



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
YEDİKULE GÖĞÜS HASTALIKLARI VE GÖĞÜS CERRAHİSİ
EĞİTİM ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**ENDOBRONŞİAL ULTRASONOGRAFİ
EŞLİĞİNDE YAPILAN TRANSBRONŞİAL İĞNE
ASPIRASYON ÖRNEKLERİNDE CD4, CD8 VE CD68' İN
GRANÜLOMATÖZ HASTALIKLARDA TANI DEĞERİ**

Dr. Zehra Buşra Özbolat

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2021



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
YEDİKULE GÖĞÜS HASTALIKLARI VE GÖĞÜS CERRAHİSİ
EĞİTİM ARAşTIRMA HASTANESİ

ENDOBRONşİAL ULTRASONOGRAFİ
EşLİĞİNDE YAPILAN TRANSBRONşİAL İĞNE
ASPIRASYON ÖRNEKLERİNDE CD4, CD8 VE CD68' İN
GRANÜLOMATÖZ HASTALIKLARDA TANI DEĞERİ

Dr. Zehra Buşra Özbolat

Tez danışmanı: Doç. Dr. Mediha Gönenç Ortaköylü

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2021

Etik Kurul Onayı Tarih: 26.7.2019 / Karar No: 1916

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mediasten.....	3
2.1.1. Mediasten anatomisi.....	3
2.1.2. Mediasten lenf nodları ve hastalıkları.....	3
2.1.2.1. Mediastinal lenf nodu istasyonlarının klinik sınıflandırılması ve anatomik lokalizasyonları.....	4
2.1.2.2. Benign mediastinal lenf nodu hastalıkları.....	5
2.2. Granülomatöz akciğer hastalıkları.....	5
2.2.1 Tüberküloz.....	7
2.2.1.1. Ekstrapulmoner tüberküloz.....	7
2.2.2 Sarkoidoz.....	8
2.3. İmmünpatogenezi.....	9
2.3.1 Sarkoidoz immünpatogenezi.....	9
2.3.2. Tüberküloz immünpatogenezi.....	11
2.4. Mediastinal lezyonlara tanısal yaklaşım.....	14
2.4.1. Mediastinal lezyonlara noninvazif tanısal yaklaşım.....	14
2.4.1.1. Bilgisayarlı tomografi / Manyetik rezonans görüntüleme/Nükleer tarama.....	14
2.4.2. Mediastinal lezyonlara invaziv tanısal yaklaşım.....	15
2.4.2.1. Transbronşiyal İğne Aspirasyonu (TBİA) ve Bronkoalveolar Lavaj (BAL).....	15
2.4.2.2. Endobronşiyal ultrason eşliğinde transbronşiyal iğne aspirasyonu (EBUS-TBİA).....	15
2.4.2.3. Endoskopik Ultrasonografi (EUS) / Transözofageal Ultrason (TEUS) Eşliğinde Yapılan İğne Aspirasyonu (EUS-İİAB).....	16

2.4.2.4. Mediastinoskopi.....	16
2.4.2.5. Torakoskopi, Anterior Mediastinotomi.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1. Hastalar.....	18
3.2. EBUS- TBİA.....	21
3.3. Patoloji preparat değerlendirilmesi.....	21
3.3.1. Lenf nodu örneklerinde CD4 T lenfosit, CD8 T lenfosit ve makrofaj belirteci CD68 için immünohistokimya boyama.....	21
3.3.2. İmmünohistokimya değerlendirmesi.....	23
3.4. İstatiksel analiz.....	25
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇLAR.....	46
7. KAYNAKLAR.	47
8. ÖZGEÇMİŞ.....	51

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerini aktarmak için emek veren, her konuda desteğini hissettiğim, çalışmaktan her zaman onur duyduğum değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Mediha Gönenç ORTAKÖYLÜ' ye,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve tezime büyük katkısı bulunan tez danışmanım Doç. Dr. Halide Nur ÜRER'e,

Bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve tezime büyük katkısı bulunan Prof. Dr. Mehmet Atilla UYSAL'a,

Bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Uzm.Dr. Belma AKBABA BAĞCI, Uzm.Dr. Hülya ABALI, Uzm.Dr. Efsun Gonca UĞUR CHOUSEİN, Uzm.Dr. Esmâ Seda AKALIN KARACA, Uzm.Dr. Demet TURAN, Uzm.Dr. Ayşe YETER ve çalışma fırsatı bulduğum tüm uzmanlara,

Başhekimimiz Prof.Dr. Sedat ALTIN'a,

Eğitim sürecim boyunca bilgilerinden faydalandığım Prof.Dr. Erdoğan ÇETİNKAYA, Prof.Dr. A. Filiz ARPAÇAĞ KOŞAR, Uzm.Dr. Murat KIYIK, Prof. Dr. Esra YAZAR, Prof.Dr. Birsen Pınar YILDIZ, Doç.Dr. Sinem SÖKÜCÜ, Doç.Dr. Seda TURAL ÖNÜR, Doç.Dr. Cengiz ÖZDEMİR, Prof.Dr. Mehmet Akif ÖZGÜL, Doç.Dr. Ayşe BAHADIR, Doç. Dr. Gülşah GÜNLÜOĞLU, Doç.Dr. Halit ÇINARKA, Doç.Dr. Elif TANRIVERDİ ve birlikte çalıştığım tüm hocalarıma,

Birlikte çalıştığım tüm asistan, hemşire ve personel arkadaşlarıma, liseden gelen dostlukla tezime destek Uzm.Dr. Zeynep DEVRAN MUHARREMOĞLU' na,

İstatistik desteği için araştırma Görevlisi Nuri Kürşad BAYDİLİ'ye,

Her zaman yanımda olan sevgili anneme, hayatta olsa gurur duyacak olan dedeme, tüm aileme, meslektaşım ve destekçim kardeşim Dr. Mehmet Akif PARLAR' a, tüm asistanlık süresince en çok kahrımı çeken, desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Mustafa ÖZBOLAT'a, hayatımı anlamlı kılan, tez yazma sürecinde en çok ihmal ettiğim, küçücük elleri ve sarılmaları ile destek olan biricik kızım Zeynep Gökçe ÖZBOLAT'a

Teşekkür ederim.

Dr. Zehra Buşra Özbolat

KISALTMALAR

ACE: Anjiyotensin Converting Enzyme

ATS: American Thoracic Society

BAL: Bronkoalveolar Lavaj

BT: Bilgisayarlı Tomografi

Ca: Kalsiyum

CD4: Cluster of Differentiation 4

CD8: Cluster of Differentiation 8

CD68: Cluster of Differentiation 68

DRB: Double-stranded Rna Binding

EBUS: Endobronşiyal Ultrasonografi

EBUS-TBİA: Endobronşial ultrasonografi eşliğinde yapılan transbronşiyal iğne aspirasyon

FDG: Florodeoksiglukoz

HIV: Human Immünodeficiency Virus

HLA: Human Leukocyte Antigen

KOAH: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı

MHC: Major Histocompatibility Complex

PCR: Polymerase Chain Reaction

PET: Pozitron Emisyon Tomografi

ROC: Receiver Operating Characteristic

SS: Standart Sapma

TBİA: Transbronşiyal İğne Aspirasyonu

TB: Tüberküloz

Th-1: T-Helper cell type 1

Th-2: T-Helper cell type 2

ŞEKİLLER

Şekil 1: Mediasten bölümleri lateral görünüm; dört kompartıman modeli.....	3
Şekil 2: Dresler Mediastinal Lenf Nodu Haritası.....	4
Şekil 3: Sarkoidoz immünpatogenezi ayrıntılı akış şeması.....	10
Şekil 4: Tüberküloz immünpatogenezi özet şekli.....	13
Şekil 5: Tüberküloz immünpatogenezi özet akış şeması.....	14
Şekil 6: Dahil edilen / hariç tutulan vakalar: Hariç tutulan vakaları ve analiz edilen vakaların son sayısını gösteren akış şeması.....	20
Şekil 7: Granülom periferinde CD4 pozitif lenfositler.....	24
Şekil 8: CD8 pozitif lenfosit topluluğu.....	24
Şekil 9: CD68 pozitif epiteloid histositlerin oluşturduğu granülom.....	24
Şekil 10: Olguların CD4+ T lenfosit sayılarının dağılım grafiği.....	33
Şekil 11: Olguların CD4+ T lenfosit yüzdelerinin dağılım grafiği.....	34
Şekil 12: Olguların CD8+ T lenfosit sayısı ve yüzdesinin dağılım grafiği.....	34
Şekil 13: Olguların CD4/CD8 oranlarının dağılım grafiği.....	35
Şekil 14: CD4+ T lenfosit sayısı ROC eğrisi.....	36
Şekil 15: CD4+ T lenfosit yüzdesi ROC eğrisi.....	36
Şekil 16: CD8+ T lenfosit sayısı ROC eğrisi.....	37
Şekil 17: CD8+ T lenfosit yüzdesi ROC eğrisi.....	37
Şekil 18: CD4/CD8 sayısı ROC eğrisi.....	38

TABLÖLAR

Tablo 1. Benign mediastinal lenf nodu sebepleri.....	5
Tablo 2. Granümatöz lezyonlarda enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz ayırıcı tanılar.....	6
Tablo 3. CD4, CD8, CD68 antikor marka, klon, dilüsyon oranı, inkübasyon süresi ve pozitif kontrol dokusu.....	23
Tablo 4. Sarkoidoz-Tüberküloz hastalarının demografik verileri.....	26
Tablo 5. Sarkoidoz- tüberküloz hastalarında örneklenen lenf nodu sayısı ve nekroz görülme oranları.....	27
Tablo 6. Tüberküloz ve sarkoidoz hastalarının klinik özellikleri.....	29
Tablo 7. Tanı grupları arasında laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması.....	31
Tablo 8. Olguların CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit hücre sayılarının, hücre yüzdelerinin ve CD4/CD8 oranlarının karşılaştırılması.....	33
Tablo 9. Olguların CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit hücre sayı ve yüzdeleri ile CD4/CD8 oranının ROC analizleri.....	38
Tablo 10. CD4+ T lenfosit sayısı kestirim değerlerine göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk oranı.....	39
Tablo 11. CD4+ T lenfosit yüzdesi kestirim değerlerine göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk oranı.....	39
Tablo 12. CD8+ T lenfosit sayısı kestirim değerlerine göre duyarlılık ve özgüllük değerleri.....	40
Tablo 13. CD8+ T lenfosit yüzdesi kestirim değerlerine göre duyarlılık ve özgüllük değerleri.....	40
Tablo 14. CD4/CD8 oranı kestirim değerlerine göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk oranları.....	41
Tablo 15. Olguların CD68 ile boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması.....	41

ÖZET

AMAÇ: Mediastinal/hiler lenfadenopati yapan granümatöz hastalıklardan sarkoidoz ve tüberküloz ayırıcı tanısında benzer klinik, radyolojik ve histolojik belirtileri sebebi ile zorluk yaşanmaktadır. Çalışmamızda Endobronşial Ultrasonografi eşliğinde Transbronşial İğne Aspirasyonu (EBUS-TBİA) sitolojik örneklerinde immünohistokimya boyama ile CD4+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi, CD8+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı ve makrofaj belirteci olan CD68'in granümatöz hastalık olan sarkoidoz ve tüberküloz ayırıcı tanısına katkısının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Bu retrospektif çalışmada, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 01/01/2019-31/12/2019 tarihleri arasında mediastinal ve/veya hiler lenf nodu genişlemesi nedeni ile EBUS-TBİA yapılan vakalar incelendi. EBUS-TBİA ile patolojik olarak granümatöz lenfadenit tanısı almış ve 6 aylık takipleri yapılmış olan 85 vaka çalışmaya dahil edildi. Hastaların lenf nodu örneklerinden alınan kesitler immünohistokimyasal yöntemle CD4, CD8, CD68 monoklonal antikorları ile boyandı. Sitoplazmik ve membranöz koyu kahverengi boyanma immün reaksiyon pozitif olarak kabul edildi. CD4+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi, CD8+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD68 boyanma yoğunluğu sarkoidoz tüberküloz hastaları arasında karşılaştırıldı.

BULGULAR: Çalışmaya alınan hastaların 55(%64,7)'i sarkoidoz, 30'u (%35,3) tüberküloz idi. Yaş ortalamaları 48,0±14,5 olup, 31'i (%36,5) erkek ve 54'ü (%63,5) kadındı.

Tüberküloz ve sarkoidoz olgularının lenf nodu örneklerinin immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi sonucunda CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit sayı ve yüzdeleri ve CD4/CD8 oranları karşılaştırıldı. CD4+ T lenfosit hücre sayısı sarkoidoz grubunda medyan 83(33-223), tüberküloz grubunda 19(8-66), CD4+ T lenfosit yüzdesi sarkoidoz grubunda medyan 18,5(6-42,5), tüberküloz grubunda 6,1(2-23,3) idi (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,05$). CD4/CD8 oranı sarkoidoz grubunda medyan 1,44(0,53-3,21), tüberküloz grubunda 0,35(0,13-0,82) idi ($p=0,004$). Sarkoidoz hastalarında CD4+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı tüberküloz hastalarına oranla anlamlı ölçüde yüksek bulundu.

Sarkoidoz-tüberküloz ayırıcı tanısında CD4, CD8 T lenfosit sayı ve yüzdeleri ile CD4/CD8 oranının tanısallık değerini araştırmak(saptamak) için ROC analizi yapıldı. CD4 sayısı için kestirim değeri >33 alındığında özgüllük %70, duyarlılık %74,55, pozitif prediktif değer %82,00, negatif prediktif değer %60, doğruluk oranı %72,9 bulundu. CD4 yüzdesi için kestirim değeri >4,2 alındığında özgüllük %40, duyarlılık %90,91, pozitif prediktif değer %73,5, negatif prediktif değer %70,6 ve doğruluk oranı %72,9 bulundu. CD4/CD8 için kestirim değeri >0,55 alındığında, özgüllük %66,67, duyarlılık %74,55, pozitif prediktif değer %80,4, negatif prediktif değer %58,8, doğruluk oranı %71,8 bulundu (sırasıyla, p=0,000, p=0,003, p=0,000). CD8 T lenfosit sayı ve yüzdesi ise sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırmada istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla, p=0,150, p=0,245). Bu kestirim değerleri ile CD4 T lenfosit sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırmada kullanılabilir.

SONUÇ: Çalışmamız, mediastinal lenf nodu örneğinin immünohistokimya analizi ile CD4+ T lenfosit sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranının sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırt etmeye katkı sağladığını gösterdi. Mediastinal lenfadenopatili hastalarda tek bir girişimsel işlemde EBUS-TBİA ile hem granülomatöz patoloji saptanıp hem de CD4 ve CD8 T lenfosit için immün boyama ile sarkoidoz tüberküloz ayırımı yapılabilir.

Anahtar Sözcükler: Granülomatöz hastalıklar, Sarkoidoz, Tüberküloz, EBUS-TBİA, CD4, CD8, CD68,

ABSTRACT

OBJECTIVE: Differential diagnosis of sarcoidosis and tuberculosis from granulomatous diseases causing mediastinal/hilar lymphadenopathy is difficult due to similar clinical, radiological and histological symptoms. In our study, we aimed to evaluate the contribution of CD4+ T lymphocyte cell count, percentage, CD8+ T lymphocyte cell count, percentage and CD4/CD8 ratio and macrophage marker CD68 to the differential diagnosis of granulomatous disease sarcoidosis and tuberculosis by immunohistochemistry staining in EBUS-TBNA cytological samples.

MATERIALS AND METHODS: In this retrospective study, cases who underwent EBUS-TBNA due to mediastinal and/or hilar lymph node enlargement between 01/01/2019 and 31/12/2019 at Health Sciences University, Yedikule Chest Diseases and Thoracic Surgery Training and Research Hospital were analyzed. Eighty-five cases who were pathologically diagnosed as granulomatous lymphadenitis with EBUS-TBNA and followed up for 6 months were included in the study. Sections taken from the lymph node samples of the patients were stained with CD4, CD8, CD68 monoclonal antibodies by immunohistochemical method. Cytoplasmic and membranous dark brown staining was accepted as positive immune reaction. CD4 T lymphocyte cell count, percentage, CD8 T lymphocyte cell count, percentage and CD68 staining intensity were compared among sarcoidosis tuberculosis patient.

RESULTS: Of the patients included in the study, 55 (64.7%) were sarcoidosis and 30 (35.3%) were tuberculosis. The mean age was 48.0 ± 14.5 , of which 31 (36.5%) were male and 54 (63.5%) were female.

CD4+ T lymphocyte cell count was median 83(33-223) in the sarcoidosis group, 19(8-66) in the tuberculosis group, CD4+ T lymphocyte percentage was median 18.5(6-42.5) in the sarcoidosis group, 6,1(2-23,3) in the tuberculosis group ($p < 0.001$, $p = 0.05$, respectively). CD4/CD8 ratio was median 1.44 (0.53-3.21) in the sarcoidosis group and was 0.35 (0.13-0.82) in the tuberculosis group ($p = 0.004$). CD4+ T lymphocyte cell count, percentage and CD4/CD8 ratio were found to be significantly higher in sarcoidosis patients compared to tuberculosis patients.

Receiver operating characteristic (ROC) analysis was performed to investigate the diagnostic value of CD4, CD8 T lymphocytes numbers and percentages and CD4/CD8 ratio in the differential diagnosis of sarcoidosis-tuberculosis. For CD4 cell count, when the cut-off value was >33 , specificity was 70%, sensitivity 74.55%, positive predictive value 82.00%, negative predictive value 60%, accuracy rate 72.9%. For CD4 percentage, when the cut off value was >4.2 , the specificity was 40%, the sensitivity was 90.91%, the positive predictive value was 73.5%, the negative predictive value was 70.6%, and the accuracy was 72.9%. For CD4/CD8 ratio, when the cut off value was >0.55 , the specificity was 66.67%, the sensitivity 74.55%, the positive predictive value 80.4%, the negative predictive value 58.8%, and the accuracy 71.8% (respectively, $p=0.000$, $p=0.003$, $p=0.000$). CD8 T lymphocyte count and percentage were not statistically significant in differentiating sarcoidosis patients from tuberculosis patients ($p=0.150$, $p=0.245$). With these cut off values, CD4 T lymphocyte count, percentage and CD4/CD8 ratio can be used to differentiate sarcoidosis patients from tuberculosis patients.

CONCLUSION: Our study showed that CD4+ T lymphocyte count, percentage and CD4/CD8 ratio contributed to distinguishing sarcoidosis patients from tuberculosis patients by immunohistochemistry analysis of mediastinal lymph node sample. In patients with mediastinal lymphadenopathy, in a single interventional procedure, EBUS-TBNA can detect both granulomatous pathology and differentiate sarcoidosis tuberculosis with CD4 ve CD8 T lymphocyte immunostaining.

Keywords: Granulomatous Diseases, Sarcoidosis, Tuberculosis, EBUS-TBNA, CD4, CD8, CD68

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Mediastinal/hiler lenfadenopati, çeşitli etiyolojiler tarafından başlatılan kronik inflamatuvar bir yanıttır. Granülomatöz lenf nodu hastalıkları; enfeksiyöz en sık mikobakteri ve mantar, non enfeksiyöz en sık sarkoidozun saptandığı geniş bir patoloji spektrumuna sahip heterojen bir hastalık grubudur (1, 2, 3).

Sarkoidoz ve tüberküloz görülme sıklığı ülkelere göre farklılık göstermektedir. Müsellim ve arkadaşları ülkemizde yıllık sarkoidoz görülme insidansını 4/100.000 olarak saptamışlardır. Sağlık bakanlığı verilerine göre ise ülkemizde tüberküloz görülme insidansı 14.6/100.000' dir (4, 5).

Tüberküloz lenfadenit ekstrapulmoner tüberküloz grubu içinde yer alır. Ülkemizde 2019 tüberküloz rehberine göre akciğer dışı tüberküloz, tüm hastaların yaklaşık %35'inde görülmüştür (5). Tüberkülozun kesin tanısı için örneklerde kültür mikobakterium tüberkülozisın gösterilmesi altın standart iken, sarkoidoz tanısı için bir altın standart yoktur (7). Akciğer dışı tüberküloz lenfadenit tanısı, lenf nodunda yayma ve kültür pozitiflik oranının düşük olması, yeterli miktar ya da hacimde örnek olmaması, farklı tanı testleri için numune paylaşılması (histoloji, sitoloji, biyokimya, mikrobiyoloji ve PCR) ve bu nedenle basillerin homojen olmayan dağılımı ve örneklerin az sayıda basil bulundurması gibi bir dizi nedenden dolayı zordur (5, 8). Sarkoidoz ve tüberkülozun benzer klinik, radyolojik ve histolojik belirtileri olduğundan ayırıcı tanılarında zorluk yaşanmakta ve multidisipliner yaklaşım önerilmektedir (9). Her iki hastalıkta T hücreleri ve makrofajlar gibi immünolojik mekanizmaların patogeneizde önemli rol oynayabileceği düşünüldüğünden tanı için spesifik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Mediastinal lenfadenopati tanısında lenf nodundan örnekleme yapılarak patolojik tanı konulabilir. Mediastinoskopi yüksek duyarlılık ve özgüllük ile mediastinal lenf nodu tanısında altın standart olarak kabul edilir. Fakat Endobronşial ultrason (EBUS) kullanımı; benign granülomatöz lenfadenitlerde %80-85 duyarlılık, %83 doğruluk ve en az komplikasyonla minimal invaziv ilk tanı koydurucu yöntem olarak mediastinoskopinin önüne geçmiştir (10, 11, 12). EBUS-TBİA örnekleri histolojik tanı,

moleküler tanı veya immünohistokimyasal analizler için uygundur (13). Farklı analiz yöntemleri ile BAL sıvısı ve lenf nodu örneklerinde CD4/CD8 T lenfosit oranı ile ilgili farklı değerler saptansa da özellikle granümatöz hastalık ayırıcı tanısında EBUS-TBİA örneklerinde lenfosit ve makrofaj immünohistokimya boyaması ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur.

Genişlemiş mediastinal ve/veya hiler lenfadenopatisi olan kişilerde EBUS-TBİA ile patolojik olarak granümatöz hastalığın gösterilmesine ek olarak örneklerde immünohistokimya boyama ile CD4 T lenfosit sayısı ve CD4/CD8 T lenfosit oranlarının gösterilmesi sarkoidoz tüberküloz ayırıcı tanısına büyük katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızda; EBUS-TBİA sitolojik örneklerinde immünohistokimya boyama ile; CD4 T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi, CD8 T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı ile makrofaj belirteci olan CD68'in granümatöz hastalık olan sarkoidoz ve tüberkülozun ayırıcı tanısına katkısı değerlendirmeyi amaçladık.

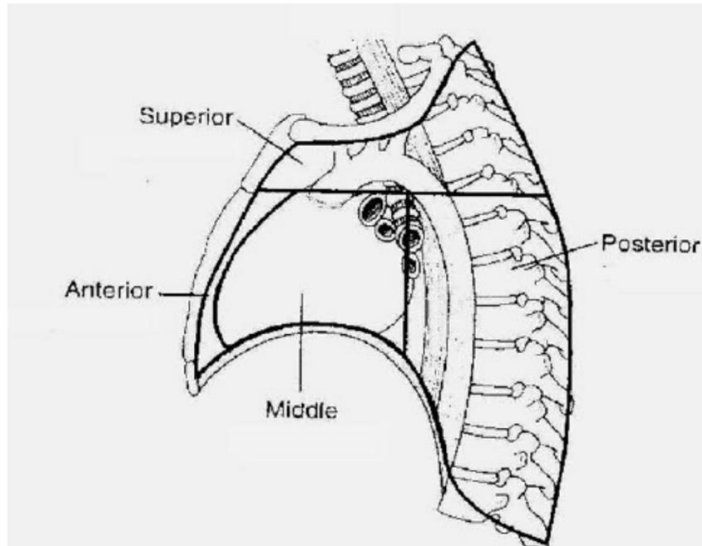
2.GENEL BİLGİLER

2.1. Mediasten

Mediasten; diafragmadan toraks duvarına kadar uzanan, göğüs kafesinde her iki plevral boşluk arasında, zengin lenf nodu ve lenfatik ağa sahip toraks boşluğudur.

2.1.1. Mediasten Anatomisi

Mediasten; anatomik olarak sınıflandırılırken; lateral akciğer grafisi ile 3 ya da 4 bölgeye ayrılarak incelenmiştir. Dört kompartıman modelinde mediasten, öncelikle üst ve alt kompartımana bölünür; alt kompartıman da ön, orta ve arka olarak alt kısımlara bölünür (Şekil 1). Üç kompartıman modelinde mediasten anterior, visseral (veya orta) ve paravertebral sulkus (veya posterior) olarak 3 kompartımana ayrılmıştır (15).



Şekil 1. Mediasten bölümleri lateral görünüm; dört kompartıman modeli

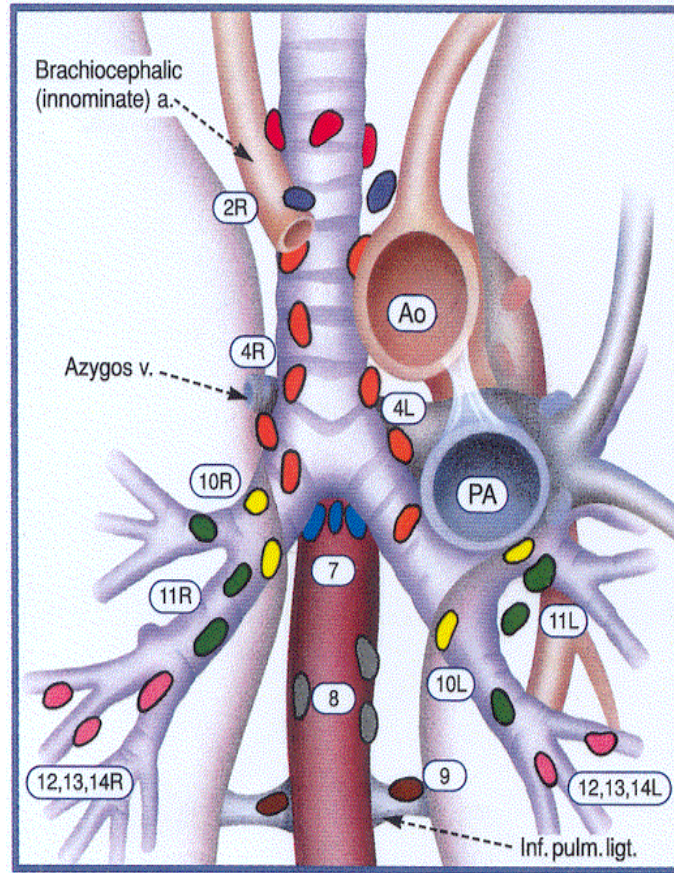
2.1.2. Mediasten lenf nodları ve hastalıkları

Mediastende bulunan çeşitli organlar, toraks duvarı, boyundaki yapılar ve diyafragmanın altında yer alan bazı bölgeler mediastinal lenf nodlarına drene olmaktadır. Mediastinal lenf nodu büyümesi radyolojik görüntülemeye kısa aksının 10 mm'den büyük olması ile tespit edilir. Mediastinal lenfadenopati “mediastinal lenf nodu genişlemesi” ile birbirinin yerine kullanılsa da, bunlar eşanlamlı değildir. Birçok genişlemiş mediastinal lenf nodu patolojik olsa da genişlememiş lenf nodlarında da

mediastinal lenfadenopati bulunabilir. Patolojik mediastinal lenfadenopati benign veya malign hastalıklardan kaynaklanabilir. En sık mediastinal lenf nodu sebebi malign hastalıklardır. Malign olanlardan en sık metastatik akciğer kanseri ve daha yaygın olarak özefagus kanseri, meme kanseri, tiroid kanseri metastazı görülür. Lenfomalar bir diğer sık görülen malign mediastinal lenfadenopati sebebidir (16).

2.1.2.1. Mediastinal Lenf Nodu İstasyonlarının Klinik Sınıflandırılması ve Anatomik Lokalizasyonları (Şekil 3)

1997 yılında Mountain ve Dresler tarafından geliştirilip düzenlenen ve günümüzde halen kullanılmakta olan mediastinal lenf nodu haritası Şekil 3' tedir (17).



Şekil 2. Dresler Mediastinal Lenf Nodu Haritası

ŞEKİL 2(17): N2 Lenf Nodları

Üst Mediastinal Lenf Nodları

- 1-Yüksek Mediastinal
- 2-Üst Paratrakeal
- 3-Pervasküler ve retrotrakeal
- 4-Alt Paratrakeal

Alt Mediastinal Lenf Nodları

- 7-Subkarinal
- 8-Paraözafajial
- 9-Pulmoner ligaman

N1 Lenf Nodları

- 10-Hiler
- 11-İnterlobar
- 12-Lobar
- 13-Segmental
- 14-Subsegmental

2.1.2.2. Benign mediastinal lenf nodu hastalıkları

Benign mediastinal lenf nodlarının en sık sebebi granülomatoz hastalıklardır (18) (Tablo 1).

Tablo 1. Benign mediastinal lenf nodu sebepleri

1.Mediastinal Granülomatöz Hastalıklar
Tüberküloz Fungal Enfeksiyonlar Sarkoidoz Silikozis Wegener Granülomatozis
2.Castleman
3.Diğerleri
Sistemik Lupus Eritematozus Infeksiyöz Mononukleozis Reaktif Lenf Nodu Hiperplazisi Amiloidozis HIV- Pneumocystis jirovecii Pnömonisi

(HIV: Human immunodeficiency virus)

2.2. Granülomatöz Akciğer Hastalıkları

Granülom, çok nükleuslu dev hücreler ve lenfositlerden oluşan, aktive makrofajların (epiteloid histiyositler) kümelenmesi ile karakterize, benign ve malign hastalıklar gibi geniş bir yelpazede görülebilen bir hücre koleksiyonudur. Granülomatöz akciğer hastalıkları geniş bir patoloji spektrumuna sahip heterojen bir hastalık grubudur. Granülom spesifik olmayan bir histopatolojik bulgu olduğundan, granülomatöz akciğer hastalıkları ayırıcı tanısında multidisipliner yaklaşım gereklidir. Enfeksiyon granülomların yaygın bir nedeni olduğundan, enfeksiyöz granülomatöz hastalıkları dışlamak önemlidir. Pulmoner granülomlarda en sık bulunan organizmalar mikobakteri ve mantarlardır (1). Güncellenen ATS 2020 Sarkoidoz rehberine göre granülomatöz lezyonlar için enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz ayırıcı tanılar Tablo 2' de yer almaktadır (9).

Tablo 2. Granümatöz lezyonlarda enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz ayırıcı tanılar (9)

ENFEKSİYÖZ ETİYOLOJİLER	ENFEKSİYÖZ DIŞI ETİYOLOJİLER
1. BAKTERİYEL • Tüberküloz • Nontüberküloz mikobakteriler • Aspirasyon Pnömonisi • Brusella • Francisella tularensis • Tropheryma whippelii 2. FUNGAL • Histoplazma • Kriptokok • Koksoidomikoz • Blastomiçes • Pnömosistis • Aspergillus 3. PARAZİTER • Dirofilaria • Toxoplasma gondii 4. VİRAL • Herpes Zoster	1. MALİGNİTE • Lenfoma • Sarkoid benzeri reaksiyon • Germ hücreli tümör 2. OTOİMMÜN ya da İMMÜN DİSFONKSİYON • Anca ilişkili vaskülit (GPA, MPA, EGPA) • CVID ilişkili GLILD • Langerhans hücreli histiyositoz • IgG4 ilişkili hastalık • İnflamatuvar barsak hastalığı • Kronik granümatöz hastalık 3. MARUZİYET • Hipersensitivite Pnömonisi • Jakuzi akciğer (MAC maruziyeti) 4. PNÖMOKONYOZLAR • Berilyum • Titanyum • Alüminyum • Zirkonyum • Asbestozis • Silikozis • Kobalt ve diğerleri 5. İLACA BAĞLI • IFN, ANTİTNF, Checkpoint inhibitörleri veya biyolojik tedaviler • Yabancı cisim granümatözisi (Talk, dövme) 6. İDİOPATİK • Sarkoidoz • Nekrotizan sarkoid granümatozis • GLUS • Bronkocentrik granümatozis

(ANTİTNF: Anti Tumor Necrosis Factor, CVID: Common Variable Immune Deficiency, EGPA: Eosinophilic Granulomatosis with

Polyangiitis, GLILD: Granulomatosis and Lymphocytic Interstitial Lung Disease, GLUS: Granulomatous Lesions of Unknown Significance, GPA: Granulomatosis with Polyangiitis, IFN: Interferon, IgG: Immunglobulin, MAC: Mycobacterium Avium Complex, MPA: Microscopic Polyangiitis)

Pulmoner granülomatözün insidans ve etiyolojilerini araştırıldığı bir çalışmada vakaların %54.7'si enfeksiyöz, %26.8'i non enfeksiyöz ve %18.4'ü nedeni bilinmeyen olarak saptanmıştır. Enfeksiyöz olanlarda en sık mikobakteri, non enfeksiyözlerde en sık sarkoidoz bulunmuştur (2). Pulmoner granülom nedenlerinin araştırıldığı retrospektif bir çalışmada ise vakaların %58'inde spesifik bir neden olup, en sık sarkoidoz (%27), mikobakteri ve fungal enfeksiyonlar (%25) saptanmıştır (3). Ülkemizde Müsellim ve arkadaşları interstisyel akciğer hastalıkları epidemiyolojisi ve dağılımını araştırdıkları çalışmalarında; interstisyel akciğer hastalığı saptanan hastaların %39'una granülomatöz hastalık ve en sık olarak da %37 sarkoidoz tanısı konulduğunu saptamışlardır (6).

2.2.1 Tüberküloz

Tüberküloz (TB); Mycobacterium tuberculosis' in neden olduğu, birçok organı tutabilen, kronik, granülomatöz, sistemik bir enfeksiyon hastalığıdır. Gelişmekte olan ülkelerde önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Balgam, bronkoalveolar lavaj ya da doku örneklerinde aside rezistan basil görülmesi tanı koydurur. Bazı durumlarda histopatolojik tanı konulabilir.

2.2.1.1. Ekstrapulmoner Tüberküloz

Tüberküloz lenfadenit ekstrapulmoner tüberküloz grubu içinde yer alır. Tüm tüberküloz olguları içindeki ekstrapulmoner tüberküloz payı ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir. Karagöz ve arkadaşları 1995 yılında İstanbul dispanserlerinde tedaviye alınan tüberküloz hastalarının %22'sinin ekstrapulmoner tüberküloz olduğunu saptamışlardır (19). Ülkemizde 2019 tüberküloz rehberine göre ise bu oran artmış ve ekstrapulmoner tüberküloz ülkemizde tüm hastaların yaklaşık %35'inde görülmüştür. Ülkemizde en sık plevra tüberkülozu, toraks dışı lenfadenit ve toraks içi lenfadenit olarak görülür (5).

Akciğer dışı tüberküloz lenfadenit tanısı, granülomatöz lenfadenopatinin geniş bir yelpazede ayırıcı tanı gerektirmesi nedeni ile zordur. Tanı, dokuların yayma, kültür ve histopatolojik tetkikler ile değerlendirilmesi ile konulur. Yayma ve kültür pozitiflik oranı düşüktür (7, 8). Ayırıcı tanıda; sarkoidoz, lenfoma, lösemi, tularemi ve bakteriyel

enfeksiyonlar, tüberküloz dışı mikobakteri enfeksiyonları, HIV ve diğer virüs enfeksiyonları, romatolojik hastalıklar, kedi tırmığı hastalığı gibi birçok hastalık bulunmaktadır (5). Akciğer dışı tüberküloz tanısı; yeterli miktar ya da hacimde örnek olmaması, farklı tanı testleri için numune paylaşılması (histoloji, sitoloji, biyokimya, mikrobiyoloji ve PCR) ve bu nedenle basillerin homojen olmayan dağılımı ve örneklerin az sayıda basil bulundurması gibi bir dizi nedenden dolayı zordur. Akciğer dışı örneklerde konvansiyonel mikrobiyolojik tekniklerin zayıf kalması nedeniyle moleküler testlerin kullanımı artmıştır (20).

2.2.2 Sarkoidoz

Sarkoidoz; etiyolojisi bilinmeyen, sistemik, multiorgan, sıklıkla akciğerleri etkileyen granümatöz bir hastalıktır. Doku histopatolojisi alternatif tanımlar için yol gösterse de, sarkoidoz granülomlarını diğer granümatöz hastalıklardan ayıracak benzersiz histolojik özellikler yoktur. Doğru teşhis için klinik, radyolojik ve histopatolojik değerlendirmeyi içeren multimodal yaklaşım önerilir (9,21).

Etiyolojisi bilinmemesine rağmen; spesifik meslekler, genetik duyarlılık ve çeşitli enfeksiyöz patojenlerle ortaya çıkabildiği tanımlanmıştır. Kontrolsüz immünolojik olayların rol oynayabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (22). Genetik yatkınlığı olanlarda çeşitli etiyolojik faktörlerin tetiklemesi ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. BTNL2 (butirofilin benzeri 2) gen polimorfizmi ve HLA-DRB1 sarkoidoz için bağımsız risk faktörleridir (23). Anjiyotensin dönüştürücü enzim D/D genotipi, artan sarkoidoz riski ile ilişkilendirilmiştir (24). Çam polenleri, M. tuberculosis, Propionibacterium, virüsler gibi bazı mikroorganizmalar etiyolojide rol oynayabilir (25).

İnsidansı dünyada yıllık; 100binde 0,1 ile 81, ülkemizde yıllık; 100binde 4 (Avrupa ülkeleri ile benzer)'tür. Ülkemizde; kadın/erkek oranı 2 kat olmak üzere diğer ülkelerle benzerdir. (4). Birçok organ tutulabilmesine rağmen, en sık akciğerler ve intratorasik lenf nodları etkilenir. ATS sarkoidoz rehberinde sarkoidoz hastalarının %90'ından fazlasında akciğerlerin ve yaklaşık üçte birinde lenfoid sistemin etkilendiği bildirilmiştir (9,22).

Sarkoidozun konvansiyonel akciğer grafisi ile değerlendirilen beş radyolojik aşaması vardır: evre 0 normal akciğer grafisi, evre 1 sadece bilateral hilar lenfadenopati,

evre 2 parankim infiltrasyonlu lenfadenopati, evre 3 sadece parankimal hastalık, evre 4 pulmoner fibrozis. Sarkoidoz bu evrelerin herhangi bir aşamasında mevcut olabilir.

Sarkoidoz tanısı; klinik ve radyolojik bulguların, histopatolojik olarak ‘non-kazeifiye epiteloid hücre granülomu’ nu desteklemesi ve alternatif granümatöz hastalıkların dışlanması ile konur. Öykü ve fizik muayene sonrası; akciğer grafisi, solunum fonksiyon testleri (spirometri, diffüzyon testi), tam kan, tam idrar tetkiki, serum biyokimya (karaciğer, böbrek fonksiyonları, ACE düzeyi), 24 saatlik idrar kalsiyumu, EKG, PPD, göz değerlendirmesi, BAL sıvısı CD4/CD8>3.5, lenfositik alveolit (>%25) ile değerlendirilebilir (25).

2.3. İmmünpatogenez

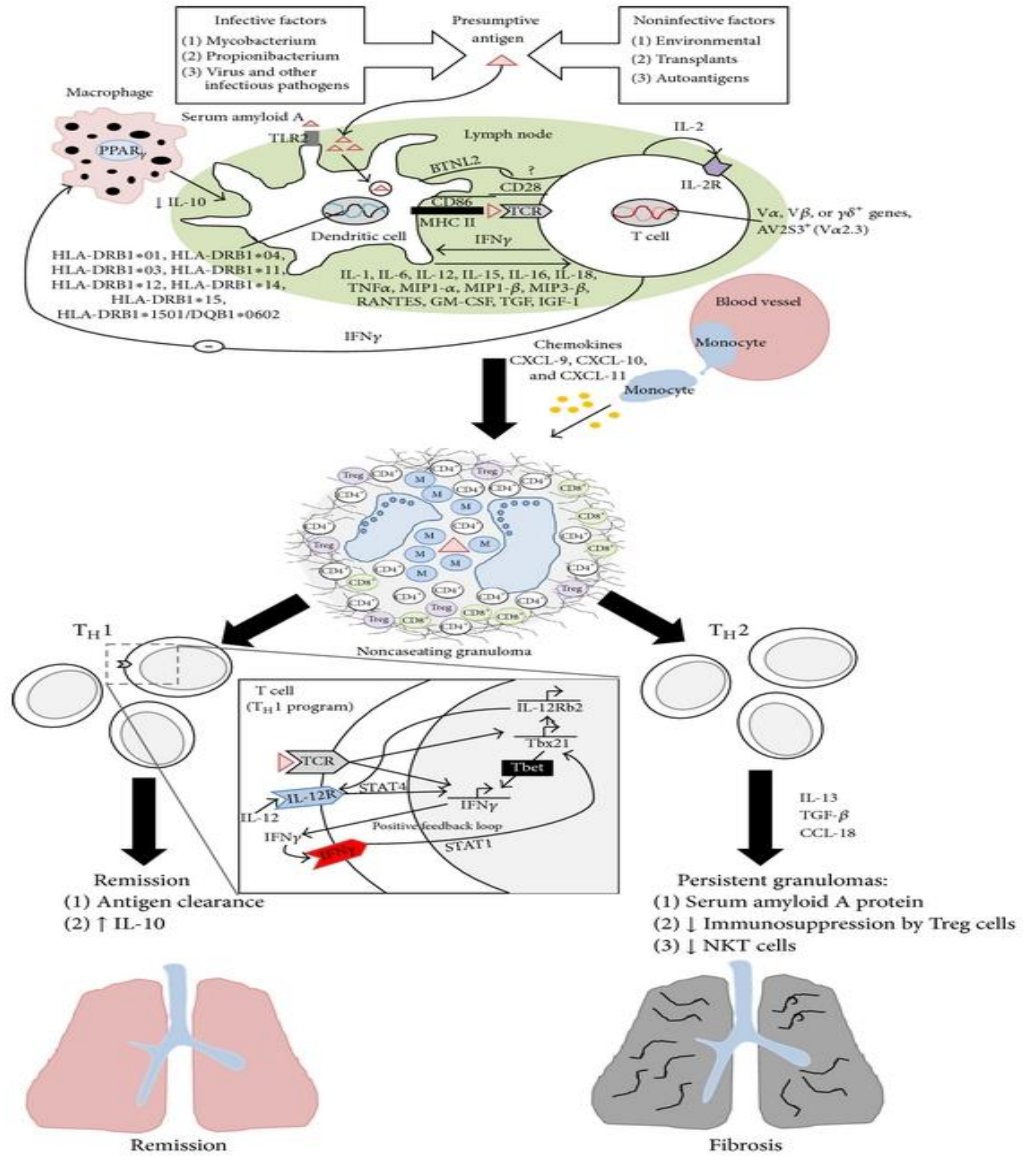
Sarkoidoz ve tüberkülozda etkilenen lenf nodlarındaki lenfosit dinamikleri hakkında çok az şey bilinmektedir. CD4 T lenfositlerin aşırı aktivasyonunun sarkoidozun ayırt edici özelliği olmasına karşın, patogenezi net olarak aydınlatılamamıştır. Granülom kalıcılığı, çözünürlüğü, ilerlemesi ve fibroza dönüşümü çeşitli inflamatuvar, düzenleyici, apoptotik, Th1 / Th2 sitokin cevapları ve M1/M2 polarizasyonu arasında bir dengedir. Sarkoidoz ve tüberkülozdaki bu mikro dengeyi anlamak, tanısal ve terapötik bilgilerimizi geliştirmek için önemlidir. (26).

2.3.1 Sarkoidoz immünpatogenezi

Sarkoidozda görülen immünolojik özellikler; ciltte gecikmiş tip hipersensitivite immün yanıt baskılanması (anerji), artmış Th-1 (T-Helper cell type 1) immün yanıtı, B hücre hiperreaktivite bulguları ve dolaşımdaki immün komplekslerdir (25).

Tetikleyici ajanlarla karşılaşma ile hücreyel immün yanıt cevabı olarak granülom oluşur. Antijenlerle karşılaşma sonrası; antijen sunan hücreler (antigen presenting cells-APCs) antijeni hazırlar, makrofaj ve dentritik hücreler antijeni fagosite eder. APC’ler HLA Class 2 aracılığıyla antijeni CD4+ T hücrelerine sunar. T hücreler Th 1 fenotipine dönüşür. Th-1 aracılı immün cevapla antijen granülom içine hapsolur. Aktive makrofajlar Th1’leri arttırıp IFN- γ salınımı ile makrofajları aktive eder (Şekil 3). Sitokinler inflamatuvar cevap oluşumu ve T lenfosit aktivasyonunu sağlar. Tüberküloza benzer şekilde T-helper aktivasyonu görülür. Aktive makrofajlar fibroblast büyüme faktörleri salgılar ve granülom evresinden fibrozisa geçişe yol açar (27).

Sarkoid granülomu; merkezde mononükleer fagositler, epitelooid ve multinükleer dev hücreler, dış tabakada başlıca CD4+, nadir CD8+ T lenfosit ve B lenfositlerin sardığı sıkı bir yapıdadır. Sarkoid granülomlarının %60'ından fazlası kendini sınırlarken; bir kısmında rezolüsyon, bir kısmında masif granülom, bir kısmında tedaviye yanıtızsızlık, bir kısmında kontrolsüz granülom oluşumu ve fibrozis gelişebilir (27) (Şekil 3)



Şekil 3. Sarkoidoz immünopatogenezi ayrıntılı akış şeması (27)

2.3.2. Tüberküloz immünpatogenezi

Alveollere ulaşan basiller, yok edilebilir, kontrol altına alınabilir veya çoğalarak primer tüberküloz oluşturabilir. Akciğer tüberkülozunun immünopatogenezi, ilk infeksiyondan kavite oluşumuna kadar evrelendirilir (28).

1. **Başlangıç evresi:** Basilin alveole inhalasyonu ile başlar. Fagosit edilen basiller sindirilir ya da çoğalarak infeksiyonu başlatır.
2. **Basil çoğalma evresi:** Sindirilemeyen basiller çoğalarak makrofajları parçalar. Makrofajlar basilleri fagosit etseler de aktive edilmedikleri için çoğalmalarına engel olamazlar ve lenfo-hemotojen yayılarak granülomlar oluştururlar.
3. **İnfeksiyon kontrol evresi:** Hücresel immün yanıt inhalasyondan sonra 2-6 haftada gelişir. Basil proteinleri doku hasarı yapan gecikmiş tip duyarlılık reaksiyonuna yol açarak; kazeifikasyon, likeifikasyon ve kavitasyona neden olur. Granülom merkezinde nekroz dokusu oluşur. Bu ortamda basiller çoğalamaz, yıllarca dormant halde kalırlar.
4. **Hücresel immün yanıt ile gecikmiş tip aşırı duyarlılık arasında etkileşim evresi:** Hücresel immün yanıt primer infeksiyonu durdurur. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıtı ile kazeöz nekrozlar genişler, primer tüberküloz oluşur. Lenfo-hematojen yolla basiller yayılır ve pulmoner ven duvarına kazeöz odak açılması ile miliyer ve disemine tüberküloz gelişir.
5. **Kavite oluşum evresi:** Primer tüberkülozu kontrol edemeyenlerde, reaktivasyon veya reinfeksiyonla yıllar sonra kaviter lezyonlar oluşur (sekonder tüberküloz).

Tüberkülozda doğal immünite

NK ve sitotoksik T lenfositler (CD8 +T) doğal immünitede etkili hücreler olup, basillerle birlikte infekte hücreleri de öldürürler. Bazı bireyler daha güçlü alveoler makrofaj popülasyonuna sahip olduklarından tüberküloza dirençlidirler (28).

Tüberkülozda kazanılan immünite

Konak, ilk infeksiyondan hücresel immün yanıt (hücresel immünite ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu) kazanır. Kazanılan immünite, tüberküloz basillerinin infeksiyon odağında lokalize kalmasını sağlar (28).

İnfekte makrofajlardan immün baskılayıcı, immün koruyucu ve NK hücre ile CD8+ lenfositleri aktive edici sitokinler salınır. Bu sitokinlerden TNF-a ile IL-12, CD4+Th lenfositleri Th1 fenotipe farklılaştırır. Th1 lenfositlerin salgıladığı sitokinler makrofajları aktive eder. Aktive makroplar basilleri sindirirken, NK ve CD8+T lenfositler basilleri ve infekte makrofajları öldürerek basil sayısını azaltır. Makrofajlar veya dentritik hücreler tarafından CD4+T veya CD8+T lenfositlere antijenler sunulduktan sonra, hücrel immünite ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişir. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu ile granülom ve kazeöz nekroz oluşur (28).

Hücrel immünite

Tüberkülozda hücrel immün yanıt, makrofajların T lenfositlere Major Histocompatibility Complex (MHC) ile antijen sunmasıyla başlar. Uyarılan makrofajlar, CD4+ lenfosit proliferasyonunu ve inflamatuvar CD4+ Th1 ve yardımcı CD4 +Th2 lenfositlere farklılaşmasını sağlar. İnfekte makrofajlarda antijenler, makrofajın MHC-I veya MHC-II moleküllerine bağlanarak taşınır. Antijen yüklü MHC-II, CD4+ Th1 lenfositlere sunulur ve lenfosit proliferasyonu başlar. Uyarılan CD4 +Th1 lenfositlerden, makrofaj aktivasyonunu sağlayan sitokinler salınır; makrofajlar ve CD8+ T lenfositler aktive olur. Th1 lenfositlerle sağlanan yeterli hücrel immün yanıt, ilk enfeksiyonu durdurur. Makrofajlarda MHC-I/II inhibisyonu ile enfeksiyon kronikleşir. Antijen, MHC-II ile CD4+Th2 lenfositlere sunulursa anti-inflamatuvar sitokinler salınır. Aktif CD4+ Th2 lenfositler, makrofaj ve Th1 lenfositleri inhibe ederek hücrel immüniteyi baskılar. Öldürülemeyen antijenler, MHC-I üzerinden CD8+ T lenfositlere sunulur ve hedef hücrenin ölümü sağlanır (28).

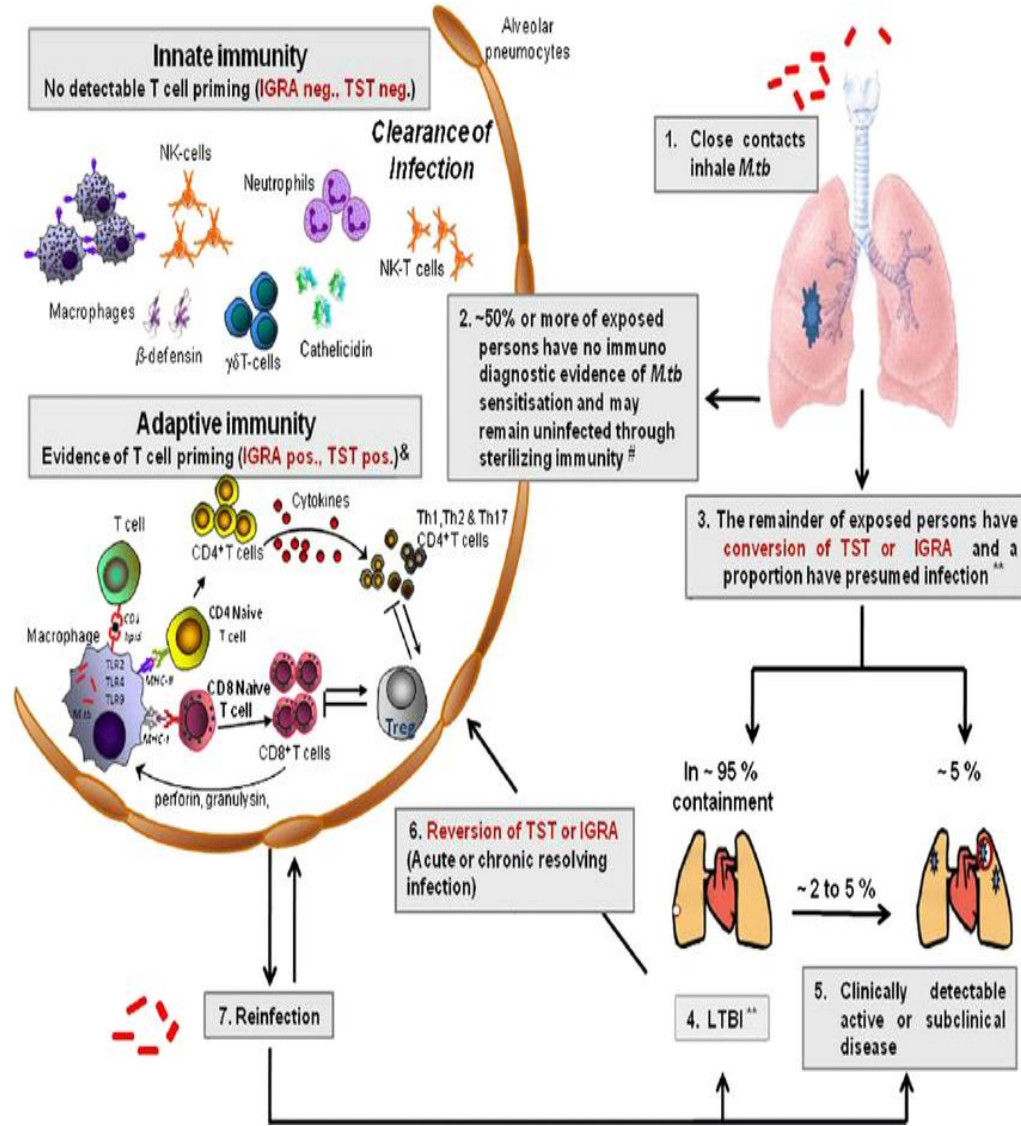
Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu

Aktive CD4+ lenfositler antijenle tekrar karşılaştığında; granümatöz reaksiyon, doku hasarı ve nekroz oluşur (28).

Granülom oluşumu

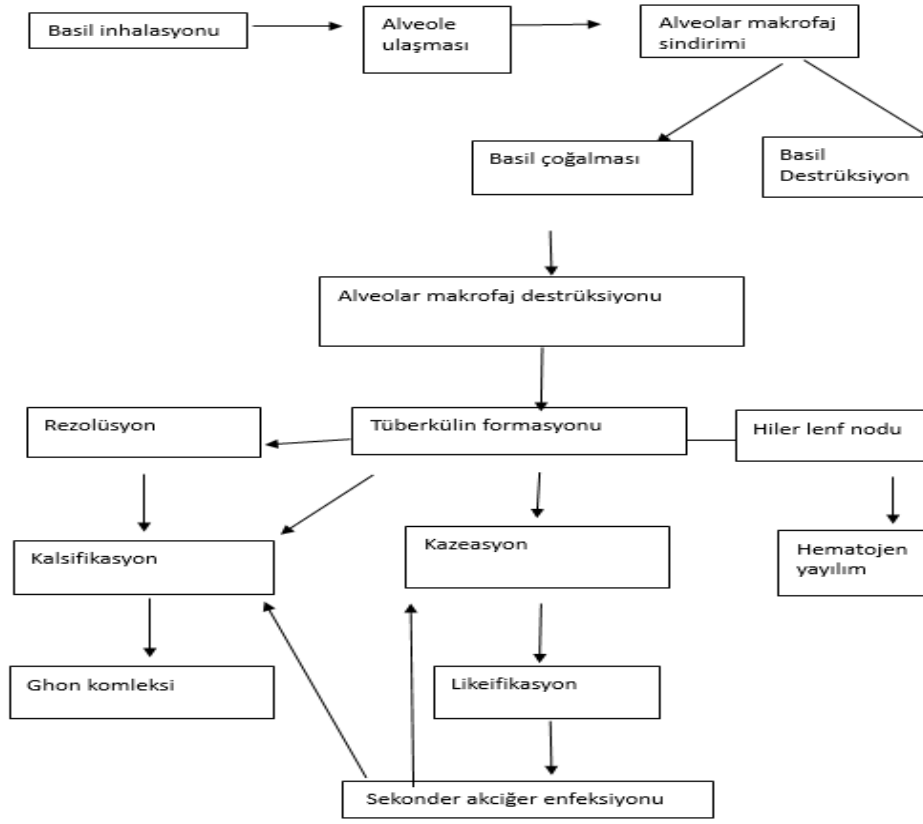
Aktif alveoler makrofaj ve lenfositler (CD4+ ve CD8 +) toplanarak granülom oluşur; basilin çoğalması ve yayılımı sınırlanır. CD4+ T hücreler immün hafızadan, CD8+ T hücreler enfeksiyon kontrolünden sorumludur (28).

Tüberküloz immünpatogenezi şekil 4 ve şekil 5’de özetlenmiştir.



Şekil 4. Tüberküloz immünpatogenezi özet şekil

Makrofajlar işlevlerine göre M1 ve M2 makrofajlar olarak tanımlanır. Aktive M1 makrofajlar interlekin 12(IL-12) ve tümör nekroz faktör (TNF- α) salgılar. Th2 sitokinleri varlığında üretilen M2 makrofajlar immün sistem düzenleyicidir (29). Makrofaj tip tespiti için altın standart olmamasına rağmen, M1 için anti-CD68 ve M2 için anti-CD163 antikorları immünhistokimyasal (IHC) boyama ile tespit edilebilir (26).



Şekil 5. Tüberküloz immünpatogenezi özet akış şeması

2.4. Mediastinal lezyonlara tanısal yaklaşım

2.4.1. Mediastinal lezyonlara noninvazif tanısal yaklaşım

Mediasten anormalliği olan hastalar ayrıntılı anamnez, fizik bakı, akciğer grafisi ve varsa önceki akciğer grafisi ile karşılaştırılarak değerlendirilmelidir.

2.4.1.1. Bilgisayarlı tomografi (BT) / Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR)

/Nükleer tarama: Akciğer grafisinde saptanan mediastinal genişlemenin; lokalizasyonu, vasküler yapılarla ilişkisi, kontrast tutulumu ve eşlik eden lezyonları BT ile saptanır. MR; kontrast madde alerjisi, böbrek yetmezliği gibi kontrastlı BT' nin kullanılamadığı durumlarda ve lenf nodu ile damarsal yapı ayırımında BT' ye üstündür.

18-F-florodeoksiglikoz (FDG) PET/BT akciğer kanseri, lenfoma tanı, evreleme ve tedavi takibinde önemlidir ancak; sarkoidoz, tüberküloz gibi granümatöz inflamasyon ve malignite arasındaki ayırım yanlış pozitiflik nedeniyle zordur.

2.4.2. Mediastinal lezyonlara invaziv tanısal yaklaşım

Mediastinal lezyonlarda doku tanısı için invaziv yöntemler ile aspirat örnekleri elde edilebilir.

2.4.2.1. Transbronşiyal İğne Aspirasyonu (TBİA) ve Bronkoalveolar Lavaj (BAL): TBİA ile mediastinal lenf nodlarındaki patolojilere iğne batırılarak sitolojik, histolojik veya mikrobiyolojik örnek alınabilir. Bronkoalveolar lavaj, parankimal akciğer hastalıkları ayırıcı tanısında kullanılan minimal invaziv yöntemlerden biridir (30). Sarkoidoz tanısında BAL sıvısı hücre analizinin tanıya yararı ile ilgili 90'lı yılların başından beri çeşitli çalışmalar yapılmıştır. BAL sıvısında CD4/CD8 oranının 3,5'den büyük olması sarkoidoz tanısını desteklemektedir (14, 31). Winterbauer ve ark. CD4/CD8 oranı 4.0' ın sarkoidozu diğer interstisyel akciğer hastalıklarından ayırt etmede %96, tüm hastalıklardan ayırt etmede %84' lük bir özgüllüğe sahip olduğunu bulmuşlardır. (32). Yapılan başka bir çalışma, sarkoidozda evre arttıkça BAL' da CD4/CD8 oranının tanısal duyarlılığının azaldığını göstermiştir (33).

2.4.2.2. Endobronşiyal ultrason eşliğinde transbronşiyal iğne aspirasyonu (EBUS-TBİA): EBUS-TBİA mediastinal lenfadenopati yapan benign patolojilerde malignitede olduğu gibi yüksek tanısal doğruluğu ile ilk tercih edilen yöntemdir. İyi tolere edilir, minimal invaziv ve düşük komplikasyon oranına sahiptir (10). EBUS-TBİA örnekleri histolojik tanı, moleküler tanı veya immünohistokimyasal analizler için uygundur (13).

Çeşitli çalışmalarda EBUS için farklı tanı değerleri bildirilse de; ülkemizde Çağlayan ve arkadaşlarının granümatöz lenfadenitlerde EBUS-TBİA tanı değerini araştırdıkları çalışmalarında; duyarlılığı %80.9, doğruluğu %83.3 olarak bildirmişler ve bu minimal invaziv ve komplikasyon oranı düşük metodun mediastinoskopiye alternatif olabileceği sonucuna varmışlardır (11). Yine ülkemizde yapılan başka bir çalışmada EBUS-TBİA tanısal doğruluğunun, benign granümatöz hastalıklar için %83, malign hastalıklar için %77 olduğu görüldü (12). Evre 1 sarkoidoz olgularında; ATS 2020 sarkoidoz rehberine göre EBUS kılavuzluğunda lenf nodu örnekleme tanısı veriminin %87 (%95 CI, %94-91) olduğu ve tanı için öncelikli konumlandığı görüldü (9). Bir benign hastalık olan tüberküloz tanısında da EBUS-TBİA tanı yöntemi olarak

kullanılmaktadır. Ülkemizde Çetinkaya ve ark. ları tüberkülozda EBUS-TBİA duyarlılığını %79 olarak bildirmişlerdir (37). Ren ve ark. larının yapmış olduğu bir çalışmada mediastinal tüberküloz lenfadenit şüphesi olan hastalarda standart bronkoskopinin duyarlılığı %18,1 ve özgüllüğü %100 iken, EBUS-TBİA eklendiğinde, bu değerlerin sırasıyla %80 ve %92,3'e olduğu görüldü (38).

2.4.2.3. Endoskopik Ultrasonografi (EUS) / Transözofageal Ultrason (TEUS) Eşliğinde Yapılan İğne Aspirasyonu (EUS-İİAB): İleri bir gastroenterolojik endoskopi yöntemi olan EUS'un, EBUS ile arasındaki en büyük fark, lenf nodlarına erişim yeteneğidir. EUS' da hiler ve trakea anterior lenf nodlarına erişim daha zordur (21).

2.4.2.4. Mediastinoskopi: Mediastinal lenf nodlarını örneklemek için en sık kullanılan invaziv yöntemdir. Genellikle üst ve alt paratrakeal lenf nodları örneklenir. Subkarinal ve bilateral hiler lenf nodlarına ulaşmak zor olabilir. Aortikopulmoner pencere, paraaortik, paraözafajiyal, pulmoner ligament lenf nodlarına standart servikal mediastinoskopi ile ulaşılamamaktadır.

2.4.2.5. Torakoskopi, Anterior Mediastinotomi: Video-asiste torakoskopi (VATS); subaortik, paraaortik, paratrakeal, sağ alt paratrakeal, paraözafajiyal veya pulmoner ligaman lenf nodlarının örneklenmesinde alternatif torakoskopik bir incelemedir. Lenf nodları büyük ve göğüs ön duvarına uzanıyorsa anterior mediastinotomi ile lenf nodu örneklemesi yapılır.

Sarkoidoz ve tüberküloz görülme sıklığı ülkelere göre farklılık göstermektedir. Müsellim ve arkadaşlarının sarkoidoz epidemiyolojisine yönelik yapmış oldukları çalışmalarında ülkemizde yıllık sarkoidoz görülme insidansı 4/100.000 olarak saptanmıştır. Sağlık bakanlığı verilerine göre ise ülkemizde tüberküloz görülme insidansı 14.6/100.000' dir. (4, 5). Sarkoidoz ve tüberküloz benzer klinik, radyolojik ve histolojik belirtileri olan granülomatöz hastalıklar olup ayırıcı tanılarında zorluk yaşanmaktadır (1). Tüberkülozun kesin tanısı için örneklerde kültür mikobakterium tüberkülozisin gösterilmesi altın standart iken, sarkoidoz tanısı için bir altın standart yoktur. Tek başına histopatoloji tanı için yetersiz olabilmekte ve spesifik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Granülomatöz mediastinal lenfadenopatilerde; kontrolsüz T hücre

proliferasyonu, sitokin salınımı, aktive T hücreleri ve makrofajlar gibi immünolojik mekanizmaların patogeneizde önemli rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda farklı analiz yöntemleri ile BAL sıvısı ve lenf nodu örneklerinde CD4/CD8 T lenfosit oranı ile ilgili farklı değerler saptansa da özellikle granümatöz hastalık ayırıcı tanısında EBUS-TBİA örneklerinde lenfosit ve makrofaj immünohistokimya boyaması ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Genişlemiş mediastinal ve/veya hiler lenfadenopatisi olan kişilerde EBUS-TBİA ile patolojik olarak granümatöz hastalığın gösterilmesine ek olarak örneklerde immünohistokimya boyama ile CD4 T lenfosit sayısı ve CD4/CD8 T lenfosit oranlarının gösterilmesi sarkoidoz tüberküloz ayırıcı tanısına büyük katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızda; EBUS-TBİA ile patolojik olarak granülom saptanmış örneklerde; immünohistokimya boyama ile; CD4 T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi, CD8 T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı ile makrofaj belirteci olan CD68'in granümatöz hastalık olan sarkoidoz ve tüberkülozun ayırıcı tanısına katkısı değerlendirmeyi amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamız tek merkezli, retrospektif çalışma olarak planlandı. 01.01.2019-31.12.2019 tarihleri arasında mediastinal ve/veya hiler lenf nodu genişlemesi nedeni ile merkezimizde endobronşial ultrasonografi eşliğinde transbronşial iğne aspirasyonu yapılan 1709 vakanın kayıtları incelendi.

Çalışmaya dahil edilme ve hariç tutulma kriterleri şu şekilde belirlendi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- > 18 yaş kadın ve erkek cinsiyet
- Mediastinal ve/veya hiler lenfadenopatisi olan hastalar
- EBUS ile histopatolojik olarak granülomatöz lenfadenit tanısı konmuş olan hastalar
- En az 6 ay klinik takibi yapılmış hastalar
- Patoloji kabul kriterlerine göre yeterli doku materyaline sahip hastalar

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

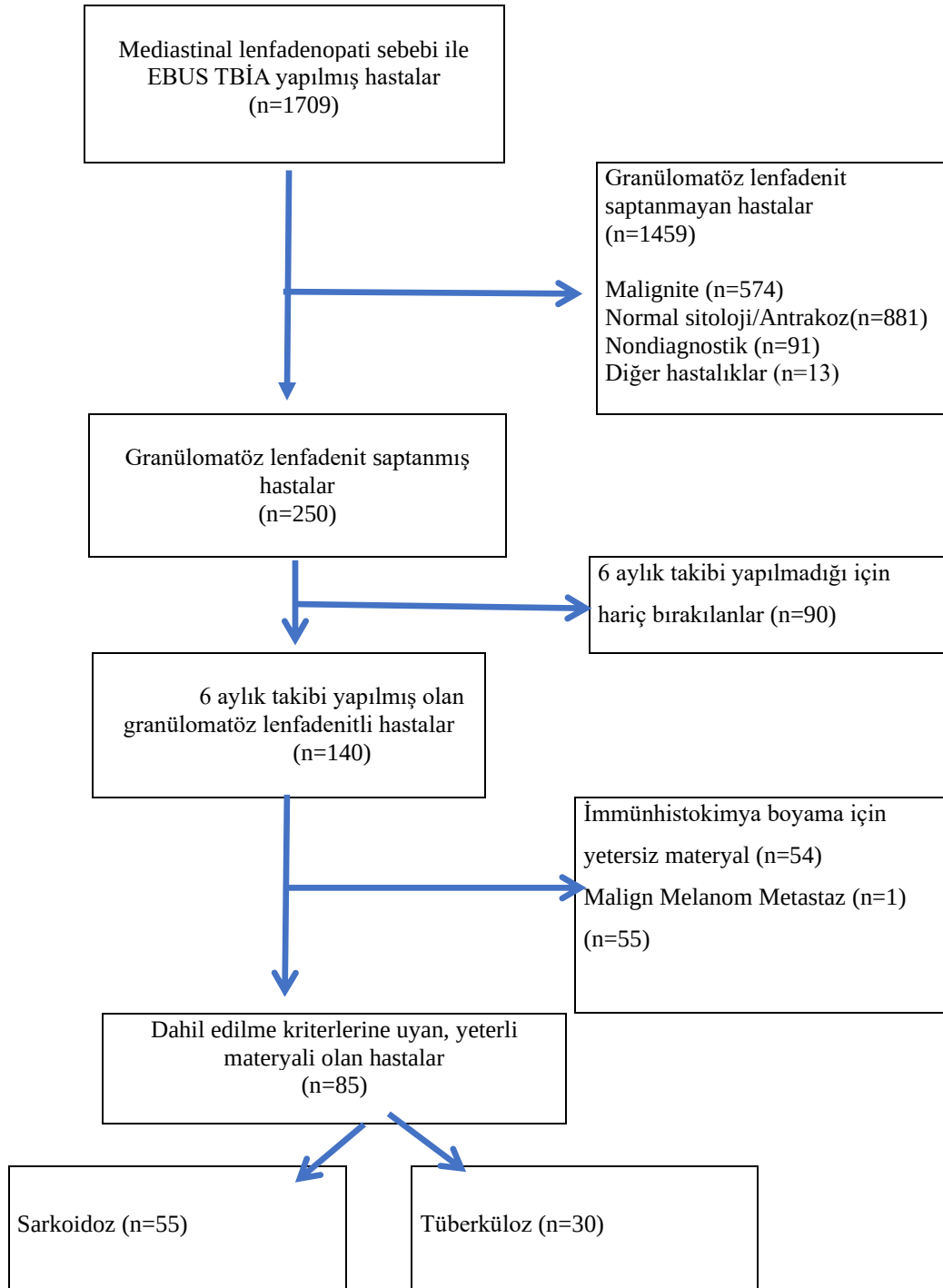
- 18 yaş altı hastalar
- Patolojik değerlendirmede granülomatöz hastalık dışında hastalığı olanlar (malignite, pnömokonyoz, lenfoma vb.)
- Granülomatöz hastalık tanısı konduğu halde ileri patolojik inceleme için yeterli materyali olmayan hastalar çalışma harici tutuldu.

Çalışmaya alınan hastalara Sarkoidoz tanısı; klinik, laboratuvar ve radyolojik bulgular ile histopatolojik olarak dokuda granülomatöz lenfadenit saptanması ve en az 6 aylık takiple başka hastalığının olmaması ile konuldu. Tüberküloz tanısı ise klinik, laboratuvar ve radyolojik bulgular ile hastanın balgam veya sıvı örneklerinde ARB + (kültür dahil) olması veya patolojik örneklerde tüberküloz basili gösterilmesi, ya da tüberküloz tedavisini tamamlamış ve tedaviye cevap alınmış olması ile konuldu.

01.01.2019-31.12.2019 tarihleri arasında mediastinal lenfadenopati sebebi ile EBUS –TBİA yapılmış olan 1709 olgunun 1459'unun kesinleşen tanısının olmadığı ya da granülomatöz hastalık dışı tanısı olduğu görüldü. Bunlardan 881'i normal

sitoloji/antrakoz, 574' ü malignite, 91'i nondiagnostik, 13'ü diğ er hastalık tanısı aldı.

Olguların 250'si (%14,6) patolojik olarak gran ulomat z lenfadenit tanısı aldı. Bu 250 olgunun 90'nının 6 aylık klinik takipleri olmadığı için çalışma dışı bırakıldı. 6 aylık takibi yapılmış olup, kriterlere uyan 140 olgu incelemeye alındı. 140 olgunun 54'  patolojik değerlendirme için yeterli materyal olmaması nedeni ile 1 vaka malign melanom metastazı saptandığı için çalışma dışı bırakıldı. 55'i sarkoidoz, 30'u tüberküloz olmak üzere toplam 85 vaka çalışmaya dahil edildi (şekil 6).



Şekil 6. Çalışmaya alınan hastaların sayısını gösteren akış şeması

3.2. EBUS- TBİA

EBUS-TBİA işlemi; bir konveks prob endobronşiyal ultrason (Olympus BFUC160F 7.5 MHz Olympus Co Ltd, Tokyo, Japonya) ve özel ince iğneler (NA-201SX-4022, 22 gauge, Olympus, Tokyo, Japonya) kullanılarak lokal anestezi altında, bilinçli sedasyonla yapıldı. Toraks BT’ de genişlemiş lenf nodları (kısa aks> 1 cm) seçildi. Lenf nodları Amerikan Toraks Derneği sınıflamasına göre tanımlandı. Gerçek zamanlı görüntü altında patolojik boyuttaki lenf nodları en az iki kez örneklendi. Yerinde hızlı sitopatolojik inceleme yapılmadı.

3.3. Patoloji preparat değerlendirilmesi

Patoloji lam arşivinde dahil edilen olgulara ait tüm preparatlar çıkarıldı ve ışık mikroskopisinde tekrar incelendi. Patoloji kabul kriterlerine göre değerlendirme yapıldı.

Kabul kriterleri

1. Hücre bloğu kesitinde granülom veya epiteloid histiosit kümelerinin varlığı
2. Mikroskopik bir büyük büyütme alanında en az 40 adet veya daha fazla matür lenfosit ya da 5 küçük büyütme alanında en az 100 adet veya daha fazla matür lenfositler.

Dışlanma kriterleri

1. Asellüler veya tamamı nekrotik hücre bloğu
2. Malignite içeren sitoloji

Mikroskopik değerlendirmede ayrıca nekroz içerip içermediği ve olguya ait birden fazla istasyondan aspirasyon yapılmış ise uygun olan seçildi.

Seçilen hücre bloklarında 4 mikron kalınlığında 4'er adet kesitler alındı. Birer kesit rutin histokimya Hematoksilen&Eozin (H&E) ile boyandı.

3.3.1. Lenf nodu örneklerinde CD4 T lenfosit, CD8 T lenfosit ve makrofaj belirteci CD68 için immünohistokimya boyama

Tüm preparatlara tam otomatize kapalı sistemde immünohistokimya işlemi yapıldı. Tam otomatize immünohistokimya cihazı kullanıldı. Primer antikorlar CD4, CD8, CD68 idi. Antikor marka, klon, dilüsyon oranı, inkübasyon süresi ve pozitif

kontrol dokusu tablo 3’de açıklandı. Universal kitt ultraview universal dab detection kit kullanıldı.

Cihazda prosedür deparafinizasyon ile başladı ancak tüm kesitler öncesinde 30 dakika etüvde 72 santigrad derecede deparafinize edildi.

CD4 ve CD8 için 64 dakika 95 santigrad derecede, CD68 için 52 dakika 95 santigrad derecede EDTA (CC1) ve 4 dakika 1 damla Ultraviyole inhibitör uygulandı.

CD4 için her inkübasyon işlemi sonrası reaksiyon buffer ile yıkama yapıldı. Primer antikor damlatılarak 1 saat 20 dakika 37 santigrad derecede inkübe edildi. Sırasıyla amplifikasyon A ve B 8’er dakika uygulandı ve 1 damla sekonder antikor (1 damla UV HRP UNIVERSAL MULT) damlatıldıktan sonra 8 dakika inkübe edildi. Bir damla UV DAB ve damla UV DAB hidrojen peroksit ile 8 dakika, bir damla UV COPPER 4 dakika, hematoksilin eozin zıt boyama ile 8 dakika, Bluing Reagent ile zıt boyama 4 dakika inkübe edildi.

CD 8 için her inkübasyon işlemi sonrası reaksiyon buffer ile yıkama yapıldı. Sırasıyla primer antikor damlatılarak 32 dakika 37 santigrad derecede inkübe edildi. Sekonder antikor (1 damla UV HRP UNIVERSAL MULT) damlatıldıktan sonra 8 dakika, bir damla UV DAB ve damla UV DAB hidrojenperoksit ile 8 dakika, bir damla UV COPPER ile 4 dakika, hematoksilin eozin zıt boyama ile 8 dakika, Bluing Reagent zıt boyama ile 4 dakika inkübe edildi.

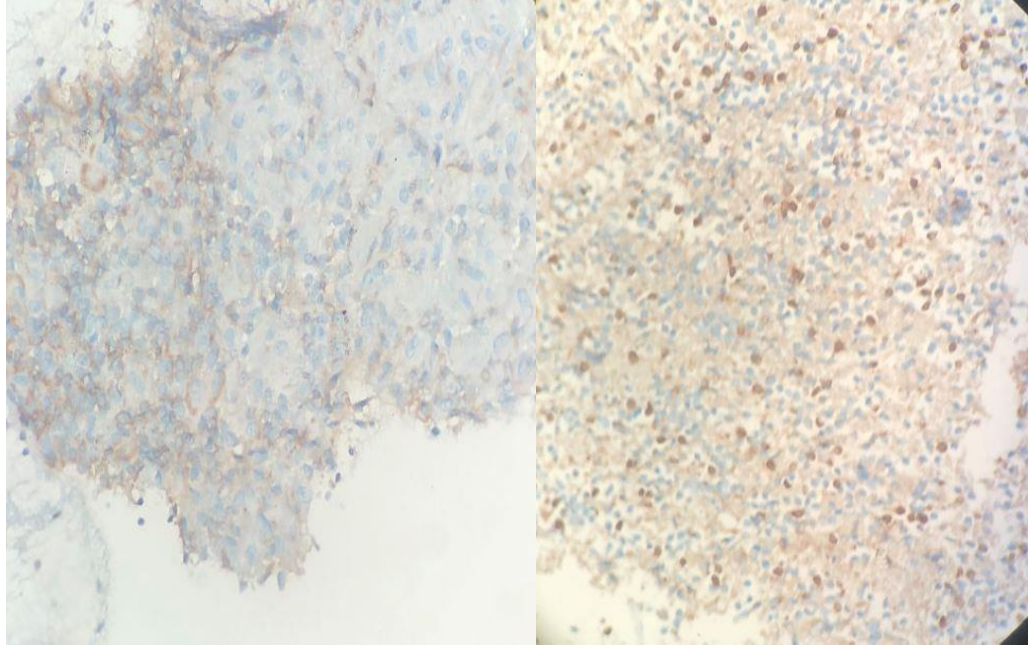
CD68 için primer antikor damlatılarak 32 dakika 37 santigrad derecede inkübe edildi. Her inkübasyon sonrası reaksiyon buffer ile yıkama yapıldı. Sırasıyla sekonder antikor (1 damla UV HRP UNIVERSAL MULT) ile 8 dakika, bir damla UV DAB ve damla UV DAB hidrojenperoksit ile 8 dakika, bir damla UV COPPER 4 dakika, hematoksilin eozin zıt boyama ile 8 dakika, Bluing Reagent zıt boyama ile 4 dakika inkübe edildi.

Tablo 3. CD4, CD8, CD68 antikor marka, klon, dilüsyon oranı, inkübasyon süresi ve pozitif kontrol dokusu

<u>MARKA</u>	<u>ÜRETİM YERİ</u>	<u>ANTİBODY</u>	<u>CLONE</u>	<u>DİLÜTİON</u>	<u>İNKÜBE</u>	<u>POZİTİF KONTROL</u>
DAKO	DANİMARKA	CD4	4B12	2:100	1 saat 20 dk	Timus
DAKO	DANİMARKA	CD8	C8/144B	12 ml	32 dk	Tonsil
DAKO	DANİMARKA	CD68	PG-M1	12 ml	32 dk	Tonsil

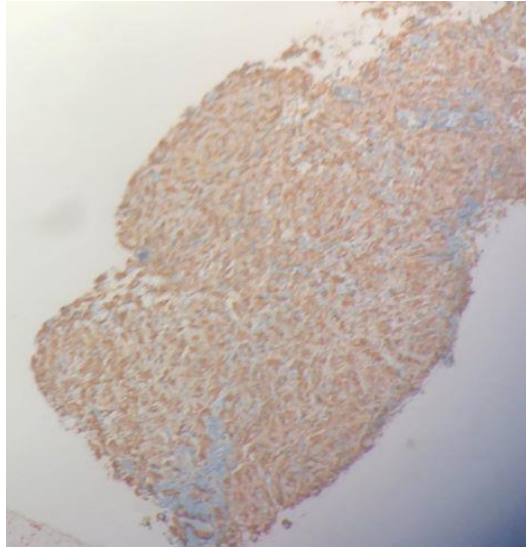
3.3.2. İmmünohistokimya değerlendirmesi

Lenfosit alt grup belirlemede CD4, CD8, makrofaj değerlendirmede CD68 rutin H&E kesitler ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Sitoplazmik ve membranöz koyu kahverengi boyanma immün reaksiyon pozitif olarak kabul edildi. Lenfosit alt gruplarında CD4 ve CD8 rastgele seçilen 15 alandan kalitatif toplam değerleri sayıldı. Tarama mikroskopik 400 büyük büyütme alanında yapıldı. Makrofaj değerlendirilmesinde kullanılan CD68 boyanma yoğunluğu yarı kantitatif 0-4 arasında nonparametrik değerlendirme yapıldı. Değerlerde; 0-immünreaksiyon yok, 1-az sayıda hücrede hafif pozitif, 2-hücrelerin yaklaşık %30'da pozitif, 3-hücrelerin yarısından fazlası pozitif, 4-tüm hücrelerde güçlü boyanma idi. İnceleme mikroskopik 200 büyük büyütme alanında yapıldı. Sonuçlar CD4+ T lenfosit hücre sayısı, CD4+ T lenfosit yüzdesi, CD8+ T lenfosit hücre sayısı, CD8+ T lenfosit yüzdesi ve CD68 boyanma yoğunluğu olarak ifade edildi. Kesitlerde koyu kahverengi boyanan CD4 pozitif lenfositler, CD8 pozitif lenfositler ve CD68 immünreaksiyon gösteren granülömler şekil 7,8 ve 9'da görülmektedir.



Şekil 7. Granülom periferinde CD4 pozitif lenfositler

Şekil 8. CD8 pozitif lenfosit topluluğu



Şekil 9. CD68 pozitif epiteloid histositlerin oluşturduğu granülom

Çalışmamız, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Bilimsel Komitesi ve S.B.Ü İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (Onay tarihi:26.07.2019, Karar No:1916) onayı ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları akademik kurul tez onayı ve bilimsel araştırma proje onayı alınarak yapıldı.

3.4. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analizler için Stata (Stata Corp. 2017.Stata Statistical Software: Release 15.1 College Station, TX: StataCorp LLC) ve XLSTAT 2021.2.2.113 (Addinsoft, Addinsoft, New York, USA) Sürekli değişkenler normal dağılım göstermediğinden (Shapiro-Wilk test), sürekli değişkenlerin tanımlanmasında Medyan (Inter Quartile Range (IQR)₂₅₋₇₅ kullanıldı. Kategorik değişkenlerin tanımlanmasında sıklık ve yüzde değerleri kullanıldı. Gruplar arası bağımsız değişkenlerin kıyaslanmasında sürekli değişkenler için Mann-Whitney -U testi, kategorik değişkenler için Ki-kare testi ve Fisher' ın exact test kullanıldı. CD4, CD8, CD4/CD8' in sarkoidoz tanısını öngörmede tanısal karar verdirici özellikleri Receiver Operating Characteristic (ROC) eğrisi analiz ile incelendi. Anlamlı sınır değerlerin varlığında bu sınırların duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif, negatif prediktif değerleri hesaplandı. Eğri alanının değerlendirilmesinde Tip-1 hata düzeyinin %5'in altında olan durumlarda testin tanısal değeri ve analizlerdeki tüm $p < 0,05$ değerleri istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

01.01.2019-31.12.2019 tarihleri arasında hastanemizde mediastinal ve/veya hiler lenf nodu büyümesi nedeni ile endobronşial ultrasonografi eşliğinde transbronşial iğne aspirasyonu yapılan 1709 hastadan çalışma kriterlerini karşılayan 85 olgu değerlendirildi. Tüberküloz ve sarkoidoz hasta verilerinin ve EBUS TBİA patoloji örnekleri immünohistokimya boyama sonuçları sonrası CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit hücre sayıları, yüzdeleri ve CD4/CD8 oranlarının karşılaştırmalı incelemesi yapıldı.

Çalışmaya alınan toplam 85 hastanın, 31'i (%36,5) erkek ve 54'ü (%63,5) kadın olup, yaş ortalaması $48,0 \pm 14,5$ idi. Sarkoidoz hastalarının 16'sı (%29,1) erkek, 39'u (%70,9) kadın olup yaş ortalaması $47,4 \pm 12,9$; tüberküloz hastalarının 15'i (%50,0) erkek, 15'i (%50,0) kadın olup yaş ortalaması $49,2 \pm 17,3$ olup, her iki grup arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (sırasıyla, $p=0,989$, $p=0,056$). Olguların 55(%64,7)'i sarkoidoz, 30'u (%35,3) tüberküloz idi. Hastalar komorbidite açısından değerlendirildiğinde; 37'sinin (%43,5) komorbiditesinin olduğu görüldü. Bunlardan 21'i (%38,2) sarkoidoz ,16'sı (%53,3) tüberküloz hastası olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($p=0,178$). Sarkoidoz ve tüberküloz hastalarının demografik özellikleri Tablo 4'de sunulmuştur.

Tablo 4. Sarkoidoz-Tüberküloz hastalarının demografik verileri

	Sarkoidoz (n=55)	Tüberküloz (n=30)	Toplam (n=85)	
	n (%)	n (%)	n (%)	p
YAŞ ($\bar{X} \pm SS$)	47,4 $\pm$ 12,9	49,2 $\pm$ 17,3	48,0 $\pm$ 14,5	0,989
CİNSİYET				0,056
Erkek	16 (%29,1)	15 (%50,0)	31 (%36,5)	
Kadın	39 (%70,9)	15 (%50,0)	54 (%63,5)	
KOMORBİDİTE				0,178
Var	21 (%38,2)	16 (%53,3)	37 (%43,5)	
Yok	34 (%61,8)	14 (%46,7)	48 (%56,5)	

Çalışmaya alınan 85 hastaya 7 ayrı istasyonda, toplam 155 lenf nodundan EBUS-TBİA yapıldı. Her iki grupta subkarinal ve paratrakeal bölgelerin en çok örneklenen lenf nodu istasyonları olduğu saptandı. Çalışmaya alınan sarkoidoz hastalarından örneklenen 100 lenf nodu istasyonundan; 46'sının subkarinal, 29'unun paratrakeal, 23'ünün hiler, 2'sinin ise interlober olduğu saptandı. Çalışmaya alınan tüberküloz hastalarından örneklenen 55 lenf nodu istasyonundan 24'ünün subkarinal, 18'inin paratrakeal, 12'sinin hiler, 1'inin ise interlober olduğu saptandı. Patoloji örneklerindeki granülomlarda nekroz varlığı incelendiğinde 85 hastanın 11'inde (%12,9) nekroz tespit edilirken, 74'ünde (%87,1) saptanmadı. 55 sarkoidoz hastasının 4'ünde (%7,3) ve 30 tüberküloz hastasının 7'sinde (%23,3) nekroz görülmüş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,046$) (Tablo 5).

Tablo 5. Sarkoidoz-tüberküloz hastalarında örneklenen lenf nodu sayısı ve nekroz görülme oranları

	Sarkoidoz (n=55)	Tüberküloz (n=30)	Toplam (n=85)
ÖRNEKLENEN LENF NODU			
Sağ-sol			
paratrakeal/Subkarinal	29/46	18/24	47/70
(n)	29/46	33/44	30/45
(%)			
Hiler/İnterlober	23/2	12/1	35/3
(n)	23/2	22/1	22/5
(%)			
			p
NEKROZ			0,046
Var	4(%7,3)	7(%23,3)	11(%12,9)
Yok	51(%92,7)	23(%76,7)	74(%87,1)

Çalışmaya alınan sarkoidoz hastalarında görülen ek hastalıklar incelendiğinde daha sık olarak; diabetes mellitus 9(%16), hipertansiyon 8(%15), obstrüktif hava yolu hastalığı 6(%11), iskemik kalp hastalığı 3(%6) ve malignite 3(%6) saptandı. Daha nadir olarak obezite, akalazya, guatr, interstisyel akciğer hastalığı, akalazya ve ritim bozukluğunun eşlik ettiği görüldü. Sarkoidoz hastalarının 31'inin (%56) Evre 1, 24'ünün (%44) Evre 2 olduğu görüldü. Sarkoidoz hastalarının 11'inin (%20) steroid tedavisi aldığı, 44'ünün (%80) tedavisiz takip edildiği saptandı. Sarkoidoz hastalarının takip süresi en az 6 ay olmak üzere takip süresi ortalama 11 ay idi. Sarkoidoz hastalarında en sık saptanan akciğer dışı bulgu cilt tutulumu olup, cilt bulgularından ek sık gözlenen bulgu eritema nodosum (8) olarak saptandı. Bunu periferik lenfadenopati (7) ve eklem tutulumu (4) izledi. Daha nadir olarak; göz tutulumu ve plevral efüzyon saptandı.

Çalışmaya alınan 30 tüberküloz hastasının sadece 3'ünde bakteriyolojik pozitiflik mevcuttu, kalan 27'sine tüberküloz tanısı klinik-radyolojik konuldu. Hastalara 6 ay süreyle anti-TB tedavi verildi, klinik ve radyolojik iyileşme görüldü. Tüberküloz hastalarının ortalama takip süresi 10 ay idi. Çalışmaya alınan tüberküloz hastaları ek hastalıklar açısından değerlendirildiğinde en sık olarak; hipertansiyon 6(%20), 5 yıl ve öncesinde geçirilmiş malignite öyküsü 6(%20), diabetes mellitus 5(%17) olarak saptandı. Bunu 5(%17) ile koah, astım gibi obstrüktif hava yolu hastalığı ve 2(%7) ile iskemik kalp hastalığının takip ettiği görüldü. Daha nadir olarak; kronik böbrek hastalığı, behçet, bronşektazi, guatr, konjestif kalp yetmezliği görüldü. Sarkoidoz ve tüberküloz hastalarının klinik özellikleri Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Tüberküloz ve sarkoidoz hastalarının klinik özellikleri

	Tüberküloz(n=30)	Sarkoidoz (n=55)
KOMORBİDİTE		
Koah, Astım	5(%17)	6(%11)
Ht	6(%20)	8(%15)
Dm	5(%17)	9(%16)
İkh	2 (%7)	3(%6)
Malignite	6(%20)	3(%6)
Diğer	7(%23) (kbh, behçet, guatr, bronşektazi, kky, depresyon)	8(%15) (obezite, akalazya, iah, guatr, ritim bozukluğu)
EVRE		
Evre 1	*	31 (%56)
Evre 2	*	24 (%44)
BAKTERİYOLOJİK POZİTİFLİK	3	*
TAKİP SÜRESİ (ay)	10,06	11,2
TEDAVİ		
Var	*	11(%20)
Yok	*	44 (%80)
AKCİĞER DIŞI BULGU		25 (%45)
Cilt (Eritema Nodosum en sık)	*	8
Eklem Tutulumu	*	4
Periferik lam	*	7
Diğer (plevral efüzyon, asit, göz)	*	5

Kısaltmalar: *Bilgi yok , KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı,DM: Diabetes mellitus,HT: Hipertansiyon,İKH: İskemik Kalp Hastalığı,KBY: Kronik böbrek hastalığı,KKY: Konjestif kalp yetmezliği, İAH: İnterstisyel Akciğer Hastalığı,LAM: Lenfadenomegali

Çalışmaya alınan sarkoidoz ve tüberküloz hastalarının laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 7’de sunulmuştur. Her iki hasta grubu hemoglobin, WBC, nötrofil sayısı, nötrofil yüzdesi, lenfosit sayısı, lenfosit yüzdesi, eosinofil sayısı, prokalsitonin, sedim, CRP, kreatinin, ALT, AST, total protein, serum albümin, serum LDH, serum kalsiyum, serum ACE, 24 saatlik idrar kalsiyum değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark tespit edilmedi($p>0,05$).

Çalışmaya alınan 55 sarkoidoz hastasının 45’inde serum ACE değerlendirilirken, 30 tüberküloz hastasının yalnızca 8’inde değerlendirilmiştir; serum ACE değerlerinin sarkoidoz hastalarında yüksek seyrettiği söylenebilir ancak; tüm vakalarda serum ACE değeri ölçülmediği için aralarında istatistiksel olarak fark tespit edilmediği görülmüştür($p>0,05$).

Tablo 7. Tanı grupları arasında laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Laboratuvar Değişkenleri	Sarkoidoz		Tüberküloz		Toplam		p
	n	Ortanca (1.ve 3. çeyreklikler)	n	Ortanca (1.ve 3. çeyreklikler)	n	Ortanca (1.ve 3. çeyreklikler)	
Hemogloblin (g/dl)	45	14,0 (12,0-14,0)	27	13,0 (11,0-14,0)	72	13,0 (12,0-14,0)	0,114
Lökosit (10e3/uL)	45	7,0 (6,0-9,0)	27	7,0 (6,0-9,0)	72	7,0 (6,0-9,0)	0,553
Nötrofil (%)	45	62,0 (56,0-69,0)	27	62,0 (57,0-64,0)	72	62,0 (56,0-68,0)	0,522
Nötrofil (10e3/uL)	43	5,0 (4,0-6,0)	26	4,0 (3,0-5,0)	69	5,0 (3,0-5,0)	0,145
Lenfosit (%)	45	25,0 (20,0-30,0)	27	24,0 (16,0-32,0)	72	25,0 (19,0-30,0)	0,716
Lenfosit (10e3/uL)	45	2,0 (1,0-2,0)	27	2,0 (1,0-2,0)	72	2,0 (1,0-2,0)	0,206
Eozinofil(%)	45	3,0 (2,0-4,0)	27	3,0 (2,0-4,0)	72	3,0 (2,0-4,0)	0,739
CRP (mg/L)	55	5,0 (0,0-11,0)	30	7,5 (1,0-29,0)	85	5,0 (1,0-12,0)	0,170
Sedim (mm/saat)	28	29,0 (14,0-40,5)	19	27,0 (13,0-67,0)	47	28,0 (14,0-50,0)	0,795
Kreatinin (mg/dl)	52	1,0 (1,0-1,0)	27	1,0 (1,0-1,0)	79	1,0 (1,0-1,0)	0,417
GFR (ml/dk/1,7)	52	102,0 (93,0-112,5)	27	103,0 (80,0-119,0)	79	102,0 (88,0-116,0)	0,832
ALT (U/L)	43	22,0 (18,0-30,0)	26	18,0 (15,0-28,0)	69	20,0 (17,0-30,0)	0,187
AST (U/L)	44	24,0 (18,5-30,5)	26	23,0 (19,0-27,0)	70	24,0 (19,0-29,0)	0,874
Total Protein (g/L)	35	75,0 (70,0-77,0)	23	74,0 (68,0-78,0)	58	75,0(70,0-77,0)	0,687
Albümin (g/L)	55	39,0 (0,0-44,0)	30	38,5 (29,0-44,0)	85	39,0 (0,0-44,0)	0,270
Serum Kalsiyum (mg/dl)	43	10,0 (10,0-10,0)	21	10,0 (9,0-10,0)	64	10,0 (9,0-10,0)	0,218
İdrar	32	183,5 (96,0-	2	162,5 (22,0-	34	183,5 (94,0-	0,649

Kalsiyum (mg /gün)		284,5)		303,0)		294,0)	
LDH (U/L)	32	216,5 (185,5-241,5)	23	240,0 (178,0-270,0)	55	224,0 (184,0-260,0)	0,213
Serum ACE (IU/mL)	45	48,0 (33,0-79,0)	8	50,5 (36,5-63,0)	53	49,0 (34,0-75,0)	0,798

(ACE: Anjiyotensin Converting Enzyme, LDH: Laktat Dehidrogenaz, ALT: Alanin Aminotransferaz, AST: Aspartat Aminotransferaz, CRP: C-reaktif protein, GFR: Glomerular Filtration Rate)

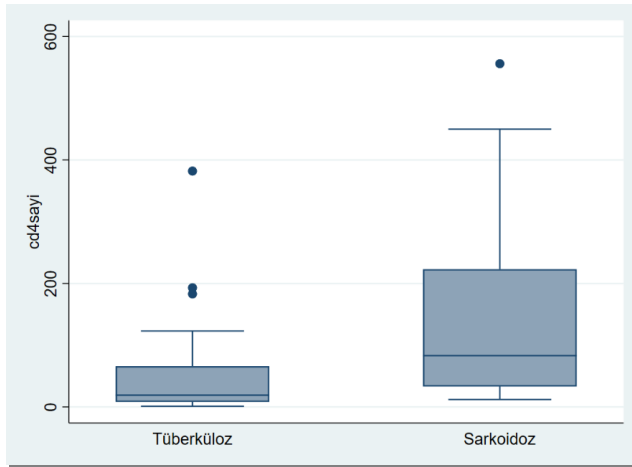
Sarkoidoz-Tüberküloz lenf nodu örnekleri lenfosit profilinin değerlendirilmesi

İmmün boyanan CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit hücre sayı ve yüzdesi ve CD4/CD8 oranı sarkoidoz ve tüberküloz hastaları arasında karşılaştırıldı.

CD4+ T lenfosit hücre sayısı, sarkoidoz grubunda medyan 83 (33-223), tüberküloz grubunda ise 19 (8-66), olduğu görülmüş olup her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,001$). Sarkoidoz ve tüberküloz hastalarının CD4+ T lenfosit yüzdeleri karşılaştırıldığında, sarkoidoz grubunda medyan %18,5 (6-42,5), tüberküloz grubunda ise % 6,1 (2-23,3) olduğu görülmüş olup, her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,05$). CD8+ T lenfosit hücre sayısının sarkoidoz grubunda medyan 71 (30-164), tüberküloz grubunda 59,5 (22-98), olduğu görülmüş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,157$). CD8+ T lenfosit yüzdesinin sarkoidoz grubunda medyan 12 (5,5-26), tüberküloz grubunda 17,5 (8-27) olduğu görülmüş olup, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,244$). CD4/CD8 oranının sarkoidoz grubunda medyan 1,44 (0,53-3,21), tüberküloz grubunda ise 0,35 (0,13-0,82) olduğu görülmüş olup, her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,004$). Hastaların CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücre sayılarının, hücre yüzdelерinin ve CD4/CD8 oranlarının karşılaştırılması Tablo 8 ve Şekil 10,11,12 ve 13’de görülmektedir.

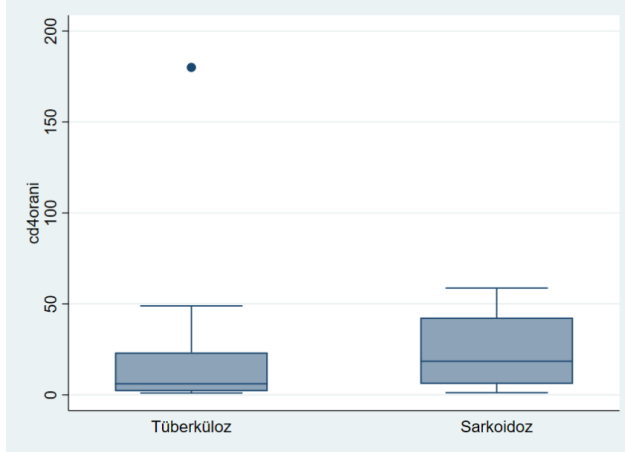
Tablo 8. Olguların CD4+, CD8+ T lenfosit hücre sayılarının, hücre yüzdelerinin ve CD4/CD8 oranlarının karşılaştırılması

	Sarkoidoz (n=55)	Tüberküloz (n=30)	Toplam (n=85)	p
	Ortanca (1.ve 3. çeyreklik)	Ortanca (1.ve 3. çeyreklik)	Ortanca (1.ve 3. çeyreklik)	
CD4+ hücre sayısı	83,0 (33,0-223,0)	19,0 (8,0-66,0)	49,0 (18,0-183,0)	0,000
CD4+ hücre yüzdesi (%)	18,5 (6,0-42,5)	6,1 (2,0-23,3)	11,5 (5,0-37,5)	0,005
CD8+ hücre sayısı	71,0 (30,0-164,0)	59,5 (22,0-98,0)	67,0 (30,0-127,0)	0,157
CD8+ hücre yüzdesi (%)	12,0 (6,0-26,0)	17,5 (8,0-27,0)	14,0 (6,0-26,0)	0,244
CD4/CD8 oranı	1,44 (0,53-3,21)	0,35 (0,13-0,82)	1,0 (0,0-2,0)	0,004

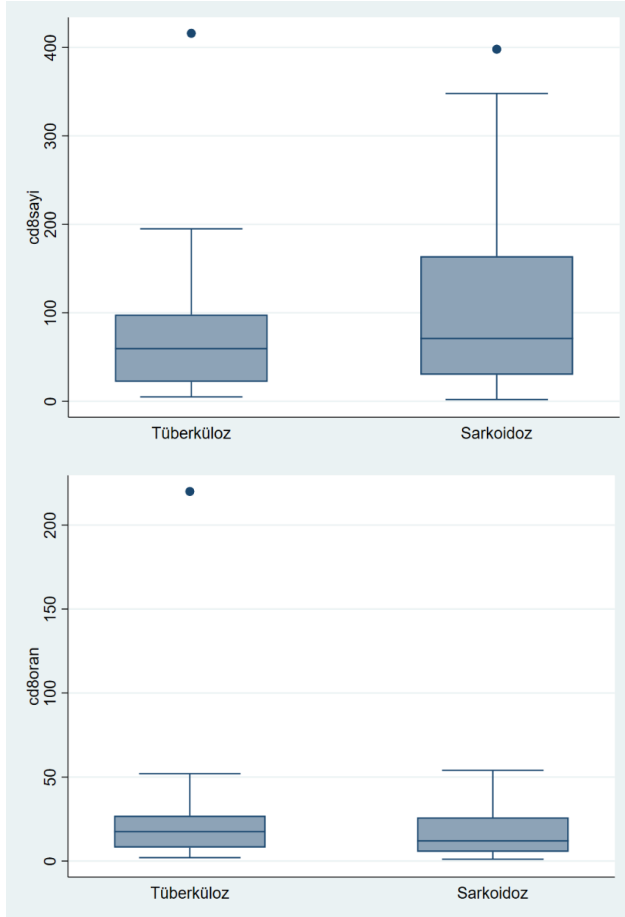


Şekil 10. Olguların CD4+ T lenfosit sayılarının dağılım grafiği

CD4+ T lenfosit hücre sayısı sarkoidozda daha yüksek görüldü.

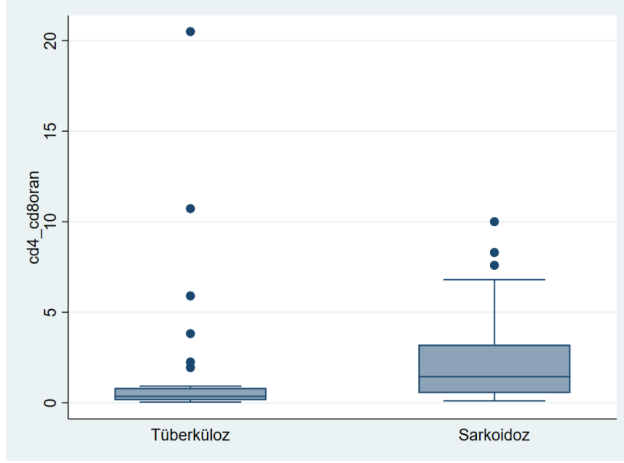


Şekil 11. Olguların CD4+ T lenfosit yüzdelerinin dağılım grafiği
CD4+ T lenfosit yüzdesi sarkoidozda daha yüksek bulundu.



Şekil 12. Olguların CD8+ T lenfosit sayısı ve yüzdesinin dağılım grafiği

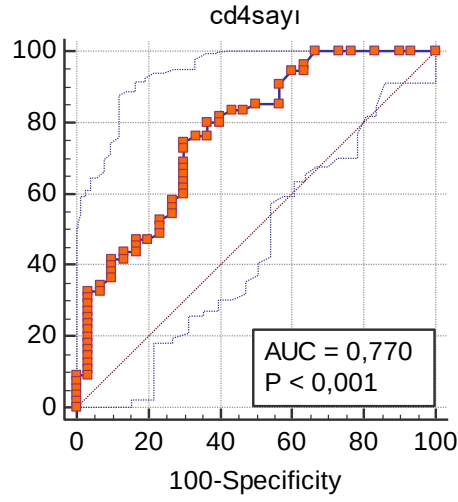
CD8+ T lenfosit sayısı ve yüzdesi bakımından sarkoidoz-tüberküloz hastaları arasında belirgin farklılık bulunmadı.



Şekil 13. Olguların CD4/CD8 oranlarının dağılım grafiği

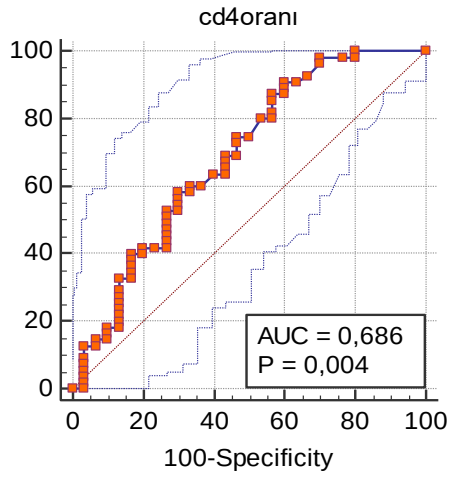
CD4/CD8 oranı sarkoidozda daha yüksek bulundu ($p=0,004$).

Sarkoidoz-tüberküloz ayırıcı tanısında CD4+ ve CD8+ T lenfositleri hücre sayı ve oranları ile CD4/CD8 oranının tanısal değerini araştırmak için ROC analizi yapıldı. CD4 sayısı için kestirim değeri >33 alındığında, özgüllük %70,00, duyarlılık %74,55, pozitif prediktif değer %82,00, negatif prediktif değer %60, doğruluk oranı %72,9 bulundu. Bu değerler ile CD4+ T lenfosit sayısı sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırmada kullanılabilir (AUC: 0,770 (GA: 0,666-0,854), $p=0,000$). CD4 yüzdesi için kestirim değeri $>4,2$ alındığında, özgüllük %40,00, duyarlılık %90,91, pozitif prediktif değer %73,5, negatif prediktif değer %70,6 ve doğruluk oranı %72,9 bulundu. CD4+ T lenfosit yüzdesi sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırmada kullanılabilir (AUC: 0,686 (GA: 0,576-0,782), $p=0,003$) (şekil 14, 15).



Sensitivite: %74,55
Spesifite: %70,00
Criterion: >33
95% Confidence interval:
(0,666-0,854)

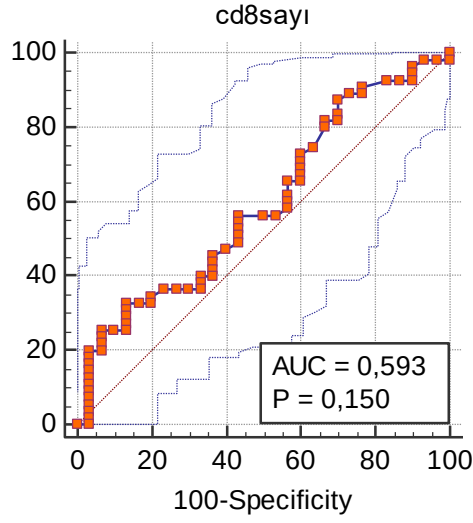
Şekil 14. CD4+ T lenfosit sayısı ROC eğrisi



Sensitivite: %90,91
Spesifite: %40
Criterion: >4,2
95% Confidence interval:
(0,576-0,782)

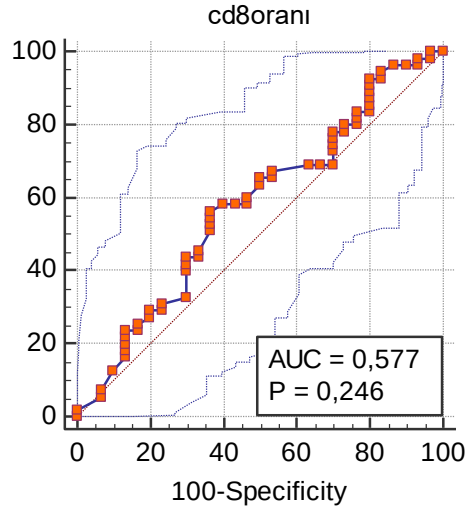
Şekil 15. CD4+ T lenfosit yüzdesi ROC eğrisi

CD8+ T lenfosit sayısı ve yüzdesi AUC değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla AUC: 0,593 (GA: 0,481-0,699), AUC: 0,577 (GA: 0,465-0,683), sırasıyla, p=0,150, 0,245) (Şekil 16, 17).



Sensitivite: %32,73
Spesifite: %86,67
Criterion: >119
95% Confidence interval:
(0,481-0,699)

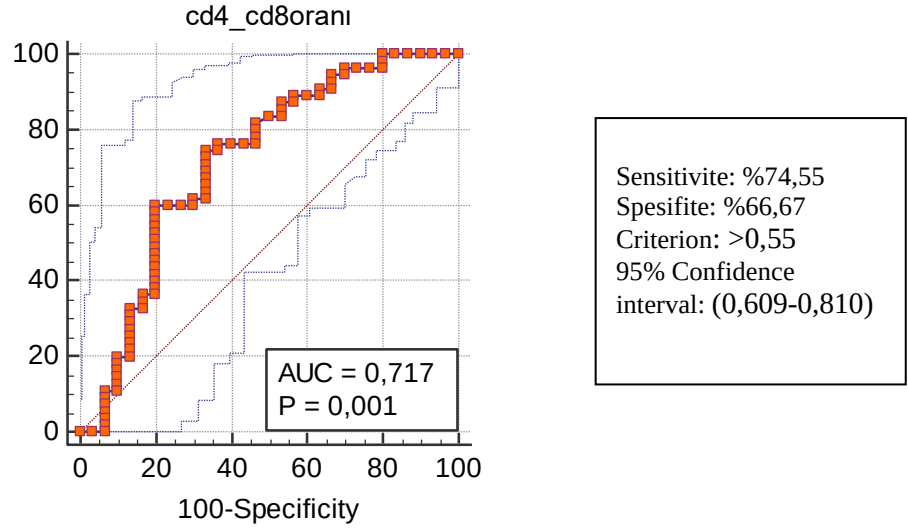
Şekil 16. CD8+ T lenfosit sayısı ROC eğrisi



Sensitivite: %63,33
Spesifite: %56,36
Criterion: >13,5
95% Confidence interval:
(0,465-0,683)

Şekil 17. CD8+ T lenfosit yüzdesi ROC eğrisi

CD4/CD8 oranı için kestirim değeri >0,55 alındığında, özgüllük %66,67, duyarlılık %74,55, pozitif prediktif değer %80,4, negatif prediktif değer %58,8, doğruluk oranı %71,8 bulundu. CD4/CD8 oranı sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırmada kullanılabilir (AUC: 0,717(GA: 0,609-0,810), p=0,000) (Şekil 18).



Şekil 18. CD4/CD8 oranı ROC eğrisi

Sarkoidoz ve tüberküloz hastaları ayırıcı tanısında; CD4+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi, CD8+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8'in her biri için duyarlılık, özgüllük, kestirim değerleri, doğruluk oranları, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değerlerinin bulunduğu tablolar ayrıntılı olarak verildi (Tablo 9, 10, 11, 12, 13, 14).

Tablo 9. Olguların CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücre sayı ve yüzdeleri ile CD4/CD8 oranlarının ROC Analizleri

	AUC (95% CI)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	Cut-off	p
CD4+ Sayı	0,770 (0,666-0,854)	74,55	70,00	>33	0,0001
CD4+ %	0,686 (0,576-0,782)	90,91	40,00	>4,2	0,0036
CD8+ Sayı	0,593 (0,481-0,699)	32,73	86,67	>119	0,1503
CD8+ %	0,577 (0,465-0,683)	63,33	56,36	>13,5	0,2459
CD 4/8 Oranı	0,717 (0,609-0,810)	74,55	66,67	>0,55	0,0006

Tablo 10. CD4 sayısı kestirim değerlerine göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk oranı

CD4 sayısı kestirim değeri	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	+PPV (%)	-NPV (%)	Doğruluk (%)
>24	81,82	60,00	78,9	64,3	74,1
>25	80,00	60,00	78,6	62,1	72,9
>26	80,00	63,33	80,0	63,3	74,1
>31	76,36	63,33	79,2	59,4	71,8
>32	76,36	66,67	80,8	60,6	72,9
>33	74,55	70,00	82,0	60,0	72,9
>35	72,70	70,00	81,6	58,3	71,8
>36	69,10	70,00	80,9	55,3	69,4
>40	67,30	70,00	80,4	53,8	68,2
>42	65,50	70,00	80,0	52,5	67,1
>43	63,60	70,00	79,5	51,2	65,9

Tablo 11. CD4 yüzdesi kestirim değerlerine göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk oranları

CD4 yüzdesi kestirim değeri	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	+PPV (%)	-NPV (%)	Doğruluk (%)
>1,8	98,18	23,33	70,1	87,5	71,8
>2	98,18	30,00	72,0	90,0	74,1
>2,8	96,36	30,00	71,6	81,8	72,9
>3	92,73	33,33	71,8	71,4	71,8
>4	90,91	36,67	72,5	68,8	71,8
>4,2	90,91	40,00	73,5	70,6	72,9
>4,3	89,09	40,00	73,1	66,7	71,8
>4,5	87,27	40,00	72,7	63,2	70,6
>4,8	87,27	43,33	73,8	65,0	71,8
>4,9	85,45	43,33	73,4	61,9	70,6
>5	81,82	43,33	72,6	56,5	68,2

Tablo 12. CD8 sayısı kestirim değerlerine göre duyarlılık ve özgüllük değerleri

CD8 sayısı kestirim değeri	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
>94	36,36	73,33
>98	36,36	76,67
>103	34,55	80,00
>106	32,73	80,00
>110	32,73	83,33
>119	32,73	86,67
>127	30,91	86,67
>132	29,09	86,67
>136	27,27	86,67
>137	25,45	86,67
>143	25,45	90,00

Tablo 13. CD8 yüzdesi kestirim değerlerine göre duyarlılık ve özgüllük değerleri

CD8 yüzdesi kestirim değeri	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
≤10,6	43,64	66,67
≤11,4	45,45	66,67
≤12	50,91	63,33
≤12,7	52,73	63,33
≤13	54,55	63,33
≤13,5	56,36	63,33
≤14	58,18	60,00
≤14,2	58,18	56,67
≤16	58,18	53,33
≤16,6	60,00	53,33
≤17	63,64	50,00

Tablo 14. CD4/CD8 oranı kestirim değerlerine göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk oranları

CD4/CD8 oranı kestirim değeri	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	+PPV (%)	-NPV (%)	Doğruluk (%)
>0,45	76,36	53,33	75,0	55,2	68,2
>0,48	76,36	56,67	76,4	56,7	69,4
>0,50	76,36	60,00	77,8	58,1	70,6
>0,51	76,36	63,33	79,2	59,4	71,8
>0,54	74,55	63,33	78,8	57,6	70,6
>0,55	74,55	66,67	80,4	58,8	71,8
>0,56	72,73	66,67	80,0	57,1	70,6
>0,58	70,91	66,67	79,6	55,6	69,4
>0,60	69,09	66,67	79,2	54,1	68,2
>0,61	67,27	66,67	78,7	52,6	67,1
>0,63	65,45	66,67	78,3	51,3	65,9

Makrofaj değerlendirilmesinde kullanılan CD68 boyanma yoğunluğu yarı kantitatif 0-4 arasında nonparametrik skora yapılarak CD68 pozitif reaksiyonu incelendi. Hem sarkoidoz hem tüberküloz hastalarında kuvvetli CD68 pozitif reaksiyon gözlemlendi (Şekil 12). Sarkoidoz grubunda 1, tüberküloz grubunda 1 hasta için CD68 immünohistokimya boyanma yoğunluğu 3 olarak görülürken, 1 hastada boyanma yoğunluğu net olarak değerlendirilemedi. Diğer hastaların tamamında (n=82) ise boyanma yoğunluğu 4 olarak görüldü ve CD68 boyanma yoğunluğu açısından iki grup arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi (Tablo 15).

Tablo 15. Olguların CD68 ile boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması

CD68 Boyanma yoğunluğu	Sarkoidoz	Tüberküloz	Toplam
CD68 3 boyanma	1	1	2
CD68 4 boyanma	53	29	82

5.TARTIŞMA

Granülomatöz mediastinal/hiler lenfadenopati yapan hastalıklar hem enfeksiyöz hem de enfeksiyöz olmayan etiyojilere sahip heterojen bir hastalık grubudur. Sarkoidoz ve tüberküloz benzer klinik, radyolojik ve histolojik belirtileri olan granülomatöz hastalıklar olup ayırıcı tanılarında zorluk yaşanmaktadır. Tüberkülozun kesin tanısı için örneklerde kültürde mikobakterium tüberkülozisin gösterilmesi altın standart iken, sarkoidoz tanısı için bir altın standart yoktur. Tüberküloz lenfadenopatilerde bakteriyolojik tanı oranı lenf nodundan elde edilen örneklerde çalışıldığında bile %50 yi geçmemektedir (1,39, 11). Sarkoidoz tanısı ise uygun klinik ve radyolojik bulgulara ilave olarak dokuda nonkazeifiye granülomların gösterilmesi ve benzer histolojik ve klinik bulgular gösteren hastalıkların dışlanması ile konulur (9). Günümüzde EBUS TBİA ile benign granülomatöz hastalıklarda tanı değeri %83 olmakla beraber sarkoidoz ve tüberkülozu ayırmada histopatolojinin tanı değeri sınırlıdır (12). EBUS TBİA gibi histopatolojik tanı değeri yüksek bir yöntemle bu hastalıklara daha spesifik tanı koydurucu yöntemlerin bir arada kullanılması tanı değerini arttırmaktadır (39,40,41).

Çalışmamızda; EBUS-TBİA sitolojik örneklerinde immünohistokimya boyama ile; CD4+ ve CD8+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı ile makrofaj belirteci olan CD68'in granülomatöz hastalık olan sarkoidoz ve tüberkülozun ayırıcı tanısına katkısı araştırıldı. Sarkoidoz ve tüberküloz hastaları arasında; immün boyanan CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinin hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı karşılaştırıldı. Sarkoidoz hastalarında CD4+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı tüberküloz hastalarına oranla anlamlı ölçüde yüksek bulundu. CD4+ T lenfosit hücre sayısı, sarkoidoz grubunda medyan 83 (33-223), tüberküloz grubunda 19 (8-66), CD4+ T lenfosit yüzdesi, sarkoidoz grubunda medyan 18,5 (6-42,5), tüberküloz grubunda ise 6,1 (2-23,3) bulundu, her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,05$). CD4/CD8 oranı, sarkoidoz grubunda medyan 1,44 (0,53-3,21), tüberküloz grubunda 0,35 (0,13-0,82) olup, her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,004$). Sarkoidoz-tüberküloz ayırıcı tanısında CD4+ ve CD8 T+ lenfositleri hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranının tanısız değerini araştırmak için ROC analizi yapıldı. CD4+ T lenfosit sayı ve yüzdesi incelendiğinde; CD4 sayısı için kestirim değeri >33

alındığında, özgüllük %70,0, duyarlılık %74,55, pozitif prediktif değer %82,00, negatif prediktif değer %60, doğruluk oranı %72,9 bulundu. CD4 yüzdesi için kestirim değeri $>4,2$ alındığında, özgüllük %40,00, duyarlılık %90,91, pozitif prediktif değer %73,5, negatif prediktif değer %70,6 ve doğruluk oranı %72,9 bulundu (sırasıyla, $p=0,000$, $p=0,003$). CD4/CD8 oranı için kestirim değeri $>0,55$ alındığında, özgüllük %66,67, duyarlılık %74,55, pozitif prediktif değer %80,4, negatif prediktif değer %58,8, doğruluk oranı %71,8 bulundu ($p=0,000$). Bu kestirim değerleri ile CD4 T lenfosit sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırmada kullanılabilir.

Çalışmamız; lenf nodu örneklerinde CD4 ve CD8 T lenfositlerin araştırıldığı diğer çalışmalarla karşılaştırıldı. Oda ve arkadaşları çalışmalarında, sarkoidozlu hastalarda BAL sıvısı ve lenf nodu nodarında CD4/CD8 T lenfosit oranları arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. BAL sıvısında flowsitometrik yöntemle CD4/CD8 oranını 6.1 bulmuşlardır. Çalışmamıza benzer yöntemle immünohistokimyasal boyama yaparak lenf nodunda CD4/CD8 T lenfosit oranını 3.6 bulmuşlardır. BAL sıvısı ve lenf nodu örneklerinde CD4/CD8 T lenfosit oranları arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Ek olarak EBUS-TBİA' nın granülom saptanmasında duyarlılığını %84.8 olarak bildirilmişlerdir (40). Biz çalışmamızda; sarkoidoz hastalarında CD4/CD8 T lenfosit oranını 1.44 bulduk. Tüberküloz hastalarında ise bu oran 0.35 idi. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Akao ve ark. larının yaptığı bir çalışmada ise sarkoidoz hastalarında BAL sıvısı ve lenf nodu örneklerinde flow sitometri yöntemi kullanılarak CD4/CD8 T lenfosit oranları karşılaştırılmış ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır. Oda ve ark. larının aksine lenf nodu örneklerinde BAL sıvısına göre CD4/CD8 oranını daha yüksek olduğunu ve ek olarak Evre 1 sarkoidozda Evre 2 sarkoidoza göre oranın daha yüksek olduğunu bildirilmişlerdir (42). Ruiz ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada ise sarkoidoz tanılı 30 hastada mediastinal lenf nodu EBUS-TBİA örnekleri ve BAL sıvısında CD4/CD8 T lenfosit oranlarının sonuçları karşılaştırılmış, sonuçlar arasındaki uyum zayıf bulunmuştur. Sarkoidoz hastalarında lenf nodunda CD4/CD8 oranının, BAL sıvısına göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Mediastinal lenf nodu doku örneklerinde CD4/CD8 oranının sarkoidozu göstermede sensitivitesi %52 olarak bildirilmiştir (43). Bizim çalışmamızda CD4/CD8 oranının

sarkoidozu göstermede sensitivitesi %74,5 olarak bulundu. Granülom immünpatogenezi ile ilgili yapılan başka bir çalışmada; 10 Sarkoidoz ve 12 tüberküloz hastasından elde edilen granümatöz patoloji doku örneklerinde CD4, CD8 T lenfositleri ve CD68 makrofaj belirtecinin immünhistokimya yöntemi ile boyama yoğunluğu değerlendirilmiş sarkoidoz ve tüberküloz arasında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiş (26). Farklı çalışmalarda farklı CD4/CD8 oranlarının bildirilmesi analiz yöntemlerinin farklılığından (flow sitometri, immünhistokimya analizi, hücre sayımı, boyama yoğunluğu gibi) ve farklı popülasyonlarla çalışılmasından kaynaklanabilir (44).

CD68 ekspresyonunun Crohn hastalığı ve kronik granümatöz hastalık ilişkili kolitte belirgin farklı olduğunun düşünüldüğü ve iki hastalık arasında inflamatuvar hücre tiplerinde farklılık olup olmadığının belirlenmeye çalışıldığı sağlıklı kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada; Crohn granülomlarında CD68 boyama dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandığı ve daha yüksek olduğu görüldü (45). Çalışmamızda makrofaj boyanma yoğunluğunun granümatöz hastalık olan sarkoidoz tüberküloz ayırımında katkısı olabileceği düşünerek makrofaj belirteci olan CD68 için boyama yapıldı. CD68 boyama yoğunluğu ve dağılımı, iki hastalık arasında farklı değildi. CD68; sarkoidoz tüberküloz ayırımı yaptırmamakla beraber immünreaktif koheziv epitelooid histiosit topluluğu granülomu kanıtlayarak tanıya katkı sağlayabilir.

Enfeksiyöz akciğer hastalıklarında hem nekrotizan hem de non-nekrotizan granülomlar görülse de nekrotizan granülomların enfeksiyonla ilişkili olması daha muhtemeldir. Yine de hastanın immün durumuna bağlı olarak tüberkülozda non-nekrotizan granülomlar sıklıkla görülür ve tanıyı güçleştirir (20). Çalışmamızda 30 tüberküloz hastasından elde edilen lenf nodu örneklerinin %23'ünde nekroz mevcuttu. EBUS-TBİA ile tanı konmuş 125 tüberküloz hastası ile Hindistan'da yapılan prospektif bir çalışmaya göre nekroz varlığı; tüberküloz endemik bir bölgede nerdeyse her zaman tüberküloz teşhisine işaret ettiği vurgulanmıştır (41). EBUS-TBİA patolojik bulgu ve mikrobiyolojik sonuçlarının karşılaştırıldığı prospektif bir çalışmada da örneklerde nekroz görülmesinin; mikrobiyolojik olarak doğrulanan tüberküloz ile ilişkili bağımsız bir risk faktör olduğu gösterilmiştir (35). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak tüberküloz hastalarında nekroz varlığı

açısından anlamlı farklılık tespit edildi($p=0,046$).

Çalışmamızdaki 30 tüberküloz hastasının yalnızca 3'ünde bakteriyolojik pozitiflik görölmüş olup, olguların bir kısmında bakteriyolojik değerlendirme için örnek gönderilmezken, bir kısmında negatiflik görölmüşür. Tüberküloz tanısında kültür altın standarttır; ancak lenf nodunda tüberküloz ARB ve kültür duyarlılığı düşüktür (7,8). Karagöz ve ark. larının yaptığı bir derlemeye göre; mikroskopi pozitifliği nekroz varsa %47, nekroz yoksa %15'tir. Kazeöz örnekte mikroskopi pozitifliği %20- 30, kültür pozitifliği %30-35 olup, toplam olarak %50-65 olguda basil saptanabilmektedir (46). Hindistan' da yapılan prospektif bir periferik tüberküloz lenfadenit çalışmasında, TB lenf nodları arasında genel yayma pozitifliği %49 olarak görölmüşür. Nonnekrotik örneklerdeki kültür pozitifliği %50 iken, nekrotik örneklerdeki kültür pozitifliği %83'e kadar değişebilmektedir (47). Yine Hindistan'da EBUS-TBNA örnekleri ile yapılan bir çalışmada; tüberküloz tanısı alan hastaların %29'unda EBUS örnekleri mikrobiyolojisinin tanısal olduğu bulunmuş olup, bunların %14' ünde kültür pozitif, %9' unda ARB yayma pozitif, %17'sinde genexpert pozitif. EBUS örnekleri optimal sonuçlar için özellikle TB prevalansı yüksek bölgelerde mikobakteriyel yayma, kültür ve moleküler tekniklere tabi tutulmalıdır (48). Çalışmamızda kültür pozitifliğinin düşük olması önceki çalışmalarla benzer olarak; analizlere gönderilen örneklerde basilin eşit olmayan dağılımına, lenf nodu tüberkülozundaki düşük basil yoğunluğuna ve mikrobiyolojik değerlendirme için örnek gönderilmemesine bağlı olabilir.

Çalışmamızın sonuçları önceki çalışmalarla uyumludur. Çalışmamız verileri; CD4/CD8 oranının %74,55 duyarlılık, %66,67 özgüllük ve CD4 sayısının %74,55 duyarlılık, %70,00 özgüllük ile sarkoidoz tanısında daha spesifik olduğunu ve bunun iki hastalıktaki T hücre farklılıklarını yansıtabileceğini düşündürmektedir. ROC analizine göre; CD4+ T lenfosit hücre sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranı anlamlı olarak sarkoidoz hastalarında yüksekti (sırasıyla $p:0,0001$; $p:0,0036$; $p:0,0006$). Çalışmamızda CD8+ T lenfosit hücre sayısı ya da oranının tanıya katkı sağlamadığı göröldü.

Bu çalışmanın bazı sınırlamaları vardır; yeterli lenfosit sayısı olan örneklerde immünhistokimya boyama yapıldığı için, her hastada özellikle nekroz da var ise ayırıcı tanıda duyarlılık daha düşük saptanabilir. İkincisi örneklem boyutu nispeten

küçüktü ve tek merkezli bir çalışma idi; bu seçim yanlılığına yol açabilir. Ancak yine de literatürde bu konuda yapılmış daha geniş bir çalışmaya saptanmadı. Üçüncüsü tüberküloz vakalarının tümünün mikrobiyolojik değerlendirmemesi yapılmamıştı ve etik nedenlerden dolayı, karşılaştırılacak sağlıklı bir kontrol grubu yoktu.

6.SONUÇ

Sonuç olarak, mediastinal lenf nodu örneğinin immünohistokimya analizi ile CD4+ T lenfosit sayısı, yüzdesi ve CD4/CD8 oranının sarkoidoz hastalarını tüberküloz hastalarından ayırt etmeye katkı sağladığını gösterdik. Bu bulgular ile mediastinal lenfadenopatisi olan hastalarda, tek bir girişimsel işlemde EBUS-TBİA ile hem granülomatöz patoloji saptanıp hem de CD4 ve CD8 T lenfosit için immün boyama yapılarak sarkoidoz tüberküloz ayırımı yapılabilir. Bu konu daha geniş vaka serilerinin olduğu çalışmalarda ele alınabilir.

7.KAYNAKLAR

1. Ohshimo S, Guzman J, Costabel U, et al. Differential diagnosis of granulomatous lung disease: clues and pitfalls. *Eur Respir Rev* 2017; 26: 170012. <https://doi.org/10.1183/16000617.0012-2017>.
2. Nazarullah A, Nilson R, Maselli DJ, Jagirdar J. Incidence and aetiologies of pulmonary granulomatous inflammation: a decade of experience. *Respirology* 2015;20(1):115-21. <https://doi.org/10.1111/resp.12410>
3. Mukhopadhyay S, Farver CF, Vaszar LT, Dempsey OJ, Popper HH, Mani H, et al. Causes of pulmonary granulomas: a retrospective study of 500 cases from seven countries. *J. Clin. Pathol.* 2012; 65: 51–7
4. Müsellim B, Kumbasar OO, Ongen G, et al. Epidemiological features of Turkish patients with sarcoidosis. *Respir Med* 2009; 103(6): 907-912.
5. Bakanlığı, T.C. Sağlık. Tüberküloz tanı ve tedavi rehberi. 2. Baskı Ankara, Mayıs 2019. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/tuberkuloz_db/haberler/Tuberkuloz_Tani_Ve_Tedavi_Rehberi_/Tuberkuloz_Tani_ve_Tedavi_Rehberi_08.07.2019_YukseK_KB.pdf.
6. Musellim B, Okumus G, Uzaslan E, et al. Turkish Interstitial Lung Diseases Group. Epidemiology and distribution of interstitial lung diseases in Turkey. *Clin Respir J* 2014; 8: 55–62.
7. Denkinge CM, Schumacher SG, Boehme CC, Dendukuri N, Pai M, Steingart KR. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Euro Respiratory J.* 2014 Aug 1;44(2):435-46. doi: 10.1183/09031936.00007814
8. Chakravorty S, Sen MK, Tyagi JS. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using smear, culture and PCR using universal sample processing technology. *J Clin Microbiol.* 2005;43(9):4357-62. doi: 10.1128/JCM.43.9.4357-4362.2005
9. Crouser ED, Maier LA, Wilson KC, et al. Diagnosis and detection of sarcoidosis. An official American Thoracic Society clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;201(8): e26-e51.
10. Agarwal R, Srinivasan A, Aggarwal A.N, Gupta D. Efficacy and safety of convex probe EBUS-TBNA in sarcoidosis: a systematic review and meta-analysis. *Respir Med.* 2012; 106: 883-892. doi: 10.1016/j.rmed.2012.02.014
11. Çağlayan B, Salepçi B, Fidan A, et al. Sensitivity of convex probe endobronchial sonographically guided transbronchial needle aspiration in the diagnosis of granulomatous mediastinal lymphadenitis. *J Ultrasound Med* 2011; 30:1683–1689
12. Ortaköylü MG, İliaz S, Bahadır A, Aslan A, İliaz R, Özgöl MA, Ürer HN. Diagnostic value of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in various lung diseases. *J Bras Pneumol* 2015; 41(5): 410-4
13. Nakajima et al. Recent advances in endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Respiratory Investigation* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.resinv.2016.02.002>

14. Shen Y, Pang C, Wu Y, Li D, Wan C, Liao Z, et al. Diagnostic performance of Bronchoalveolar lavage fluid CD4/CD8 ratio for sarcoidosis: a meta-analysis. *EBioMedicine*. 2016; 8:302–8.
15. K peli M, Baysungur V Mediasten Lenf Nodları Mediasten Hastalıkları ve Cerrahisi, B l m 2 2015.
16. Dabrowska M, Faber K, Tandejko-Burdyna M, Korczynski P, Krenke R. Etiology of mediastinal lymph node enlargement in patients who underwent EBUS-TBNA. *Eur Respir J*. 2019;54:PA3095. DOI: 10.1183/13993003.congress-2019
17. Mountain CF, Dresler CM. Regional lymph node classification for lung cancer staging. *Chest J* 1997; 111:1718–23. doi:10.1378/chest.111.6.1718.
18. ONAT S. Mediastenin benign lenf nodu hastaliklari. *Toraks Cerrahisi Bulteni*, 2(2), p. 78-83. doi:10.5152/tcb.2011.16
19. Karagöz T, Arda K, Erbaran T ve ark. İstanbul dispanserleri çalışmalarının yeni akciğer tüberkülozlu olguların tanı-tedavi ve takip işlemleri açısından değerlendirilmesi. *Tüberküloz ve Toraks*, 2000;48:128
20. J.S. Eom, J.H. Mok, M.K. Lee, K. Lee, M.J. Kim, S.M. Jang, *et al*. Efficacy of TB-PCR using EBUS-TBNA samples in patients with intrathoracic granulomatous lymphadenopathy. *BMC Pulm Med*, 15 (2015), pp. 166 <http://dx.doi.org/10.1186/s12890-015-0162-4>
21. Costabel U, Ohshimo S, Guzman J. Diagnosis of sarcoidosis. *Curr Opin Pulm Med* 2008; 14: 455
22. Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders 5th Edition Chapter 55
23. Iannuzzi MC, Rybicki BA, Teirstein AS. Sarcoidosis. *N Engl J Med* 2007;357(21): 2153-65. <https://doi.org/10.1056/NEJMr071714>
24. Yang H, Mo T, Nie W, et al. Angiotensin converting enzyme I/D polymorphism and sarcoidosis risk. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2016; 32: 284–288.
25. Zafer Kartalo lu. Sarkoidoz T sad G   s Hastalıkları Kitabı B l m 4.  200- 227 Available from: <https://www.solunum.org.tr/TusadData/Book/853/1412021102147-107202017145bolum04.pdf> (solunum.org.tr)
26. Shamaei, M., et al., Evidence for M2 macrophages in granulomas from pulmonary sarcoidosis: A new aspect of macrophage heterogeneity. *Human Immunology*, 2017.
27. Wei Sheng Joshua Loke, Cristan Herbert, Paul S. Thomas.Sarcoidosis: Immunopathogenesis and Immunological Markers. *International Journal of Chronic Diseases* 2013; (2013):1-13.
28.  zbal Y. Tuberculosis immunology. *Erciyes Medical Journal* 2006; 28: 25-34.
29. Mantovani, A., Sozzani, S., Locati, M., Allavena, P. and Sica, A. (2002) Macrophage Polarization: Tumor-Associated Macrophages as a Paradigm for Polarized M2 Mononuclear Phagocytes. *Trends in Immunology*, 23, 549-555. [http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4906\(02\)02302-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4906(02)02302-5)
30. Costabel U. Sarcoidosis: clinical update. *Eur Respir J Suppl*. 2001; 32: 56- 68.
31. Kantrow SP, Meyer KC, Kidd P, et al. The CD4/CD8 ratio in BAL fluid is highly variable in sarcoidosis. *Eur Respir J*. 1997; 10:2716–2721.

32. Winterbauer RH, Lammert J, Selland M, et al. Bronchoalveolar lavage cell populations in the diagnosis of sarcoidosis. *Chest* 1993; 104: 352–361.
33. Danila, E., Norkūniene, J., Jurgauskiene, L., Malickaite, R., 2009 a. Diagnostic role of BAL fluid CD4/CD8 ratio in different radiographic and clinical forms of pulmonary sarcoidosis. *Clin. Respir. J.* 3, 214–221
34. Yasufuku K, Nakajima T, Fujiwara T, Yoshino I, Keshavjee S. Utility of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in the diagnosis of mediastinal masses of unknown etiology. *Ann Thorac Surg.* 2011; 91:831–6.
35. Sun J, Teng J, Yang H, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in diagnosing intrathoracic tuberculosis. *Ann Thorac Surg* 2013; 96:2021–2027.
36. Agarwal R, Srinivasan A, Aggarwal AN, et al. Efficacy and safety of convex probe EBUS-TBNA in sarcoidosis: A systematic review and meta-analysis. *Respiratory Medicine* (2012) 106, 883e892.
37. Cetinkaya E, Gunluoglu G, Ozgul A, et al. Value of real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Ann Thorac Med* 2011; 6:77–8
38. Ren S, Zhang Z, Jiang H, et al. Combination of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration with standard bronchoscopic techniques enhanced the diagnosis yields of pulmonary tuberculosis patients with lymphadenopathy. *Panminerva Med* 2013; 55:363–370.
39. Dhooria S, Agarwal R, Aggarwal AN, et al. Differentiating tuberculosis from sarcoidosis by sonographic characteristics of lymph nodes on endobronchial ultrasonography: a study of 165 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2014; 148: 662–667.
40. Oda K, Ishimoto H, Yatera K, et al. Relationship between the ratios of CD4/CD8 T-lymphocytes in the bronchoalveolar lavage fluid and lymph nodes in patients with sarcoidosis. *Respir Investig.* 2014; 52:179–183.
41. Dhamija A, Ganga VB, Guliani A, et al. Endobronchial ultrasound for tubercular mediastinal adenopathy and its comparison with traditional tools. *Int J Tuberc Lung Dis* 2019; 23:907–12
42. Akao K, Minezawa T, Yamamoto N, Okamura T, Inoue T, Yamatsuta K, et al. (2018) Flow cytometric analysis of lymphocyte profiles in mediastinal lymphadenopathy of sarcoidosis. *PLoS ONE* 13(11): e0206972. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206972>
43. Ruiz SJ, Zhang Y, Mukhopadhyay S. CD4/CD8 Ratio in Mediastinal Lymph Nodes Involved by Sarcoidosis: Analysis of Flow Cytometry Data Obtained by Endobronchial Ultrasound-guided Transbronchial Needle Aspiration. *s.* 2016; 23:288–297. <https://doi.org/10.1097/LBR.0000000000000311> PMID: 27479012
44. Westney GE, Judson MA (2006) Racial and ethnic disparities in sarcoidosis: from genetics to socioeconomics. *Clin Chest Med* 27:453–462
45. Liu S, Russo PA, Baldassano RN, Sullivan KE. CD68 expression is markedly different in Crohn's disease and the colitis associated with chronic granulomatous disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15:1213–1217
46. Karagöz T, Şenol T, Bekçi TT ve ark. Tüberküloz lenfadenit. *ToraksDergisi* 2001; 1: 74–9

- 47.** Nataraj G, Kurup S, Pandit A, Mehta P. Correlation of fine needle aspiration cytology, smear and culture in tuberculous lymphadenitis: a prospective study. *J Postgrad Med* [serial online] 2002 [cited 2021 Jul 7]; 48:113. Available from: <https://www.jpgmonline.com/text.asp?2002/48/2/113/133>
- 48.** Thangakunam B, et al. Endobronchial ultrasound experience in a high tuberculosis prevalence setting, *Indian J Tuberc.* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijtb.2016.11.035>