekinçi Ö, Memiş L. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomlarında Nükleer Faktör Kappa B İmmünohistokimyasal Ekspresyonunun prognozla İlişkisi. Gazi Tıp Dergisi, 2008; 1: 1-5.
- 106- Benharroch D, Einav I, Feldman A, Levy A, Ariad S, Gopas J. Apoptosis of Hodgkin-Reed-Sternberg cells in classical Hodgkin lymphoma revisited. APMIS. 2010; 339-45.
- 107- Izban KF, Ergin M, Huang Q, Qin JZ, Martinez RB. Characterization of NF- κ B Expression in Hodgkin's Disease: Inhibition of Constitutively Expressed NF- κ B Results in Spontaneous Caspase-Independent Apoptosis in Hodgkin and Reed-Sternberg Cells. Mod Pathol. 200; 14: 297-310.