TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PLAZMA HÜCRE FARKLILAŞMASI GÖSTEREN DÜŞÜK DERECELİ BHÜCRELİ LENFOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA AYIRICI TANI

Dr. Hale KIVRAK

PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Işınsu KUZU

ANKARA
2015

ÖNSÖZ

Hem uzmanlık eğitimim hem de tez sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bana hematopatolojiyi sevdiren değerli hocalarım Prof. Dr. Işınsu KUZU ve Doç. Dr. Gülşah KAYGUSUZ'a, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkısı olan ve beni patoloji ailesine kabul eden tüm hocalarım ve uzmanlarıma teşekkür ederim.

Asistanlık dönemim boyunca benden dostluklarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Seher YÜKSEL, Hilal ÖZAKINCI, Ayşegül ŞAŞMAZ EROL, Seda AKTÜRK, Fatma ALTINTAŞ, Sonay KUŞ, Melahat MUSAYEVA, Ahmet Faruk ARMAN, Aslıhan YAVAŞ CAN ve Elif ÖCAL'a teşekkür ederim.

Arşiv materyallerine ulaşmamda özveri ile çalışan Alahattin ALPTEKİN ve Yusuf ASLAN'a, kesitlerimin hazırlanmasında yardımcı olan Zeki KARABULUT'ave antikorların optimizasyonu sürecinde yardımcı olan tüm immünpatoloji laboratuarı çalışanlarına teşekkür ederim.

İstatistiksel değerlendirme aşamasında emeği geçen Can ATEŞ'e teşekkür ederim.

Asistanlık ve tez sürecimde desteğini hiç esirgemeyen, hayatımı kolaylaştıran sevgili eşim Fatih KIVRAK'a ve tezimle birlikte büyüyen, yaşama sevincim, biricik oğlum Kaan Ege KIVRAK'a teşekkür ederim.

Ayrıca her ne kadar yakınımda olamasalarda desteklerini hep hissettiğim sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Dr. Hale KIVRAK

Ankara, 2015

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İÇİNDEKİLER i

KISALTMALAR vi

ŞEKİLLER DİZİNİ viii

TABLOLAR DİZİNİ ix

RESİMLER DİZİNİ xi

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. HEMATOPOETİK HÜCRELERİN EMBRİYOGENEZİVE B PROGENİTÖRLER 3

2.2. B LENFOİD HÜCRELERİN GELİŞİMİ ve FARKLILAŞMA AŞAMALARI 4

2.2.1. Antijenden Bağımsız B Hücre Farklılaşması 5

2.2.2. Antijen Bağımlı B Hücre Farklılaşması 7

2.2.3. Hafıza B Hücreleri 12

2.3. PLAZMA HÜCRELERİNİN ÖZELLİKLERİ VE PLAZMA HÜCRESİNE DÖNÜŞÜM 14

2.3.1. B hücre farklılaşmasının transkripsiyonel gelişimi 16

2.3.2. Plazma hücrelerinin adres bulma ve yaşamda kalması 17

2.4. KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ/ KÜÇÜK LENFOSİTİK LENFOMA 2020

2.4.1. Monoklonal B Hücre Lenfositozisi 2021

2.4.2. KLL/SLL Morfolojik Varyantları 2223

2.4.3. İmmünhistokimyasal ve akım sitometrik özellikleri 234

2.4.4. Sitogenetik özellikleri 255

2.4.5. Klinik gidiş 25

2.4.6. KLL/SLL'de yüksek dereceli lenfomalara ilerleme veya dönüşüm 25

2.5. LENFOPLAZMASİTİK LENFOMA VE WALDENSTRÖM MAKROGLOBULİNEMİSİ 256

2.5.1. Epidemiyoloji ve etyoloji 277
2.5.2. Klinik özellikler 27
2.5.3. Morfolojik özellikler 28
2.5.4. İmmünfenotip 3030
2.5.5. Sitogenetik ve moleküler genetik özellikler 301
2.5.6. Klinik Gidiş 311
2.6. MANTLE HÜCRELİ LENFOMA 31
2.6.1. Epidemiyoloji 32
2.6.2. Patogenez 32
2.6.3. Klinik özellikler 323
2.6.4. Köken aldığı hücre 334
2.6.5. Morfoloji 355
2.6.5.1. Kİ ve PB bulguları 377
2.6.5.2. Dalak 378
2.6.5.3. Gastrointestinal Trakt 38
2.6.6.. Mantle Hücreli Lenfoma'nın Morfolojik Tanısında Problem Yaratan Durumlar 389
2.6.7. Histolojik Progresyon 399
2.6.8. Diğer Lenfoproliferatif Hastalıklarlar ile Kompozit Mantle Hücreli Lenfoma 3940
2.6.9. İmmünfenotip 40
2.6.10. Sitogenetik Bulgular 42
2.6.11. Prognostik Parametreler 433
2.7. NODAL MARJİNAL ZON LENFOMA 434
2.7.1. Epidemiyoloji 444
2.7.2. Etyopatogenez 444
2.7.3. Klinik Özellikler 455
2.7.4. Morfoloji 456
2.7.5. Yapısal Özellikler 477
2.7.6. Diğer Anatomik Bölgeler 499
2.7.7. Grade 4950
2.7.8. İmmünfenotip 5050
2.7.9. Sitogenetik ve Moleküler Bulgular 522
2.7.10. Hücre Orjini 522
2.7.11. Klinik Özellikler ve Prognostik Faktörler 533
2.8. SPLENİK MARJİNAL ZON LENFOMA 533

2.8.1. Epidemiyoloji ... 533
2.8.2. Etyoloji ... 544
2.8.3. Klinik Özellikler ... 544
2.8.4.Morfoloji ... 544
2.8.4.1. Dalak tutulumu ... 544
2.8.4.2. LN tutulumu ... 555
2.8.4.3. Kİ ve PB tutulumu ... 555
2.8.5. İmmünfenotip ... 566
2.8.6. Genetik özellikler ... 577
2.8.7. Hücre Orjini ... 588
2.8.8. Klinik Özellikler ve Prognostik Faktörler ... 588
2.9. EKSTRANODAL MARJİNAL ZON LENFOMA ... 588
2.9.1. MALT'ın Histolojik ve İmmünolojik Özellikleri ... 599
2.9.2. MALT Lenfomanın Tanımı ... 60
2.9.3. Epidemiyoloji ... 60
2.9.4. Etyoloji ... 60
2.9.5. Kazanılmış MALT'ın Histopatoloji ... 611
2.9.6. MALT Lenfoma Patolojisi ... 633
2.9.6.1. Makroskopik Görünüm ... 633
2.9.6.2. Histopatoloji ... 633
2.9.6.3. Helicobacter Pylori Tedavisi Sonrası Gastrik MALT Lenfomaların Morfolojisi ... 644
2.9.7. Yayılım ... 655
2.9.8. İmmünhistokimyasal Özellikleri ... 655
2.9.9. Genetik Özellikler ... 666
2.9.9.1. Antijen Reseptör Genleri ... 666
2.9.9.2. Genetik Anomaliler ... 677
2.9.10. Klinik Özellikler ... 688
2.10. FOLİKÜLER LENFOMA ... 688
2.10.1. Epidemiyoloji ve Etyoloji ... 699
2.10.2. Klinik Özellikler ... 699
2.10.2.1. Tutulum alanları ... 699
2.10.2.2. Klinik gelişim ve evreleme ... 70
2.10.3. Morfolojik Özellikler ... 71
2.10.4. Neoplastik Hücreler ... 711
2.10.5. Gradeleme ... 723

2.10.6. Patern 755
2.10.6.1. Foliküler Lenfoma'daki Diffüz Alanlar 766
2.10.6.2. Diffüz Foliküler Lenfoma 777
2.10.6.3. Parsiyel Nodal Tutulum 777
2.10.7. Lenf Nodülü Dışındaki Alanlarda Tutulum 778
2.10.7.1. Dalak 788
2.10.7.2. Kemik İliği 788
2.10.7.3. Periferik Kan 788
2.10.8. Histolojik Transformasyon 789
2.10.9. İmmünfenotip 80
2.10.10. Genetik Özellikler 81
2.10.10.1. Antijen Reseptör Genleri 81
2.10.10.2.Sitogenetik Anomaliler ve Onkogenler 822
2.10.11. Varsayılan Normal Eşdeğeri 833
2.10.12. Klinik Seyir 833
2.10.13. Tedavi 834
2.10.14. Prognoz ve Prediktif Faktörler 844
2.10.14.1. Klinik Faktörler 844
2.10.14.2. Histolojik Grade 844
2.10.14.3. Diffüz Alanlar 845
2.10.15. Histolojik Transformasyon 855
2.11. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER 856
2.11.1. Myeloid Cell Nuclear Differantation Antigen 856
2.11.2. Immune Receptor Translocation-Associated Protein 1 866
2.11.3. CD27 877
2.11.4. Stathmin-1 889
2.11.5. Lymphoid enhancer binding factor-1 90
3. MATERYAL VE METOD 91
3.1. OLGU SEÇİMİ 91
3.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA 922
3.2.1. İmmünhistokimyasal Değerlendirme 933
3.3. İSTATISTIKSEL DEĞERLENDIRME 955
4. BULGULAR 966
4.1. DEĞERLENDİRME AŞAMALARI 966

4.2. OLGULAR 988

4.2.1. İmmünhistokimyasal Bulgular 100

4.2.2. Ara Vaka Olgularının Özellikleri 1155

4.2.3. Birden Çok Lokalizasyonda Biyopsisi incelenen Vakalarda Antikorların İfade Dağılımında Lokalizasyonlar Arasında Uyumsuzluk Bulunanlar 1166

5. TARTIŞMA 1222

5.1. LEF1 İFADESİ 1222

5.2. STATHMIN1 İFADESİ 1255

5.3. IRTA1 İFADESİ 1299

5.4. MNDA İFADESİ 1333

5.5. CD27 İFADESİ 1355

5.6. LENFOPLAZMASİTİK LENFOMA VE MARJİNAL ZON LENFOMALARDA CD5 İFADESİ 1366

6. SONUÇLAR 13939

7. ÖZET 14141

8. SUMMARY 14343

9. KAYNAKLAR 14345

KISALTMALAR

BCRC : B hücre koreseptör kompleksi

BCR : B hücre reseptörü

CARD11 : Caspase Recruitment Domain-Containing Protein 11

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

ENMZL : Ekstranodal Marjinal Zon Lenfoma

FDRC : Foliküler Dentritik Hücre Ağı

FL : Foliküler Lenfoma

GM : Germinal Merkez

HSC : Hematopoetik kök hücre

IG : İmmün globülin

IRTA1 : Immune Receptor Translocation-Associated Protein 1

KLL/SLL : Kronik Lenfositik Lösemi/Küçük Lenfositik Lenfoma

LEF-1 : Lymphoid enhancer binding factor-1

LN : Lenf Nodülü

LPL/WM : Lenfoplazmasitik Lenfoma/Waldenström Makrooglobulinemisi

MALT : Mukoza İlişkili Lenfoid Doku

MBC : Monositoid B Hücreler

MCL : Mantle Hücreli Lenfoma

MM : Multipl Myelom

MNDA : Myeloid Cell Nuclear Differantation Antigen

MZ : Marjinal Zon

NF- κB : Nuklear Factor κ Light Chain Enhancer of Activated B

NMZL : Nodal Marjinal Zon Lenfoma

PB	:	Periferik Kan
PHDBHL	:	Plazma hücre farklılaşması gösteren B hücreli lenfoproliferatif hastalıklar
SMZL	:	Splenik Marjinal Zon Lenfoma
Tfh	:	T foliküler helper
TH	:	T Helper
TLR	:	Toll-benzeri reseptörler Cells

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1.1. B hücre farklılaşması ve ilişkili B hücreli lenfomalar 1

Şekil 2.1. B hücrelerinin gelişimi ve temel immünhistokimyasal ifade özellikleri 5

Şekil 2.2. BCR aracılığı ile gerçekleşen B hücre aktivasyon kaskadı.....8

Şekil 2.3. GM reaksiyonu ve LN'de matür GM oluşumu 9

Şekil 2.4. T hücre bağımlı hafıza B hücresi gelişimi 12

Şekil 2.5. B hücre gelişimi 14

Şekil 2.6. Geç B hücre farklılaşmasının aşamaları ve bu aşamalardaki ekspresyon profilleri.....16

Şekil 2.7. B hücrelerinin terminal farklılaşmasını kontrol eden gen regülasyon haritası. 17

Şekil 2.8. Kİ'deki plazma hücresi yaşamı ve niş 18

Şekil 2.9. MCL'da 2 farklı moleküler alttipin gelişim hipotezi.....34

Şekil 2.10. MCL'da SOX11 organizasyonu 41

Şekil 2.11. NMZL'deki 4 farklı immünarşitektürel patern.....48

Şekil 2.12. Stathmin 1 Sinyal Yolağı.....89

Şekil 4.1. İlk değerlendirmede tanı gruplarına göre vaka gruplarının dağılımı 96

Şekil 4.2. Klinik, laboratuar ve histopatolojik veriler eşliğinde yeniden oluşturulan vaka sayılarının tanılara göre dağılım grafiği 97

Şekil 4.3. Klinik, laboratuar ve histopatolojik veriler eşliğinde yeniden değerlendirilen doku örneklerinin tanılara göre dağılım grafiği 97

Şekil 4.4. MNDA ve CD27'nin birlikte pozitif izlendiği vakaların kendi içinde dağılım yüzdesi.....103

Şekil 4.5. Stathmin1'in FL ve FL dışı vakalarda ifade dağılım durumu 104

Şekil 4.6. IRTA1'in NMZL ve NMZL-DIŞI vakalarda dağılım yüzdesi 107

Şekil 4.7. LEF1'ın KLL/SLL ve KLL/SLL -DIŞI vakalarda dağılımı.....110

Şekil 4.8. CD5 ifadesinin MZL'lar arasında dağılımı 115

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 2.1. Plazma hücre matürasyonu 17

Tablo 2.2. NMZL'da İzlenen Histolojik Paternlerin Karşılaştırması 47

Tablo 2.3. NMZL'da morfolojik ve immünhistokimyasal özellikler ve ayırıcı tanı 51

Tablo 2.4. Kronik gastrit ve gastrik MALT lenfoma ayrımında histolojik skorlama 66

Tablo 2.5. FL'da izlenen neoplastik foliküllerin morfolojik özellikleri 75

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan antikorların normal dokulardaki ifade özellikleri 92

Tablo 3.2. Kullanılan antikorların üretim kaynağı, özellikleri ve reaksiyon koşulları 93

Tablo 4.1. Lenfoma gruplarındaki hastaların cinsiyet dağılımı 98

Tablo 4.2. Lenfoma gruplarındaki hastaların yaş dağılımı 98

Tablo 4.3. Lenfoma gruplarında tanısal değerlendirmenin yapıldığı dokuların dağılım tablosu 99

Tablo 4.4. Çalışılanantikorların tanı gruplarına göre ifade durumları 100

Tablo 4.5. MNDA ve CD27'nin birlikte ifade olduğu vakaların tanılara göre dağılımı 103

Tablo 4.6. Stathmin1 ifadesine göre FL olgularının özellikleri 104

Tablo 4.7. LEF1, Stathmin1 ve IRTA1 için duyarlılık, seçicilik, negatif prediktif değer (NPV) , pozitif prediktif değer (PPV) değerler, Pozitif Olabilirlik Oranı (LR+) ve Negatif Olabilirlik Oranı (LR-) 114

Tablo 4.8. CD5 ifadesinin MZL tanılı olgularda dağılımı 114

Tablo 4.9. ARA VAKA olgularının yaş, cinsiyet, lokalizasyon ve antikor ifade özellikleri 115

Tablo 4.10. Farklı Dokularda MNDA ve CD27 belirteçleri arasında uyumsuzluk olan vakalar 120

Tablo 5.1. Literatürde LEF1 ekspresyonunun İHK'sal olarak araştırıldığı çalışmalar 123

Tablo 5.2. Literatürde Stathmin1 ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızın karşılaştırılması.....127

Tablo 5.3. Literatürde IRTA1 ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızın sonuçları 129

Tablo 5.4. Literatürde MNDA ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızın sonuçları 133

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

Resim 4.1. SMZL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili 102

Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili 105

Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili 106

Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili 108

Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili 109

Resim 4.2. KLL/SLL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili..... 112

Resim 4.2. KLL/SLL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili..... 113

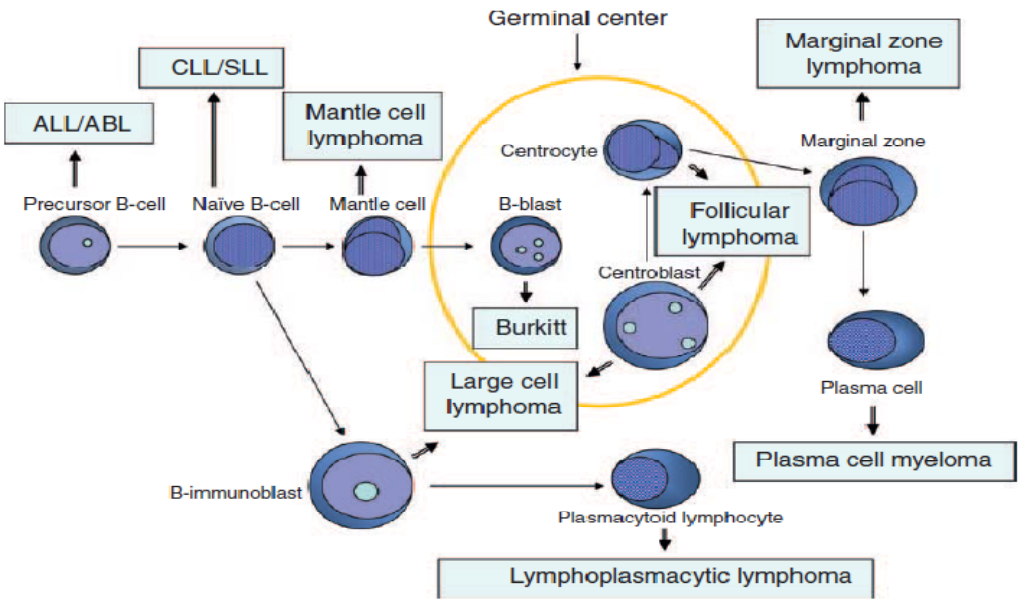
Resim 4.2. Pür plazma hücre farklılaşması gösteren bir olgunun morfolojisi ve immünekspresyon profili..... 117

Resim 4.2. Pür plazma hücre farklılaşması gösteren bir olgunun morfolojisi ve immünekspresyon profili..... 118

Resim 4.2. Pür plazma hücre farklılaşması gösteren bir olgunun morfolojisi ve immünekspresyon profili..... 119

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2008 sınıflamasında lenfomalar; öncü B ve T hücreli neoplaziler, olgun B hücreli neoplaziler, olgun T ve NK hücreli neoplaziler ve Hodgkin lenfoma olmak üzere dört grup olarak sınıflandırılmıştır(1).Bu sınıflama, malign hücre grubunun hangi lenfoid hücreden köken aldığı ve köken aldığı hücrenin hangi farklılaşma aşamasında olduğundan (B hücreli lenfomalar için, antijen ile karşılaşmamış ve diferansiyasyonu başlamamış grup öncü lenfomaları kapsıyor iken; bu aşamanın sonrasındaki tüm B hücrelerinin oluşturduğu neoplaziler olgun B hücreli neoplaziler grubunu oluşturur) yola çıkılarak yapılmıştır(Şekil 1). Çalışmamızın konusu olan plazma hücre farklılaşması gösteren B hücreli lenfoproliferatif hastalıklar (PHDBHL), olgun B hücreli neoplaziler grubunda yer almaktadır. Olgun B hücreli neoplaziler, B lenfioid hücre farklılaşmasının farklı dönemlerindeki lenfositlerinden köken alan ve köken aldıkları olgunlaşma aşamasındaki lenfositin biyolojik ve immünfenotipik özelliklerini sergileyen bir grup hastalığı kapsamakta ve hodgkin dışı lenfomaların yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır(1-3).



Şekil 1.1. B hücre farklılaşması ve ilişkili B hücreli lenfomalar (4)

Bu grup içerisinde yer alan Kronik Lenfositik Lösemi/Küçük Lenfositik Lenfoma(KLL/SLL), Foliküler Lenfoma (FL), Marjinal Zon Lenfoma (nodal/ ekstranodal ve splenik), Lenfoplazmasitik Lenfoma/Waldenström Makrooglobulinemisi (LPL/ WM) ve Mantle Hücreli Lenfoma(MCL) neoplastik hücrelerin histomorfolojik olarak plazma hücre farklılaşması göstermesi ya da plazma hücreleri ile karışık halde bulunması nedeni ile zaman zaman ayırıcı tanı güçlüğü yaratabilmektedir. Plazma hücre farklılaşması gösterebilen bu alt tiplerde histomorfolojik, immünohistokimyasal, moleküler veriler ile klinik ve radyolojik korelasyon da yapılarak çoğu zaman tanıya gidilebilirken, tipik prezentasyonu ile karşımıza gelmeyen, beklenen klasik immünohistokimyasal özelliklerini sergilemeyen ya da histomorfolojik olarak benzer özellikler sergileyen vakalar tanı güçlüğü yaratmaktadır. Özellikle ilk tanı materyalinin kemik iliği olduğu durumarda ayırıcı tanı güçlükleri daha fazla yaşanmaktadır. Ayrıca kaynaklarda ve literatürde PHDBHL ayırıcı tanısı için kullanılabilirliği kesinleşmiş herhangi bir immünohistokimyasal belirteç/belirteçler bulunmamakta, ancak bu konu ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Çalışmamızda PHDBHL grubunda yer alan ve bu yönde tanı almış hastalarda literatürde de ayırıcı tanıda umut vaad ettiği söylenen Immune Receptor Translocation-Associated Protein 1(IRTA1), Myeloid Cell Nuclear Differantation Antigen(MNDA), Lymphoid enhancer binding factor-1 (LEF1), Stathmin1 ve CD27 immünhistokimyasal belirteçlerinin tanı gruplarındaki dağılımlarını saptamak ve PHDBHL'larda ayırıcı tanıda kullanılabilirliklerini kendi serimizde araştırmak ve literatür bulgularıyla karşılaştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. HEMATOPOETİK HÜCRELERİN EMBRİYOGENEZİ VE B PROGENİTÖRLER

Embriyogenez sırasında hematopoetik kök hücreler(HSC) ilk olarak yolk sac ve mezodermal dokunun aorto-gonad-mozonefron bölgesinde izlenirler. Bu kök hücreler karaciğer, timus, dalak ve omentumdaki erken hematopoetik alanlara göç ederler ve buralarda kolonize olurlar. Buradan erişkinlikte ana yerleşim yerleri olacak kemik iliğine göç ederler ve yerleşirler(homing). Kemik iliğine gelen bu hücreler yüksek oranda çoğalıp kendini yenileyebilen ve farklı serilere diferansiye olabilme yeteneğine sahip heterojen(erken HSCs ve çok sayıda gelişim basamaklarında committed-hematopoetik progenitor hücreler) bir hücre grubudur. Gerek homing'de, gerekse çoğalma ve hematopoezisin düzenlenmesinde kök hücrelerin içinde bulunduğu ve niş (niche) olarak isimlendirilen mikroçevre önemli role sahiptir. Niş stromal hücreler, aksesuar hücreler (T lenfositler ve makrofajlar), ve bunların salgıladığı regülatuar sitokinleri bulundurur. Kemik iliğinde trabekülleri çevreleyen osteoblaslarda ifade olan ve kök hücre yüzeyinde ilgili reseptörüne bağlanan moleküller sayesinde (Angiopoetin-1/Tie2, β-Katenin/N-Cadherin, VCAM1/VLA4) HSC'ler kemik iliğinde özellikle trabeküllere yakın alanlarda kolonize olurlar ve istirahat fazında apopitozisden korunarak yaşamlarına devam ederler(4).

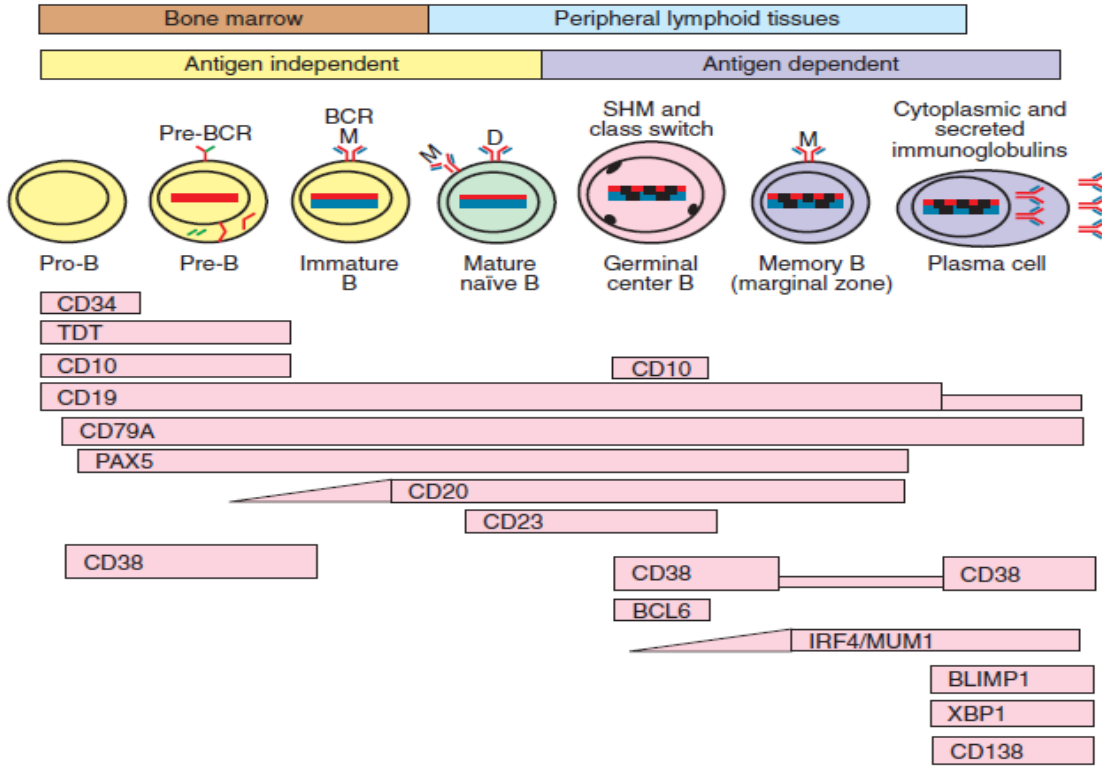
Kök hücreler morfolojik olarak blastlar ile benzer özellikler taşımalarına rağmen çok sayıda koloni forming üniteleri ve farklılaşma ilişkili makromolekül ifadeleri nedeniyle onlardan farklıdırlar. Pluripotent HSC'ler(en primitif HSC'ler) CD34 ve düşük oranda CD117 ifade ederken; CD38, HLA-DR ve lineage spesifik olgun hücre belirteçleri ifade etmezler. Committed-kök hücreler ise CD34 ifadelerinin yanında CD38 ve/veya HLA-DR ifadesi de göstermektedir. Lenfopoezis Kİ'de committed-kök hücrelerden başlar. HSC'leri lenfoid öncülere yönlendiren mekanizma net olarak bilinmemektedir. Ilk olarak B pregenitörler ile non-B

progenitörler(T hücre ve NK hücre) birbirinden ayrılır. Bu faz antijen bağımsızdır. B progenitor gelişimde IL1, IL2, IL4, IL10 ve Interferon-γ rol oynar. B hücrelerine özgü ve bu hücrelerin işlev yapmasını sağayan moleküler B hücre reseptörü (BCR) olarak da bilinenimmunoglobulin (IG) molekülleridir. B hücrelerinde aktif olan Ig genleri ve bu genlerin düzenlenmesi mekanizması sayesinde B hücreleri çok geniş bir çeşitlilikte antijenleri tanıma yeteneği gösterir ve işlevlerini yaparlar(4).

2.2. B LENFOİD HÜCRELERİN GELİŞİMİ ve FARKLILAŞMA AŞAMALARI

Lenfoid doku lenfoid hücrelerin farklılaşma aşamaları temel alınarak santral(primer) ve periferal(sekonder) lenfoid dokular olarak 2 grupta incelenir. Santrallenfoid dokular kemik iliği ve timüs, periferal lenfoid dokular lenf nodülü (LN), dalak ve mukoza ilişkili lenfoid dokudur(MALT). Bu dokular önceden bahsedilen öncü (öncü) lenfoid hücreleri içerirler ve antijene bağımsız immatür lenfositlerden olgun evredeki antijene immun tepki oluşturabilecek lenfositlere kadar geniş bir spektrumdaki hücreleri barındırırlar. Periferal lenfoid dokularda ise olgunlenfoid hücreler antijen ile karşılaşır ve farklı immün yanıt tiplerini geliştirirler(3).

B hücre gelişimi ve olgunlaması antijenden bağımsız olarak kemik iliğinde başlar. B hücrelerinin olgunlaşma süreci kabaca antijenden bağımsız ve antijene bağımlı faz olarak iki aşamada incelenebilir. Antijen bağımlı faz da, T hücrelerinden bağımsız ve T hücrelerine bağımlı olmak üzere iki bölümde ele alınabilir. Antijenden bağımsız faz primer lenfoid organlarda gelişir ve bu aşamanın sonunda self antijenlere tolerans kazanmış naive B hücreler oluşur.



Şekil 2.1.B hücrelerinin gelişimi ve temel immünhistokimyasal ifade özellikleri(3)

2.2.1. Antijenden Bağımsız B Hücre Farklılaşması

Öncü B Hücreler; hematopoetik kök hücreden köken alırlar. B hücrelerin reseptör gelişimleri sırasında Ig genlerinin variable(V), diversity(D), join (J) bölgelerinde random somatik rekombinasyon oluşur. Erken dönemde yüzey Ig olmayanlar progenitör B hücreler(pro-B hücre) olarak isimlendirilirler. Bu hücrelerde DH-HJ rearanjmanı gelişiminin arkasından VH rearanjmanı izlenir.Morfolojik olarak pro-B hücreler 10-18 mikrometre çapında hücrelerdir. Hücrenin yaklaşık %80'ini oluşturan nükleusları yuvarlak-oval şekillidir ve hafif kaba kromatin içerir. Bir/birkaç nükleol seçilebilir. Sitoplazmaları bazofilik olup granül içermez.Bir sonraki basamak öncü B hücrelerdir(pre-B hücre). Morfolojik olarak lenfoblastlardan daha küçük, yuvarlak-oval hafif çentikli nükleuslu, kaba kromatinli, birkaç nükleollü, lenfoblasta göre daha bol ve bazofilik sitoplazmalı hücrelerdir. Sitoplazmik granülleri yoktur ancak bazen çok az miktarda azurofilik granül içerebilirler. Önce sitoplazmik daha sonrada yüzeylerinde μu ağır zincirini ifade ederler(3, 5, 6).

Daha sonra Ig hafif zincir gen rearanjmanı da tamamlanınca komplet yüzeyel IgM ifade edilir ki bu aşamadaki hücreler immatür B hücreler olarak isimlendirilir. Son olarak,olgun B hücreler kemik iliğini(Kİ) IgM ve IgD(B Hücre Reseptörleri)ifade ederek terk ederler(3).Bu süreçte B hücrelerin otoreaktif reseptör taşıyanları kemik iliğinde klonal delesyon (negatif seleksiyon: apoptozis) ile ortadan kaldırılırlar veya reseptör spesifitelerini değiştirmeye zorlanırlar(3, 5, 7).

Farklılaşma erken aşamalarında B hücreler intranükleer bir enzim olan TdT ve hem myeloid hemde lenfoid serinin olgunlaşmamış hücrelerinde bulunan CD34, HLA-DR(sınıf II MCH antijeni) ve CALLA(CD10) ifade ederler. CD34 ifadesi pre-B hücrelerde kaybolur. Pax-5 B hücre farklılaşma yolağında erken dönemlerden itibaren ifade olan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Pre-B hücreler yüzey Ig'i ve antijen bağlanmasından sonra sinyal iletiminda görevli CD3 ve TCR'ın anoloğu olan CD79a ifade ederler. Bu dönemde kazanılan MHC sınıf II reseptör ifadesi B hücrelerin yaşamı boyunca devam eder ve T hücreleri ile etkileşimde önemli rol oynar. Tersine CD10 ve TdT ifadesi Kİ'ni terk etmeden önce kaybolur. Olgun B hücre antijeni olan CD20, pre-B hücrelerde zayıf olarak ifade edilir ve olgunlaştıkça B hücrede ifadesi artar. İlk olarak TdT, HLA-DR, CD10 ve CD19 ekspresyonundan sonra ve μ zincir ekspresyonundan önce saptanır. Lökosit common antijen(CD45) ifadesi, yüzey CD20 ifadesi izlenene dek görülmez(Şekil 2.1),(3, 4, 8).

Naive B Hücreler; yüzeyel IgM ve IgD moleküllerini ifade eden; TdT, CD10, CD34 ekspresyonu göstermeyen hücrelerdir. Olgun, naif B hücreleri antijeni tanır ancak antikor üretimi yapamazlar. Ig genlerinde düzenlenme gerçekleşmiştir. Hafif zincirlerden birinin(kappa yada lambda) ifadesi yanında; pan–B hücre antijenlerini (CD19, CD20, CD22, CD79a), HLA sınıf II molekülleri, kompleman reseptörleri (CD21,CD35), CD44, CD62L(Leu-8 -=L-selectin), CD23 ve Pan-T antijen olan CD5'i ifadeederler. Bu yüzey antijenleri homingde, vasküler endotele adhezyonda, antijen sunan hücreler ile ilişkide ve B hücre farklılaşmasında görevlidir. Morfolojik olarak naive B hücreler küçük lenfositlerdir. Yetişkin ve çocuklarda periferik kanda sirküle olurlar ve primer lenfoid foliküller ve folikül mantle zonlarındaki lenfositlerin çoğunluğunu oluştururlar(3, 6).

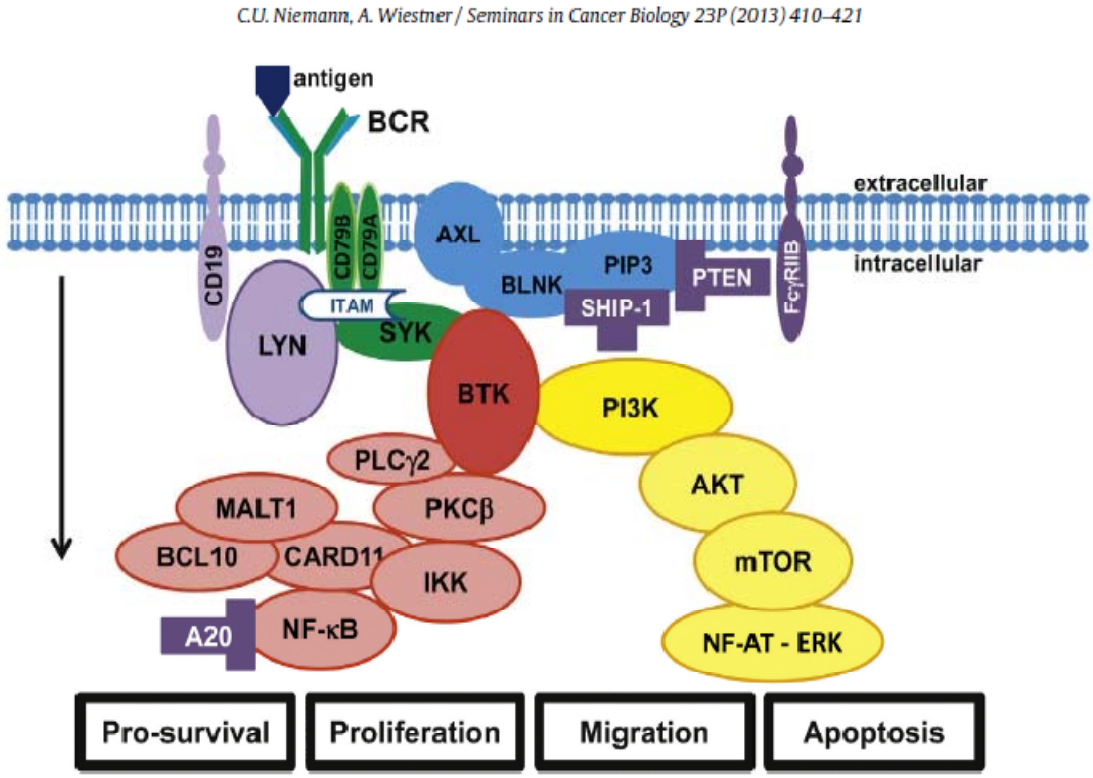
2.2.2. Antijen Bağımlı B Hücre Farklılaşması

Humoral immün yanıt periferik lenfoid dokularda B hücrelerinin antijenle karşılaşması (antijen bağımlı faz) ile başlar. Antikor salınması için önce aktive olmaları gereklidir ki B hücre aktivasyonu ardışık kompleks basamaklardan oluşan bir süreçtir. B hücre aktivasyonu iki şekilde gerçekleşebilir: T helper (Th) hücre-bağımlı ve Th hücre bağımsız.

Th Bağımsız B Hücre Aktivasyonu; Bazı antijenler T hücrelerine gerek olmadan direk olarak yada antijen sunan hücreler aracılığı ile B hücrelerini aktive edebilirler(9).Naive B hücre antijen ile karşılaştığında çoğalıp, immunoblastadönüşürler. Bazıları da olgun IgM sekrete eden kısa ömürlü plazma hücrelerine dönüşür. Burada plazma hücrelerinin saldığı antikorlar antijene düşük afinite gösterir, çünkü Ig genlerinde somatik hipermutasyonlar henüz gerçekleşmemiştir ya da çok düşük seviyelerdedir. Bu aşamada plazma hücre gelişimi olduğu gibi, hafıza B hücre gelişimi de gerçekleşir. Ancak bu aşamada oluşan hafıza B hücrelerinin klasik olarak bilinen T hücre bağımlıhafıza B hücrelerinden farkları henüz net olarak bilinmemektedir(10).

T hücre bağımsız B hücre yanıtıB hücre reseptörü (BCR) aracılığı ile gerçekleşir (Şekil 2.2.b.). BCR'ünün aktivasyon sinyalleri gönderebilmesi için en az ikiBCR molekülünün polivalent antijen ile nonkovalent olarak çapraz bağlanması ve BCR moleküllerinin sitoplazmik kuyruklarının birbirine yaklaşması gereklidir. Naif olgun B hücrelerinin BCR'ünün sitoplazmik kuyrukları kısadır. Bu kuyruk hücre içi sinyal iletimi yeteneğinden yoksundur. BCR ile ilişkili sinyaller Ig alfa ve Ig Beta (CD79a ve CD79b) olarak bilinen yardımcı yüzey molekülleri tarafından iletilir. Membran IgM veya IgD (BCR) ve CD79a ve CD79b hep birlikte BCR kompleksini oluştururlar. CD79a ve CD79b moleküllerinin sitoplazmik kısımları tirozinden zengin ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs) motifleri içerirler ki bu motifler sinyal iletimi için gereklidir(11, 12).Hücre yüzeyi reseptöre antijen bağlandığında BCR aktivasyonu ile kinazlar ITAM'ı fosforile eder ve ITAM başka kinazlar ve adaptör proteinler ile kenetlenir. SCR ailesi kinazları özellikle SYK ve LYN bu noktada BCR aktivasyonunda önemli bir basamaktır(13).Sinyal yolakları

gen ifadesiniuyaran transkripsiyon faktörlerinin uyarılması ile sonuçlanır. Fos, Jun, NF-κB gibi transkripsiyon faktörleri, B hücre çoğalması, göçü, yaşamı ve apopitozise gidişi gibi birçok basamakta etkili olurlar(13)(Şekil 2.2).

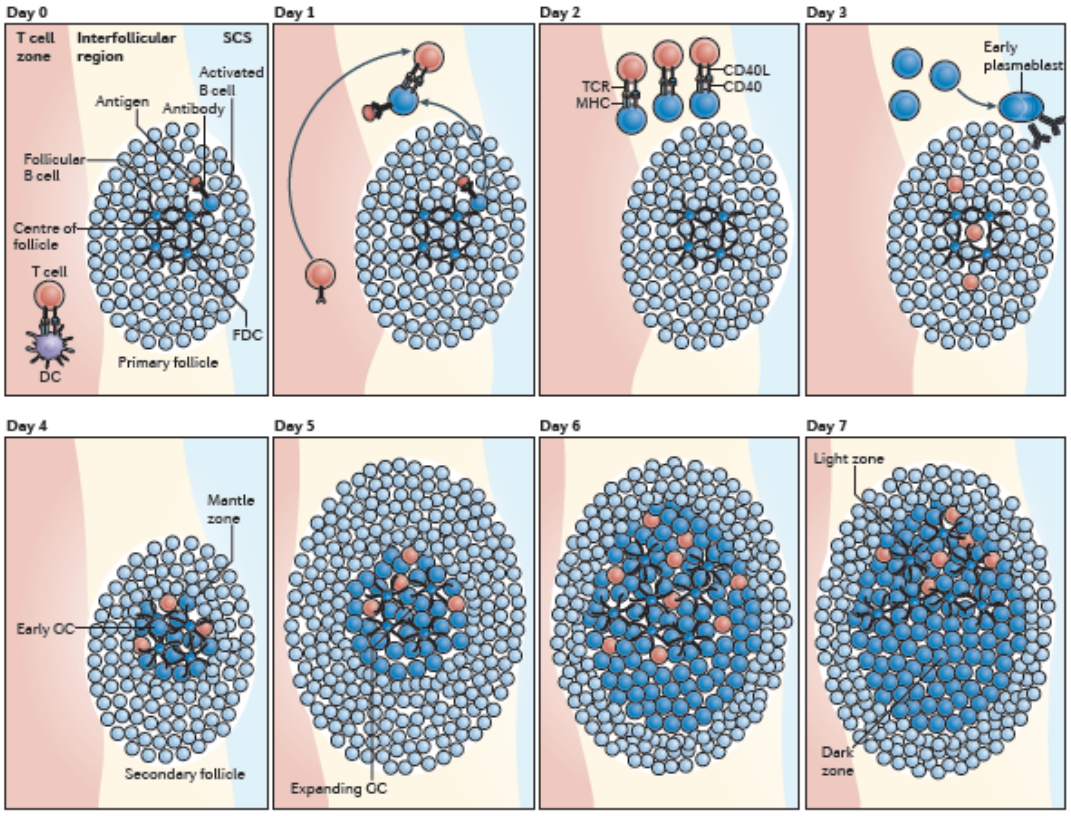


Şekil 2.2. BCR aracılığı ile gerçekleşen B hücre aktivasyon kaskadı (13)

Çok sayıda B hücreli lenfomada BCR sinyal yolağı tümör gelişiminde asıl yolağı oluşturur ve bu nedenle tedavi hedefi olma potansiyeli vardır(13).

Ancak B hücre aktivasyonu için antijen-BCR kompleksinin sinyali tek başına yeterli değildir. Bunun yanısıra komplemanla ilişkili sinyale de ihtiyaç vardır.CD21-CD19-CD81 kompleksine B hücre koreseptör kompleksi (BCCR) ismi verilmektedir. Kompleman aktivasyon ürünlerinden biri olan C3d için B hücre yüzeyinde CD21 reseptörleri vardır. Antijen-C3d kompleksi antijen yolu ile BCR'ne, C3d yolu ile CD21'e bağlanır. Kompleman sistemi, B hücre aktivasyonu için ikinci sinyali oluşturmuş olur(14).

Th Bağımlı Germinal Merkez (GM) Reaksiyonu: Primer cevabın sonrasında (antijen ile karşılaşmadan 3-7 gün sonra),ikincil yanıt olan T hücre bağımlı GM rekasiyonu başlar(15).



Şekil 2.3.GM reaksiyonu ve LN'de matür GM oluşumu (15)

LN'de,IGM ve IGD pozitif naive B lenfositler interfoliküler bölge ile birbirlerinde ayrılan primer foliküllerde yerleşirler. Primer foliküller T hücrelerinden zengin T hücre zonu ile komşudur. Yine folikülün merkezinde foliküler dentritik hücrelerden oluşan bir ağ (FDRC) bulunmaktadır. GM reaksiyonunun ilk basamağında naive B lenfosit GM'de ekzojen antijen ile karşılaşır ve T hücre zonuna veya interfoliküler bölgeye doğru göç ederler. 1. Günde antijen spesifik B hücreler ve T hücreler interfoliküler bölgede birbirleri ile etkileşime girerler. T hücreler, T foliküler helper (Tfh) hücrelerine dönüşmeye ve yüksek oranda B Cell Lymphoma 6(BCL6) eksprese etmeye başlarlar. 2. Günde T hücrelerin çoğu Tfh fenotipi (CXCR5, PD1, GL7 pozitif) kazanmıştır ve B ve T hücreler arasındaki TCR-MHC ve CD40/CD40L aracılığı ile uzun süreli bağlanma gerçekleşmiştir. 3. Günde T hücreler interfoliküler bölgeden folikülün içine doğru göç ederken, B hücrelerin bir

kısmı kısa ömürlü, antikor sekrete eden plazmablastlara dönüşür ve subkapsüler sinüslere doğru göç ederler. İmmünizasyondan sonraki 4. Günde, folikülün merkezindeilk kez histolojik olarak GM seçilmeye başlar. B lenfositler büyür ve hızla B blastlara dönüşürler ve çevredeki IGM ve IGD pozitif naive B hücrelerden mantle zon ile ayrılmaya başlarlar. 5. ve 6. günde GM büyür ve immünizasyondan sonraki 7. günde açık zon ve koyu zon olarak adlandırılan mikroçevresi farklı 2 zon oluşur. Koyu zonda sentroblast olarak isimlendirilen B blastlar ve açık zonda Tfh hücreleri, FDRC hücreleri, makrofajlar ve sentrosit olarak isimlendirilen, sentroblastlara göre daha küçük boyutlu B lenfositler yer alır (Şekil 2.2.3). Sentrobladtlarda yüksek CXCR4, düşük CD83 ve CD86 ekspresyonu izlenirken; sentrositlerde düşük CXCR4 ekspresyonu, yüksek CD83 ve CD86 ekspresyonu görülür(15).

Germinal Merkez reaksiyonu antijene oldukça spesifik B hücre klonları yaratmada ve hafıza B hücreleri ve uzun ömürlü plazma hücreleri olan efektör B hücre grubuna farklılaşmada çok önemli bir aşamadır(3, 15). Bu işlem dört aşama içerir:

- Çoğalma
- Ig somatik hipermutasyonu ve izotip değişiminin (class switch) uyarılması
- Negatif ve pozitif seçim
- Dönüşüm

Germinal merkezdeki en önemli olay tüm GM hücrelerinde(sentrosit, sentroblast, T hücreler) ifade olan ancak naive B hücreleri, hafıza B hücreleri, mantle zon hücreleri ve plazma hücrelerinde ifade olmayan nükleer zinc-finger transkripsiyon faktörü olan Bcl-6 ifadesinin izlenmesidir. Bu genin aktivasyonu GM oluşumuiçin gereklidir.

Çoğalma: sentroblastlara GM'in "dark zon"unu meydana getirirler ve yüksek çoğalma kapasitesine sahiptirler. İfade olan genler diğer dokulardaki hücrelerden farklıdır. Her çoğalma siklusu sonunda telomerazları kısalır ve sonunda

antiapopitotik gen olan Bcl-2 inaktive olurken; proapopitotik moleküller(Fas gibi) aktive olur. Bu proapopitotik hatalı program nedeniyle antijenlere yüksek derecede afinite gösteren hücreler bu sayede apopitotik etkiden korunur. Hayatta kalabilen hücreler çoğalmış ve seçilmişolur.Ig genleri VDJ bölgesi mutasyona uğramış santroblastların antijen afinitesi düşenler hızla apopitozise giderler ve GM'deki apopitotik hücreleri fsgosite eden makrofajların artışı nedeniyle yıldızlı gökyüzü manzarası oluşur(3, 15, 16).

Somatik hipermutasyon: sentroblastların IgV gen bölgeleri somatik hipermutasyona uğrar. Bu sayede antijene daha yüksek afinite gösteren reseptörler yapılmış olur. Bu süreçte aktivasyon ilişkili sitidin deaminaz (AID) önemlidir. Somatik hipermutasyon sonucunda birkaç öncül hücreden antikor bağlanma bölgeleri değişken olan çok sayıda hücre üretilmiş olur (intraklonal çeşitlilik)(3, 9, 16).

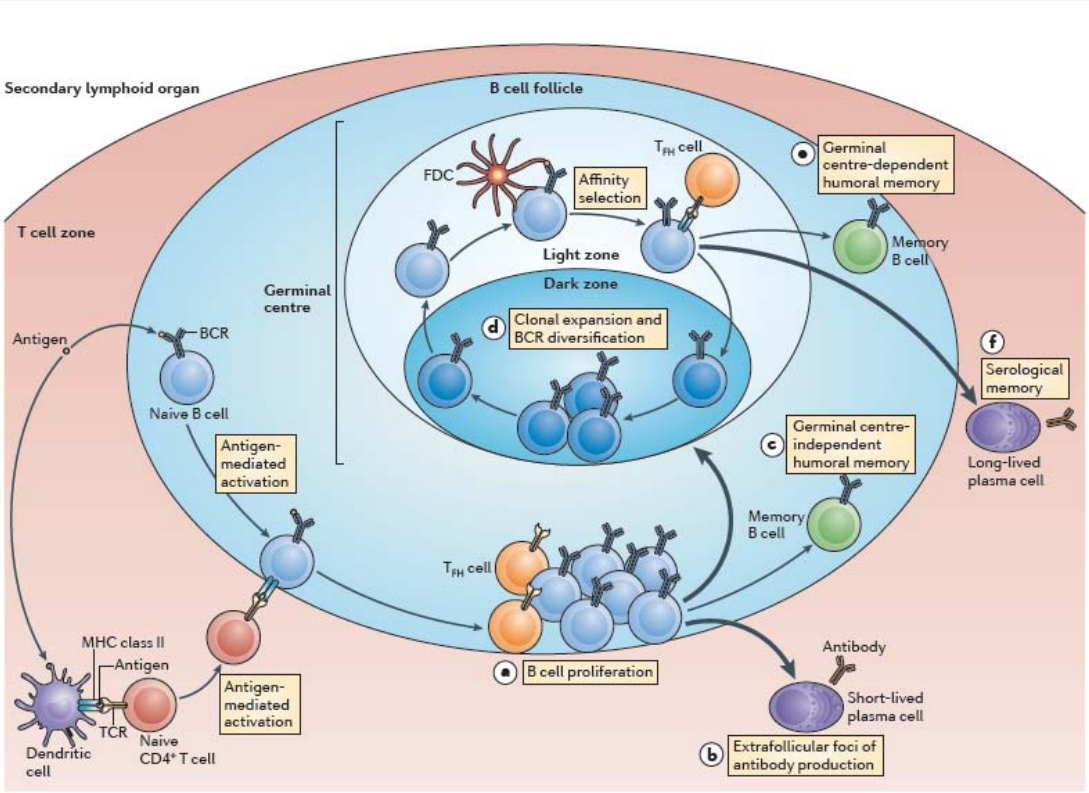
Seçim: sentroblastların tersine çoğalmayan sentrositler, GM'in açık zonuna yerleşir. Sentrositlerde ağır zincirlerde izotip değişimi gerçekleşir. Böylelikle IgM ve IgD ifade eden ve IgM antikoru yapan hücreler VDJ bölgeleri değişmeden aynı antijeni tanıyabilen IgG, IgA ve daha az oranda IgE üreten hücrelere dönüşürler. Ağır zincir izotip/sınıf değişimi, B hücrelerinin değişik efektör fonksiyonları olan ve farklı mikroorganizmalara en iyi humoral immün yanıtı sağlayan farklı antikor tipleri üretmelerine ve antikorların farklı lokalizasyonlarda kullanılabilmelerine olanak sağlar.Somatik hiper mutasyon sonucu antijene afinitesi artan sentrositler FDRC tarafından işlenmemiş naive antijenleri(ki bunlar genellikle protein antijenlerdir) tanıyabilir hale gelirler ve bunu T hücrelere sunabilirler. Açık zon B hücresi tarafından uyarılan Th hücreler yüzeylerinde CD40L ifadesiartırır ve sitokin salınımına başlarlar. CD40L B hücre yüzeyindeki CD40'a bağlanır ve B hücreleri apopitozisden korur. Bu aşamada aktive Th hücrelerinden salınan IL-2, IL-4, IL-5 ve IL-6 gibi sitokinlerde önemli role sahiptir(3, 6, 15, 16).

Dönüşüm: GM reaksiyonlarının sonlandığı bu aşamada B hücrelerinin postgerminal alanda hafıza hücresine mi, uzun ömürlü plazma hücrelesine mi dönüşeceği belirlenir. Postgerminal merkez aşamasında B hücrelerde ubiquitinasyon ve CD40-CD40L etkileşiminden doğan IRF4 transkripsiyon faktörünün etkisi ile

Bcl-6 inaktivasyonu olur. Sentrositlerin hayatta tutup hafıza B hücrelerine dönüşmelerini sağlayan mekanizma halen net değildir. Ancak CD40-CD40L etkileşiminin önemli rol oynadığı düşünülmektedir(3).

2.2.3. Hafıza B Hücreleri

Antijen spesifik hafıza B hücrelerinin bir kısmı GM'den çıktıktan sonra çevre kanına yani dolaşıma katılırken,bir kısmı da marjinal zonlara yerleşmektedir. Hafıza B hücrelerinin gelişim yolları T hücre bağımlı (GM bağımlı ve GM bağımsız olarak 2'ye ayrılırlar) ve T hücre bağımsız şekilde oluşabilir(10)(Şekil 2.4).



Şekil 2.4.T hücre bağımlı hafıza B hücresi gelişimi(10)

Daha öncede bahsedildiği üzere antijen ile karşılaşan naive B hücresi, interfoliküler bölgeye göç edip burada T lenfosit ile bağlanır. Bu bağlanma güçlü ve uzun süreli olur ise B hücresi GM reaksiyonuna katılır. Ancak bağlanma süresinin kısa olması durumunda B hücresi kısa ömünrlü hafıza B hücresi olmaya yönlendirilir. GM reaksiyonundan bağımsız gelişen bu olayda sınıf değişimi olur ancak GM'de izlendiği kadar yoğun somatik hipermutasyon beklenmez.GM bağımlı hafıza B

hücresi oluşumu ise daha iyi bilinen bir yolaktır. Hangi hücrenin hafıza B hücresine dönüşeceğinin random seçildiği düşünülmektedir(10).

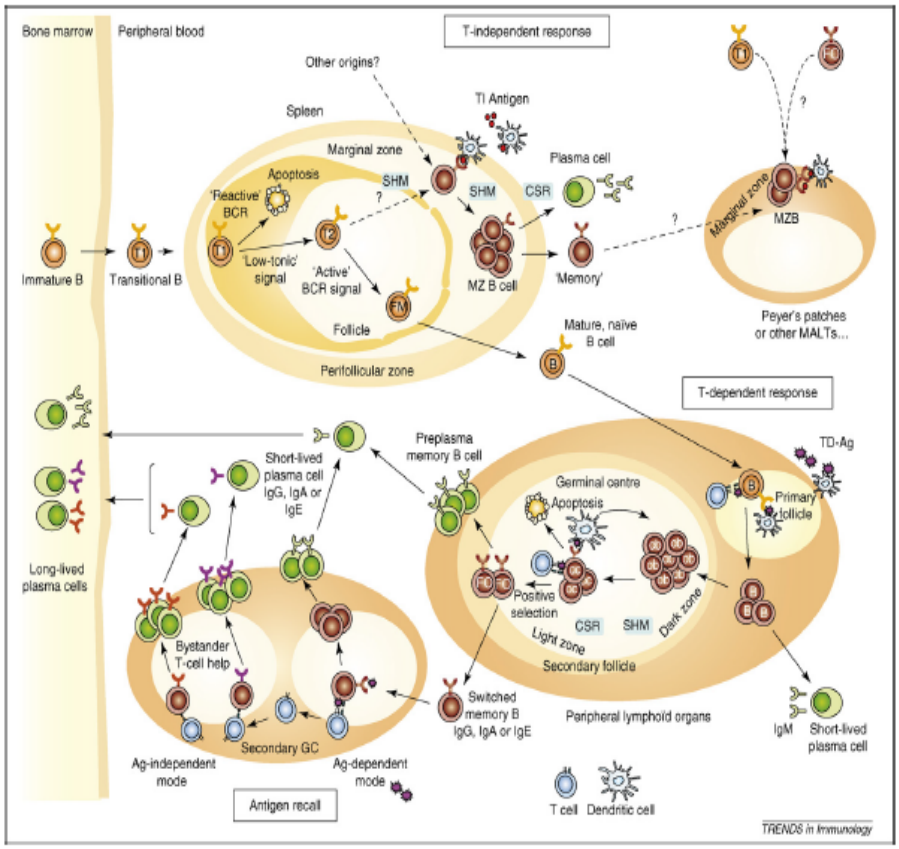
Bu noktaya kadar bahsedilenT hücre bağımlı hafıza B hücresi oluşumunda söz konusu olan hep konvansiyon B2 hücreler iken, T hücre bağımsız hafıza B hücre oluşumunda B1 hücrelerden gelişen hafıza hücreler söz konusudur. B1 hücreler yüksek oranda peritoneal kavitede, daha düşük oranda ise dalakta bulunan, CD5 ekspresyonlarına göre B1a (CD5+) ve B1b (CD5-) olarak 2 gruba ayrılan B lenfositlerdir(10).

Sonuç olarak hafıza B hücreleri IgM, IgG2a, IgA ve IgE ekspresyonu gösterebilirlerHafıza B hücrelerinin gelişim basamaklarının araştırıldığı bir çalışmada hafıza B hücrelerinin Ig somatik hipermutasyonları ve ağır zincir profillerine bakılmış ve IgG ve IgA eksprese eden ve CD27 pozitif hücrelerin T hücre bağımlı GM reaksiyonu kökenli olup, Ig genlerinde yüksek oranda somatik hipermutasyon taşıdıkları saptanmıştır. Buna karşın CD27 negatif, IgA /IgG pozitif veya sadece IgM eksprese eden bir grup hafıza B hücresi saptanmış ve bunların GM bağımsız bir yol izledikleri düşünülmüştür(17).

İlginç bir şekilde insanlarda hem periferik kanda hemde MZ'da saptanan IgM(+), IgD(+), CD27(+) B hücreler saptanmış ve bu hücrelerde antijenle karşılaştıklarını düşündüren düşük seviyede de olsa somatik hipermutasyonlar ve naive olduklarını düşündüren yüksek oranda klonal çeşitlilik saptanmıştır. Benzer şekilde Fonnksiyonel GM.lerin olmadığı hiper-IgM sendromu ve X geçişli lenfoproliferatif hastalığı olanlarda B lenfositlerde düşük seviyede de olsa somatik hipermutasyon izlenmektedir(18). Bu bulgu MZ'da T hücrelerden bağımsız bir şekilde düşük seviyede de olsa somatik mutasyonların gelişebileceği yolaklar olduğunu göstermektedir.

Monositoid B hücreler MZ hücrelerine benzeyen ancak daha bol sitoplazma ve nükleer çentiklenme gösteren hücrelerdir. IgM(+), IgD(-/+), CD27(-) şeklinde bir ifade profiline sahiptirler. Viral enfeksiyonlarda (özellikle HIV ve Toxoplazma enfeksiyonlarında) belirgin hale gelirler ve folikül MZ'larının periferinde, subkapsüler ve kortikal sinüslerin çevresinde yerleşirler(19). Klasik bilgi olarak MZ

B hücrelerinden farklı olarak Ig V gen bölgelerinde mutasyon taşımazlar. Ancak monositoid B hücrelerin odaksal da olsa çoğalma gösterdikleri, GM B hüclerine benzer şekilde seleksiyona uğradıkları ve daha düşük oranda da olsa klonal genişleme gösterirdiklerini savunan çalışmalar bulunmaktadır. Monositoid B hücrelerde somatik hipermutasyona uğrarlar ancak bunu harekete geçiren mekanizma net olarak bilinmemektedir(18).



Şekil 2.5. B hücre gelişimi (20)

2.3. PLAZMA HÜCRELERİNİN ÖZELLİKLERİ VE PLAZMA HÜCRESİNE DÖNÜŞÜM

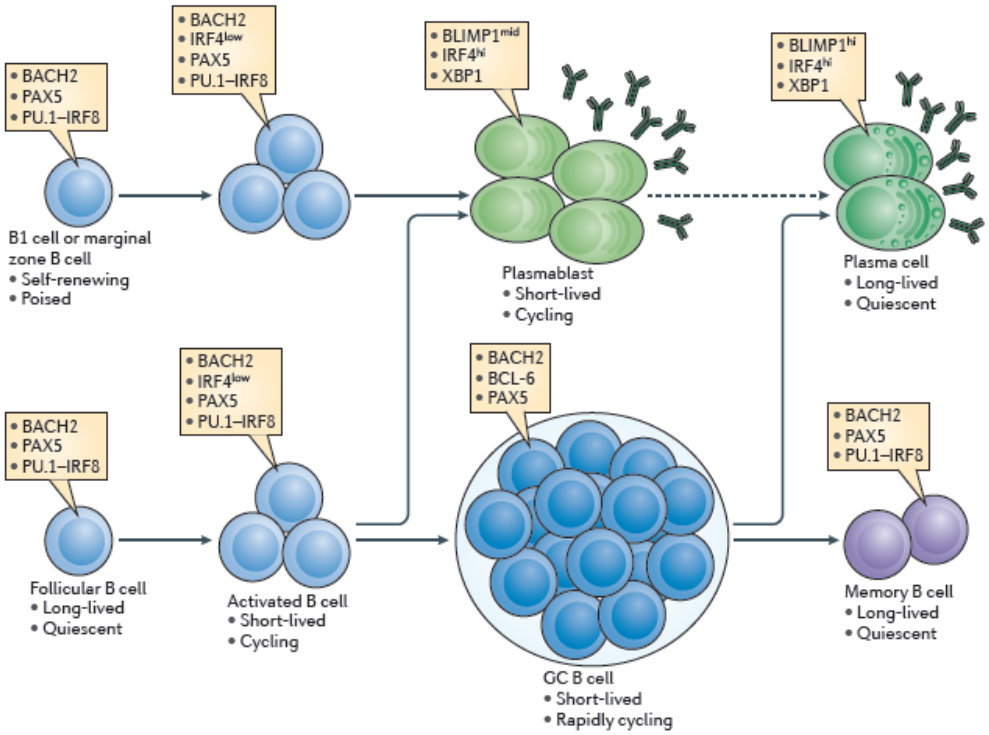
Olgun B hücreleri üç temel altgruba ayrılabilir; folikül B hücreleri, marjinal zon(MZ) B hücreleri ve B1 hücreler. Tüm bu olgun B hücre alttipleri, antijen reseptör sinyali ile uyarılan transkripsiyon faktörleri olan paired box protein 5 (PAX5), PU.1, interferon-regulatory factor 8 (IRF8), ve BTB ve CNC homolog 2

(BACH2) ile düşük seviyede IRF4 bulundururlar. Foliküler B(FB) hücreler ana grubu oluşturur ve dalakta ve lenf nodunda foliküllerde yer alırlar. MZ B hücreleri lenf nodunda marjinal zonda, dalakda marjinal sinüslerde yer alırlar. B1 hücreler ise temel olarak peritoneal ve plevral kavitede ve mukozal alanlarda bulunurlar ve çevreden gelen antijenlerle ilk karşılaşan hücrelerdir. Bu özellikli yerleşimlerinden dolayı B1 hücreler ve MZ B hücreleri bakteri ürünleri gibi antijenlerin sebep olduğu T hücre bağımsız hızlı immün yanıtta önemli rol oynarlar. FB hücreler ise T hücre bağımlı protein antijenlere karşı geliştirilen CD4 T hücre aracılı yanıtta görevlidir.

Daha önce de bahsedildiği gibi antikor sekrete eden hücrelerin(ASH) T hücre bağımlı antijen yanıtı temel olarak 2 basamaktan oluşur(Şekil 2.5):

İlk basamak(ekstrafoliküler cevap), kısa ömürlü plazmablastların oluştuğu sentezlenen antikorların antijenlere afinitesi orta derecede olduğu ve sentezlenen antikor türü değiştirilemediği antijene en erken verilen antikor yanıtıdır.

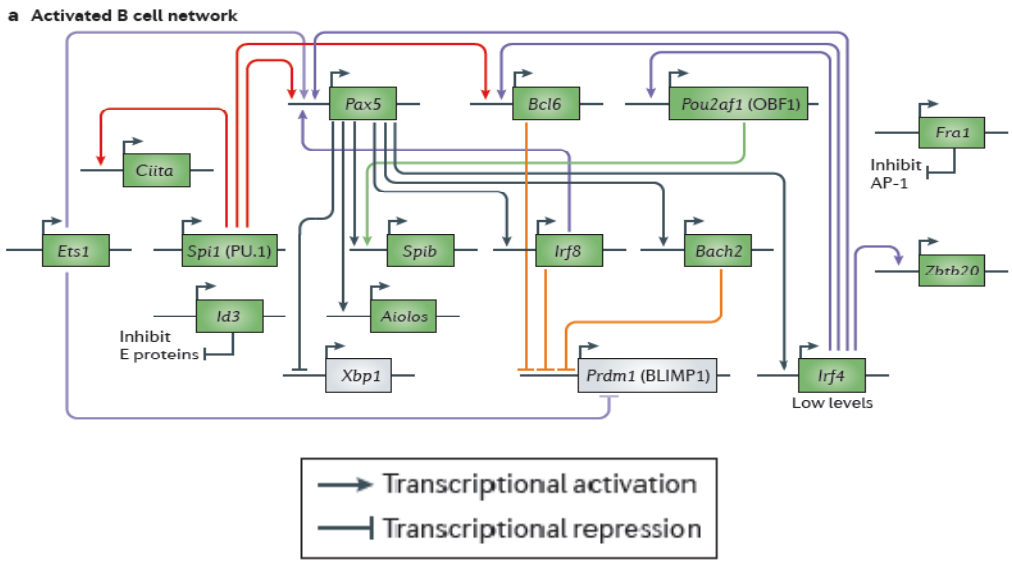
Ikinci basamakta ise, GM reaksiyonunu nun başladığı, yüksek oranda antikor sentez edebilen yüksek afiniteli ve uzun ömürlü plazma hücrelerinin üretildiği süreçtir. Bu hücreler tekrar aynı antijen ile karşılaştıklarında hızla ASH'ye dönüşürler.

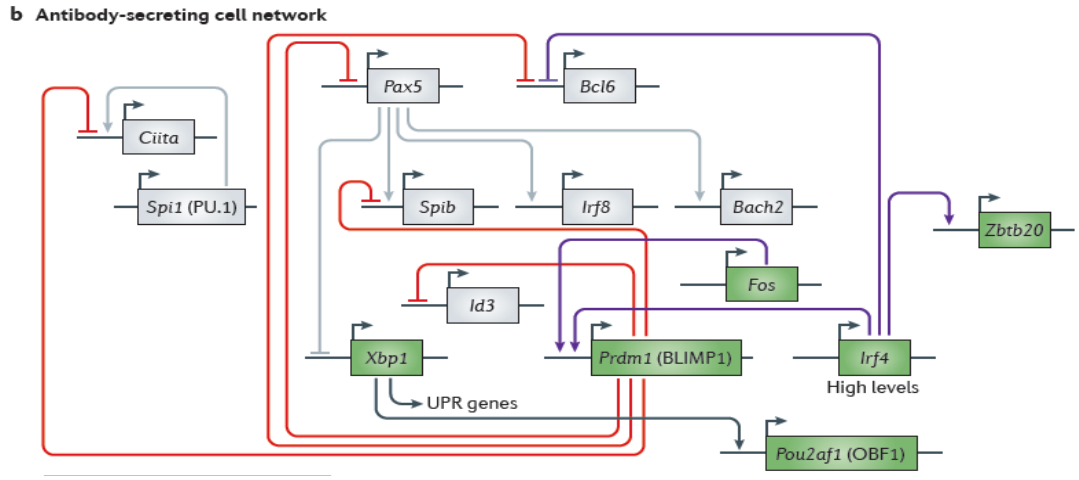


Şekil 2.6. Geç B hücre farklılaşmasının aşamaları ve bu aşamalardaki ekspresyon profilleri(21)

2.3.1. B hücre farklılaşmasının transkripsiyonel gelişimi

Aktive bir B hücrenin ASH'ye dönüşümünde yüzlerce gende ifade değişikliği meydana gelir. B hücre fonksiyonlarını kontrol eden bir grup transkripsiyon faktöründe sessizleşme(silencing) ve ASH regülatörlerinde de ifade artışı gözlenir. PAX5, BACH2, BCL6, OCT2, OBF1, PU.1, SPIB, ETS ve IRF8 gibi bir grup transkripsiyon faktörü normalde B lenfositlerde bulunan ve ASH'ye dönüşümü engelleyen faktörlerdir. Buna karşılık IRF4, BLIMP1 ve XBP1 transkripsiyon faktörleri ASH'ye dönüşmede önemli role sahiptirler. Bu genler ile aktivasyon ve inhibisyon rolleri Şekil 2.6 ve 2.7'de özetlenmektedir.





Şekil 2.7. B hücrelerinin terminal farklılaşmasını kontrol eden gen regülasyon haritası(21).

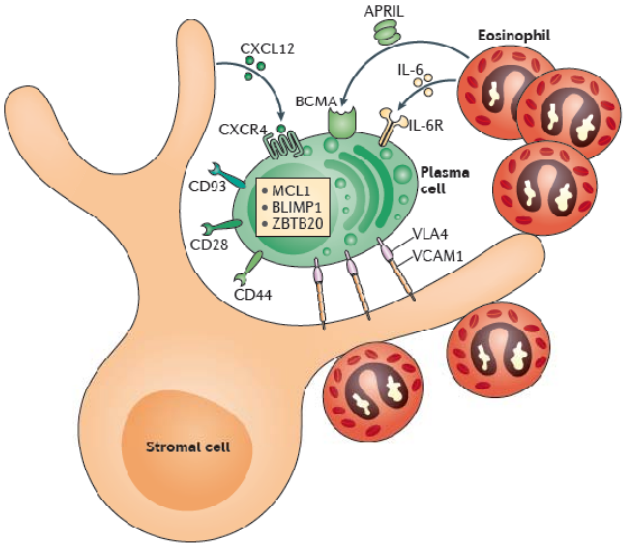
Naïve B hücrelerinden matür plazma hücrelerine dönüşüm sırasında hücrelerde izlenen immünprofil, IG ekspresyon profilleri ve bulunmasını beklediğimiz lokalizasyonlar Tablo 2.1'de özetlenmektedir.

Tablo 2.1. Plazma hücre matürasyonu (21)

	Naive B Hücre	Plazmablast	İmmatür Plazma Hücresi	Olgun Plazma Hücresi
Yaşam Süresi	++	+	+	++++
Proliferasyon	-	++	-	-
CD27,CD38, CD138 ve CXCR4 ifadeleri	-	+	++	+++
CD19, CD20, CD45 İfadeleri	+++	++	+/ -	+/ -
Yerleşim Yeri	Lenfoid Organlar	Lenfoid Organlar ve PB	Lenfoid Organlar	Kİ
İzotip	IGM, IGD	Hepsi	IGM=IGG>IGA	IGG>>IGA>>IGM
BLIMP1 İfadesi	-	+	+	++

2.3.2. Plazma hücrelerininadres bulma ve yaşamda kalması;

Plazma hücreleri için kemik iliğine yerleşmemekanizması halen net anlaşılmamıştır. ASH çevre kandan ikincil lenfoid organlara geçişinde SIPR1 etkili iken; Kİ'ne geçmeleri ve burada kalabilmeleri için CXCL12 ve CXCR4 etkileşimi önemlidir. ASH'lerin kemik iliğine yerleşmeleri ve plazma hücrelerine olgunlaşmaları için ise VLA4, CD44, CD28, CD93, KLF2, ZBTB20 ve Aiolos etkilidir. Kemik iliğindeki plazma hücreleri ve niş arasındaki moleküler ilişki Şekil 2.8'de özetlenmektedir.



Şekil 2.8. Kİ'deki plazma hücresi yaşamı ve niş(21)

Morfolojik olarak plazma hücreleri 15-20 mikrometre çapında oval şekilli hücrelerdir. Eksantrik yerleşimli ve yuvarlak-oval şekilli çekirdekleri, kaba kromatinleri(araba tekerleği) vardır. Nükleolleriseçilmez. Koyu bazofilik, granülsüz sitoplazmaları ve çekirdeğe yakın perinükleer halo şeklinde izlenen golgi zonları bulunmaktadır(22).

Plazmablastlar, hızla oluşturulan, kısa ömürlü efektör hücrelerdir. Erken antikor cevabında görevlidirler ve plazma hücrelerinin öncülleridir. Olgun plazma hücreleri kısa ve uzun ömürlü olarak iki grupta incelenir. Plazmablastlar MHC ifade ederken; olgun B hücre belirteçlerini(CD20, Pax-5 gibi), CXCR5, CCR7 reseptörlerini ifade etmezler. Lenf nodülü medüller kordonlarında, dalak kırmızı pulpasında ve Kİ gibi CXCL12 eskpresyonunun olduğu dokularda yerleşebilmek için CXCR4 ifade etmektedirler.

Kısa ömürlü IgM salan plazma hücreleri daha öncede bahsedildiği gibi T hücre bağımsız immün yanıtın bir parçasıdırlar. İnterfoliküler bölgede yer alan antijen ile karşılaşmış naive B hücreler antijene cevap olarak kısa ömürlü plazma hücrelerine dönüşürler. Uzun ömürlü IgM(+),izotip değişimine uğramış plazma hücreleri ise T hücre bağımlı immün yanıtın efektör hücreleridir. IgG üreten plazma hücreleri LN'de medüllada ve dalakda splenik kordonlarda yoğun olarak bulunurlar ve bir kısmı Kİ'ne göç eder. Plazma hücreleri yüzey Ig'lerini, pan B antijenlerini, HLA-DR,CD40 ve CD45 reseptörlerini kaybeder ve CD38 ve CD138(syndecan) ifade ederler. Yine Pax-5 ifadeleri kaybolurken; BLIMP1, XBP1 ve IRF4/MUM1 ifadesi kazanırlar. Uzun ömürlü plazma hücrelerinde IGV gen mutasyonu devam etmez.

Normal ve neoplastik plazma hücreleri CD38, CD138, MUM 1, Kappa, Lambda,IgG,IgM, IgA, IgD, EMA, CD19 ifade ederlerken; neoplastik plazma hücreleri CD20CD27, CD28, CD56 ifadesi da gösterebilmektedir.

Matür B Hücreli Lenfomalara Genel Bakiş: Bu grupta ele alınacak lenfomalar:

- Küçük Lenfositik Lenfoma/Kronik Lenfositik Lösemi (KLL/SLL)
- Lenfoplazmasitik Lenfoma (LPL)
- Mantle Hücreli Lenfoma (MCL)
- Splenik Marginal Zon lenfoma (SMZL)
- Nodal Marjinal Zon Lenfoma (NMZL)
- Ekstranodal Marjinal Zon Lenfoma (ENMZL)
- Foliküler Lenfoma (FL)

2.4. KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ/ KÜÇÜK LENFOSİTİK LENFOMA (KLL/SLL)

Monomorfik, küçük yuvarlak, düzensiz neoplastik B lenfositlerden oluşan bir lenfomadır. Neoplastik lenfositler periferik kan, Kİ, lenf nodülü(LN) ve dalak tutulumu yaparlar. Prolenfosit ve paraimmünoblastlardan oluşan ve daha soluk görünen proliferayon merkezlerinin görülmesi tipiktir. SLL terimi non-lösemik hastalarda dokuda izlenen neoplastik lenfoid hücrelerin morfolojik ve immünfenotipik olarak KLL'ye benzediği durumlar için kullanılır.

Batı ülkelerinde yetişkinlerde en sık görülen lösemidir(1).Görülme oranı yılda 2-6/100.000'dır. Ortalama tanı yaşı 65'tir. Non-hodgkin lenfomaların %6.7'sini oluştururlar. Hem KLL, hemde SLL erkeklerde daha sık izlenir. Kemik iliği ve çevre kanı tipik olarak tutulur. Ayrıca lenf nodülü, dalak ve karaciğer tipik olarak tutulur ve diğer ekstranodal alanarda da tutulum izlenebilir. Seyrek olarak tanıda hastalar alösemik periferik doku tutulumları ile karşımıza çıkabilir ancak ilerleyen zamanlarda periferik kan ve kemik iliğinde de tutulum saptanır.

Klinik bulgular; Hastalar başvuru anında genellikle asemptomatiktir. Ancak halsizlik, otoimmün hemolitik anemi, enfeksiyona yatkınlık, hepatosplenomegali, lenfadenopati ya da ekstranodal tutuluma bağlı semptomlar ile kliniğe başvurabilirler.

Hastaların %90'ı tanı anında Ann Arbor evre III ya da IV hastalığa sahiptir. 1/3'ünde B semptomları vardır ve %41'inde LDH seviyeleri yüksektir. %2.5 vakada standart serum protein elektroforezinde IgM proteini saptanmıştır ancak tipik olarak düşük seviyelerdedir(ortalama 0.4g/dL). Aynı immünglobulin ağır zincirini neoplastik hücrelerin ifade ettiği saptanmıştır(2).

2.4.1. Monoklonal B Hücre Lenfositozisi

Sağlıklı orta yaş bireylerde KLL fenotipindeki klonal B lenfositler periferik kanda %3-5 oranında saptanmış ve bu hücreler monositoid B hücre artışı olarak adlandırılmıştır. Normal B lenfositler CD19+/CD5- iken, monositoid B hücreler

CD19+/CD5+ profil sergiler. Yapılan çalışmalarda daha sonrada bahsedileceği gibi KLL ve olası öncüsü monositoid B hücre lenfositozisi vakalarında hastalığın temel gelişim yolağı olan Wnt sinyal yolağı ve bu yolağın hedef molekülü ve temel transkripsiyon faktörü olan LEF-1 ifadesi araştırılmıştır. Her iki grupta da akım sitometrik analizlerde KLL vakalarında daha parlak, monositoid B hücre lenfositozisi vakalarında ise daha soluk olmak üzere LEF-1 ifadesi saptanmıştır(23). Bu nedenle KLL/SLL'ye yatkınlık ya da öncü olabileceği düşünülmektedir(1, 2).

Morfolojik olarak farklı yerleşim yerlerindeki tutulumlar şu şekilde özetlenebilir(2, 3);

Lenf nodülünde genellikle diffüz tutulum gözlenir. Normal lenf nodülü yapısı genellikle tümüyle silinmiştir. Seyrek olguda az da olsa kalıntı lenf nodülü alanları bulunabilmektedir. Subkapsüler sinüsler doludur ve sıklıkla çevre dokuda infiltrasyon görülür. İnfiltratif hücreler genellikle küçük olgun lenfosit boyutunda veya ondan biraz büyüktür. Çekirdek, yuvarlak düzgün sınırlı; kromatinleri, kaba granüler özelliktedir ve genellikle nükleol içermezler. Sitoplazmaları çok dar izlenebilir veya seçilemez. Mitoz oranı çok düşüktür. Bu tanımlanan hücreler arasında çoğalma merkezleri olarak adlandırılan daha büyük hücrelerin bulunduğu alanlar izlenebilir. Bu alanlarda küçük-orta büyüklükte, dağınık kromatinli, küçük nükleollü prolenfositler ve büyük boyutlu, ince dağılmış kromatinli ve santralde yerleşen eozinofilik büyük nükleollü para-immünoblast olarak tanımlanan geniş bazofilik sitoplazmalı hücreler bulunur. Çoğalma merkezlerinin boyutları ve buradaki para-immünoblastların sayıları değişkendir ve Ki-67 ile çoğalma indeksleri yüksektir.

KLL/SLL hastalarının az bir kısmında ise LN'de tutulum interfoliküler, perifoliküler ya da marjinal zon paterninde izlenebilir ve bu nedenle Mantle hücreli lenfoma, Marjinal zon lenfoma ve diğer lenfomaların ayırıcı tanısı gerekebilir. Bazende neoplastik lenfositler tipik KLL/SLL hücresinden daha büyük ve düzensiz olabilir ve mantle hücreli yada foliküler lenfomayı akla getirebilir.

Kİ biyopsisi tanı için her zaman şart değildir. Tutulum odaksaltrabeküller arasında nodüler, diffüz, intestisyel veya bunların kombinasyonu şeklinde görülebilir.

Küçük büyütmede infiltrasyon alanları normal hematopoetik seri hücrelerine göre daha koyu olarak hemen göze çarpar. Çoğalma merkezleri LN'de görüldüğü kadar sık beklenmez. Kemik iliği aspirasyonunda PB'daki neoplastik lenfositlere benzer morfolojide olan neoplastik hücreler izlenir. Minimal tutulum görülebilirse de karakteristik bulgu kemik iliğinde %30'dan fazla lenfoid hücre infiltrasyonudur.

Dalakta, beyaz pulpa tutulumu belirgindir ancak kırmızı pulpa da tutulmuş olabilir. Makroskopik olarak çok sayıda küçük beyaz nodüller şeklinde görünüm bulunmaktadır. Çoğalma merkezleri izlenebilir ancak lenf nodülünde beklendiği kadar sık görülmez. Çok daha seyrek olarak diffüz tutulum ve dalak dokusunda sinüslerde kırmızı pulpa kordonlarında tutulum görülebilir.

Periferik kanda tanı anında minimum olarak KLL fenotipini taşıyan $\geq 5x10^9$ monokonal lenfositlerin bulunması tipiktir. Periferik yaymada prolenfositler genellikle <%2 oranındadır. Eğer ≥%55 prolenfosit saptanırsa tanı 'B hücreli prolenfositik lösemi' olmalıdır.

Karaciğer tutulumu KLL/SLL'de sık izlenir ancak tutulum organ disfonksiyonu yapacak düzeyede değildir. Neoplastik lenfositler portal alanlarda bulunur ve infiltrasyona fibrozis eşlik edebilir. Bir grup hastada deri tutulumu saptanabilir ve perivasküler/periadneksiyal yamalı tutulumdan solid infilrata kadar değişen morfolojiler görülebilir. Bazı hastalarda deride yüksek Ki-67 çoğalma indeksi ve küçük olgun lenfositlere göre daha büyük hücreler ile karakterli büyük hücre transformasyonu(Richter Sendromu) saptanabilir.

2.4.2. KLL/SLL Morfolojik Varyantları

Atipik Kronik Lenfositik Lösemi(Atipik KLL); tipik KLL'in sitomorfolojik ve immünhistokimyasal bazı özelliklerini gösteren ancak tüm kriterlerini karşılamayan klonal bir çoğalmadır. Diğer B hücreli neoplaziler dışlanarak atipik KLL tanısı konabilir. Morfolojik olarak neoplastik hücrelerin ortalama %10-15'ini oluşturan bir grup hücrede büyük ve düzensiz nükleus, belirgin nükleolus ve

plazmasitoid özellikler saptanır. Bu vakalarda prototipik KLL'den farklı immünhistokimyasal özellikler de saptanır. Atipik KLL vakaları; farklı spesifik sitogenetik anomaliler, kötü klinik gidiş, tanı anında ileri evre hastalık ile ilişkilendirilmiştir.

Plazmasitoid farklılaşma; %25 ve daha fazla küçük neoplastik lenfositte plazmositoid özellikler görülür. Birçoğunda kanda ya da idrarda 3g/L'yi geçmeyen monoklonal protein saptanır. Bu durumda lenfoplazmasitik lenfoma ile ayırıcı tanı yapmak gerekebilir. Plazmositoid morfoloji ile del(7)q32 anomalisi birlikteliği tariflenmiştir.

Reed-Sternberg hücrelerinin izlendiği KLL; Reed-Sternberg benzeri hücreler KLL/SLL'de 2 durumda izlenebilir. İlk grup klinik ve hematolojik özellikleri ile tipik KLL/SLL hastası olan ve Reed-Strenberg benzeri hücrelerin tipik küçük olgun neoplasitk lenfositlerin arasında tesadüfen saptandığı gruptur. İkincisi ise, KLL/SLL hücreleri arasındaki Reed-Strenberg benzeri hücrelerin transformasyonu düşündürecek kadar yoğun izlendiği gruptur.

Mü (□) ağır zincir hastalığı; Seyrek karşılaşılan bir hastalıktır. Hastalar KLL/SLL'ye benzer ancak serumda defektif Mü zinciri tespit edilir. Tipik olarak Kİ, dalak ve karaciğerde vakuole sitoplazmalı plazma hücreleri ile karışık halde olgun lenfositlerin infiltrasyonu izlenir. Lenfadenopati beklenmez(3).

Akselere KLL terimi hem patologlar hem de klinisyenler tarafından kullanılmaktadır, ancak ne histolojik ne de klinik ve prognostik özellikleri net tariflenmemiştir. Genişlemiş(x20'lik büyütmeden daha geniş ve/veya mitotik indeksi yüksek(Ki-67 >40%)çoğalma merkezleri içeren vakalar istatistiksel olarak kötü prognozla ilişki bulunmuş ve bu vakalarda 'akselere KLL'terimi kullanılabileceği belirtilmiştir(24).

2.4.3. İmmünhistokimyasal ve akım sitometrik özellikleri

İmmünfenotipik özelliklerine bakıldığında orjinal KLL'de neoplastik hücreler; zayıf yüzeyel IgM/IgD, CD20, CD22, CD19, CD79a, CD5, CD23, CD43 ifadesi; CD11c, CD79b, CD25 ve FMC7 açısındannegatif ya da zayıf ifade ederler. CD10 ve Bcl-1 (cyclin D1) negatiftir(Çoğalma merkezlerindeki hücrelerdeifadesi izlenebilir). CD5 pozitivitesinin şiddeti normal T hücreleri ile karşılaştırıldığında genellikle daha zayıftır.

Bu immünprofili tam olarak taşımayan atipik KLL vakalarında;

- Güçlü yüzey Ig'leri veya CD20 ifadesi,
- FMC7, CD79b veya CD22 ifadesi,
- CD23 ifade kaybı izlenebilir.

Bu vakalarda KLL/SLL tanısı diğer B hücreli lenfomaların dışlanması ile konur. Bu durumda 5 belirteci içeren bir panel kullanılması önerilmektedir. Bu belirteçler; yüzey Ig, CD5, CD23, CD79b/CD22 ve FMC7'dir. Her parametrenin pozitivitesine 1 puan verildiğinde skor eğer 4 veya 5 ise tanı KLL/SLL olmalı, 0-2 arasında ise diğer B hücreli lenfomalar akla gelmelidir.(22)

KLL/SLL için tipik olan immunprofil bazen diğer düşük dereceli B hücreli lenfomalar ile örtüşebilir. Örneğin;

- Mantle hücreli lenfomalar %10 oranında CD23 ifadesi gösterebilir.
- Marjinal zon lenfomaların %10-20'sinde CD5 ve CD23 ifadesi görülebilir(25-27)
- LPL/WM sıklıkla soluk CD23 ve nadirende olsa CD5 ifadesi gösterebilir(27).

Bu nedenle KLL/SLL için önceden bahsedilmiş olan immünprofil bu hastalığa özgüdeğildir.

KLL/SLL'de prognostik önemi olan belirteçler CD38 ve ZAP-70'dir.(28) Her iki belirteç de bağımsız prognostik faktörlerdir ve kötü prognoz ile ilişkilidirler.

Ayrıca LEF1 ifadesinin de ZAP70 ve periferik kandaki lenfositoz oranları ile korele olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır(29).

2.4.4. Sitogenetik özellikleri

FISH yöntemi ile %70-80 vakada sitogenetik anomali saptanmaktadır. Del(13q14), del(11q22-23), del(17p13), del(6q) ve trizomi 12 en sık rastlanan anomalilerdir. Del(13q14) iyi prognoz ile ilişkili iken; trizomi 12 atipik morfoloji/ immünfenotip, ileri evre hastalık ve kötü prognoz ile ilişkilidir(2, 3).

2.4.5. Klinik gidiş

KLL/SLL yavaş seyir gösteren bir hastalıktır ve ortalama yaşam 10-30 yıl arasında değişmektedir. Rai ve Binet evreleme sistemleri, akım sitometrik olarak CD38 ve ZAP-70 ifade profili, sitogenetik özellikler ve Ig değişken bölgelerinde mutasyon durumunun kombinasyonu ile evreleme yapılır.

2.4.6. KLL/SLL'de yüksek dereceli lenfomalara ilerleme veya dönüşüm

Zaman içinde KLL'de hücre boyutunda ve proliferatif aktivitede artış izlenebilir. Çevre kanında prolenfositlerin artışı ile seyrek de olsa B hücreli prolenfositik lösemiye dönüşüm görülebilir. Ayrıca %2-8 vakada Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomaya, %1'den az vakada da Klasik Hodgkin Lenfoma'ya dönüşüm bildirilmiştir. Ayrıca hastalarda fludarabin tedavisini takiben Hongkin Lenfoma'yı da içeren EBV ilişkili lenfoproliferatif hastalıklar da görülebilir(3).

2.5. LENFOPLAZMASİTİK LENFOMA VE WALDENSTRÖM MAKROGLOBULİNEMİSİ (LPL/WM)

2008 DSÖ sınıflamasında LPL, WM kapsamında sınıflandırılmıştır ve isimlendirmesi LPL/WM şeklindedir. Tanı diğer plazma hücre farklılaşması gösteren lenfomaların dışlanması ile konur. Neoplastik lenfositler, Ig ağır zincirlerinde somatik hipermutasyon taşıyan ancak izotip değişimi gerçekleşmemiş, plazma hücrelerine farklılaşma kapasitesi olan, post-GM olgun B hücreleridir(1, 30).

WM 2. uluslararası Workshop Kriterleri ise şu şekildedir;

- Herhangi bir konsantrasyonda IgM gamapati bulunması
- Kİ'nin plazmositoid/plazma hücre farklılaşması gösteren küçük lenfositlerle infiltre olması
- Kİ'deki infiltrasyonun intertrabeküler karakterde olması

Tipik immünfenotip;

Yüzey IgM, CD19, CD20, CD22, CD25, CD27, FMC7(+);

CD5, CD10, CD23, CD103, CD138(-)

(Bu sınıflamada Kİ'ni infiltre eden neoplazi LPL ile sınırlandırılmamıştır. Yani bu özellikleri karşılayan başka bir lenfoma da olabilir)

IgM paraproteinemisi saptanan 382 lenfoma hastanın incelendiği bir çalışmada vakaların %58.9'u LPL/WM'si, %20.2'si KLL/SLL, %7.1'i MZL, %4.7'si FL, %3.1'i DLBCL, %2.9' MCL ve %1'i AITCL saptanmıştır(31).

LPL, küçük B hücreleri, plazmasitoid lenfositler ve plazma hücrelerinde oluşan genellikle yaygın B hücreli lenfoproliferatif bir hastalıktır. Tüm lokalizasyonlarda sistemik yayılım şeklinde karşımıza çıkar. Genellikle çevre kanı dahil kemik iliği, dalak ve lenf nodülleri tutulmuştur. Ekstranodal tutulumlar da görülebilir. LPL tipik olarak IgM gamapati ile ilişkilidir. Ancak bu durum her zaman söz konusu olmayabilir. Özetle LPL/WM, MGUS ve IgM Myelomun da bulunduğu IgM gamapati spektrumunda önemli bir antitedir(1, 3).

2.5.1. Epidemiyoloji ve etyoloji

LPL, B hücreli lenfoproliferatif hastalıkların yaklaşık %5'ini, non-Hodgkin lenfomaların %1.7'sini oluşturan düşük görülme oranına sahip bir antitedir. Erkek lerde kadınların iki katı oranda bulunur (E/K: 2/1) Ortalama tanı yaşı 60-65'dir. Ailesel risk analizi yapılmış bazı LPL/WM vakalarında genetik yatkınlık saptanmışve bu vakaların daha erken yaşta tanı aldıkları bildirilmektedir(2). WM etyolojisi net bilinmemektedir. Hem LPL, hem de WM için ise otoimmün ve enfeksiyöz hastalıkların(HCV) risk faktörlerini oluşturduğu düşünülmektedir. Önemi Belirsiz Monoklonal Gamapati (MGUS) önemli bir erken bulgu olabilir.

2.5.2. Klinik özellikler

Vakaların %25'i tanı anında semtomsuzdur. Asemoptomatik WM vakaları 'smoldering WM' olarak isimlendirilmektedir. Semptomatik hastalar klinik özellikleri açısından 2 gruba ayrılır;

- Hematolojik bulgular ile prezente olanlar
- Gamapati ilişkili bulgular ile prezente olanlar

Kİ tutulmuştur, neoplastik hücreler normal hematopoetik seri hücrelerini sildiği için periferik sitopeniler sıktır ve anemi en sık izlenen sitopenidir. LN tutulumu görülebilir(%15) ancak büyük adenopatiler beklenmez. Hafif-orta derecede bir splenomegali(%15) saptanabilir. Karaciğer tutulumunun(%20) yanında deri, gastrointestinal sistem ve akciğerler gibi çoklu organ tutulumu da ileri evre vakalarda görülebilir. Osteolitik kemik lezyonları beklenmez, hiperkalsemi nadirdir. LPL/WM hastalarının çok büyük bir kısmında IgM, daha az bir kısmında ise IgG veya mikst IgM-IgG tipi paraproteinemi saptanır. Yüksek IgM seviyeleri (>3g/dL) hipervizkosite semptomları ile ilişkilidir ve vakaların %5-15'inde saptanır. Anormal IgM proteinin kanama, hemolitik anemi ve krioglobulinemi ile seyreden hemostatik bozukluklar, periferik nöropati, böbrek yetmezliği ve santral sinir sisteminde iskemik ataklara neden olabilir. Paraproteinemi seviyesi ve serum viskositesine bağlı olarak

periferik yaymalarda eritrosilerde rulo formasyonu saptanır. Nadiren hastalarda monoklonal Ig hafif zincir depolanmasına bağlı olarak amiloidozis gelişebilir(1-3).

2.5.3. Morfolojik özellikler

Periferik kan'da; hastaların çoğunda belirgin bir lenfosit artışı izlenmese de hafif bir lenfositozis izlenebilir. Periferik kandaki lenfositler küçük, kondanse nükleuslu ve belirsiz nükleollüdür. Bir kısmı plazmasitoid özellikler gösterebilir. Nadiren plazma hücreleri izlenebilir. Anormal serum IgM proteinine bağlı olarak eritrositlerde rulo oluşturma tipiktir.

Kİ'de farklı infiltrasyon paternleri görülebilir ancak sıklıkla interstisyel tutulum saptanır(2, 32). Nodüler ve paratrabeküler patern daha düşük oranlarda izlenir(33).Neoplastik hücreler sitolojik olarak tipik küçük yuvarlak lenfositler, plazmositoid lenfositler ve olgun plazma hücrelerini içerir. Plazma hücrelerinde hafif-orta derecede sitolojik atipi izlenebilir. Plazmositoid lenfositler küçük lenfosit ile olgun plazma hücresi arasında özelliklere sahip hücrelerdir. Morfolojik olarak normal bir lenfositinkinden hafifçe büyük, ekzantrik yerleşimli nükleusu, orta derecede artrmış sitoplazması ve 'araba tekerleği' olarak tariflenen kondanse kromatine sahiptir. Plazma hücrelerinden farklı olarak paranükleer şeffaf odak(Golgi zonu) izlenmez(1, 2).

Az sayıda büyük sentroblastik ya da immünoblastik hücreler bulunabilir. Kaynaklarda neoplastik lenfositlerin morfolojilerine göre "Lenfoplazmositoid", "Lenfoplazmasitik" ve "Polimorf" varyant olarak üç gruba ayrılmaktadır. Polimorf alttipde %5-10 oranında immünoblastik yada sentroblastik morfolojide büyük hücreler izlenmekte ve mitoz daha sıktır. Diğer alttiplerde ise büyük hücreler seyrektir. Bu sınıflama yaygın olarak kullanılmamaktadır ve sadece akademik önemi bulunmaktadır(2, 3). Bazı vakalarda plazma hücrelerinde veya lenfositlerde nükleer psödoinklüzyonlar(Dutcher cismi) veya sitoplazmik globüller(Russel cismi) izlenebilmektedir.

Sık karşılaşılan bir bulgu da mast hücre artışıdır. Kİ kesitlerinde immünhistokimyasal olarak CD117 ile daha net olarak izlenebilen bu bulgu aynı zamanda aspirasyon yaymalarında Wright-Giemsa histokimyasal boyası ile de saptanabilir. Kİ biyopsisi odaksal diffüz büyük B hücreli lenfoma(DLBCL) açısından dikkatle incelenmelidir.

LN tutulumu; Tutulan LN'leri genellikle 0.9-1.3 cm boyutlarındadır. Tutulan lenf nodülleri diffüz ya da parsiyel olarak etkilenebilir. Kapsül ve perinodal yağ doku tutulumu sıktır.(2)Dilate sinüsler ve küçük rezidüel GM'lerin izlendiği LN'ünün normal arşitektürel yapısının korunduğu tutulum şekli sıktır. Nadiren nodüler ya da diffüz bir tutulum görülebilir. KLL/SLL için tipik olan çoğalma merkezleri görülmez. Bazı vakalarda serum IgM proteini nedeni ile sinüsler ve kan damarları dilate görünüp, PAS ile pozitif boyanabilir. Yine bazı vakalarda neoplastik lenfositlere epiteloid histiyositler eşlik edebilir. Monositoid morfoloji ya da marjinal zon morfolojisinin izlenmemesi önemlidir.

Neoplastik hücreler küçük lenfositlerde plazma hücrelerine kadar değişen bir spektrumda izlenebilir. Kİ'dekine benzer şekilde Dutcher ve Russel cisimcikler, neoplastik hücrelere eşlik eden mast hücreleri ve epiteloid histiyositler, ekstraselüler Ig ya da amiloid depolanması, polimorftipte LN'de de izlenebilir. Mitoz oranı düşük saptanır.

Dalakda tutulum temel olarak beyaz pulpada izlenir ancak sıklıkla kırmızı pulpada da yamasal lenfoid agregatlar saptanır. Neoplastik hücreler LN ve Kİ'deki neoplasitk hücreler ile aynı morfolojidedir. Tutulum paterni ve morfolojik özellikleri nedeniyle splenik marjinal zon lenfoma(SMZL) ile ayırıcı tanı güçlüğü yaşanabilir. Bu nedenle sadece dalaktaki patolojiye dayanarak tanı konulamaz; mutlaka LN, Kİ biyopsi sonuçları, serum protein elektroforezi sonuçları ve klinik öykü birlikte değerlendirilmelidir.

Karaciğer biyopsisi yapılmış hastalarda portal alanlarda lenfoplazmositik morfolojide infiltrasyon izlenir.

Kaynaklarda cilt tutulumu olan sporadik vakalar tariflenmiştir. Klinik olarak plak tarzı leyonlar saptanır. Morfolojisinde ise retiküler dermisi diffüz olarak infiltre eden neoplastik hücreler görülür. Nadiren IgM proteinini içeren eozinofilik proteinöz materyalin saptandığı, papül şeklinde vakalar görülebilir.

2.5.4. İmmünfenotip

Neoplastik küçük lenfositler pan-B antjenleri(CD19, CD20, CD22, CD79a), Pax-5 ve monotipik yüzeyel hafif zincir ifadesi bulundururlarken, T lenfositlere spesifik antijenler negatiftir. Uluslarası Workshop kriterlerine göre tüm WM vakaları IgM ifade ederken, IgD'de dahil olmak üzere diğer ağır zincir ifadeleri izlenmez. κ ifadesi, λ'ya kıyasla daha sık olarak izlenir(2/1). %81 vakada CD11c, %71 vakada CD25, plazmositoid farklılaşma gösteren %48 vakada CD38 ve %33 vakada soluk CD22 ifadesi saptanabilir(2, 30). CD5 ve CD10 ifadesi genellikle beklenmezancak %5-9 vakada pozitiflik görülebilir(34, 35).BCL1, CD103, CD56, CD117, ZAP-70 negatiftir(1, 3, 30).

Tümörün plazma hücre komponentinde yüzeyel B hücre antijenleri saptanmazken; CD38, CD138, MUM-1 (IRF4) ve sitoplazmik Ig ve myelomdan farklı olarak CD19 ifadesi izlenir(3). Tedavi sonrası kalıntı hastalık olarak sadece plazma hücre komponenti görülebilir.

Bir dışlama tanısı olan LPL/WM tanısı için kaynaklarda belirtilen spesifik bir belirteç olmamakla birlikte son dönemde literatürde adı geçen MYD-88 mutasyonununLPL/WM'ye spesifik olmamakla birlikte en yüksek oranda bu hasta grubunda ifade edildiği ve ayırıcı tanıda faydalı olabileceği belirtilmektedir(36-41).

2.5.5. Sitogenetik ve moleküler genetik özellikler

Plazmositoid farklılaşma gösteren düşük dereceli B hücreli lenfomaların yaklaşık %50'sinde t(9;14)(p13;q32) saptanmaktadır. Bu mutasyonda 9(p13)'deki

PAX-5 lokusu ile IGH lokusu arasında füzyon oluşmaktadır. LPL vakalarında bu translokasyon izlenmemektedir. LPL hastalarında FISH ile IGH lokusunda sık olarak rearanjman saptanmaktadır. En sık görülen anomali (%40-60) 6 kromozomun kısa kolunda delesyondur(6q-). 4. Kromozomda trizomi, KLL ile ilişkili olan sitogenetik anomalilerden +12 ve 13q- saptanabilen anomalilerdendir.

2.5.6. Klinik Gidiş

LPL/WM hastaları düşük dereceli B hücreli lenfomaların birçok genel özelliklerini taşırlar. Birçok hasta semptomlar ile kliniğe başvurmakta ve ortalama sağ kalım 5 yıl olmakta iken; hastalar tamamen asemptomatik ve çok uzun yaşam süresine de sahip olabilirler. Vakalarda DLBCL'ya seyrek olarak da HL'ya transformasyon görülebilir. İleri yaş, kötü performans durumu, hiperviskozite, kriyoglobulinemi, amiloidozis, progresif nöropati, bulky organ yada nodal hastalık varlığı, B semptomlarının olması, polimorfik varyant, kompleks karyotipik anomalilerin bulunması kötü klinik gidişi göstermektedir(1).

2.6. MANTLE HÜCRELİ LENFOMA (MCL)

MCL, DSÖ tanımına göre monomorfik, küçük-orta boyutlu,düzensiz nükleer konturlara sahip hücrelerden oluşan bir B hücreli neoplazidir. t(11;14)(q13;q32) ve siklin D1 artmış ifadesi gösteren klinik olarak agresif bir neoplazidir. Neoplastik hücrelerküçük-orta boyutlu, morfolojik olarak sentrositlere benzeyen ancak daha düzensiz nükleer sınırlara sahiptir. Sentroblastlar, immünoblastlar ve psödofolikül alanları izlenmez. İmmünfenotipik olarak neoplastik B hücre fenotipinde olmasına karşın CD5 pozitif ve CD23 negatif özelliktedirler. Bu neoplazinin genetik olarak t(11;14) göstermesi ve Siklin D1(BCL1) artmış ifadesi taşıması atipik morfoloji veya immünfenotipik özellikler gösteren vakalarda MCL tanısını destekler.

2.6.1. Epidemiyoloji

Tüm non-Hodgkin lenfomaların %3-10'unu oluşturur. E/K oranı yaklaşık 3/1'dir. Ortalama tanı yaşı 60'tır(29-85 dirdir.yaş arasında görülebilir). 30 yaşın alltında çok nadirdir. Görülme oranı 0.42/100000'dir.

2.6.2. Patogenez

T(11;14)(q13;q32) protoonkogen olan ve 11q13'de yerleşenccnd-1 ile 14q32'de yerleşen IGH'nın birleşmesine neden olur ve MCL için karakteristik olan ve normal B lenfositlerde izlenmeyen Siklin D1 artmış ifadesi gerçekleşir. BCL-1 hücre siklusunda retinoblastom geninde fosforilasyona, dolayısıyla G1/S geçişindeki inhibisyonu ortadan kalkmasına sebep olmaktadır(42). Bu translokasyonun nedeni net değildir ancak sekans analizleri Ig gen rearanjmanında V-D-J rekombinasyonu sırasında meydana gelen bir hatanın sebep olduğunu düşündürmektedir. Patogenezde t(11;14) en erken olaydır ancak onkogenezis için yeterli değildir.

2.6.3. Klinik özellikler

Hastaların %70 ve daha fazlası tanı anında jeneralize LAP ve daha az oranda(%50-70) B semptomları ile prezente olurlar. Gen ellikle Ann-ArborEvre III-IV vakalardır. Lenf nodülleri genellikle 2-5 cm arasındadır. %30-60 vakada masif splenomegali izlenir. Bazı vakalarda periferal LAP olmadan belirgin splenomegali bulunabilir. Bu durum periferik kan tutulumunu gösterir ve ayırıcı tanıda diğer lenfoid lösemiler göz önünde bulundurulmalıdır. Ekstranodal tutulum sıktır en sık gastrointestinal sistem tutulur. %30-50 hastada 2 ve daha fazla ekstranodal alanda tümör infiltrasyonu vardır. %4-15 vakada ekstranodal tutulum olmadan sadece nodal prezentasyon izlenir. %10-25vakada gastrointestinal tutulum görülür. Santral sinir sistemi tutulumu tanı anında sıkdeğildir ancak ileri evre hastalarda ve blastoid varyant MCL'da %10-20 oranında saptanır. Değişken oranlarda tutulumun

izlenebileceği diğer ekstranodal alanlar Waldeyer halkası, akciğerler, plevra, cilt, meme, yumuşak doku, tiroid, tükrük bezleri, konjonktiva ve orbitadır.

Tanı anında lösemik tutulum %20-70 hastada izlenir. Hastalarda lökositoz olmaksızın akım sitometri ile periferik kanda neoplastik hücreler saptanabilir. Lösemik tutulumtanı anında saptanmasa dahi hastalığın ileri evrelerinde genellikle saptanır ve progresyon ile ilişkilidir. Bazı hastalarda akut lösemiyi taklit edebilen agresif lösemik tutulum saptanabilir. Bu hastalar genellikle blastoid morfoloji, kompleks karyotip, 8q24 anomalisi bulundururlar ve hızlı klinik gidiş ve ortalama 3 aylık survivala sahiptirler. Anemi, trombositopeni, yüksek LDH ve B2mikrogloblin seviyeleri ve monoklonal serum komponenti saptanabilecek diğer laboratuar bulgularındandır.

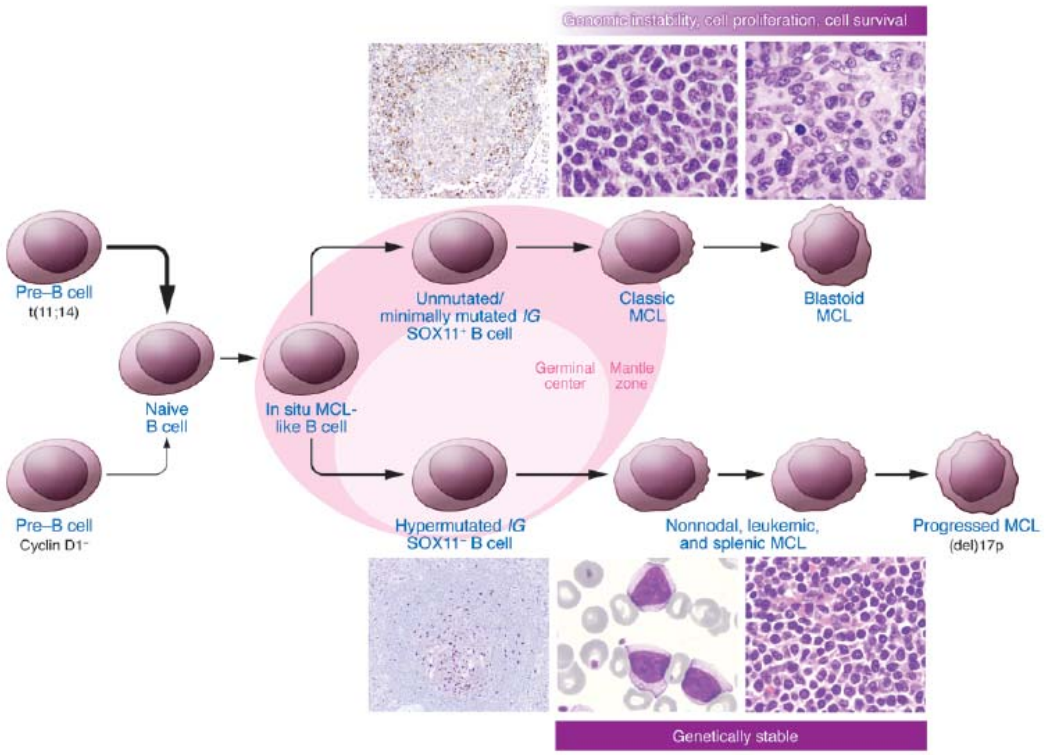
MCL klasik CHOP tedavisi ile kür olmayan, kötü prognozlu bir lenfomadır. Ortalama overall survival 2-5 yıldır. R-hyperCVAD tedavisi ile survival bir miktar daha artmaktadır.

2.6.4. Köken aldığı hücre

MCL birçok vakada CD5 ifade eden, iç manle zonda yerleşmiş pre-GM naive B hücrelerinden köken alır. Normalde insanda CD5 ifade eden B hücreler fetal lenfoid dokuda ve PB'da izlenir ve oranları yaşla birlikte azalır. Yetişkin bir insanda CD5 ifade eden B hücreler dolaşımda az miktarda bulunur ve primer foliküllerde ve sekonder foliküllerin mantle zon alanlarında yerleşir. Neoplastik lenfositlerin GM çevresindeki mantle zon alanlarında yerleşmeleri ve alkalin fosfataz pozitif olmaları bunların primer folikül ya da sekonder folikülün mantle zonu ile olan ilişkilerini gösterir. CD5 ifadeleri bazında değerlendirildiklerinde ise normal mantle zon hücreleri zayıf CD5 ifade ederlerken, neoplastik lenfositler fetal CD5 pozitif hücreler kadargüçlü CD5 ifadesi gösterirler. Aynı zamanda MCL hücreleri normal foliküler mantle zon ve naive hücrelerde ifade olan TCL-1, SHP1 gibi genleride ifade ederler.

Pre-GM kökenlerini desekler şekilde Ig değişken bölgelerinde somatik mutasyon izlenmez ya da çok düşük düzeydedir.

Bununla birlikte %15-40 vakada Ig gen bölgelerinde izlenen mutasyonlar CLL/SLL ve foliküler lenfoma(FL) gibi diğer B hücreli lenfomalarda saptananlar kadar yüksek oranda olmasa da tek bir neoplastik hücre alttipinden ziyade farklı alttiplerin hakimolabileceğini düşündürmekte ve desteklemektedir(42). Ancak izlenen mutasyonların CLL ve FL'daki kadar yüksek olmaması neoplastik hücrelerin GM mikroçevresi ile daha düşük oranda etkileştiklerini göstermektedir(3). Non-nodal klinik prezentasyonlu, klinik olarak indolent seyreden, kemoterapötiksiz daha uzun hastalıksız sağ kalıma sahip hasta grubunda Ig genlerinde hipermutasyon, stabil karyotip ve diğer gruptan farklı olarak SOX-11ifade kaybı saptanmaktadır(3, 43). Bu farklı moleküler özelliklere sahip alttiplerin gelişim yolakları şematik olarak Şekil 2.9'de özetlenmiştir.



Şekil 2.9.MCL'da 2 farklı moleküler alttipin gelişim hipotezi. (42)

2.6.5. Morfoloji

Yapısal organizasyon paterni; MCL'de mantle zon, nodüler, diffüz ve nadiren foliküler patern olmak üzere 4 tip büyüme paterni izlenebilir. Mantle zon paterninde GM'leri saran mantle zon bölgelerindeneoplastik hücreler ile genişleme saptanır. Bu paternde nodalyapı kısmen olarak etkilenebilir ve foliküler ve mantle hücreli hiperplaziden ayırmak gerekir. Nodüler ve diffüz patern birlikteliği sık olarak izlenir. Nadiren nodüler patern baskın olabilir ve kalıntı GM bırakmaksızın neoplastik lenfositlerin infiltrasyonu solid görünüme neden olabilir ve FL ile ayrım yapılması gerekebilir. Bazı vakalarda nodüler infiltrasyonun erken dönemlerinde Siklin D1 ifadesi reaktif GM'lerin infiltrasyonu yada kolonizasyonunu göstermede kullanılır.

Sitolojik varyantlat; MCL'larda sitomorfolojik olarak klasik, küçük hücreli, blastoid, marjinal zon benzeri ve pleomorfik varyantlar gibi varyantlar izlenebilmektedir(Tablo 3.6).

Klasik(tipik) MCL'ler dar sitoplazmalı, düzensiz nükleuslu, kondanse kromatinli, belirsiz nükleollü, küçük-orta boyutlu monoton lenfoid hücrelerden oluşur. Bol sitoplazmalı büyük hücreler ya da belirgin nükleol nadiren izlenir ve bu hücreler genellikle tümör hücreleri arasına dağılmış reaktif GM sentroblastlarıdır. Bir büyük büyütme alanında(BBA) 1-2 mitozdan daha az oranda mitoz izlenir. Nadiren blastoid varyanta benzer şekilde yüksek mitotik indeks saptanabilir ve bu vakalar kötü klinik gidiş gösterir. Eozinofilik sitoplazmalı epiteloid histiyositler sıktır ancak iyi oluşmuş mikrogranülom yapıları izlenmez vesitoplazmalarında fagosite edilmiş apopitotik cisimcikler görülmez. Bazı vakalarda tümör içinde hyalinize küçük damarlar saptanabilir. Plazma hücreleri eşlik edebilir ancak sıklıkla non-neoplastiktirler.

Küçük hücreli varyantda, düzgün nükleer sınırlara sahip, kümeli kromatinli, küçük lenfositler baskındır. CLL/SLL ayrımı çoğalma merkezlerinin yada prolenfosit-paraimmünoblast morfolojisindeki hücrelerin izlenmemesi ile yapılabilir. Çoğalma oranı klasik tip ile benzerdir. Klinik özellikleri açısından klasik varyant ile

küçük hücreli varyantın birbirinden farkı yoktur ancak CLL ile ayırıcı tanı güçlüğü yaratması açısından önemlidir.

MCL'de neoplastik hücreler lenfoblasta benzeyen monoton hücrelerden DLBCL hücrelerine benzeyen pleomorfik büyük düzensiz hücrelere kadar değişen morfolojide izlenebilir. Bu sitolojik varyantlar da klasik varyantla 11q13 translokasyonu ve Siklin D1 overifadesi gibi benzer fenotipik ve sitogenetiközellikleri paylaşır.

Blastoid tip MCL, orta boyutlu, dar sitoplazmalı, yuvarlak nükleuslu, dağınık kromatinli, belirsiz nükleollü monoton neoplastik hücrelerden oluşur. Vakaların morfolojisi lenfoblastik lenfoma ya da akut myeloid löseminin(AML) nodal tutulumuna benzer. Mitotik indeks yüksektir(>2-3 mitoz/BBA). Tingible body makrofajlar nedeni ile 'yıldızlı gökyüzü manzarası' izlenebilir.

Pleomorfik ya da büyük hücre morfolojisine sahip MCL'lar, Kiel sınıflamasında 'anaplastik sentrositik lenfoma' ya da 'sentroblastik lenfoma, sentrositoid alttip' olarak sınıflandırılmıştır. Tümör ovoid veya düzensiz çentikli nükleuslu, ince kromatinli, belirgin nükleollü, soluk sitoplazmalı büyük hücrelerden oluşur. Mitotik indeks yüksektir ancak blastik alttipte göre daha düşük oranda izlenir. Bu varyantı büyük hücreli lenfomalardan ayırmak zor olabilir. Çentikli nükleus, ince kromatin ve büyük nükleusla uyumsuz şekilde küçük nükleolün izlenmesi MCL'yı düşündürecek nükleer özelliklerdendir. Prolenfositik varyant olarak isimlendirilen MCL vakalarının aslında pleomorfik varyantın lösemik formu olduğu düşünülmektedir.

Marjinal zon benzeri varyantta ise, monositoid B hücrelere benzer şekilde bol sitoplazmalı hücreler izlenir. Nükleuslar blastoid veya klasik morfolojide olabilir ancak sitoplazmaları MZL ya da hairy cell lösemi(HCL) hücrelerine benzer şekilde daha bol ve şeffaf izlenir. Bazı vakalarda neoplastik lenfositler korunmuş görünümdeki mantle zon alanlarından dışarı marjinal zona doğru yayılır. Bu durumda CD5 ve Siklin D1 ifadesi tanıda çok önemlidir.

Nadir bazı vakalarda plazma hücre farklılaşması izlenmektedir. Bu vakalarda plazma hücre farklılaşmasınınbaskılanması, Pax-5'in BLİMP-1 ve XBP1 ifadesi inhibisyonu üzerinden sağlayan SOX-11'de ifade kaybı bulunmaktadır.

2.6.5.1. Kİ ve PB bulguları

Periferik kan tutulumu olmaksızın Kİ tutulumu vakaların %50-91'inde saptanır ve genellikle biyopsi materyallerinde aspirasyon yaymalara göre daha net değerlendirilir. İnfiltrasyon paterni nodüler, interstisyel veya paratrabeküler olabilir. Çoğu vakada mikst tip tutulum saptanır. İzole paratrabeküler agregatlar nadirdir. Diffüz infiltrasyon görülebilir. İnfiltrasyon oranı, lenf nodülünde saptanan MCL'nın alttipine, yapısal paternine ya da sağ kalım oranı ile korele değildir. İmmünhistokimyasal olarak SiklinD1 ve p27 Kİ'deki MCL infiltrasyonunu diğer küçük B hücreli lenfomalardan ayrımında yararlıdır.

PB ve Kİ aspirasyonlarındaki neoplastik hücrelerin sitolojik özellikleri dokudakilere benzer. Dolaşımdaki MCL hücreleri küçük-orta bayutlu, dar sitoplazmalı, düzensiz nükleer membranlı, retiküler kromatinli hücrelerden oluşur. Bazı hücreler daha yuvarlak nükleer konturlara sahip olabilir ancak CLL/SLL'deki gibi kümelenmiş kromatin izlenmez. Lösemik blastoid MCL, orta-büyük boyutlu hücreleri, yüksek nükleo/sitoplazmik oranı, ince dağınık kromatini ve küçük/belirsiz nükleolü ile akut lösemiyi taklit eder. Bazı lösemik MCL varyantlarında belirgin nükleollü büyük atipik hücreler izlenir ki bunlarda lenf nodülünde pleomorfik varyant MCL infiltrasyonu saptanır. Daha önceden t(11;14) taşıyan ve Siklin-D1 artmış ifadesi gösteren B-prolenfositik lösemi vakalarının da aslında lösemik faz MCL olduğu düşünülmektedir.

2.6.5.2. Dalak

Makroskopik olarak perivasküler infiltrasyona bağlı olarak jeneralize mikronodüler bir patern izlenir. Histolojik olarak dalakda MCL ve diğer küçük

hücreli lenfomaların ayrımı zor olabilir. Beyaz pulpa nodülleri genişlemiştir ve kırmızı pulpa infiltrasyonuvardır. Kalıntı ‘çıplak’ GM’ler %50 vakada saptanır. Tümör hücreleri diğer lokalizasyonlardakine benzer şekilde monoton morfoloji sergiler. İlginç olarak bazı vakalar nodüllerin periferinde daha bol açık sitoplazmalı hücreler bulunduran marjinal zon benzeri alanlar bulundururlar.

2.6.5.3. Gastrointestinal Trakt

En sık tutulum şekli ince ve kalın barsakda çok sayıda lenfoid polipler ile karakterli lenfomatoid polipozistir. İlioçekal valvde büyük bir tümör kitlesi ve lejyoner LAP ile de bulgu verebilir. Bu prezentasyon MCL için spesifik gibi dursada, FL, MALT tipi MZL da da izlenebilir. Makroskopik olarak poliplerin izlenmediği vakalar yüzeyel ülserler, büyük tümör kitleleri, mukozanın diffüz kalınlaşması şeklinde de prezente olabilir. Ayrıca makroskopik gross bir lezyon olmadan mukozanın mikroskobik infiltrasyonu sıktır. Bazı vakalarda neoplastik hücrelerin glandüler infiltrasyonu lenfoepitelyal lezyon ile karışıp MZL’dan ayrımı güç olabilir. Gastrointestinal mukozayı tutan diğer non-Hodgkin lenfomalar gibi MCL’nin de aslında α4β7-integrinifade ettiği ve bu molekülün mukoza endotel hücrelerinde ifade edilen MAdCAM-1’e bağlandığı saptanmıştır.

2.6.6.. MCL’nın Morfolojik Tanısında Problem Yaratan Durumlar

Mantle zon paterni gösterdiğinde reaktif foliküler hiperplazi, MZL veya hyalin-vasküler tip Castleman hastalığı ile karışabilir.

Neoplastik hücreler standart MCL hücrelerinden daha az düzensiz olduklarında KLL/SLL ile karışabilir.

Lösemik fazı, KLL/SLL, prolenfositik lösemi veya FL’nın lösemik fazı ile karıştırılabilir.

Lenf nodu tutulumunda benign kalıntı GM'lerin neoplastik hücreler ile infiltrasyonu ve arada GM2e ait benign, büyük, çentiksiz nükleuslu(sentroblastlar) varlığı FL ile karıştırılabilir.

Blastoid varyant MCL, lenfoblastik lenfoma ya da DLBCL olarak yorumlanabilir.

2.6.7. Histolojik Progresyon

MCL sergilediği histolojik patern açısından genellikle stabil seyreder. Ancak bazı vakalarda kalıntı GM'lerin obliterasyonu ve nodüler progresyon nedeni ile daha diffüz bir yapılanma izlenebilir. Ya da hastalığın gelişim sürecinde patern değişikliği görülebilir. %20-25 vakada blastik hücreler ve mitotik figürlerde artış saptanır. Klasik varyant MCL'den pür blastoid varyant MCl'ye transformasyon çok nadirdir. Bazı vakalarda progresyon aşikar lösemi gelişimi ile sonuçlanır.

2.6.8. Diğer Lenfoproliferatif Hastalıklarlar ile Kompozit MCL

Nadir vakalarda eş zamanlı ikinci bir lenfoid malignite saptanabilir. Bu ikinci komponent FL, CLL/SLL, plazmositom, multipl myeloma ve Hodgkin Lenfoma olabilir. Her iki komponent de farklı morfoloji ve fenotipik bulgular sergiler. Tümörlerde birbirlerinden farklı neoplaziler olduklarını destekleyecek şekilde farklı klonal rearanjmanlar saptanır. Nadiren iki tümörde de benzer IGH gen rearanjmanı bulunması bunların aynı malign klondan köken almış, farklı morfoloji, fenotip ve moleküler özellikler gösteren neoplaziler olduğunu gösterir.

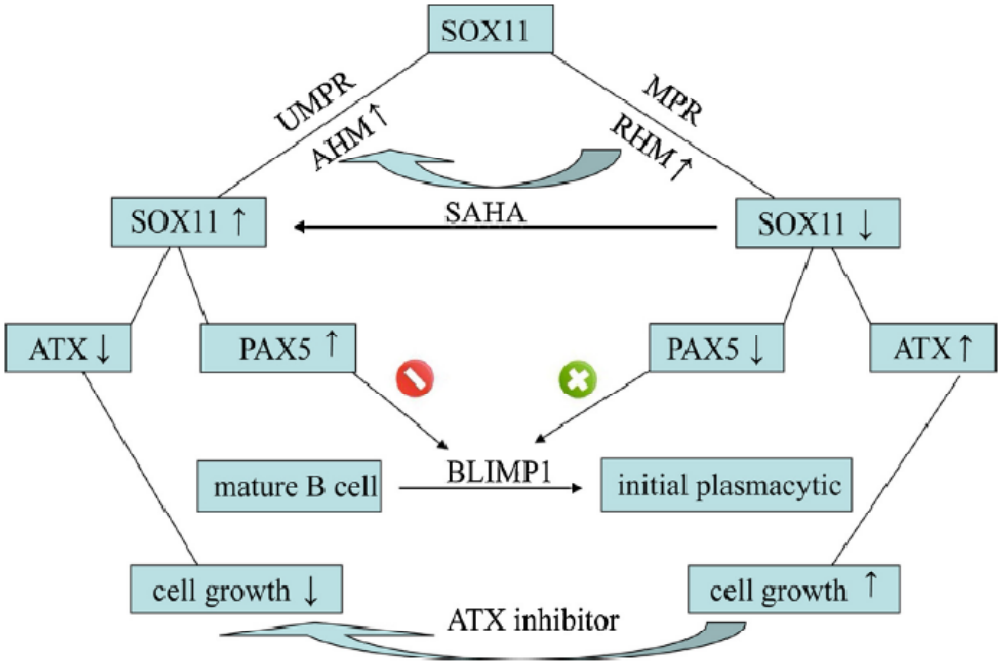
2.6.9. İmmünfenotip

MCL, B hücre antijenlerini(CD19, CD20, CD22, CD75, CD79a, CD79b ve FMC-7) değişken oranlarda ifade eder. Yüzey Ig'leri orta-kuvvetli derecede ifade edilir. IgM ve IgD ifadesi vardır. Diğer B hücreli lenfomalardan farklı olarak

kappaya oranla lambda hafif zincir restriksiyonu daha yüksek oranda izlenir. İzlenebilen kalıntı GM'ler poliklonaldir. T hücre antijenlerinden CD5 ve CD43 ifade ederler(CD5 negatif vakalarda bildirilmektedir). Ek olarak akım sitometrik olarak CD7 ve CD8 pozitivitesi bildirilen vakalar vardır. Klasik varyant CD23 +/-; CD10, Bcl-6, MUM-1/IRF4 negatiftir. Blastoid/ pleomorfik varyantlarda CD5 ifade kaybı ile Bcl-6 veya CD10 ifadesi izlenebilir. Tüm vakalar BCL-2 pozitiftir. Akım sitometrik olarak vakaların hepsinde CD38 ve bir kısmınd ZAP-70 ifadesi izlenir. FDRC ilişkili antijenler(CD21 ve CD23) ve CD35 neoplastik hücrelerde negatiftir.

Siklin-D1 ifadesi MCL için spesifiktir. Siklin-D1, intensitesi hücreden hücreye,vakadan vakaya değişebilir. Aynı zamanda endotel hücresi, epitel hücresi ve histiyositlerin nükleuslarında da bulunduğundan değerlendirme sırasında immun boyanmanın iç pozitif kontrolünü oluşturur. MCL'ye ek olarak Siklin-D1 ifadesi gösterebilen diğer lenfoid maligniteler; multipl myelom, hairy cell lösemi, CLL'nin çoğalma merkezleri, splenik marjinal zon lenfoma'dır(3). Pozitif boyanma değerlendirilirken bu özelliklerin dikkate alınması ve yanlışlıkla MCl lehine yorumlanmaması gerekmektedir.

Ayrıca nöral bir transkripsiyon faktörü olan SOX-11, diğer olgun B hücreli neoplazilerde ve normal lenfositlerde ifadesi izlenmezken; MCL'larda artmış ifadesi izlenmektedir. SOX-11'in direk hedeflerinden biri Pax-5'tir. SOX-11'in sessizleşmesi Pax-5'de susturulması ve hücrede BLİMP-1 ifadesine yol açmakta ve bu durum olgun B hücresini plazma hücresi farklılaşması yönünde tetiklemektedir. SOX-11 plazma hücre farklılaşmasını bloke ettiğinden SOX-11 pozitif vakalarda plazma hücre farklılaşması izlenmemektedir(43, 44). SOX-11'in etki mekanizması Şekil 3.10'daözetlenmiştir.



Şekil 2.10.MCL'da SOX11 organizasyonu (44)

Ayrıca Siklin Bağımlı Kinaz(CDK) inhibitörü olan p27, MCL'nın ayırıcı tanısında yardımcı bir antikordur. Non-Hodgkin lenfomalarda p27 ifadesi hücrelerin proliferatif aktivitesi ile ters ilişkilidir. FL, CLL ve MZL'larda kuvvetli ifadesi görülürken, büyük hücreli lenfomalarda ve HCL'de zayıf ifade izlenir. MCL'da ise çoğalma hızından bağımsız olarak, klasik varyantta negatif, blastoid varyatta pozitiftir. MCL ve HCL'deki bu zayıf boyanma/boyanmamanın nedeni net değildir ancak Siklin-D1 ifade etmeyen vakalarda ayırıcı tanıda faydalıdır.

Ki-67 çoğalma indeksi klasik varyantta düşük, blastoid varyantta yüksektir. Ancak klasik morfolojide olup beklenenden daha yüksek Ki-67 ifadesi gösteren vakalar izlenebilir. Ki-67 çoğalma indeksi önemli bir prognostik faktördür ve %40'ın üzerinde saptanan vakalarda ortalama yaşam beklentisi yaklaşık 15 aydır(45).

MCL yaygın bir foliküler dentritik hücre ağı içerir. Nodüler vakalarda 2 farklı nodüler dentritik hücre paterni görülür;

Tümör hücrelerinin foliküler merkezleri kolonize ettiği vakalarda daha yoğun ve konsantrik bir ağ Primer foliküllerin genişlemesi ile oluşan daha gevşek ve düzensiz bir paternSiklin-D1 ifadesi GM'lerin erken infiltrasyonunu saptayabilir.

2.6.10. Sitogenetik Bulgular

MCL'de saptanan tipik sitogenetik anomali t(11;14)(q13;q32)'dir. 11q13'ü breakpointi kapsayan varyant translokasyonlar da bildirilmiştir. Bu translokasyon konvansiyonel sitogenetik ile %65 vakada saptanır. FISH ile ise vakaların tümünde izlenir. Ancak t(11;14)'ün izlenebilceği MM, B-prolenfositik lösemi gibi başka neoplazilerde vardır. Translokasyonun izlendiği MM ve MCL vakaları karşılaştırıldığında farklı mekanizmaların olduğu; MCL'da V-D-J rekombinasyonunda, MM'da ise switch rekombinasyonda defekt olduğu saptanmıştır. Ayrıca bazı MM'lu vakalarda, MCL'dan farklı olarak translokasyon olmadan Siklin-D1 gen amplifikasyonu izlenebilmektedir.

Sitogenetik araştırmalarda, MCL'larda yüksek oranda ikinci bir kromozomal anomalisaptanır.

En sık saptanan ikinci anomali; 1p, 6q, 8p, 9p, 10p, 11q, 13, and 17p kayıpları ve 3q, 7p, 8q, 12q, 18q ve Xq kazançlarıdır. Bazı çalışmalarda 8p kaybı lösemik prezentasyon ile ilişkili bulunmuştur. Blastoid varyantta, diğer varyantlara göre daha kompleks bir karyotip ve daha yüksek DNA amplifikasyon oranları saptanır. 3q,7p,12q kazancı ve 17p kaybı blastoid varyant ile ilişkili bulunmaktadır. Tetraploidi'ye en sık pleomorfik varyantta(%80), en az oranda da klasik varyantta(%8) rastlanır. t(8;14)(q24;q32) ve varyantlarını da içeren kromozom 8q24 değişiklikleri blastoid varyantta agresifklinik gidiş ile ilişkilidir.

MCL agresif ve konvansiyonel tedavilere kötü yanıt veren bir gruptur. Ortalama yaşam 3-4 yıldır. Komplet remisyon farklı çalışmalara göre %6-35 arasında değişmektedir. Hastalıksız yaşam oldukça kısadır ve uzun süreli remisyon nadir vakalarda izlenir.Relapsdan sonra hastalarda LN büyümesi ve kemoterapötik rezistansının izlendiği yavaş seyirli bir evrenin ardından, hızlı bir progresoynun izlendiği akselere faz görülür.Blastoid varyantın ilk prezentasyonu genellikle klasik varyanta benzer ancak klinik ilerleme çok daha hızlı seyreder.

2.6.11. Prognostik Parametreler

Proliferatif aktivite (>1.5-2.5 mitoz/1BBA kötü prognostiktir)

Morfolojik büyüme paterni (mantle zon paterni lokalize hastalık, uzun survival ve yüksek koplet remisyon ile paraleldir)

Sitolojik varyant (blastoid ve pleomorfik varyant kötü prognozla ilişkili)

Genetik aberasyonlar (kompleks karyotip; 3q, 12q ve Xq kazançları; 9p, 9q ve 17p kaybı kötü prognoz ile ilişkili)

Moleküler özellikler (p53 mutasyonu ve INK4a inaktivasyonu blastoid morfoloji, yüksek mitotik hız ve kısa survival ile ilişkilidir)

Klinik parametreler

İleri yaş

Kötü performans durumu

İleri evre hastalık

Splenomegali

Yüksek LDH seviyesi

Bulky hastalık

Anemi

2.7. NODAL MARJİNAL ZON LENFOMA (NMZL)

Post-GM B hücrelerinden köken alan, LN tutulumu ile karakterli yavaş seyirli bir lenfomadır. DSÖ tanımında morfolojik ve immünfenotipik olarak ekstranodal marjinal zon lenfoma(EMZL), mukoza ilişkili lenfoid doku tipi(MALT) ve splenik marjinal zon lenfoma(SMZL) ile benzer özellikler gösteren ancak onlardan faklı bir gen ekspresyon profiline sahip, ekstranodal ya da splenik tutulunum bulunmadığı primer nodal B hücreli neoplazi olarak tariflenmektedir. Bu tanının konulabilmesi için ENMZ ve SMZL'nın LN tutulumlarının dışlanması gerekir(1, 3, 46).

2.7.1. Epidemiyoloji

Nadir bir antitedir. Tüm lenfoid neoplazilerin %1.5-1.8'ini oluşturur. Primer olarak yetişkin hastalığıdır ancak farklı morfolojik ve klinik özellikler gösteren pediatrik formları da vardır. Cinsiyet baskınlığı yoktur. Ortalama tanı yaşı 50-60'dır.

2.7.2. Etyopatogenez

NMZL'nın patogenezi net olarak bilinmemektedir. Neoplastik hücreler sitomorfolojik olarak monositoid B hücrelere (MBC) benzerler. MBC'ler, özellikle Toxoplazma enfeksiyonu gibi birçok lenfadenitte LN sinüslerinde saptanan reaktif hücrelerdir. Hepatit C enfeksiyonundan predispozan faktör olarak bahsedilmektedir. Sjögren Sendromu ve Hashimato Tiroiditi gibi bazı otoimmün hastalıklar ENMZL'lı vakalarda sık görülmektedir. Ancak çoğu vakada otoimmün hastalık öyküsü bulunmaz. ENMZL vakalarında baskın olarak monositoid B hücreleri ile karakterli tükrük bezi tutulumu akılda tutulmalı ve nodal tutulumu olan bir hastada Sjögren Sendromu olarak yorumlanmamalıdır. Yine bazı vakalarda otoimmün hemolitik anemi ve kriyoglobulinemi saptanır. Ancak LPL'deki kadar sık değildir. LPL ve NMZL ayrımı her zaman net olmayabilir. Bazı araştırıcılar plazma hücre farklılaşmasının baskın olduğu vakalarda NMZL tanısı verirken, bazıları LPL tanısını tercih etmektedir(3).

2.7.3. Klinik Özellikler

Hastalarda temel bulgu jeneralize periferik LAP'tır, ancak kemik iliği ve periferik kan tutulumu da izlenebilir. En sık tutulan LN bölgeleri servikal, aksiller, femoral/inguina bölgelerdir. Lokalize hastalık varlığında baş-boyun bölgesi LN en sık etkilenenlerdir. Paraaortik ve mezenterik LAP'de hastaların %50'sinde saptanır. B semptomları seyrek (vakaların 1/3'ünde)görülür. Klinik olarak mutlaka EMZL ve SMZL'nın LN tutulumunun ekarte edilmesi gerekir. Çoğu araştırıcı NMZL tanısı için Kİ, dalak ve KC dışındaki ekstranodal alan tutulumunun olmaması gerektiğini söyler. Ayrıca Kİ tutulumu ve splenomegalisi olan bir vakada sadece minimal bir LAP varsa oldu SMZL olarak yorumlanmalıdır. Bu nedenle MZL tanısı morfolojik ve klinik bir tanıdır(2, 18).

Kİ tutulumu vakaların %50'sinden azında izlenir. Lösemik faz nadirdir. PB tutulumu nadirdir ve dolaşımda neoplastik villöz lenfositlerin bulunması SMZL ve atipik KLL lehine değerlendirilmelidir. International Prognostic Index(IPI) veya modifiye Foliküler Lenfoma IPI(FLIPI)'a göre çoğu hasta düşük-orta risk grubundadır. Yüksek LDH seviyeleri izlenebilir ancak sıklıkla orta derecede bir yükseklik saptanır.

Plazmasitoid farklılaşma izlenebilir ancak serumda monoklonal gamapati genellikle beklenmez. Saptanması halinde bu protein IgM'dir(2).

2.7.4. Morfoloji

NMZL'dafarklı paternler ve sitolojik özellikler izlenebilir;

Erken dönemde ya da minimal tutulum olduğunda neoplastik hücreler sadece marjinal zon/perifoliküler alanda görülebilir.

Daha yaygın tutulumda ise arada seyrek kalıntı foliküllerin izlendiği normal LN yapısını büyük oranda ya da tamamen silen diffüz infiltrasyon saptanabilir.

Bazı vakalarda neoplastik hücreler reaktif foliküllerı kolonize edip FL benzeri morfolojiye neden olabilirler.

Nadiren ise sinüzoidal tutulum baskın izlenebilir.

Neoplastik hücreleri monositoid, sentrosit benzeri, plazmositoid veya büyük(sentroblast veya immünoblast benzeri hücreler) morfolojideki heterojen bir grup hücre oluşturur. NMZL'nın en çok bilinen hücreleri monositoid B hücreler olsa da pür monositid B hücreden oluşan neoplaziler seyrektir (%10). Küçük neoplastik hücreler değişken derecelerde transforme ya da blastoid hücreler ile karışık haldedir. Monositoid hücreler santralde yerleşen yuvarlak hafif düzensiz nükleuslu, kondanse kromatinli, belirsiz nükleollü, bol soluk/şeffaf sitoplazmalı ve belirgin sitoplazmik membrana sahip hücrelerdir. Sentrosit benzeri hücreler küçük-orta boyutlu, kümelenmiş kromatinli, düzensiz nükleuslu ve dar sitoplazmalı hücrelerdir. Plazmositoid hücreler plazma hücre farklılaşmasının farklı aşamalarında izlenirler. Diğer neoplastik hücrelere göre daha büyük hücrelerdir ve bazofilik sitoplazmalarında bol rimleri vardır. Olgun plazma hücrelerine göre kromatinleri daha ince dağılmıştır ve küçük bir nükleolleri bulunabilir. "Dutcher"cismi bulunabilir.Ancak buLPL'de beklendiği kadar sık bir bulgu değildir. Sentroblastlara benzeyen büyük blastik hücreler değişken derecelerde tümör hücreleri ile karışık halde bulunabilir.Ancak asla neoplazinin baskın hücresi olarak bulunmamalıdırlar. Eğer bu büyük hücreler tabakalar halinde yoğun olarak izlenirlerse DLBCL'ya transformasyonu düşünmek gerekir. Monositoid B hücrelerinin odaksal olarak bulunduğu ya da izlenmediği vakalarda, neoplastik hücreleri genellikle sentrosit benzeri hücreler ya da küçük lenfositler oluştururs a KLL/SLL ve FL ayırımını sadece morfolojik olarak yapmak çok zor olabilir.

Tümöre diğer inflamatuar hücreler, sıklıkla da epiteloid histiyositler eşlik edebilir. Ancak iyi oluşmuş granülom yapıları izlenmez.

NMZL'da da plazmositoid farklılaşma izlenebilir ancak LPL'da görülenden daha az orandadır. Bufarklılaşma çok farklı şekillerde izlenebilir. Neoplastik hücreler temel olarak lenfoid görünümde olabilir ancak artmış sitoplazmaları ve ekzantrik yerleşimli nükleusları nedeni ile plazmositoid morfolojiyi de gösterebilirler. Nadiren

bu hüceler tabakalar kadar oluşturacak yoğun olarak bulunurlar. Özellikle plazmositoid farklılaşmanın bulunduğu vakalarda eozinofillerin artışı eşlik eder(2, 3).

2.7.5. Yapısal Özellikler

LN'de neoplastik hücreler marjinal zon infiltrasyon paterni gösterir. Kalıntı foliküller genişlemiş, gerilemiş ya da neoplastik hücreler ile kolonize olmuş şekilde izlenebilir. Campo ve arkadaşlarının çalışmasında MALT tip, splenik tip ve polimorfik tip olmak üzere 3 farklı histolojik patern tanımlanmıştır(3, 47).

MALT tipde reaktif GM'ler ve etrafında sağlam lenfoid cuffları ile korunmuş folikül yapıları dikkat çeker. Bu varyantta monositoid B hücreler yoğun olarak izlenir. Bu hastaların yaklaşık %50'sinde ileri araştırmalar ile EMZL'nın bulguları saptanır.Splenik tipte kalıntı lenfoid foliküller regrese olmuştur ve korunmuş GM'ler bulunmaz. Mantle zon seçilebilir ancak sıklıkla incelmiştir. İnfiltrasyonu oluşturan hücreler heterojendir ve daha önce anlatılan tüm hücre tiplerini içerir. Tümör hücrelerinin zayıf IgD ifadesi fenotipik olarak SMZL'ya benzediğinden bu şekilde isimlendirilmiştir. Ek olarak LN'larının görünümü bölgesel LN tutulumu yapmış SMZL'ların görünümüne benzer. Birçok vaka bu alttiplere benzemez. Polimorfik hücresel kompozisyon içerir ve polimorfik alttip olarak isimlendirilir. Foliküller yoktur ya da parsiyel olarak korunmuştur ve belirgin gerilemiş özellikler sergiler. Bu vakalarda foliküler kolonizasyon ve folikülün içinde ve ya dışında plazmositoid farklılaşma sıklıkla izlenir. Eozinofiller plazmositoid farklılaşmaya paralel şekilde sık görülür.

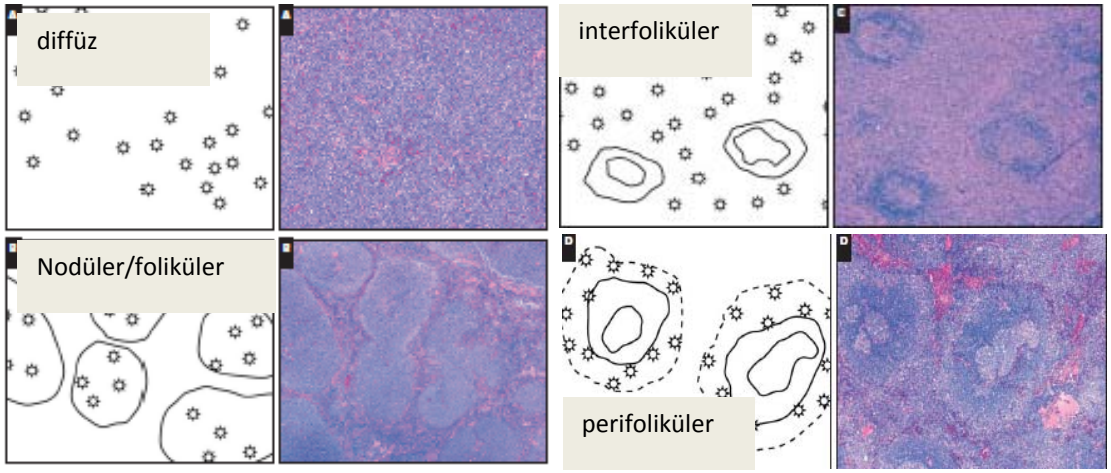
Campo ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu morfolojik sınıflama Tablo 2.2'de de özetlenmektedir.

Tablo 2.2. NMZL'da İzlenen Histolojik Paternlerin Karşılaştırması (3)

Özellikler	MALT Tip	Splenik Tip	Polimorfik Tip
Hiperplastik GM'ler	++	+/ -	+

Belirgin Mantle Zon	++	-	-/ +
İntrafoliküler T Hücreleri	-	++	+
IGD İfadesi	-	+	+/ -
Plazmositoid Farklılaşma	-	+/ -	++
Ekstranodal Hastalık İhtimali	++	-	-

Salama ve arkadaşlarının tanımladığı dört pattern içinde diffüz olanda folliküler organizasyon silinmiştir. Nodüler tipte folliküllerin germinal merkezleri monoton görünümde neoplastik marginal zon hücreleri ile kolonize görünümdedir. Diğer iki morfolojik tipte ise folliküller korunmuş olup infiltrasyonperifoliküler veya interfolliküler alanlarda tanımlanmıştır. Tariflenen paternler Şekil 2.11'de şematik olarak özetlenmektedir(48).



Şekil 2.11. NMZL'deki 4 farklı immünarşitektürel patern(48)

Bob ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada olgular morfolojik özelliklerine göre polimorfik ve monomorfik grup olarak 2'ye ayrılmıştır. Vakaların %88'ini oluşturan polimorfik grupta, polimorfik neoplastik hücrelerin (küçük ve büyük monositoid B hücreler, sentrositoid ve transforme büyük lenfositler) sinüzoidal/perisinüzoidal, interfoliküler, perifoliküler/marjinal zon ve GM infiltrasyonu izlenmektedir. En sık olarak görülen ise interfoliküler zon tutulumudur.Polimorfik grup monomorfik gruptan farklı olarak yüksek Ki-67 çoğalma indeksi ve CD30 pozitif blastik hücre bulundurmaktadır. Vakaların %12'sini

oluşturan monomorfik grupta ise normal LN yapısı, küçük monositoid B hücrelerin oluşturduğu, sırt sırta veren nodüller ile ortadan kalmıştır(19).

Farklı çalışmalarda nodüler/foliküler patern veya monomorfik grup olarak isimlendirilmiş, foliküler kolonizasyon NMZL'da baskın özellik olabilir ve FL ile tanı güçlüğü yaratabilir. Bazı vakalarda kolonize foliküllerde izlenen neoplastik hücrelerin sitolojik özellikleri perifoliküler zondaki hücrelerden farklı olabilir. Genellikle plazmositoid farklılaşma ve blastik morfoloji kolonize hücrelerde daha sık olarak izlenir.

Özellikle pediatrik vakalarda düzensiz ve genişlemiş GM'ler izlenebilir ve GM'lerin progresif transformasyonuna benzeyebilir. Bazı araştırıcılar bu görünümü çiçeğe benzetmekte ve 'floral varyant NMZL' olarak isimlendirmektedir. Bu foliküller anormal morfolojik görünümlerinin dışında immünhistokimyasal olarak normal yapıdadırlar(CD10 ve Bcl-6 ifade ederken, Bcl-2 negatiftirler). Bu hastalar genellikle izole nodal tutulumu olan Evre I hastalardır ve nodal kitlenin eksizyonu sonrası konvansiyolen KT ile çok iyi prognoz gösterirler(4).

2.7.6. Diğer Anatomik Bölgeler

Diğer anatomik bölgelerdeki NMZL tutulumu çok iyi tanımlanmamıştır. Küçük bir grupta Kİ tutulumu görülebilir. Bu infiltrasyon gevşek nonparatrabeküler agregatlar şeklinde veya daha nadiren interstisyel olarak izlenir. PB tutulumu çok seyrektir. Diğer ekstranodal bölgelerin tutulumunda tanı ENMZL olmalıdır.

2.7.7. Grade

NMZL'da blastik hücreler veya proliferatif hücrelerde önemli oranda değişkenlik olduğu için kabul görmüş bir gradeleme sistemi yoktur. Genel olarak blastik hücreler toplam popülasyonun %20'sinden azdır. Bazen odaksal büyük hücre transformasyonu izlenebilir ancak bunun klinik önemi bilinmemektedir. Bazı çalışmalarda büyük hücre oranı %20'den fazla olduğunda Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma transformasyonundan bahsedilse de tanımlanmış net bir sınır yoktur.

Üstelik transformasyon denebilecek bu hastaların sağkalımlarında da bir farklılık saptanmamaktadır. Bazı araştırıcılar Ki-67 ile saptanan çoğalma indeksi çok yüksek ise(özellikle %50'den fazla ise) bunu raporda belitrmek gerektiğini savunmaktadır ancak bu durum hastanın tedavi yaklaşımını değiştirmemektedir(3).

2.7.8. İmmünfenotip

Olgun B hücreli lenfoma olan NMZL monotipik yüzey Ig'i ve pan-B belirteçlerini ifade etmektedir. Bcl-2'nin zayıf ifadesi çoğu vakada izlenir. Vakaların %50'si CD43 pozitiftir. IgD, neoplastik lenfositler negatiftir ve infiltre kalıntı mantle zonu ayırt etmede yardımcıdır. Genel olarak %20-50 vakada zayıf IgD ifadesi görülürken, MALT tip olanlarda negatif saptanır. Vakaların çoğunda CD5, CD10, CD21, CD25, CD35, CD68, CD23, Bcl-6 ve Bcl-1ile ifade kaybı görülür. Ancak nadiren CD5 ve CD25 ifadesi gösteren vakalar izlenir.

Morfolojik ve immünfenotipik olarak NMZL'ları nodal tutulum yapıp benzer morfolojide izlenebilecek diğer düşük dereceli B hücreli lenfomalardan ayırabilecek özellikler Tablo 2.3'de özetlenmektedir.

Tablo 2.3. NMZL'da morfolojik ve immünhistokimyasal özellikler ve ayırıcı tanı (3)

Özellikler	NMZL	LPL	ENMZL	FL	KLL/SLL
Plazmositoid Farklılaşma	+	++	+	-/ +	-/ +
LN Sinüslerinin Tutulumu	+	-	+	+	+
Paraprotein Piki	-	+	-	-	-
Dutcher Cisimcik	-/ +	+	+/ -	-	-
Monositoid Hücreler	+	-	++	-/ +	-/ +
CD43	+	+	+	-	+
CD5	-	-	-	-	+
IGD	+/ -	-	-	+/ -	+
CD23	-	-	-	-/ +	+
BCL6/ CD10	-	-	-	+	-

Plazma hücre farklılaşması yaklaşık %33-61 vakada izlenir(47-49). Bu hücreler MUM1/IRF4 ifadesi gösterebilir ancak morfolojik veya immünfenotipik olarak plazmositoid özelliklerin bir kısmını taşırlar. CD38, %41 vakada saptanan başka bir plazmositoid belirteçtir. Ayrıca sitoplazmik Ig ifadesi izlenebilir. Çoğu vakada bu IgM iken küçük bir grupta IgG ve IgA'da saptanabilir. Vakaların çoğu Kappa ifadesi gösterir. Plazmositod komponent genellikle neoplastik küçük lenfoid hücreler ile karışık halde bulunurken; bazen GM'lerde kolonize olmuş olabilir (1-3).

Neoplastik hücreler CD21 ve CD23 ifadesi göstermezler. FDRC ağını gösteren bu belirteçler regrese olmuş inaktif foliküllerde zayıf bir ifade gösterirken, FL'da beklenen genişlemiş FDRC ağı saptanmaz. FL'dan ayrımında önemli diğer bir nokta da GM belirteçlerinin(CD10 ve Bcl-6) negatif oluşudur(1-3).

Ki-67 çoğalma indeksi neoplastik hücrelerde %20'den daha azdır. Birçok düşük dereceli B hücreli lenfomada apopitozis yolaklardeki değişiklikler neoplastik hücre ömrünün uzaması ile sonuçlanmaktadır. Survivin ifadesisağ kalımı azaltmaktadır. Benzer şekilde aktif Kaspas-E ifade kaybı ve Siklin-E ifadesinun

artması negatif prognostik belirteçlerdir. Birçok EMZL vakasında Nf-kb yolağı aktive olmaktadır ancak NMZL'da bu yolağın aktivasyonu izlenmemektedir.

2.7.9. Sitogenetik ve Moleküler Bulgular

NMZL'lar somatik hipermutasyon açısından heterojen bir gruptur. Birçok vakada somatik hipermutasyon saptanmaktadır ancak seyrek mutasyonsuz vaka bulunmaktadır. Bu nedenle neoplastik hücrelerin mutasyona uğramamış naive B hücreler, somatik hipermutasyona uğramış hafıza B hücreleri ve GM mutasyonları devam eden B hücrelerinden oluştukları düşünülmektedir. Birçok vakada antijen seleksiyonu gerçekleşmemiştir. Somatik hipermutasyon durumu immünfenotipe de yansımaktadır. Sadece mutasyona uğramamış vakalarda IgD ifadesi izlenir(3).

NMZL'da yoğun sitogenetik aberasyonlar tariflenmemiştir. +3, +7, +12 ve +18 en sık saptanan kromozomal sayısal değişikliklerdir. Ayrıca 6p kazancı, 1p36 ve 19q13.2 delesyonları saptanabilecek değişikliklerdendir. Nf-kb negatif regülatörü olan *TNFAIP3* (A20)'da somatik mutasyon ve genomik delesyonların incelendiği bir çalışmada; EMZL'da %18, SMZL'da %8 ve NMZL'da %33 oranında saptanmıştır(3).

2.7.10. Hücre Orjini

MZ ve hafıza B hücrelerden oluşan heterojen bir hücre grubundan geliştiği düşünülmektedir. MZ B hücreleri IgD pozitif ya da negatif olabilirler. Yüksek seviyede somatik hipermutasyonlar ya da Pre-GM lokalizasyonunu gösterir şekilde düşük derecede somatik hipermutasyonlar içerebilirler. Birçok çalışmada NMZL hücrelerinin monositoid B hücreler ile direk ilişkisi gösterilememiştir.

2.7.11. Klinik Özellikler ve Prognostik Faktörler

İndolent seyirli bir lenfomadır. İkinci en sık düşük dereceli B hücreli lnefomadır. 5 yıllık yaşam beklentisi FL ve KLL'ye göre düşüktür ve %55-75 arasındadır. Komplet remisyon oranı yaklaşık %50'dir. Birçok hasta IPI'a göre düşük veya düşük-orta risk grubundadır. Ancak FLIPI skorlaması NMZL'da IPI'a göre daha uygun bir skorlama sistemi özelliğindedir.

2.8. SPLENİK MARJİNAL ZON LENFOMA(SMZL)

SMZL terimi ilk kez 1992'de Schmid ve arkadaşları tarafından, dalağı ve mikronodüller şeklinde Kİ'ni infiltre eden, marjinal zon farklılaşması gösteren B hücreli lenfoma olarak tanımlanmıştır. DSÖ sınıflamasında ise splenik beyaz pulpadaki GM'leri çevreleyen ve bunların yerini alan, mantle zonu ortadan kaldıran, periferal MZ'daki büyük hücreler ile devamlılık gösteren ve az miktarda transforme blastları bulunduran ve kırmızı pulpayı da infiltre eden küçük B hücreli lenfositlerden oluşan neoplazi olarak tariflenmiştir(1).

Hastaların çoğunda splenomegali, PB ve Kİ tutulumu ile karakterli tipik prezentasyon izlenir. PB'daki hücreler villöz sitomorfolojiye sahiptir. MZL grubunda yer almasına rağmen; klinik, immünfenotipik ve moleküler özellikleri diğer MZL'lardan farklıdır.

2.8.1. Epidemiyoloji

Tanının tipik olarak splenektomi materyalinden verilmesi ve birçok düşük dereceli B hücreli lenfomada splenektomi endikasyonu bulunmaması nedeniyle net görülme oranı bilinmemektedir. Tüm lenfomaların %1-2'sini oluşturduğu düşünülmektedir(1). Ortalama tanı yaşı 65'tir. Cinsiyet dağılımı benzerdir.

2.8.2. Etyoloji

Küçük bir hasta grubunda Hepatit C virüs enfeksiyonu saptanması ve bunlarda enfeksiyona yönelik tedavi sonrası hastalık yayılımının kontrol altına alınabilmesi infeksiyöz ajanların patogenezde rolü olduğunu düşündürmüştür(1).

2.8.3. Klinik Özellikler

Başlangış semptomları genellikle ateş, kilo kaybı ve gece terlemesidir. Splenomegali %75 vakada izlenen en önemli bulgudur ve %25 vakada anemi, trombositopeni veya lökositoz saptanır. %10-15 vakada otoimmün hemolitik anemi izlenir. Nadiren rutin taramalar sırasında insidental olarak saptanır.

Tanı sırasında Kİ sıklıkla tutulmuştur ve vakaların 1/3'ünde karaciğer tutulumu da izlenir. Neoplastik lenfositler, total lenfositlerin %5'den fazlasını oluşturuyorsa PB tutulumu mevcuttur ve tanı anında %57-68 oranında saptanır. Abdominal LAP %25, periferik LAP %17 oranında saptanır. Sık olarak Kİ ve karaciğer tutulumunun izlenmesi nedeni ile çoğu hasta tanı sırasında Ann Arbor Evre IV'tür. Serum paraproteinemi(IgM) %10-28 vakada izlenir ancak hiperviskozite ve beklenen bir bulgu değildir.

Tanısal kriterler splenik morfolojiye dayansa da; klinik, immünfenotipik ve morfolojik özellikler ve Kİ tutulumu da göz önünde bulundurulmalıdır.

2.8.4.Morfoloji

2.8.4.1. Dalak tutulumu

Splenik tutulumda tipik olarak beyaz pulpada boyutları ve sayıları artmış mikronodüler lenfoid infiltrasyon izlenir ve değişken derecelerde kırmızı pulpa tutulumu saptanır. Foliküllerde küçük hücreleri ve MZ hücrelerini içeren bifazik komponent izlenir. Folikülün merkezindeki küçük lenfositler yuvarlak nükleuslu, dar

sitoplazmalı; MZ'daki lenfositler ise düzensiz nükleuslu ve daha bol soluk sitoplazmalı hücrelerdir. Ek olarak hastaların çoğunda az sayıda sentroblast ya da immünoblasta benzeyen büyük hücreler de saptanır. Bazı nodüllerin merkezinde reaktif ya da gerilemiş GM'ler izlenebilirse de genellikle bu özellik beklenen bir bulgu değildir. Plazma hücre farklılaşması olguların %21-74'ünde saptanabilir.(50)Neoplastik plazma hücreleri GM'de bulunabilir, nadiren küçük kümeler oluşturabilir ve kırmızı pulpada da saptanabilirler. Lenfoplazmasitoid morfolojideki bu hücrelerde Golgi zon bulunmaz, sitoplazmaları daha bazofiliktir ve neolastik lenfositler ile benzer IG profili izlenir. Bu lenfoplazmositoid hücreler tipik olarak MZ'larda, kırmızı pulpada bulunur ve GM'leri işgal eder(3, 51).

Beyaz pulpadaki organoid paterndeki tutulumun aksine, neoplastik hücreler tamamen normal splenik lenfoid folikülleri taklit edebilir ve eş zamanlı olarak kırmızı pulpada kordonları ve sinüsleri dolduran diffüz bir infiltrasyon saptanabilir. Lenfoid agregatlar kırmızı pulpada da izlenebilir ve infiltratif hücreler küçük lenfoistler ve büyük blastik görünümlü hücrelerden oluşur. Bazı vakalarda epiteloid histiyositler de izlenebilir(1).

2.8.4.2. LN tutulumu

Splenik hiler LN'leri sıklıkla tutulur ancak diğer lokalizasyondaki LN'lerinin tutulumu nadirdir. Dalağın aksine, LN'de MZ paterni nadiren izlenir. Tipik olarak mikronodüler bir tutulum vardır, baskın olarak küçük hücreler izlenir ve sinüsler dilate ve açıktır. Farklı bölgelerde tümör hücrelerinin dağılımının farklı olması tümörün büyüme paterninin gelişiminde mikroçevrenin önemli olduğunu düşündürmektedir(51).

2.8.4.3. Kİ ve PB tutulumu

SMZL'da, Kİ tutulumu kuraldır ancak rutin kesitlerde saptanması güç olabilir. CD20 intertrabeküler ve intrasinüzoidal yerleşimli neoplastik hücreleri

saptamada yardımcıdır. İntertrabeküler nodüller yapısal ve hücresel komponent bakımından dalakdaki nodülleri taklit ederler ve reaktif GM'ler tümör hücreleri ile çevrelenir. CD20 ile SMZL için karakteristik olan lineer dizelenme şeklinde izlenen intrasinüzoidal infiltrasyon daha net izlenebilir. Kİ'deki bu bulgular SMZL için spesifik değildir, diğer bulgular ile birleştirilmelidir. Ancak nodüler tutulum paterni HCL'yi büyük oranda ekarte ettirir (1, 51).

PB tutulumu Kİ tutulumundan daha nadirdir. PB'daki az sayıdaki neoplastik lenfositte sıklıkla kısa polar villusların görülmesi karakteristiktir. Bazı hücrelerde diğer lokalizasyonlardaki tutuluma benzer şekilde plazmositoid morfoloji izlenebilir.

Masif splenomegali ve morfolojik olarak artmış büyük lenfositler ile karakterli vakalar tanımlanmıştır. SMZL'da beklenenin aksine bu vakalarda MZ'daki büyük lenfositler önemli bir komponenti oluşturur ve kırmızı pulpadaki infiltrasyonun içerisinde de benzer morfolojide büyük hücreler izlenebilir. Bu vakalarda Kİ ve periferal LN'de de benzer morfoloji görülür. Büyük hücrelerin yoğun bulunduğu sınırlı sayıdaki bu vakalarda 7q kaybı, p53 inaktivasyonu, dağınık Siklin-D1 ifadesi saptanmış, diğer lenfomalara spesifik (t(14;18), t(11;14) gibi) izlenmemiştir(3).

2.8.5. İmmünfenotip

Neoplastik hücrelerin en sık görülen immün ifade profili şu şekildedir;

CD20(+), BCL2(+), IGD(+), p27(+)

CD5ekspresyonu genellikle beklenmez ancak çalışmalarda %25'lere varan pozitiflik oranları belirtilmektedir(25).

CD3(-), CD23(-), CD43(-), CD38(-),BCL6(-), SiklinD1(-), Annexin-A1(-)

CD103 sıklıkla negatiftir.

Kİ67 çoğalma indeksi annüler bir patern gösterir. GM ‘de ve MZ’da yüksek saptanır. P53’ün düşük ifadesi genellikle izlenir ve küçük bir hasta grubunda p53 mutasyonu nedeni ile yüksek p53 ifadesi saptanır.

2.8.6. Genetik özellikler

Genetik anomaliler; SMZL için karakteristik genetik özellikler tanımlanmamıştır. 7q22-36’da heterozigosite kaybı ve allelik kayıplar %40 olguda saptanmıştır.(3) 7q kaybı olan vakaların daha agresif seyrettiği ve daha yüksek oranda progresyon gösterdiği bilinmektedir. Diğer klonal kromozom anomalileri kromozom 1,8 ve 14’ünde dahil olduğu 3q’da kazançtır. T(11;14) ve t(11;18) izlenmez. Seyrek saptanan diğer anomaliler ise 14q32, t(6;14)(p12;q32), t(10;14) (q24;q32), 7q21, 17p13 (*p53*)’dir.

Antijen reseptör genleri; vakalarda IgVH bölgesinde somatik hipermutasyonlar izlenir. ancak değişken bölgelerde mutasyon saptanmayan vakalarda 7q31 delesyonunun daha sık izlendiği ve sağ kalımın daha kısa olduğu görülmüştür(3).

Gen ifade profili; gen ifade profili çalışmaları, olası tanısal moleküler belirteçleri ve tümör yolaklarını ortaya koymuştur. Farklı çalışmalarda farklı gen ailelerinin aktivasyonu ortaya çıkmıştır;

Apopitozis regülasyon genlerini ilgilendiren özellikler(BCR, TNF sinyal yolağı ve NF-kB aktivasyonu): SYK, BTK, BIRC3, TRAF3, TRAF5, CD40 ve LTB gibi

mikroçevreyi ilgilendiren genler: SELL ve LPXN gibi

lenfoma onkogenleri: ARHH ve TCL1 gibi

AP-1 ve Notch-2 transkripsiyon faktörleri

BCL2 rearanjmanı ve t(11;14) izlenmez.

2.8.7. Hücre Orjini

SMZL'da hücre orjinine yönelik görüşler moleküler ve morfolojik bulguların birbirine ters düşmesi nedeni ile tartışmalıdır. SMZL'da neoplastik hücrelerin büyük kısmı IgD pozitif hücrelerdir. NMZL'da izlenen neoplastik hücrelerde ise somatik hipermutasyon izlenmekte ve bu durum hücrelerin GM reaksiyonuna girdiğini göstermektedir. SMZL'da ise vakaların yarısında IgVH genlerinde somatik hipermutasyon izlenmez ve bu durum normal marjinal zon B hücresi kökeni hipotezine ters düşmektedir. Bu durumu dalakta primer lenfoid foliküllerde yer alan ve henüz net tanımlanmamış küçük bir B lenfosit popülasyonunun varlığı ve bu hücrelerin GM'de antijen ile karşılaştıktan sonra somatik hipermutasyon geçirdiği şeklinde bir hipotez ile açıklanabilir. Şu an için son DSÖ tanımlamasında hücre orjini net olarak bilinmemektedir.

2.8.8. Klinik Özellikler ve Prognostik Faktörler

SMZL düşük grade bir lenfomadır ve 5 yıllık sağ kalım %78-65 arasında değişmektedir. Klinik olarak kötü prognoz ile ilişkili faktörler; yüksek tümör yükü ve düşük performans durumudur. Biyolojik parametreler ise p53 ifadesi artışı, 7q delesyonu,IgVH'da somatik hipermutasyon yokluğudur.Büyük B hücreli lnefomaya transformasyon oranı yaklaşık %13'tür.

Tedavide ilk tercih splenektomidir. Daha sonra nüks görülen hastalarda fludarabin verilmektedir. Ayrıca hepatit C'li olgular antiviral tedaviden fayda görmektedir.

2.9. EKSTRANODAL MARJİNAL ZON LENFOMA(MALT LENFOMA)

Ekstranodal lenfomalar (özellikle gastrointestinal lenfomalar) lenf nodülünden ziyade mukoza ilişkili lenfoid dokunun (MALT) yapısal ve fonksiyonel özelliklerini yansıtır. Antijenler LN'lerine ilgili drenaj bölgelerinden afferent

lenfatikler ile taşınmaktadır. Oysaki gastrointestinal trakt gibi geçirgen mukozal alanlar, patojen ve antijenlere direkt maruz kalmakta ve bu nedenle MALT olarak isimlendirilen özelleşmiş bir lenfoid doku bulundurmaktadırlar. MALT, gut-ilişkili lenfoid doku, nazofaringeal lenfoid doku(tonsil) ve diğer mukozal alanlardaki lenfoid agregatları kapsamaktadır. Gut ilişkili lenfoid doku MALT'ınprototipini oluşturmaktadır.

2.9.1. MALT'ın Histolojik ve İmmünolojik Özellikleri

Gstrointestinal kanaldaki MALT, lenfoid hücrelerin organize olarak yer aldığı 4 lenfoid kompartmandan oluşur;

Peyer plakları

Lamina propriadaki lenfositler, plazma hücreleri ve aksesuar hücreler

İntraepitelyal lenfositler

Mezenterik lenf nodülleri

Peyer Plakları; organize lenfoid nodüller ince barsak, apendiks ve kolorektumda dağılmış halde bulunmaktadır. Bu nodüller terminal ileumda yoğunlaşırlar ve Peyer Plakları'nı oluştururlar. Bunlar kapsülsüz lenfoid topluluklardır ve LN'ünün özelliklerini taşırlar. Her Peyer plağı T ve B hücre alanları ve aksesuar hücreleri bulundururlar. LN'e benzer şekilde GM'leri mantle zonlar çevreler. Mantle zonun dışında küçük-orta boyutlu, bol soluk sitoplamzalı, düzensiz nükleuslu B lenfositlerden oluşan marjinal zon alanı bulunur. Marjinal zon hücreleri mukozal yüzeye doğru yayılır ve bir kısmı MALT'ın özelliğini yansıtır şekilde mukozal hücrelerin arasına girerler. İmmünhistokimyasal özellikleri LN'deki B hücre folikülleri ile benzerdir ancak farklı olarak mantle zon IgM ve IgD pozitif iken marjinal zon hücreleri IgM pozitif, IgD negatiftirler. B hücre zonunun etrafında da LN'deki parakortikal T zonunu yansıtır şekilde high endotelyal venüllerden baskın bir T hücre zonu bulunmaktadır.

2.9.2. MALT Lenfomanın Tanımı

MALT lenfoma morfolojik olarak heterojen küçük B lenfositlerden oluşan ekstranodal bir lenfomadır. Neoplastik hücreleri marjinal zon (sentrosit benzeri) hücreleri, monositoid benzeri hücreler, küçük lenfositler ve az sayıdaki immünoblast ve sentroblast benzeri hücreler oluşturur. Plazma hücre farklılaşması izlenebilir. İnfiltratif hücreler reaktif B hücre folikülünün marjinal zonundan kaynaklanır ve interfoliküler bölgeye doğru yayılırlar. Tipik olarak neoplastik hücreler epiteli infiltre ederler ve lenfoepitelyal lezyon oluştururlar.

MALT lenfoma gastrointestinal traktüsden (sıklıkla mide), tükrük bezşnden, respiratuar traktüsden, oküler adneksden, deriden, tiroidden, karaciğerden, genitoüriner traktüsden, memeden ve timusdan köken alabilir. En karakteristik yerleşimi gastrointestinal traktdır ve vakaların %50'sini oluşturur. Gastrointestinal sistemde de en sık(%85) tutulan organ midedir(1). Orbital dokulardan kaynaklananlar, mukoza ile olan yakın ilişkileri, histolojik, immünfenotipik, genetik ve klinik özellikleri nedeniyle bu grupta sınıflanmıştır.

2.9.3. Epidemiyoloji

Tüm B hücreli lenfomaların %7-8'ini ve tüm gastrik lenfomaların %50'sini oluşturur. Ortalama tanı yaşı 61'dir. Tükrük bezi ve tiroid kökenli olanlarda hafif bir kadın predominansı izlenir. Gastrik MALT görülme oranı Helicobacter Pylori(HP) ile ilişkilidir. İmmünproliferatif İnce barsak Hastalığı (IPSID) olarak bilinen ince barsak MALT lenfomasının bir alt tipi ise Hindistan ve Güney Afrika'da sık olarak izlenmektedir.

2.9.4. Etyoloji

MALT lenfoma nadiren native MALT'dan gelişirken, sıklıkla kronik inflamatuar süreçlerin sebep olduğu ve normalde MALT'ın bulunmadığı mide,

tükrük bezi, akciğer, tiroid ve oküler adnex gibi alanlardan gelişir. Bu organlar patolojik süreçler dışında organize lenfoid doku bulundurmazlar. Kronik sialodenit, Sjögren Sendromu, Hashimato tiroiditi, foliküler bronşiolit ve HP enfeksiyonuna bağlı midede gelişen organize lenfoid doku Peyer plaklarına benzemektedir. Bu yüzden bu lenfoid dokulara 'kazanılmış MALT' denmektedir.

Otoimmünite ve enfeksiyöz ajanların MALT lenfoma gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Enfeksiyöz ajanlar ve ilişkili oldukları durumlar şu şekilde özetlenebilir;

Helicobacter Pylori- Gastrik MALT Lenfoma

Campylobacter Jejuni- İmmunproliferatif İnce barsak Hastalığı

Chlamidya Psittaci- Oküler Adnexal MALT Lenfoma

Borrelia Burgdorferi- Kutanöz MALT Lenfoma

2.9.5. Kazanılmış MALT'ın Histopatoloji

MALT lenfomanın öncü olan bilinen veya bilinmeyen etkenlere karşı bir cevap olarak gelişen lenfoid doku Peyer plaklarına benzer bir yapılanma göstermektedir. Bunun en iyi örnekleri tükrük bezi ve midede izlenen MALT dokusudur.

Tükrük Bezi İlişkili MALT Dokusu (Lenfoepitelyal Sialadenitis); tükrük bezi içerinde yerleşen LN'leri dışarıda tutulduğunda normal tükrük bezleriorganize lenfoid doku içermemektedir. Bez içerisine lenfoid dokunun akümülasyonu kronik antijenik stimülasyon ya da farklı sebepler ile gerçekleşebilir. Örneğin uzun süreli sialolitiyazislerde dilate, pürülan eksuda içeren duktusun çevresinde çok sayıda lenfoid folikül izlenir. Bu görüntü Sjögren Sendromu ile ilişkili olan kronik inflamasyondan çok farklıdır. Erken dönemde dilate olan duktusların çevresi lenfoid foliküller içeren lenfoid infiltrat ile çevrelenir. Peyer plaklarının mukozal epiteli

infiltre etmesine benzer şekilde bu lenfoid infilltratı oluşturan B lenfositler de duktus epitelini infiltre ederler. Bu B hücreler mantle zonda gördüğümüz B lenfositlerden daha büyük olan, daha bol soluk sitoplazma ve daha düzensiz nükleusa sahip hücrelerdir. Morfolojik ve immünhistokimyasal özellikleri ile bu hücrelerin MZ hücreleri olduğu anlaşılmaktadır. Yine duktus çevresinde akümülasyon gösteren plazma hücreleri izlenir. Hastalık ilerledikçe, duktus kondanse bir hal alır, lümenini kısmen ya da tamamen olarak kaybeder ve MZ B hücreleri duktus epiteli içinde toplulular oluşturarak lenfoepitelyal lezyonu meydana getirirler. Bu Peyer plağı benzeri topluluklar birleşerek büyük lenfoid adalar oluşturur ve bazılarının ortası kistik bir hal alıp multikistik bez gelişimine sebep olabilir. Bu tarz bir infiltrasyon sadece Sjögren Sendromuna spesifik değildir. Tesadüfen ya da otoimmün hastalık zemininde de izlenebilir. Bu nedenle lenfoepitelyal sialadenitis terminolojisi yerini 'benign lenfoepitelyal lezyon' terimine bırakmaktadır. Lenfoepitelyal lezyon ile lenfoma arasındaki sınır net değildir. İmmünhistokimyasal olarak GM'i CD20, IgD ve IgM pozitif, politipik hafif zincir ifade eden mantle zon çevreler. Foliküllerin arasında CD3 pozitif T lenfositlerin baskın olduğu T hücreler ve plazma hücreleri bulunur. Ig gen düzenlenmesi çalışmaları bu hücrelerin politipik özellikte olduklarının gösterir(3).

HP Gastriti; HP gastriti görülme sıklığı coğrafya ve yaşa bağlı olarak %20-100 arasında değişmektedir.Midede MALT lenfoma görülme oranı da HP ile ilişkili görünmektedir. Tipik olarak enfeksiyon, B hücre foliküllerinin oluştuğu ve B hücrelerin bez epitelini infiltre ettiği aktif kronik bir inflamasyona sebep olur. Bu folikülleri T lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar ve az miktarda nötrofiller çevreler. Bu lenfoid infiltrat bazen oldukça florid görünümde olur ve büyük, füzyon gösteren mantle zon tabakaları bulunduğunda biyopsi materyalinde MALT lenfomadan ayırmak güç olabilir. Kronik gastritlrt ile gastrik MALT lenfomayı birbirinden ayırmada kullanılabilecek histopatolojik özellikler Şekil 3.6.2'de özetlenmektedir. B hücre foliküllerini IgM ve IgD pozitif mantle zon B hücreleri çevreler ve IgM pozitif, IgD negatif MALT lenfoma hücrelerini immünhistokimyasal olarak ayırmak mümkündür. Ayrıca neoplastik lenfositler ve plazma hücrelerinin varlığı klonal Ig hafif zincir restriksiyonunun gösterilmesi ile de ispatlanabilir. Lezyonda izlenen plazma hücrelerinin poliklonal olması ise MALT lenfoma

tanısından uzaklaştırmamalıdır. HP enfeksiyonu bulunan vakalarda yapılan klonalite analizlerinde klonal popülasyona çok az vakada raslanmasına rağmen, takiplerinde MALT lenfoma gelişen hastalarda yapılan analizlerde aynı monoklonal B hücre popülasyonuna her iki lezyonda da rastlanması HP'nin güçlü etyolojik ilişkisini kanıtlamaktadır(20).

2.9.6. MALT Lenfoma Patolojisi

2.9.6.1. Makroskopik Görünüm

MALT lenfomalar bazen tümöral kitle ile prezente olabilirler. Tipik olarak birden çok odakta ve bazı odaklar makroskopik olarak tespit edilemeyip, mikroskopik incelemede saptanabilir. Tüm odaklar klonal olarak aynı özellikleri taşırlar.

2.9.6.2. Histopatoloji

Kaynaklandığı organ farklı olsa da MALT lenfomanın histolojisi benzerdir. Neoplastik B lenfositler, MZ dağılımına uygun şekilde, çevredeki reaktif B folikülleri etraflarında ince bir mantle zon bırakacak şekilde infiltre ederler. Neoplastik hücreler küçük-orta boyutlu, hafif düzensiz nükleuslu, dağınık kromatinli ve belirsiz nükleollü sentrosit-benzeri tipik marjinal zon hücreleridir. Sentrositlerden farklı olarak daha bol soluk sitoplazma içerirler ve bu nedenle monositoid görünümde olabilirler. Sentroblast ya da immünoblast benzeri büyük hücreler arada seçilir ancak baskın popülasyonu oluşturmaz ve kümeler/tabakalar halinde bulunmazlar.

Hastaların 1/3'ünde plazma hücre farklılaşması izlenir(50). Gasrtik, kutanöz ve tiroid kökenli MALT'larda plazma hücre farklılaşması sık ve belirgindir.

Glandüler epitel 3-4 hücrelik gruplar oluşturan neoplastik marjinal zon hücreleri ile infiltredir. Bu infiltrasyon sebebi ile epitelde distorsyon ve nekroz gelişebilir. Gastrik MALT lenfomalarda bu değişikliklere epitelde eozinofilik dejenerasyonda eşlik eder. Lenfoepitelyal lezyon özellikle gastrik MALT lenfomalar için karaktersitiktir ancak patognomik değildir. Özellikle ince ve kalın barsak MALT lenfomalarında lenfoepitelyal lezyonu görmek zor olabilir.

Bazen neoplastik hücreler spesifik olarak GM'leri kolonize ederler ve FL ile ayırıcı tanı güçlüğüne neden olan nodüler/foliküler bir paterne sebep olurlar.

LN'lerinde MALT lenfoma infiltrasyonu MZ bölgesindedir ve interfoliküler alana doğru yayılır. Parafoliküler ve perisinüzoidal alanlarda monositoid B hücre agregatları görülebilir. Neoplastik infiltrasyon non-nodal alanlardaki gibi heterojendir ve hem plazma hücre farklılaşmau hem de foliküler kolonizasyon LN tutulumunda da izlenebilir.

Spesifik olarak GM'lerin hedeflendiği bu vakalarda blastik transformasyon veya plazma hücre farklılaşması izlenebilir.

Diğer düşük dereceli B hücreli lenfomalarda olduğu gibi MALT lenfoma da DLBCL'ya trasforme olabilir. Transforme sentroblast ya da immünoblastik hücreler MALT lenfomada izlenebilmesine karşın, solid tabakalar oluşturmazlar. Transforme hücrelerin solid tabakalar oluşturduğu vakalarda DLBCL'ya transformasyondan bahsedilmelidir.

2.9.6.3. Helicobacter Pylori Tedavisi Sonrası Gastrik MALT Lenfomaların Morfolojisi

Gastrik MALT lenfomaların %75'inde HPtedavisinden sonra takip eden 18 ay içinde tümör gerilemesi görülür. Endoskopik görünümde 6-24 ay içerisinde değişir. Biyopsilerde morfolojik değişiklikler ilk haftalarda fark edilebilir hale gelir. İlk olarak, lamina propriadaki neoplastik hücreler ortadan kalkar ve geriye boşalmış ancak lenfoid agregatlar içeren eozinofilik görünümde bir lamina propria kalır. Geriye kalan lenfoid

topluluklar transforme blastlar bulundurmayan küçük B lenfositlerden oluşur ve giderek boyutları küçülür. İmmünhistokimyasal olarak az miktarda T lenfositler içerirler ve çoğalma indeksi neoplastik hücreler ile karşılaştırıldığında belirgin olarak azdır. Bu topluluklar mukoza yada submukozada uzun bir süre devam edebilir. Vakaların yarısından çoğunda bakteri tedavi ile yok edildikten sonrada PCR ile B hücre monoklonalitesi saptanmaya devam eder. Bu küçük toplulukların seyri net olarak anlaşılamamıştır, ancak zaman içerisinde ortadan kalkarlar. Lenfoma morfolojik olarak ortadan kalktıktan sonra dahi neoplastik klon PCR ile saptanabilmektedir ancak bunun klinik önemi bilinmemektedir. Bu nedenle morfolojik olarak lenfoma varlığı izlenmeyen vakalarda sadece klonalite ile lenfoma tanısı konulmamalıdır.

2.9.7. Yayılım

MALT lenfomalarda yayılımın sıklık ve paterni kaynaklandığı organa göre fakrlılıklar göstermektedir. Çoğu gastrik MALT lenfoma tanı anında stage 1'dir. %4-17 oranında rejyonel LN'ü, %10 oranında da Kİ tutulumu yaparlar. Kİ tutulum paterni sıklıkla nodüler ve interstisyel paterndedir.(33) Tükrük bezi MALT lenfomaların %90'ı tanı anında stage 1'dir. Pulmoner MALT lenfomalar ise tanı anında %44 oranında mediastinel LN'lerine yayılmıştır. Oküler MALT lenfomaların tanı anında %20'si stage 1'dir.

MALT lenfoma LN'ü ve dalak tutulumu yaptığında spefik olarak marjinal zonu infiltre eder. Özellikle mezenterik LN'lerinde benign ya da reaktif bir görünüme sebep olabilir. Bu durumda Ig hafif zincir restriksiyonu MALT lenfomayı saptamada oldukça yardımcı olur. Benzer şekilde neoplastik hücrelerin foliküler kolonizasyonu da FL ile ayrıcı tanı güçlüğü yaratabilir.

2.9.8. İmmünhistokimyasal Özellikleri

Neoplastik hücreler CD20, CD79a, CD21 ve CD35 pozitif; CD5, CD10, CD23 negatiftirler. CD43 neoplastik fenotipi yansıtır şekilde vakaların %50'sinde

pozitiftir. CD11c ifadesi değişkendir. Tümör hücreleri tipik olarak IgM, daha az oranda ise IgG ve IgA ifade ederler. IgD negatiftirler ve Ig hafif zincir restriksiyonu gösterirler. Çoğu CD4 pozitif olmak üzere intratümöral yoğun CD3 pozitif T lenfositler saptanır. Neoplastik hücrelerin foliküler kolonizasyonu nedeniyle CD21 ve CD23 ile genişlemiş FDRC ağı saptanması tipiktir. Bu vakalarda neoplastik hücrelerin arasında kalıntı CD10 ve BCL6 pozitif GM hücreleri görülebilir ancak neoplastik hücreler bu belirteçler ile negatiftirler.

2.9.9. Genetik Özellikler

2.9.9.1. Antijen Reseptör Genleri

Neoplastik B hücrelerdepost-GM hafıza hücresi fenotiplerini yansıtır şekilde, Ig hafif ve ağır zincirlerde reanranjman saptanır ve değişken bölgelerde somatik hipermutasyon görülür. Çoğu vakadamutasyonlar devam etmektedir. Küçük biyopsilerde kazanılmış MALT dokusu ile MALT lenfomayı ayırt etmek zor olduğundan PCR ile monoklonalitenin saptanması lenfoma tanısını destekler. Ancak %15 vakada yalancı negatiflik saptanabileceği akılda tutulmalıdır. Aynı zamanda morfolojik olarak kronik gastrit görüntüsündeki bazı vakalarında klonalite saptanabilmektedir. Bu nedenle uygun morfolojiyi görmeden MALT lenfoma tanısı verilmemelidir. Wothespoon ve ark tarafından kronik gastrit ve gastrik MALT lenfom ayrımı için kullanılan histolojik skor tanımlanmıştır. Bu skorlama morfolojik değerlendirme ve tanı algoritması içinde gerekli moleküler testlerin seçilmesinde de yardımcı olmuştur.

Tablo 2.4. Kronik gastrit ve gastrik MALT lenfoma ayrımında histolojik skorlama (3)

Skor	Yorum	Histoloji
0	Normal	Tek tük plazma hücreleri
1	Kronik Aktif Gastrit	Lenfosit kümeleri(+), foliküller (-)
2	Foliküler Gastrit	Belirgin foliküller (+), LEL (-)

3	Şüpheli, Olasılıkla Reaktif	Foliküller ve bitişiğinde LEL (+), diffüz infiltrat (-)
4	Şüpheli, Olasılıkla Lenfoma	Foliküller, ve MZ'ları diffüz infiltre eden hücreler (+), LEL(-)
5	MALT Lenfoma	Foliküller, MZ'ları diffüz infiltre eden hücreler ve LEL(+)

2.9.9.2. Genetik Anomaliler

Farklı lokalizasyonlardaki MALT lenfomalarda izlenen genetik anomaliler, oranları ve olası etyolojik ajanları çeşitlilik göstermektedir. Bunlar arasındaen sık bulunanlar, t(11;18) sonucunda fonksiyonel API2-MALT1 füzyonu gerçekleşir. t(1;14) ve t(14;18)'de BCL10 ve MALT1 genlerini bir araya getirmektedir. Bu üç translokasyonun sebep olduğu onkojenik aktivasyon, NF-kB aktivasyonuna sebep olmaktadır. Mutasyonların izlenmediği vakalarda ise NF-kB inhibitörü olan A20 inaktivasyonunun anahtar rolü olduğu düşünülmektedir(52).

Bu üç mutasyonun içerisinde en sık karşılaşılan t(11;18)'dir. Bu vakalarda seyrek yüksek dereceli lenfomalara transformasyon gelişmektedir. Aynı zamanda sitogenetik olarak bu translokasyonun izlendiği vakalarda trizomi 3 ve trizomi 18 gibi diğer kromozomal değişiklikler görülmemektedir. Yine bu vakalarda mikrosatellit değişiklikleri izlenmemekte ve bu translokasyonu taşımayan tümörlere göre daha az oranda kromozomal kazanç ve kayıplar görülmektedir.

Diğer bir mutasyon ise t(3;14)(p14;q32)'dir. Tiroid, deri ve oküler adnekslerde gelişen MALT lenfomalarda tanımlanmıştır ve IGH ve FOX1 füzyonuna sebep olur.

t(11;18) parafin bloklardan PCR ile saptanabilmektedir. Aynı zamanda bu mutasyonlar FISH yöntemi ile de tespit edilebilir. T(11;18) pozitif vakalar ve bu mutasyonu taşımayan vakaların %20'sinde BCL10 proteini aktive olur ve immünhistokimyasal olarak da zayıf ifadesi saptanır.

Ayrıca +6q, +8q p53 kaybı ve TNFAIP3 kaybı da saptanabilen sitogenetik anomalilerdendir ve yapılan bir çalışmada +6p ve +8q'nun gasrtik ve oküler adneksial MALT lenfomalarda anlamlı oranda sık izlendiği saptanmıştır(53).

2.9.10. Klinik Özellikler

Evreden bağımsız olarak iyi progozlu, yavaş seyirli düşük dereceli bir lenfomadır.5 ve 10 yıllık toplam sağkalım oranları %80'den fazladır, ancak progresyonsuz sağkalım oranları daha düşüktür. DLBCL'ya transforme olmuş vakalarda 5 yıllık sağkalım oranları %50'ye düşmektedir.

Tedavi yaklaşımı köken aldığı organa göre değişmektedir. Tükrük bezi kökenlilerdeizle ve bekle yöntemi uygulanırken, diğer lokalizasyonlarda KT ve RT verilebilmektedir.

Gastirik MALT lenfomalarda ilk olarak HP eradikasyon tedavisi verilmekte daha sonra endoskopi kontörlü ve biyopsi tekrarı yapılmaktadır. %25 vaka eradikasyon tedavisinde fayda görmez. Moleküler özelliklerine bakıldığında t(1;14) ve t(11;18) translokasyonlarının izlendiği vakalarda HP eradikasyon tedavisine iyi yanıt alındığı görülmüştür.

2.10. FOLİKÜLER LENFOMA(FL)

Son DSÖ sınıflamasında folikül merkezi B hücrelerinden(sentrosit ve sentroblastlar) gelişen ve en azından parsiyel foliküler patern gösteren lenfoma olarak tanımlanmıştır. Ancak sadece sentrosit ve sentroblastlardan oluşan ve tümüyle diffüz patern sergileyen vakalarda FL olarak sınıflandırılmaktadır. Diffüz blastik hücrelerin izlenmesi durumunda tanı DLBCL olmalıdır. Derinin GM kökenli primer kutanöz lenfomaları ise Primer Kutanöz Folikül Merkez Hücreli Lenfoma olarak ayrı bir şekilde sınıflandırılmaktadır. DSÖ sınıflamasında da yer alan ve farklı klinikopatolojik özellikler gösteren FL varyantları da bulunmaktadır. Bu varyantlar Pediatrik FL, Primer inteatinal FL, İntrafolliküler (in-situ) FL ve diğer extranodal FL lar olarak tanımlanmıştır (2, 3).

2.10.1.Epidemiyoloji ve Etyoloji

Ortalamam tanı yaşı 55-59'dur. Amerika Birleşik Devletlerinde beyaz ırkta, siyah ırka göre 2-3 kat daha sık izlenmektedir. Genellikle yetişkinlerde görülmekle birlikte 20 yaşından önce de izlenebilir(%1-2) ve pediatrik vakalar genellikle LN veya tonsil gibi baş-boyun bölgesinde lokalize Grade 3 FL'sı olan erkek hastalardır. FL, DLBCL'dan sonra ikinci en sık lenfomadır ve tüm Non-Hodgkin Lenfomaların %20-22'sini oluşturur. Amerikan klinik çalışmalarında ise tüm düşük dereceli lenfomaların %70'ini oluşturmaktadır. Asya, doğu ve güney Avrupa'da ise sıklığı daha azdır. Bu farklılığın çevresel faktörler ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

FL'nın etyolojisi net değildir. Insidansı arttırdığı öne sürülen pestisidler, saç boyaları, sigara gibi faktörler bulunmaktadır. Etyolojide rol oynayabilecek immunsupresyon ya da enfeksiyöz ajan saptanmamıştır. Çok sayıda normal yetişkinde PCR veya FISH yöntemi ile PB, tonsil, Kİ veya LN'nde BCL2 gen rearanjmanı bulunduran hafıza B hücreleri saptanmaktadır. Bu nedenle bu translokasyonu taşıyan bireylerde ikinci bir genetik değişikliğin lenfoma gelişimine sebep olacağı düşünülmektedir. FL hücreleri Ig değişken bölgelerinde somatik hipermutasyon taşımaktadırmaktadır ve çoğu tümörde normal GM'lerde izlendiği gibi intraklonal varyasyonlar bulunmaktadır. Bu özelliğinden dolayı olası bir antijenin patogenezde veya neoplastik klonun devamında önemli olabileceği düşünülmektedir.

2.10.2. Klinik Özellikler

2.10.2.1. Tutulum alanları

Çoğu vakada tanı anında yaygın nodal tutulum bulunur. Birçok çalışmada 2/3 vaka tanı anında Evre III veya IV'tür. Hastaların %28'inde B semptomları vardır. Vakaların %44'ü IPI'e göre düşük(kategori 0/1), %48'i düşük-orta risk grubundadır(kategori 2/3).

Periferal, mediastinel ve retroperitoneal lenf nodları sıklıkla tutulmuştur. Büyük mediastinal bir kitle ile prezentesyon nadirdir ancak büyük retroperitoneal ve mezenterik kitleler görülebilir ve sıklıkla üreteral obstrüksiyon ile bulgu verirler. Pür ekstranodal prezentasyon (Kİ tutulumu olmaksızın) değişik serilerde %9-20 arasında belirlenmiştir. Evre IV vakalarda en sık tutulumun görüldüğü alanlar Kİ ve karaciğerdir. Ve bu vakaların %42'sinde Kİ tutulumu izlenir. Bu nedenle FL'da rutin evreleme prosedüründe Kİ biyopsisi yapılır. Hastaların çoğunda dolaşımda neoplastik hücreler bulunur ancak %10'unda aşikar lösemik tutulum izlenir. DLBCL'nın aksine lösemik tutulum FL'da kötü prognoz göstergesi değildir.Richter Sendromuna benzer şekilde FL vakalarının %30'unda DLBCL'ya transformasyon izlenebilir. Transformasyon p53 ve diğer delesyonlar ve kromozon 9 değişiklikleri ile ilişkilidir.

Non-nodal prezentasyonda dalak, Waldeyer halkası, deri ve GİS (en sık duedonum ve ince barsaklar) sıklıkla tutulan bölgelerdir. Nadiren lenfomatöz polipozis şeklinde intestinal bulgular ile prezente olan FL vakaları bildirilmiştir. Folikül Merkezli Primer Kutanöz Lenfoma da kutanöz B hücreli lnefomaların önemli bir alt grubunu oluşturmaktadır.

2.10.2.2. Klinik gelişim ve evreleme

FL tanısı en sağlıklı şekilde LN eksizyonundan verilmektedir. Yine gradeleme ve patern analizi için LN eksizyonuna ihtiyaç vardır. Ancak eksizyon, periferik yüzeyel yerleşimli LN olan vakalarda yapılabilmektedir. Derin yerleşimli, erişilmesi zor LN'de tanı İİAB veya kor biyopsi materyallerinde immünhistokimyasal ve akım sitometrik veriler ile desteklenerek konabilmektedir. Bu materyallerde grade vermek mümkün olmayabilir.

Ayrıca hastanın evrelemesinde abdominal ve pelvik LN tutulumunun varlığı ve FLIPI sınıflaması için serum LDH seviyelerinin bilinmesi gerekmektedir.

2.10.3. Morfolojik Özellikler

Normal LN yapısı hemen hemen benzer şekil ve boyutlarda, korteks ve medullayı dolduran ve perinodal yağ dokuya da penetre olan çok sayıda nodül tarafından ortadan kaldırılır.

2.10.4. Neoplastik Hücreler

Normal GM'de de yer alan sentrosit ve sentroblastlar neoplastik hücreleri oluşturur. Sentrositler, iregüler/ köşeli/çentikli, küçük bir lenfositin 2 katından daha küçük bir nükleusa sahip, dağınık ve küçük lenfositlere göre daha açık kromatinli, bir yada birkaç küçük nükleollü hücrelerdir. Sitoplazmaları HE veya Giemsa ile zor seçilen dar ve soluk özelliktedir. Neoplastik sentrositler normal foliküllerdeki sentrositlere göre daha monoton görünümde ve birbirlerine benzer boyuttadırlar.

Sentroblastlar ise, küçük bir lenfositin 4-5 katı büyüklüğünde, oval-yuvarlak ancak düzensiz, girintili çıkıntılı ve bazen yarıklanma gösteren, veziküler ve periferde yoğunlaşmış kromatine sahip nükleuslu, bir-birkaç bazofilik nükleollü hücrelerdir. İnce bir rim şeklinde Giemsa boyalarında oldukça bazofilik görünen sitoplazmaya sahiptirler.

Çoğu vakada küçük sentrositlerin oluşturduğu monoton zeminde sentroblastlar kolaylıkla göze çarpar. Bazı olgularda ise sentrositler, sentroblastlar gibi büyük boyutlara ulaşabilir. Bu vakalarda sentrositler daha girintili çıkıntılı veya multilobe nükleuslara sahip pleomorfik görünümde izlenirken; sentroblastlar değişken nükleer boyut ve şekle sahip, artmış heterokromatinli ve binükleer veya multinükleer atipik formlarda izlenebilir.

Çoğu vakada mitotik indeks düşüktür. Yıldızlı gökyüzü manzarasına sebep olan fagositik histiyositler izlenmez. Sentroblast sayısının arttığı vakalarda ise mitotik indeks beklenenden daha yüksek saptanır. Reaktif foliküllerde beklenen polarizasyon FL'da görülmez ancak sentroblastların yoğunluğu folikülden foliküle farklılık gösterebilir ve bu durum yalancı bir polarizasyon görünümüne sebep olabilir.

Nadiren artmış plazma hücreleri bulunabilir ancak plazma hücrelerinin neoplastik olduğu vakalar çok nadirdir. Bu neoplastik plazma hücreleri hem foliküllerde hem de interfoliküler alanlarda izlenebilir ve monotipik Ig sekrete ederler.(3) Plazmasitik farklılaşma gösteren 2 tip FL tanımlanmıştır. Ilk grup klasik FL özelliklerini taşıyan, BCL2 translokasyonu gösteren ve interfoliküler yerleşimli post-foiküler olgunlaşma gösteren plazma hücrelerinin izlendiği gruptur. Diğeri ise BCL2 translokasyonu taşımayan, baskın olarak interfolikler ve perifoliküler plazma hücrelerinin izlendiği, klasik FL özelliklerini tam olarak taşımayan ve foliküler kolonizasyon yapmış MZL'ya benzer özellikler gösteren gruptur. Plazmositoid farklılaşmanın prognostik önemi bilinmemektedir(54, 55).

Nadir vakalarda neoplastik sentrositler şeffaf yada eozinofilik büyük sitoplazmik vakuoller bulundururlar ve taşlı yüzük morfolojisi sergileyebilirler. Çoğu vakada bu görüntüyü oluşturan sitoplazmik Ig'dir. Şeffaf vakuollerin izlendiği vakalarda daha sık olarak IgG ve lambda zincir ifadesi izlenirken, PAS pozitif eozinofilik globüllerin izlendiği vakalarda daha sık olarak IgM salınımı görülmektedir. Özetle taşlı yüzük hücre morfolojisi FL için atipik bir özellik değildir ve bu vakalar genellikle Grade I veya II vakalardır.

Neoplastik hücrelere ek olarak, neoplastik foliküller FDRC'leri içermektedir. Bu hücrelerin nükleusları senrtoblast nükleuslarına benzer ancak daha ince nükleer membranları ve santralde yerleşmiş, küçük, eozinofilik nükleolleri bulunur. FDRC'ler birbirinin ayna görüntüsü şeklinde olan binükleer nükleusa sahip hücrelerdir. Sentroblastların aksine sitoplazmaları Giemsa ile mavi izlenmemektedir. Neoplastik foliküller, küçük T lenfositleri de bulunudururlar ancak normal reaktif bir GM'dekinden daha az oranda izlenirler.

2.10.5. Gradeleme

FL'da klinik olarak agresif gidiş sentroblastların oranı ile koreledir. Bu amaçla hazırlanmış Mann ve Berard'ın hücre oranına bağımlı sınıflaması en kolay uygulanabilir yöntemdir. Bu yöntemde 40X'lık büyütmede(0.159 mm2) random 10-

20 alanda sentroblastlar sayılır ve bir alanda görülen ortalama sentroblast sayısı hesaplanır.

Bu gradeleme sistemine göre FL vakalarının %80'i Grade I veya Grade II'dir. Bu iki grup arasında klinik farklılık olmaması nedeniyle DSÖ Grade I ve II vakaları düşük dereceli olarak kabul etmektedir.

Grade 3B vakalarda sentroblastların arada sentrosit izlenmeksizin kümelendiği görülür. Bu durumda Grade 3B vakaları DLBCL'dan ayırmak gerekir ki bu da FL Grade 3B'de zeminde halen izlenen FDRC ağının DLBCL'larda izlenmemesi ile yapılır. Grade 3A FL'ların genetik özellikler ve klinik davranış açısından düşük gradeli vakalara benzer özellikler sergilediği görülmektedir. Grade 3B olguları klinik açıdanDLBCL'ya benzer özellikler gösterse de, genetik özellikleri açısından daha düşük gradeli FL'lara yakın görünmeleri nedeni ile bahsedilen FL gradeleme sistemi halen aynı şekilde kullanılmaktadır.

Ki67 çoğalma indeksi, grade korele şekilde grade 1 ve 2 vakalarda %20'den az iken, grade 3 vakalarda %30'un üstünde izlenmektedir. Grade ile uyumsuz olarak beklenenden yüksek Ki67 indeksi saptanması olguların gradeini değiştirmez. Ancak vakalar daha agresif seyredebileceğinden tanıda 'yüksek proliferasyon indeksi gösteren Grade 1-2 FL' terminolojisi kullanılması önerilmektedir.

İnfiltre LN'de izlenen foliküllerde sentroblast oranı birbirinden farklı olabilir. Bu nedenle formülasyonda 10-20 alan sayılması önerilmektedir. Sayım yapılırken infiltratif LN'ünün genel yapısı göz önünde bulundurulmalı ve bu yapıyı en çok temsil ettiği düşünülen alanlar değerlendirmeye alınmalıdır. Nadiren Grade1-2 alanların baskın olduğu bir lenf nodülünde odaksal Grade 3 odaklar izlendiğinde tanı Grade 1-2 FL olmalı ve odaksal olarak izlenen Grade 3 alanların yaklaşık oranı raporda belirtilmelidir.

DLBCL odakları genellikle Grade 3B FL'larda olmakla birlikte daha düşük gradeli vakalarda da izlenebilmektedir. Bu vakalardaprimer tanı DLBCL olmalı ve eşlik eden FL tahmini yüzdesi belirtilmelidir. İnfiltratif LN'lerinde farklı alanlarda

farklı gradeler görülebileceği ve DLBCL izlenebileceği için lenf nodülü total olarak takibe alınmalı ve dikkatle incelenmelidir.

2.10.6. Patern

Tipik olarak neoplastik foliküller LN'ünü diffüz olarak tutar. Neoplastik foliküllerin, reaktif foliküllerden farklı özellikleri Tablo 2.5'de özetlenmiştir.

Tablo 2.5. FL'da izlenen neoplastik foliküllerin morfolojik özellikleri (56)

REAKTİF FOLİKÜLER HİPERPLAZİ	FOLİKÜLER LENFOMA
Foliküllerde hücresel yoğunluk az	Foliküllerde hücresel yoğunluk fazla
Foliküller subkortikal alana sınırlı	Foliküller nodal parankime yayılır
Foliküller nadiren kapsülün dışına doğru genişler	Foliküller kapsülün dışına doğru genişler
Foliküller farklı boyut ve şekillerdedir	Foliküller benzer boyut ve şekillerdedir
GM'deki hücreler mikst tiptedir	GM popülasyonu monomorfik veya polimorfik olabilir
Tingble-body makrofajlar vardır	Tingble-body makrofajlar nadirdir
Mitoz oranı orta- yüksektir	Mitoz düşük- orta derecededir
Mantle zon seçilir	Mantle zonlar seçilmez
GM'de polarizasyon izlenir	GM'de polarizasyon kaybolmuştur
Geniş interfoliküler alanlar seçilir	İnterfoliküler alanlar kompresedir

Bazı vakalarda neoplastik foliküllerin çevresinde mantle zonları izlenebilir. Bazende folikülün dış zonundaki hücrelerin nükleusları marjinal zon veya monositoid B hücrelerinin nükleuslarına benzeyebilir ancak daha bol soluk sitoplazmaya sahiptirler. Bu hücreler foliküllerin etrafını marjinal zon gibi çevreleyip, interfoliküler ve perisinüzoidal yayılım gösterebilirler. Bu morfolojinin ENMZL'nın nodal tutulumu veya NMZL'dan ayrımı zordur. Bu durum kompozit iki lenfomadan ziyade intratümöral farklılaşma olarak kabul edilmektedir. MZ farklılaşmau gösteren FL'da, MZ B hücreleri neoplastik foliküller ile aynı genetik anomalileri taşırlar.

Subkapsüler ve medüller sinüsler genellikle obliteredir. Ekstrakapsüler yayılım sıktır ve kapsül intratümöral konsantrik parallel fibröz bantlar şeklinde izlenebilir.

Çoğu vakada neoplastik foliküller sıkıca biraraya gelir ve aralarında normal T hücre zonu izlenmez. Interfoliküler bölgede çok sayıda yüksek endotelli venüller (high endotelyal venül) ve neoplastik sentrositler bulunur ancak plazma hücreleri nadiren saptanır.Seyrek vakalarda interfoliküler tutulum baskın olabilir.

Sklerozis sıktır ve foliküllerin çevresinde, diffüz alanlarda ve daha nadir olarak foliküllerin içinde izlenebilir. Sklerozis infiltasyonun daha diffüz olmaya başladığı alanlarda daha sık izlenir. Böylece FL'yı diffüz veya foliküler hiperplaziden ayırmada yardımcı olabilir. Sklerozisin izlendiği diffüz alanlarda neoplastik sentrositler fibroblast benzeri iğsi morfolojide izlenebilir.

Nadir bazı vakalarda foliküllerin merkezinde, amorf, eozinofilik, ekstraselüler, PAS pozitif materyal birikir. Bu materyalin özelliği net bilinmemektedir. Reaktif foliküllerde izlenmeyen bu materyal, tanısal anlamı olmamakla birlikte folikülün neoplastik olduğu konusunda ipucu olarak kullanılabilir.

FL'da vasküler invazyon sıktır. Hem LN içindeki, hem de perikapsüler venlerde izlenebilir. Neoplastik sentrositler venlerin duvarını infiltre edip, intima tabakasında toplanır. Vasküler invazyon FL'yı reaktif foliküler hiperplaziden ayırmada yardımcı bir bulgudur. Nadiren bu infiltrasyonun sonucu olarak LN total infarkta gidebilir. Bu LN'lerinde ekstranodal alanların dikkatli incelenmesi, retikülin boyası ile LN'deki foliküler paternin görülmesi, infarkt alanında Ig gen rearanjmanının saptanması ve seçilebilen sağlıklı hücrelerde immünhistokimyasal CD45 ve CD20 ifadesinin görülmesi FL tanısını doğrulayabilir.

2.10.6.1. FL'daki Diffüz Alanlar

FL'da neoplastik folikül içermeyen ancak neoplastik foliküllerdeki hücrelerin karışımından oluşan diffüz alanlar bulunabilir. Neoplastik hücrelerin interfoliküler infiltrasyonu diffüz patern anlamına gelmemektedir. Diffüz alanların prognostik önemi tartışmalıdır. Düşük dereceli FL'larda diffüz alanların prognostik önemi yokken, sentroblastların baskın olduğu(grade 3) vakalarda diffüz alanların varlığı DLBCL anlamına gelir.

2.10.6.2. Diffüz Foliküler Lenfoma

Nadiren FL'da pür diffüz patern izlenir. Bu vakaların bir kısmının, yetersiz örneklenen, odaksal foliküler alanları bu nedenle görülemeyen vakalar olduğu düşünülmektedir. DSÖ sınıflamasında diffüz FL, sentrosit ve sentroblastlardan oluşan, sentrositlerin baskın olduğu(Grade1-2) diffüz lenfoma olarak tariflenmektedir.

Diffüz bir lenfoma, >15 sentroblast/BBA oranında büyük folikül merkez hücreleri içeriyorsa(Grade 3), DLBCL olarak sınıflanmalıdır.

Diffüz FL tanısı, diğer diffüz lenfomalar dışlanarak verilmelidir. Immünhistokimyasal olarak bütün küçük ve büyük lenfositlerin CD20 pozitif B lenfositler olduğu görülmeli(T hücrelerinden zengin B hücreli lenfomayı dışlar) ve immünfenotip FL'ya uymalıdır(CD10, BCL6, BCL2 pozitif; CD5, CD43, BCL1 negatif). Eğer mümkünse BCL2 düzenlenmesi bakılması tanıyı destekler. Ancak baskın olarak diffüz paternin izlendiği FL'larda BCL2 rearanjman kaybının olduğu, erken dönemlerde 1p36 delesyonunun saptanabileceği akılda tutulmalıdır.

2.10.6.3. Parsiyel Nodal Tutulum

Nodal yapının parsiyel olarak tutulduğu ve arada kalıntı rekatif GM'lerin izlendiği vakalar görülebilir. Bu vakalar tanı anında daha düşük evre göstermektedir. Bazı vakalarda da geniş aralıklar ile yerleşmiş monomorfik foliküller, normal interfoliküler aralık ile birbirinden ayrılabilir ve neoplastik hücrelerin ekstrafoliküler yayılımı olmayabilir. Bu durum reaktif foliküllerin neoplastik hücreler ile kolonizasyonunu yansıtır. Bu patern aşikar FL olan LN'de görülebileceği gibi, çevre LN'lerinde yada nadiren aşikar lenfoması olmayan vakalarda da(in situ FL) izlenebilir.

2.10.7. LN Dışındaki Alanlarda Tutulum

2.10.7.1. Dalak

FL'nın dalak tutulumu, tipik olarak beyaz pulpanın uniform genişlemesi ile karakterizedir. Hem makroskopik hem de küçük büyütmede olarak reaktif hiperplazi ile karışır. Beyaz pulpadaki foliküller sayıca ve boyutca artmıştır ve sentrosit ve sentroblastlardan oluşan monomorfik hücrelerle infiltredir. Marjinal zon korunmuş olabilir ve FL'yı SMZL'dan ayırmada güçlüğe sebep olabilir. Kırmızı pulpa tipik olarak çok sayıda küçük folikül içerir ancak diffüz kırmızı pulpa tutulumu beklenmez.

2.10.7.2. Kemik İliği

Ki tutulumu kemik trabeküllerini saran büyük, nodüler infiltrasyonlar şeklindedir. Her ne kadar reaktif foliküllerin intertrabeküler yerleşimli olması, paratrabeküler yerleşmemeleri beklense de reaktif foliküller ayırıcı tanıda ilk sırayı alır(57, 58). Büyük neoplastik popülasyonun kemik trabekülünü sarması FL için önemli bir özelliktir. Kİ'deki infiltrat, genellikle baskın olarak sentrositlerden oluşur ve az miktarda sentroblast içerir. Kİ'de izlenen morfoloji LN'de görülen ile aynı olmayabilir. Bu nedenle Kİ'deki morfolojiye bakılarak FL'nın alt tipleri ve grade tanımlanmamalıdır.

2.10.7.3. Periferik Kan

Çoğu hastada lenfositoz olmaksızın dolaşımda az sayıda neoplastik lenfosit bulunur ve bunlar akım sitometrik veya moleküler incelemeler ile saptanabilir. %10 vakada dolaşımdaki neoplastik sentrositlerin sebep olduğu lenfositoz izlenir ve bu hücreler normal lenfositten daha büyük ve çentiklü nükleuslu hücrelerdir. PB yaymalarında izlenen sitomorfoloji MCL ve bazı KLL/SLL vakalarında izlenen ile aynıdır. LN eksizyonu ve immünfenotipik inceleme doğru subklasifikasyonu yapmak için gereklidir.

2.10.8. Histolojik Transformasyon

FL'da grade artışı, 'histolojik transformasyon' olarak değil 'histolojik progresyon' olarak değerlendirilmektedir. Histolojik transformasyon hem neoplastik hücrelerin morfolojisinde, hem de arşitektürel paterndeki değişikliktir. Agresif lenfomalara transformasyon gibi klinik önemi olan bir durum değildir.

Transformasyon risk faktörlerini belirlemek zordur çünkü hastalara tekrar tadavi verilirken yeniden biyopsi yapılmamaktadır. Değişik kaynaklarda transformasyon oranları %10-70 arasında değişmektedir(2, 3, 59).

Transformasyon mekanizmalarına bakıldığında, hücre siklus kontrolü(CDKN2A'da mutasyon veya delesyonlar, MYC değişiklikleri), DNA hasar cevabındaki bozuklukluklar(p53 ve/veya CDKN2A kaybı), HLA sınıf 1'in özellikle B-2 Mikroglobulin bölgesinde meydana gelen kayıplar ve hücrede kompleman ilişkili yanıtın kontrolünden sorumlu CD58'de oluşan mutasyonlar yer almaktadır. Ayrıca gen ifade profili çalışmalarında mikroçevrenin hem hastalık ilerlemesi hem deagresif lenfomayadönüşümünde (transformasyon) etkili olduğu saptanmıştır(60).

Transformasyon sıklıkla DLBCL'ya olmakta, neoplastik hücreler sıklıkla sentroblastik, nadiren de CD30 pozitif anaplastik morfolojide görülmektedir. Burkitt lenfoma benzeri yüksek dereceli lenfomaya(gri zon lenfoma) veya öncü B Hücreli Lenfoblastik Lösemi/Lenfoma'ya transforme olan vakalar bildirilmiştir. Yüksek gradeli tümörler tipik olarak önceki FL klonu ile ilişkilidir.

Doku tanısı olmayan vakalarda transformasyon; hızla artan LDH değerleri, LN'larının hızlı büyümesi, performans durumunda hızlı kötüleşme, yeni gelişen B semptomları veya hiperkalsemi ve yeni ekstranodal tutulum alanlarının ortaya çıkması şeklindeki klinik bulgular ile akla gelmelidir(60).

Hodgkin Lenfoma'nın öncesinde, eşzamanlı veya sonrasında FL gelişebilir. Aynı hastada hem Hodgkin, hem de FL görülebilir. Her iki tümörde de IGH ve BCL2 gen rearanjmanı olması nedeni ile FL öyküsü olan vakalarda histiyositik-dentritik hücreli tümörler gelişebilmektedir.

2.10.9. Immünfenotip

FL B hücreleri, pan-B antijenlerini ve yüzey Ig ifade ederler. Hafif zincir restriksiyonu gösterirler. %50'den fazla vakada yüzey Ig'i μu ağır zinciri iken; α, γ, δ ağır zincirleride nadiren ifade olabilir. Diğer düşük dereceli lenfomalar ile karşılaştırıldığında, ağır zincir sınıf değişimi GM kökeni nedeni ile FL'da daha yüksek oranda tespit edilir. Çoğu vakada GM belirteci olan CD10 ifadesi görülür. CD10 reaktif bir GM ile kıyaslandığında neoplastik foliküllerde daha güçlü ifade olmaktadır. Neoplastik lenfositler aynı zamanda BCL6'da ifade ederler. Normal bir GM'de neredeyse tüm hücreler BCL6 pozitif iken, FL'nın neoplastik foliküllerinde daha az sayıda BCL6 ifade eden hücre görülür. Hem CD10, hem de BCL6 marjinal zon alanlarında ve interfoliküler neoplastik hücrelerde downregüle olur. GCET1(sentrin) yeni bir GM belirteci olup, diğer GM kökenli lenfomalarda olduğu gibi FL'da da ifadesi saptanmış bir belirteçtir(61).GCET2 diğer ismi ile HGAL'de FL'da CD10 veya BCL6 İfade kaybı durumunda %12 oranında pozitivitesi izlenen ve tanıda umut vaat eden bir belirteçtir. Yeni bir GM belirteci olan LMO2'nin FL ve MZL ayrımında kullanılabilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada FL vakalarının%65'inde, MZL vakalarının ise %9'unda pozitiflik saptanmıştır(62).

Mikrotübül hareketlerinin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan intraselüler bir protein olan onkoprotein 18, diğer ismi ile STMN1(Stathmin) GM ve FL hücrelerinde ifadesi ortaya konmuş yeni bir belirteçtir(63-65).

FL tipik olarak CD5 ve CD43 negatiftir. Nadir CD5 pozitif vakalar izlenebilir(66). CD43 ifadesi gösteren vakaların çoğu grade 3'tür. MUM1/IRF4 ifadesi beklenmez. Ancak Grade 3 FL vakalarda CD10 ve BCL6 ifade kaybı ile birlikte, MUM1/IRF4 ifadesi bildirilmektedir. Neoplastik hücreler tipik olarak CD95/fas proteinini ifade ederler. Aynı zamanda CD80, CD86 ve CD40 kositimülatör proteinlerinin ifadesi da izlenir.

%75 vakada BCL2 ifadesi saptanır. BCL2 ifadesi grade 1,2 vakalarda %85-97 oranında iken, garde 3 vakalarda %50-75 oranındadır. BCL2 ifadesi, BCL2 translokasyonunun güçlü bir göstergesidir.Ancak FL'ların bir kısmında proteinde meydana gelen mutasyon nedeni ile yalancı negatif sonuçlar görülebilir.

Neoplastik foliküller GM mikroçevresinin elemanlarını içerirler. Vakadan vakaya değişmekle birlikte genellikle CD21 ve CD23 ile FDRC ağı izlenir. Diffüz alanlarda FDRC ağının bulunmaması ile geniş düzensiztopluluklar halinde FDRC ağının bulunmasını beklediğimiz MCL ve MZL'dan ayrılabilir. Neoplastik foliküllerde, foliküler tip T hücreler (CD3, CD4, CD57, PD1, CXCL13 pozitif) saptanır. Ancak bu T hücreler reaktif foliküllerde görmeyi beklediğimiz kadar çok sayıda değildir ve normalde mantle zon bileşkesindeki kresentrik yerleşimlerinden çok folikül içinde rastgele dağılmış olarak bulunurlar. Neoplastik foliküllerde çok sayıda FoxP3 pozitif T regülatuar hücreler ve CD68 pozitif histiyositler izlenir.

Kİ67 çoğalma indeksi, düşük dereceli FL vakalarında %15'den daha az iken, grade 3 vakalarda genellikle %40'ın üzerindedir.

2.10.10. Genetik Özellikler

2.10.10.1. Antijen Reseptör Genleri

Ig ağır ve hafif zincir genlerinde klonal rearanjman ve normal GM hücrelerine benzer şekilde somatik hipermutasyon izlenir. Somatik hipermutasyon paterninde de intraklonal varyasyonlar izlenir ki buda normal GM hücrelerinde izlendiği gibi mutasyonların devam ettiği anlamına gelir. Vakaların %40'ında ağır zincirlerde sınıf değişimi saptanır. Bazı vakalarda aynı tümörde hem IgM, hem de IgG ifade eden klonlar saptanabilir. Bu durum somatik hipermutasyon mekanizmasının olduğu gibi sınıf değişimi sürecininde lenfomalarda aktif bir süreç olduğunun göstergesidir. Aynı hastadan birbirini takip eden biyopsiler alındığındaneoplastik klonların uzun yıllar bulunduğu, zaman içerisinde bazı klonlarda azalma ve bazılarında dominans izlendiği ancak somatic mutasyon oranında artışın bulunmadığı görülmüştür. Bu da klonal gelişimden ziyade klonal seleksiyon olduğunu düşündürmektedir.

FL büyük B hücreli lenfomaya transforme olabilir. Bu durumda her iki neoplazide de benzer VDJ gen rearanjmanı görülür.

2.10.10.2.Sitogenetik Anomaliler ve Onkogenler

Sitogenetik Anomaliler: En sık izlenen(%60-90) sitogenetik anomali t(14;18)'dir.(63) 14. Kromozomdaki BCL2 geni ile 18. Kromozomdaki IGH promoter gen füzyonu gerçekleşir ve antiapopitotik olan BCL2'nin artmış ifadesi gerçekleşir. Nadir vakalarda t(2;18)(p12;q21) saptanırki BCL2 ile 2. Kromozomdaki hafif zincir gen bölgesi füzyona uğrar. 17p anomalisi, p53 değişimini yansıtır ve kötü prognoz ve transformasyon ile ilişkilidir. 6q23-36'da izlenen anomaliler ikinci en sık izlenen anomalidir ve tüm B hücreli lenfomalarda %10-40 oranında saptanır. 6q21, 6q23 ve 6q25-27 bölgelerinde meydana gelen delesyonlar, 3 tümör süpresör geni ilgilendirmektedir. 9p'deki delesyonlar ve diğer değişiklikler p15 ve p16 gen lokuslarını içerir ve FL'da DLBCL'ya transformasyon ile ilişkilidir.

Farklı gradelerdeki FL'ların genetik özelliklerini yansıtan çalışmalarda FL Grade 3B'nin moleküler özelliklerinin daha çok DLBCL'ya benzediğini göstermiştir.

Onkogenler: BCL2; t(14;18) nedeni ile BCL2 proteini yapımında artış izlenmektedir. Bu translokasyon olgunlaşmanın erken dönemlerinde, Ig gen rearanjmanı sırasında gerçekleşmektedir. Normalde BCL2, kortikal timositler, monositoid B hücreler ve GM dışındaki B ve T lenfositlerde izlenmektedir. BCL2 artmış ifadesi antiapopitotik etki gösterip, hücrelerde sağkalımı desteklemektedir. Ancak sadece BCL2 rearanjmanı FL gelişimi için yeterli değildir. Ek genetik anomaliler ya da olası bir proliferatif uyarı süreçi için gereklidir.

BCL6; zinc finger transkripsiyonel reseptör genidir. %10-15 oranında izlenen3q27 ile ilgili translokasyon BCL6 rearanjmanına sebep olur. GM reaksiyonu sırasında hücre değişimi ve çoğalmasını kontrol edengenlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinden sorumludur.Normalde GM B hücrelerinde, az miktarda da intra ve interfoliküler CD4 pozitif T lenfositlerde ifade olmaktadır. Meydana gelen mutasyon ile BCL6'da geninde inaktivasyon gerçekleşir ve hücreler GM aşamasında duraklar. Bu dönemde hücre olgunlaşmasının duraklaması hızlı çoğalma nedeni ile tehlikelidir. Gelişen yeni anomaliler ile hücreler neoplastik özellik kazanmaktadır.

MYC; nadir vakalar tanı sırasında hem BCL2, hem de MYC rearanjmanı taşırlar(double hit). Bir grupta da MYC rearanjmanı transformasyon aşamasında izlenmektedir.

Gen ifade Profili: DNA microarray analiz sonuçlarına göre FL'nın gen ifadeprofili normal GM ile benzerdir. FL'da aktive olan genler BCL2, CDK10, p21CIP1, p16INK4A, PAX5 ve IL4R'dir. inaktive olanlar ise MRP8, MRP14 ve CD40'tır. GM mikroçevresi ile ilişkili genler de ifade edilmektedir. Bu genlerin makrofajlar- monosit ifadesiolanlarının aktif bulunması klinik agresif gidiş ile ilişkili bulunmuştur(3).

2.10.11. Varsayılan Normal Eşdeğeri

GM B hücreleri olan sentrositlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Neoplastik hücreler BCL2 rearanjmanı nedeni ile apopitozisden korunmaktadır. Aynı zamanda T hücreleri ve FDRC ile olan bağlantılarını sürdürdükleri için neoplastik foliküller şeklinde organizasyon görülmektedir.

2.10.12. Klinik Seyir

FL sıklıkla indolent seyreden bir neoplazidir ve beklenen yaşam süresi ortalama 10 yıldan fazladır. Düşük dereceli FL'larda toplam sağkalım agresif tedavi ile değişmemektedir. Grade 3 FL'lar klinik gidiş bakımından DLBCL'lara benzemektedir ve beklenen yaşam süresi kısadır. Ancak agresif kemoterapiler ile bu süre uzamakta ve bazı hastalarda küratif olmaktadır. Tümüyle foliküler yapılanma gösteren Grade 3A vakaların klinik seyrinin Grade 3B vakalardan farklı olmasının nedeni halen net anlaşılamamıştır.

2.10.13. Tedavi

Lokalize hastalığı olan Evre Ivakalarda hastalıksız sağ kalım eksizyon yada lokal TR'den sonra oldukça uzundur. Tipik ileri evre hastalar, semptomları tedaviyi gerektirmediği sürece klinik olarak izlenebilirler. FL herhangi bir tip tedaviye oldukça iyi yanıt verir ancak zaman içinde direnç gelişir ve hastalar kaybedilir. Agresif kombine KT'ler ile tedavi edilen hastalar daha uzun süre hastalıksız sağ kalım oranları gösterirler. Monoklonal anti-CD20 tedavileri(rituximab) ile daha iyi yanıtlar ve daha uzun sağ kalım sağlanabilmektedir.

2.10.14. Prognoz ve Prediktif Faktörler

2.10.14.1. Klinik Faktörler

İleri klinik evre ve FLIPI'ya göre kötü prognostik faktörler (>60 yaş, stage III/IV hastalık, 4 nodal alandan fazla tutulum, serum LDH yüksekliği, hemoglobulin düzryinin <12olması) bu özellikleri taşımayan tipi vakalara göre çok daha kısa survivala sahiptirler.

2.10.14.2. Histolojik Grade

Büyük hücrelerin oranı klinik agresif gidiş ile ilişkilidir. Grade 1 ve 2 arasında anlamlı survival farkı izlenmezken, grade 3 vakalarda daha agresif bir klinik gidiş izlenir. DLBCL gibi kombine KT'ler ile tedavi edilen Grade 3 vakalarda, DLBCL'dan daha iyi prognoz izlenmiş, ancak hastalarda daha kısa sürede relaps saptanmıştır.

2.10.14.3. Diffüz Alanlar

Düşük dereceli vakalardaki diffüz alanların survivala etkisi tartışmalıdır. Grade 3 FL'larda düşük derecelilere göre daha sık diffüz alan izlenmektedir. Birçok

araştırıcı bu alanların kötü prognoz ile ilişkili olduğunu düşünse de, prognostik önemi olmadığını ortaya koyan çalışmalarda mevcuttur.

DSÖ Klinik Danışma Komitesi, patoloji raporunda foliküler ve diffüz alanların oranının verilmesini önermektedir. Bu oran Grade 1 ve 2 vakalarda klinik yaklaşımı değiştirmemektedir. BBA'da 15 sentroblastın(FL Grade 3) izlendiği diffüz odaklar ise DLBCL olarak kabul edilmektedir.

2.10.15. Histolojik Transformasyon

DLBCL, Burkitt lenfoma veya B Hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi'ye transformasyon hızlı klinik progresif gidiş ve tedaviye direnç şeklinde bulgu vermektedir. CD5 ifadesi gösteren vakaların daha yüksek transformasyon oranı, yüksek IPI ve daha kısa progresyonsuz sağkalıma sahip olduklarını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Yeni çalışmalarda transforme FL vakalarının transformasyon izlenmeyen vakalar ile benzer oranda ölüm riski taşıdığı saptanmıştır.

2.11. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNHİSTOKİMYASALBELİRTEÇLER

2.11.1. Myeloid Cell Nuclear Differantation Antigen (MNDA)

Kromozom 1q22'de lokalize, MNDA geni tarafından kodlanan 55kDa'luk nükleer bir proteindir. Interferon-regulated 200 family of genes(HIN-200) ailesinin bir üyesidir. Proteinin 200aminoasitlik bir kısmı vardır ve bu kısım diğer transkripsiyon düzenleyici proteinler ile etkileşir ve ınterferon-δ'yı kontrol eder(67, 68). MNDA, tonsil ve dalakta MZ hücrelerinde; kemik iliğinde myeloid hücreler, makrofajlar ve monositlerde; periferik kanda granülosit ve monositlerde

ifade edilir. Lenf nodülünde MZ hücrelerinde ifade edilirken GM'lerde, reaktif monositoid B hücrelerde ve plazma hücrelerinde ifadesi izlenmez. Double floresan teknikler ile MNDA ifade eden hücrelerin CD3(-), CD20(+), IGM(+), IGD(-), CD27(+) MZ hücreleri ve az miktarda da CD3(-), CD20(+), IgM(+), IgD(+) ve CD27(-) mantle zon hücreleri oldukları saptanmıştır. GM'lerde immunglobulin genlerinde somatik hipermutasyon ve izotip sınıf değişiminden sorumlu bir enzim olan AID ile ilişkisine bakıldığında ise dalak ve reaktif mezenterik LN'lerinde AID (-) MZ hücrelerinde MNDA ifadesi izlenmektedir(68-70). Neoplastik süreçlerdeki ifadesine bakıldığında ise normal ifade profiline uygun şekilde, myelomonositik lösemi hücrelerinde, marjinal zon lenfomalarda ifadesi izlenirken; bazı KLL/SLL, özellikle CD38 ifadesi göstermeyen vakalarda iyi prognoz ile ilişkili olduğu, MCL, LPL, DLBCL vakalarında da nükleer ifadesi saptanmıştır(68, 71).

2.11.2. Immune Receptor Translocation-Associated Protein 1 (IRTA1)

IRTA1 ve IRTA2 (immunoglobulin superfamily receptortranslocation-associated 1 ve 2) lmmünglobulin reseptör süperailesine ait yeni üyelerdir ve 1q21 bölgesinde yer almaktadırlar. B hücreli malignitelerde bu lokusda mutasyonlar izlenmekte ve bunun sonucunda IRTA2'de geninde kontrolün bozulması (Burkitt Lenfoma) gelişirken, IRTA1'de Ig c-alfa kısmı ile translokasyon sonucu IRTA1/C-alfa protein kısmının sebep olduğu kimerik bir füzyon proteini ifade olmaktadır.

IRTA gen lokusunda yer alan 5 yeni gen: IRTA1-IRTA5'dir. Tüm IRTA reseptörleri, multipl Ig ilişkili ekstraselüler kısımlar, bir transmembran kısmı ve multipl ITIM (immünreseptör tirozin bazlı inhibitör motif) ve ITAM (immünreseptör tirozin bazlı aktivatör motif) benzeri motifler içeren interselüler kısımlar içerirler.

IRTA1-IRTA5 (Fc reseptör homolog 1-5);

Fc reseptörleri gibi B hücre ilişkili immün yanıtta

Insülin reseptör substrat ve CAM ailesi üyeleri gibi intersellüler haberleşmede

CAM aile üyeleri gibi hücre göçünde rol oynarlar(72).

IRTA1 515 aa.lik ve 55.7 kd'luk bir proteini kodlar. Bu protein sinyal proteinidir. Dört ekstaselüler C2 tip immünglobulin domaini,transmembran kısım ve üç immün reseptör tirosin bazlı inhibisyon motifi içeren sitoplazmik kısım'a sahiptir. Ekstraselüler domaini Ig süpergen ailesi reseptörlerine ve Fc reseptör ailesine homologtur. Intraselüler domaini PECAM1'e (=CD31) homologtur. Tonsilde epitel altındaki ve içindeki lenfositlerde, Peyer plaklarının üzerindeki epitelde, LN'de, mantle zon dışındaki az sayıdaki B lenfositlerde, monositoid B hücrelerde, endotel ve sinus epitelinde ifade edilir. MALT'da izlenen bu ifadeden farklı olarak dalakda ve mezenterik LN'lerinde MZ'da cok seyrek IRTA1 ifade eden hücre saptanmıştır. Kemik iliğindeki normal gen ifadesineait net bilgi bulunmamaktadır(19, 73, 74).

2.11.3. CD27

CD27 geni tarafından kodlanan, 55kDa'luk, tümör nekrozis faktör reseptör(TNF reseptörü) ailesinin bir üyesidir. CD27'nin ligandı olan CD70 ile bağlanması sonucu B lenfositlerden IGG ve IGM salınımı uyarılmaktadır(75).

Bu aile ve ligandları immün cevabın gerçekleştirilmesinde görevlidir. Reseptör/ligand ilişkisi ile B ve T lenfositlerde survival, çoğalma ve farklılaşmakontrol edilir. CD27'de B, T, NK hücrelerde ve plazma hücrelerindeifade edilmektedir.(21)İnsan B lenfositlerinde CD27, GM'de ve PB'daki hafıza B lenfositleri de içeren bir kısım B hücrelerde ifade edilmektedir. CD70, aktive T lenfositlerde ifade edilen bir belirteçtir ve CD27/CD70 bağlanması ile gerçekleşen B ve T hücre etkileşimi ile plazma hücre farklılaşması ve Ig salınması uyarılmaktadır. CD27 hem bir transmembran proteini, hem de serumda çözünür halde bulunabilen bir proteindir. Çözünmüş protein kan konsantrasyonu, AIDS, multipl sklerozis ve SLE gibi immün aktivasyon durumlar ile ilişkili olduğu gibi, CD27 ifadesinin izlendiği bazı lenfomalarda kan seviyesi ile tedavi takibi yapılabileceğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır(76-78).

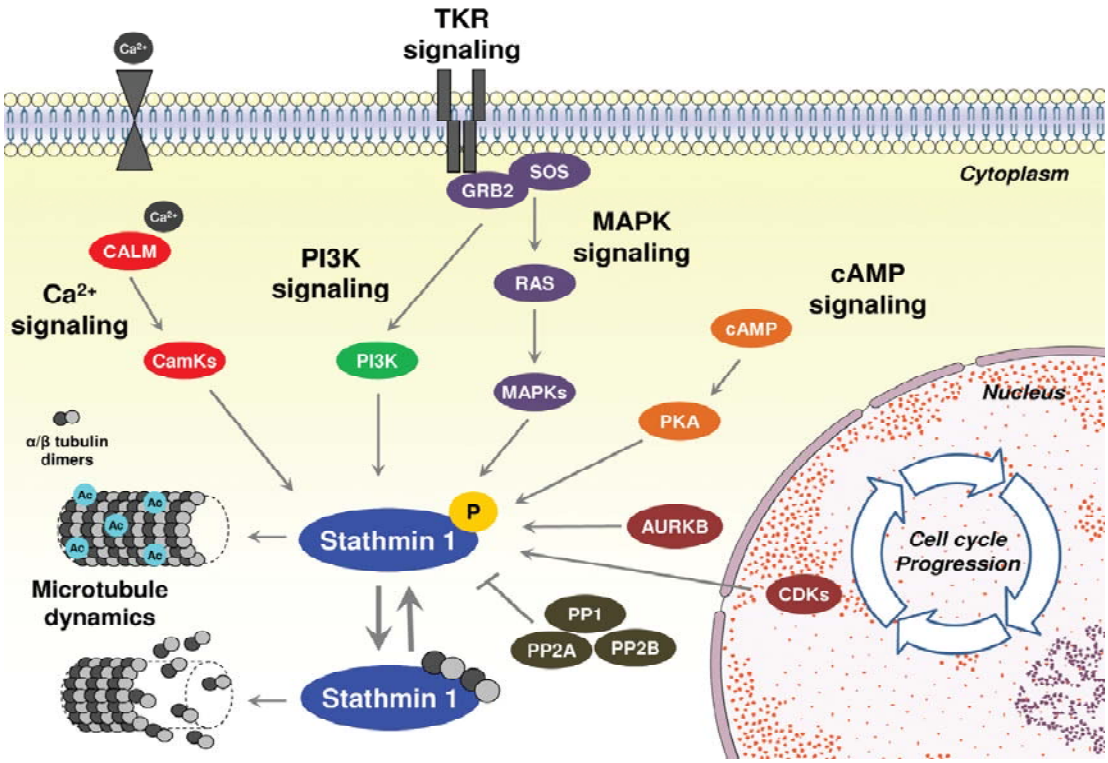
T hücrelerinin antijen spesifik toksisistesi CD8(+) sitotoksik T lenfositler ile antijen sunan dentritik hücrelerin bağlanması ile başlar. Bu bağlanmada sadece TLR değil, aynı zamanda CD28/B7, CD40L/CD40 ve CD27/CD70 bağlanmaları ve bunların kositümülatör etkisi de gereklidir. CD70'in reseptörü olan CD27'ye bağlanması ile CD8 (+) T lenfositlerin çoğalması, hücrelerin yaşamda kalması ve hafıza hücrelerine dönüşümleri uyarılmaktadır(79).

CD27 ifadesi ile insanda PB'da 2 farklı B hücre alttipi ayırt edilebilir. İlki CD27(+) ve IG V genlerinde somatik hipermutasyon gösteren hafıza B hücreleri, diğeri ise CD27(-) naive B hücreleridir. Hafıza B hücrelerinin bir kısmını oluşturan ve izotip değişimigerçekleştirmiş IgM (+), IgD(+), CD27(+) B hücreler, dalakta ve diğer lenfoid organlardaki marjinal zon hücreleri ile benzer fenotipi sergilerler(80).

CD27, tonsilde GM ve MZ hücrelerinde ifade edilirken, naive hücrelerde ifadesi izlenmemektedir.SMZL vakalarında Kİ ve dalakta neoplastik hücrelerin CD27 ifadesinin incelendiği bir çalışmada, intrasinüzoidal yerleşimli lenfositlerde CD27 ifadesi izlenmezken, nodüler infiltrasyon alanlarında neoplastik lenfositlerin CD27 ifade ettikleri saptanmıştır(81).

2.11.4. Stathmin-1

Stathmin-1, diğer adı ile Onkoprotein 18, 18kDa'luk Statmin ailesine üye sitoplazmik bir proteindir. Bu ailenin tüm üyeleri gibi Stathmin-1'in deN-terminal bölgesinde 4 adet serin fosforilasyon alanı olan bir domaini ve tübülin-bağlayıcı domaini vardır. Stathmin-1, mikrotübül destabilizasyonundan sorumludur. Mikrotübüller α/β tübülin heterodimerlerinden oluşurlar ve intraselüler transport, hücre motilitesi ve polaritede görevlidirler. Stathmin 1'in sinyal yolağı şekil 4.4'de özetlenmektedir.



Şekil 2.12. Stathmin 1 Sinyal Yolağı(64)

Normal lenfoid dokudaki ifadesinibakıldığında, tonsil ve lenf nodülünde GM'de özellikle Pax-5 ifadesi gösteren hücrelerin güçlü Statmin-1 ifadesi da gösterdikleri saptanmıştır. Aynı zamanda T hücrelerinin arasında da az sayıda Statmin-1 ifade eden hücre görülmüştür. Buna karşılık mantle zon ve plazma hücrelerinde ifade izlenmemiştir(63).Kİ'de MPO (+)olgunlaşmamış myeloid hücrelerde, CD71 (+) eritroid seri öncüllerinde ve megakaryositlerde ifade izlenmektedir(63, 64).

İmmünhistokimyasal olarak Stathmin 1'in normal lenfoid dokudan çok neoplastik lenfoid dokuda artan ifadesi saptanmıştır(82).Daha sonra akut lösemilerde tespit edilmiştir. Ayrıca MDS'li vakalarda kemik iliğinde yüksek orandaki ifadesi, yüksek riskli hastalık ile ilişkili bulunmuştur (83). Son dönemde, düşük dereceli B hücreli lenfoma ayırıcı tanısında FL'ya spesifik bir belirteç olduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır(63).

2.11.5. Lymphoid enhancer binding factor-1 (LEF-1)

Lenfositlerde çoğalma ve hayatta kalmayı kontrol eden WNT/B-Kathenin yolağında yer alan, LEF-1 geni tarafından kodlanan nükleer birtranskripsiyon faktörüdür. Bu yolağın son mediatörü olan LEF/TCF ve B-Kathenin birlikte çalışarak WNT'nin hedefi olan çok sayıda transkripsiyon faktörünü regüle ederler.LEF1, TCF1, TCF3 ve TCF4 gibi LEF/TCF ailesinin bir üyesidir. Normalde T ve Pro-B lenfositlerde ifade edilirken, olgun B hücrelerinde ifadesi izlenmez. LEF1 defekti olan farelerde Pro-B lenfosit aşamasında survival ve çoğalmada defekt izlenmektedir(84-87).

Normal lenfoid dokuda parakortikal alandaki ve GM'deki T lenfositlerde yaygın ifadesi izlenir. Ayrıca endotelde de ifade görülebilir. CD20 ile çiftli immunboyama yapıldığında, GM'deaz sayıda zayıf LEF-1 ifade eden Blenfositsaptanabilir(84).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. OLGU SEÇİMİ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 2005-2014 yılları arasında tanı almış tüm düşük dereceli olgun B hücreli lenfomalar bilgisayar kayıtlı arşiv sistemi tarafından taranmıştır. Bu vakalar içerisinden, morfolojikolarak plazma hücre farklılaşması gösteren veya plazma hücrelerinin değişik derecelerde eşlik ettiği,immünhistokimyasal çalışmalar için tespiti ve takibi uygun, yeterli dokusu bulunanve immünhistokimyasal olarak CD38/CD138, Kappa, Lambda ifadesi saptanan111 vaka çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil olan 111 hastaya ait farklı ilk tanı veya evreleme amaçlı incelenen tedavi öncesi döneme ait, toplam 152 doku değerlendirmeye alınmıştır.Vakaların ilk tanı gruplarına göre dağılımında patoloji raporlarında verilmiş mevcut tanıları temel alınmıştır. Daha sonra tüm örnekler yeniden tez öğrencisi ve tez hocası iki patolog (Dr. Hale Kıvrak ve Dr. Işınsu Kuzu) tarafından mikroskopik değerlendirilmiş ve yeniden sınıflandırılmıştır. Marjinal zon lenfoma olarak tanı almış ve daha fazla spesifiye edilememiş vakalar Marjinal Zon Lenfoma,Sınıflandırılamayan (MZL, NOS), tanı grubunda, yoğun plazma hücreleri bulunduran ve ‘plazma hücre farklılaşması gösteren B lenfoproliferatif hastalık’tanısı almış olgular PHDGBL grubu olarak ve net bir ayırıma varılamayan, kesin alt tiplendirme yapılmamış vakalar ise ARA VAKALAR olarak gruplanmıştır.

MZL-NOS, PHDGL ve ARA VAKALAR grubunda yer alan hastaların klinik ve laboratuar bulguları (akım sitometrik veriler, hemogram bulguları, protein elektroforez verileri, organomegali varlığı, periferik LAP varlığı, B semptomları varlığı, kemik iliği tutulumu) bilgisayar kayıtlı arşiv sisteminden ve hasta dosyalarından taranmıştır. Mevcut morfolojik, immünhistokimyasal ve moleküler veriler, klinik bilgiler ile birlikte değerlendirilerekhasta grupları DSÖ 2008 kriterlerine göre hematoksilen&eozin (H&E) ve tanı sırasında yapılmış immünhistokimyasa boyalı kesitleri ile yeniden değerlendirilerekspesifik tanıya ulaşılabilen vakaların tanı grupları değiştirilmiştir. Mikroskopik değerlendirme

sırasında çalışma kapsamında immunhistokimyasal olarak incelenecek yeni belirteçlerin boyanacağı kesitler için uygun parafin bloklar belirlenmiştir.

3.2.İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA

Farklı tanı gruplarına ait olgularda, immünhistokimyasal yöntemlerle LEF1, MNDA, CD27, IRTA1, STATHMİN1 antikorları çalışılmıştır.

İlk olarak tonsil, aksesuar dalak, normal sınırlarda kemik iliği ve reaktif lenf nodülü kullanılarak hem antikorların optimizasyon işlemi yapılmış hem de normal dokulardaki ekspresyon alanları değerlendirilmiştir. Antikorların normal dokularda eksprese olduğu hücreler ve hücredeki boyanma lokalizasyonları dağılımları tablo 3.1'de özetlenmektedir. Literatür bilgileri eşliğinde optimizasyon gerçekleştirildikten sonra tüm çalışma vakaları tüm antikorlar ile(LEF1, MNDA, CD27, STATHMİN1 ve IRTA1) boyanarak değerlendirilmiştir

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan antikorların normal dokulardaki ifade özellikleri

ANTİKOR	LEF1	MNDA	CD27	Stathmin1	IRTA1
YER	nükleus	nükleus	sitoplazma	sitoplazma	sitoplazma
TONSİL	T lenfosit	MZ hücreleri	GM ve MZ Hücreleri	GM hücreleri	Epitel altı ve içindeki lenfositler
DALAK	T lenfosit	MZ hücreleri	GM ve MZ Hücreleri	GM hücreleri	Negatif
KEMİK İLİĞİ	T lenfosit	Myeloid seri Monosit Makrofaj	Plazma Hücreleri	Myeloid ve ertiroid öncüller	Negatif
LENF NODÜLÜ	T lenfosit	MZ hücreleri	GM ve MZ Hücreleri	GM hücreleri	MBC,Endotel ve sinüs epiteli

İmmunhistokimya işlemi için olgulara ait seçilmiş doku bloklarından 4 mikrometre kalınlığında elde edilen kesitler, pozitif elektrik yüklü lama alınmıştır. İmmunhistokimyasal boyama işlemi Ventana otomatik immün boyama cihazında (Ventana Medical Systems-Roche ABD) ile gerçekleştirilmiştir. İkincil görüntüleme basamağında MNDA, IRTA1, LEF1, CD27 antikorları için biyotin bulundurmayan

OptiView DAB IHC Detection Kit ve Stathmin1 antikoru için indirekt Strptavidin biyotin iVIEW DAB Detection Kit kullnaılmıştır. Antijen açığa çıkartma işlemleri için (retrival) CC1(EDTA, pH:8) solüsyonu, çekirdek boyaması için Mayer hematoksilen (12 dk.) kullanılmıştır. Kullanılan antikorlara ait özellikler tablo 3.2'de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. Kullanılan antikorların üretim kaynağı, özellikleri ve reaksiyon koşulları

Antijen	Antijen açığa çıkartma yöntem -süre	Antikor inkübasyon süresi	Klon	Dilüsyon	Tedarikçi
LEF1	EDTA/ 30 dk	40 dk	EPR2029Y Monoklonal	1/200	Abcam
MNDA	EDTA/ 60 dk	60 dk	253A	1/5	Prof. Dr. Miguel Piris
CD27	EDTA/ 60 dk	60 dk	137B4 Monoklonal	1/30	Acris
IRTA1	EDTA/ 60 dk	40 dk	M -IRTA1 Monoklonal	1/10	Prof. Dr. Brunangelo Falini
STATHMİN1	EDTA/ 60 dk	32 dk	poliklonal	1/250	Abcam

3.2.1. İmmünhistokimyasal Değerlendirme

Antikorların immünhistokimyasal değerlendirilmesinde daha önce Tablo 3.2'de özetlenen antikorun normal dokudaki ifadeleri ve neoplastik hücrelerde boyanmanın beklendiği hücresel lokalizasyonu göz önünde bulundurulmuştur.

LEF1 Değerlendirmesi; neoplastik lenfositlerde en az %20 oranında nükleer LEF1 ekspresyonu pozitif kabul edilmiştir. Değerlendirme öncesinde CD20 ve CD3 ile incelenen dokudaki B ve T lenfositlerin dağılım alanları kontrol edilmiş, neoplastik B hücrelerinin LEF1 pozitifliği göstermesi değerlendirmeye alınmıştır. dokuda CD3 pozitif T lenfositler iç pozitif kontrol olarak kabul edilmiştir(68, 70, 85).

MNDA Değerlendirmesi; neoplastik lenfositlerde en az %15 oranında nükleer MNDA ekspresyonu pozitif kabul edilmiştir. Değerlendirme öncesinde hem

morfolojik hem de immünhistokimyasal olarak (CD20, CD3 ve varsa IGD ve IGM ile) incelenen dokudaki B ve T lenfositlerin dağılımına ve lokalizasyonuna bakılmıştır. Dalak ve LN örnekleri için genişlemiş/neoplastik marjinal zon hücreleri, Kİ biyopsileri için myelomonositer hücrelerdeki ekspresyonu iç kontrol olarak kullanılmıştır.

CD27 Değerlendirmesi; neoplastik lenfositlerde en az %20 oranında sitoplazmik CD27 ifade etmesi pozitif kabul edilmiştir. Değerlendirme öncesinde morfolojik ve immünhistokimyasal olarak (CD3, CD20 ve varsa IGD, IGM, CD10, BCL-6, CD23 ve CD21 ile) B ve T lenfositlerin dağılımı ve GM yapıları dikkate alınmıştır. Dalak ve LN için GM B lenfositlerinde CD27 ekspresyonu iç kontrol olarak kullanılmıştır.

STATHMİN Değerlendirmesi; neoplastik lenfositlerde en az %20 oranında sitoplazmik Stathmin ekspresyonu pozitif kabul edilmiştir. Değerlendirme öncesinde morfolojik ve immünhistokimyasal olarak (CD3, CD20 ve varsa CD10, BCL-6, CD23 ve CD21 ile) B ve T lenfositlerin dağılımı ve GM yapıları değerlendirilmiştir. Dalak ve LN için GM hücreleri, Kİ için myeloid ve eritroid seri öncüllerindesitoplazmik Stathmin ekspresyonu iç kontrol olarak kullanılmıştır.

IRTA1 Değerlendirmesi; Antikoru üreten Fallini ve ekibinin önerdiği şekilde sitoplazmik ve neoplastik lenfositlerde tabakalar oluşturacak şekilde izlenen IRTA1 ekspresyonu pozitif kabul edilmiştir. Değerlendirme öncesinde morfolojik ve immünhistokimyasal olarak (CD3 ve CD20 ile) B ve T lenfositlerin dağılımı değerlendirilmiştir. LN'de mantle zon dışındaki az sayıdaki B lenfositte, monositoid B hücrelerde ve high-endotelyal venül duvarlarındaki; dalakda ve Kİ'de ise vasküler yapılarda izlenen ekspresyon iç kontrol olarak kullanılmıştır.

Tüm antikorlar için beklenmeyen boyanmalar dikkate alınmış ve iç kontrol bulunmayan veya beklenmeyen pozitif boyanma saptanan olgular için boyanmalar tekrar edilmiştir. Tekrar edilmesine rağmen pozitif iç kontrol sağlanamayan vakalar değerlendirme dışı bırakılmıştır.

3.3. İSTATISTIKSEL DEĞERLENDIRME

İstatistiksel analiz, belirteçlerin tanı gruplarındaki dağılımları üzerinden yapılmıştır. MM ve Castleman grubundaki vakaları negatif kontrol grubumuzu oluşturduğu için demografik veriler kısmında diğer vakalar ile birlikte değerlendirilmiştir ancak belirteçlerin tanısal değerlerinin araştırıldığı çapraz karşılaştırmalarda istatistiksel değerlendirmenin dışında tutulmuştur. Yine, ara vakalar olarak sınıflandırılan ve mevcut morfolojik, immünhistokimyasal, moleküler ve klinik veriler ile net tanıya ulaşılamamış vakalar da belirteçlerin tanısal değerlerini yansıtmayacağı için sadece demografik veriler kısmında istatistiksel analize dahil edilmiştir.

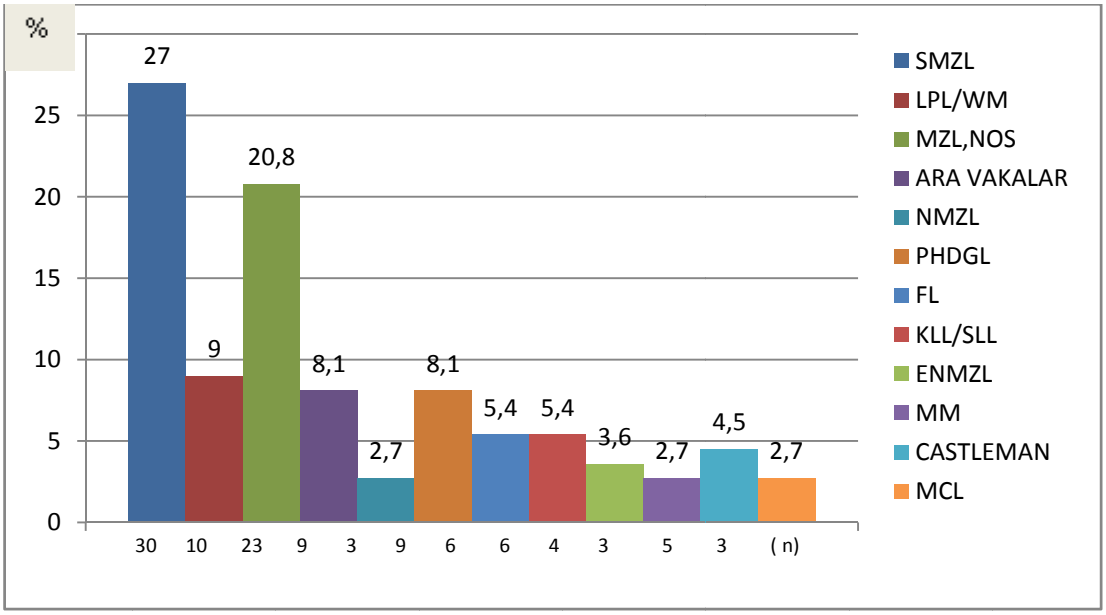
Net olarak tanı verilebilen 33 SMZL, 14 LPL/WM, 16 MZL-NOS, 10 NMZL, 6 FL, 6 KLL/SLL, 5 ENMZL ve 3 MCL vakasından oluşan toplam 93 vakaya ait, 23 dalak, 60 Kİ, 40 LN, 7 diğer doku olmak üzere toplam 130 doku, yeni belirteçlerin tanısal değerini saptamaya yönelik testlerde değerlendirmeye alınmıştır.

Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için SPSS Win. Ver. 20.0 paket program kullanılmıştır. Tüm verile için gruplar arasındaki karşılaştırmalar ‘Chi-Square’ test kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel olarak saptanan 0.05’in altındaki p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

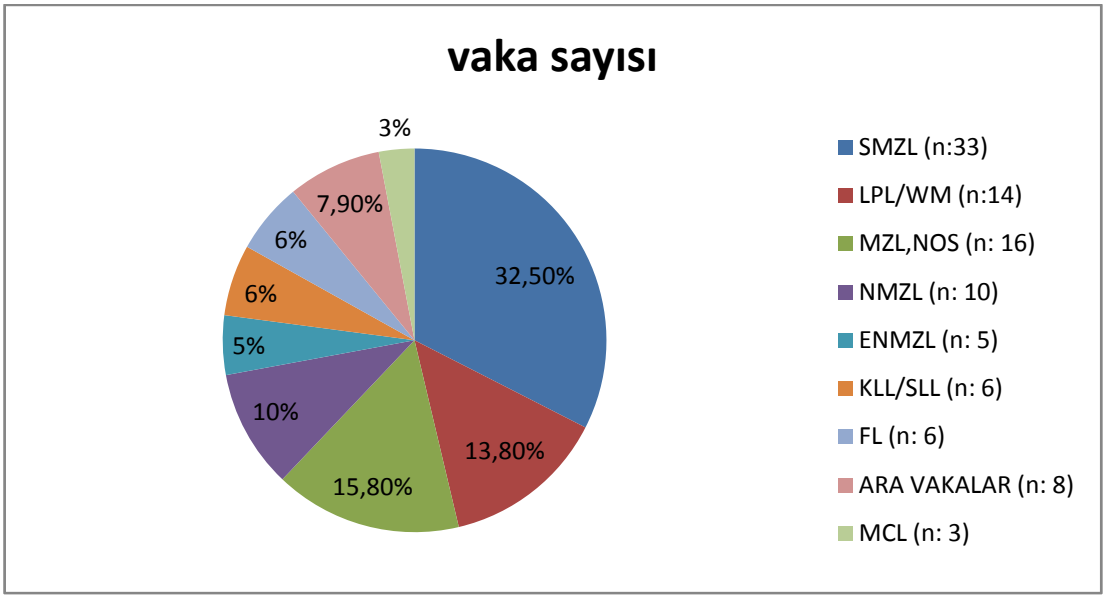
4.1. DEĞERLENDIRME AŞAMALARI

Çalışmanın ilk aşamasındaki histopatolojik değerlendirme dikkate alındığında elde edilen vaka dağılımı Şekil 4.1'deki grafikte belirtilmiştir.

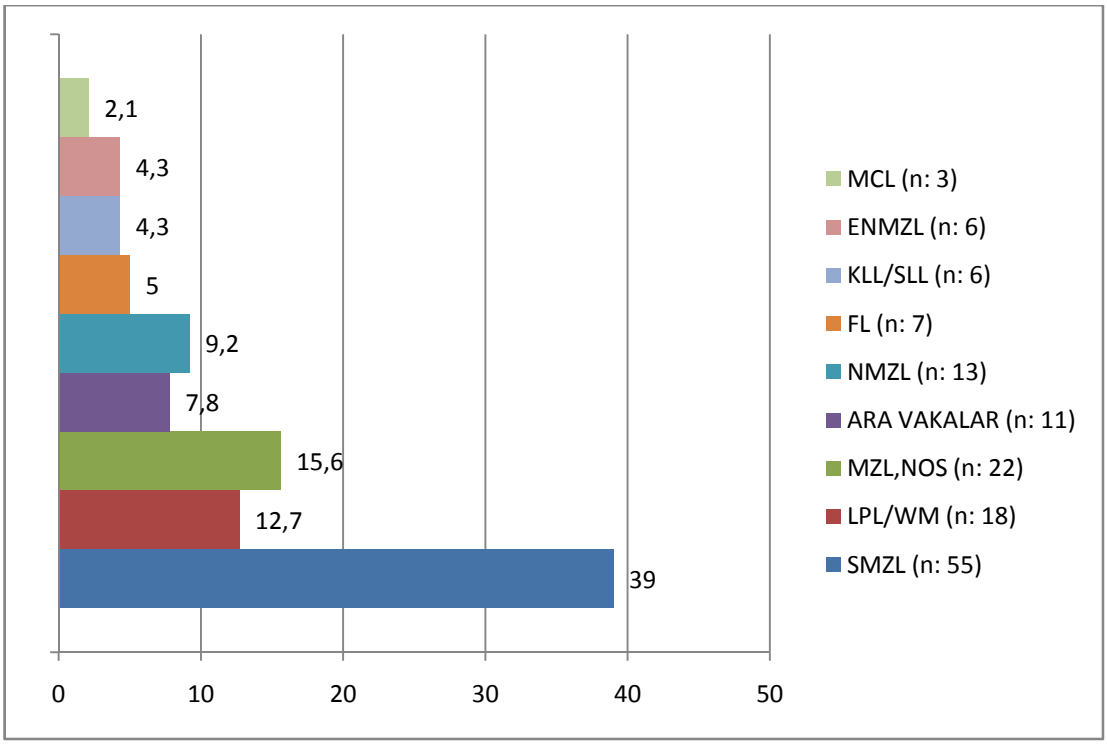


Şekil 4.1.İlk değerlendirmede tanı gruplarına göre vaka gruplarının dağılımı

Klinik, akım sitomerik ve diğer laboratuar bulguları ile yeniden yapılan histopatolojik değerlendirmeler sonrasında, PHDGL grubundaki 9 hastadan 5'si ara vakalar grubuna, 2'si MZL-NOS grubuna, 1'i MM grubuna, 1'i de NMZL grubuna dahil edilmiş ve ikinci değerlendimede PHDGL altında sınıflanan vakalar diğer gruplara dağıtılabilmiştir. MZL,NOS grubunda yer alan bir vaka marjinal zon hiperplazisi kabul edilerek çalışma dışı bırakılmıştır. MM ve Castleman hastalığı grupları negatif kontrol kabul edildiği için immünhistokimyasal değerlendirme yapılmış ancak istatistik incelemeye dahil edilmemiştir. Böylece çalışmada toplam 101 vakaya ait141 doku örneği değerlendirmeye alınmıştır. Yeni vaka sayılarının ve değerlendirilen biyopsi sayılarının tanı gruplarınına göre dağılım yüzdeleri Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'deki grafiklerde belirtilmiştir.



Şekil 4.2. Klinik, laboratuar ve histopatolojik veriler eşliğinde yeniden oluşturulan vaka sayılarının tanılara göre dağılım grafiği



Şekil 4.3. Klinik, laboratuar ve histopatolojik veriler eşliğinde yeniden değerlendirilen doku örneklerinin tanılara göre dağılım grafiği

4.2. OLGULAR

Vakaların demografik verilerin dağılımının incelendiği 101 olgunun tanıgruplarına göre dağılımına bakıldığında 33 olgu SMZL, 14 olgu LPL/WM, 16 olgu MZL-NOS, 8 olgu ARA VAKA, 10olgu NMZL, 6olgu FL, 6 olgu KLL/SLL, 5 olgu ENMZL ve 3 olgu MCL grubunda yer almaktadır.

Olgularınyaş ve cinsiyete göre dağılımları tablo 4.1 ve 4.2'de özetlenmektedir.

Tablo 4.1. Lenfoma gruplarındaki hastaların cinsiyet dağılımı (p: 0,280)

TANI	**CİNSİYET %**		**TANI**	**Cİ.NSİYET %**	
	E (n)	**K (n)**		**E (n)**	**K (n)**
SMZL	39,4(13)	60,6 (20)	**KLL/SLL**	50 (3)	50 (3)
LPL/WM	71,4 (10)	28,6 (4)	**ENMZL**	40 (2)	60 (3)
MZL,NOS	43,8 (7)	56,2 (9)	**NMZL**	50 (5)	50 (5)
ARAVAKALAR	75 (6)	25 (2)	**FL**	66,7 (4)	33,3 (2)
MCL	100 (3)	0 (0)			

Tablo 4.2. Lenfoma gruplarındaki hastaların yaş dağılımı (p: 0,510)

TANI	**ORTALAMA YAŞ (min-mak)**	**STANDART SAPMA**
SMZL	62,45 (58-67)	12,344
LPL/WM	66,36 (57-75)	15,584
MZL,NOS	61 (54-68)	13,486
NMZL	62 (54-70)	11,155
FL	67 (55-79)	11,278
KLL/SLL	66,3 (56-77)	10,053
ENMZL	54,4 (37-72)	14,398
MCL	72,3 (66-78)	6,028

Cinsiyet ve yaşa göre dağılımlar arasında hiçbir tanı grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak yaş dağılımı izlenmemiştir.Olguların yaş ortalamalarına bakıldığında DSÖ 2008'e göre MCL dışındaki grupların beklenen yaş dağılımında oldukları görülmüştür. MCL ortalama 60 yaş civarında görülmekteyken

bizim çalışmamızda ortalama yaş 72,3 bulunmuştur. Ancak çalışmada 3 MCL vakası olması nedeni ile bu durumun denek yetersizliği nedeni ile olabileceği düşünülmüştür.

İncelenen örneklerinlokalizasyonlara göre dağılımı Tablo 4.3'de özetlenmektedir.'Ara vakalar' olarak gruplanan olgular daha sonraki istatistiksel değerlendirmelere dahil edilmemiştir.

İncelenen 130 doku örneğinin %17,2'si dalak, %46,2'si Kİ, %30,7'si LN ve %5,4'ü diğer lokalizasyonlardan alınmış örneklerdir. Tanı gruplarına göre incelenen dokuların dağılımına bakıldığında SMZL vakalarında dalak ve LN, LPL/WM vakalarında Kİ, MZL,NOS vakalrında Kİ ve LN, NMZL, KLL/SLL ve FL vakalarında LN, ENMZL vakalarında diğer lokalizasyonlu dokular ve MCL vakalarında Kİ ve LN'leri ağırlıklı olarak incelenen dokulardır.

Diğer olarak sınıflandırılmış lokalizasyona ait 7 olgu;

MZL,NOS grubunda yer alan 1 deri biyopsisi

NMZL grubund yer alan bir yumuşak doku biyopsisi

ENMZL grubunda yer alan 2 tonsil dokusu, 1 dil biyopsisi, 1 deri biyopsisi ve 1 göz enükleasyon materyalinden oluşmaktadır.

Tablo 4.3. Lenfoma gruplarında tanısal değerlendirmenin yapıldığı dokuların dağılım tablosu

TANI	% DALAK (n)	% Kİ (n)	% LN (n)	% DİĞER (n)
SMZL(n: 55)	41,8 (23)	43,6 (24)	14,5 (8)	0 (0)
LPL/WM(n: 18)	0 (0)	94,4 (17)	5,6 (1)	0 (0)
MZL,NOS(n: 22)	0 (0)	54,5 (12)	40,9 (9)	4,5 (1)
NMZL(n: 13)	0 (0)	23,1 (3)	69,2 (9)	7,7 (1)
FL(n:7)	0 (0)	14,3 (1)	85,7 (6)	0 (0)
KLL/SLL(n: 6)	0 (0)	16,7 (1)	83,3 (5)	0 (0)
ENMZL(n: 6)	0 (0)	0 (0)	16,7 (1)	83,3 (5)
MCL(n: 3)	0 (0)	66,7 (2)	33,3(1)	0 (0)
TOPLAM (n:130)	17,7 (23)	46,2 (60)	30,7 (40)	5,4 (7)

4.2.1. İmmünhistokimyasal Bulgular

Belirteçlerinifade özelliklerinin tanıgruplarına göre dağılımı Tablo 4.4'de özetlenmektedir.

Tablo 4.4. Çalışılanantikorların tanı gruplarına göre ifade durumları

	LEF1(%)	MNDA(%)	CD27(%)	STATMİN1(%)	IRTA1(%)
SMZL (n: 55)	0	73,1 (n: 38)	50 (n: 27)	0	1,8 (n:1)
LPL/WM (n: 18)	0	29,4 (n: 5)	29,4 (n: 5)	5,6 (n: 1)	0
NMZL (n: 13)	0	76,9 (n: 10)	69,2 (n: 9)	0	30,8 (n: 4)
ENMZL (n: 6)	0	16,7 (n: 1)	83,8 (n: 5)	33,3 (n: 2)	16,7 (n: 1)
MZL,NOS (n: 22)	9,1	63,6 (n: 14)	81,8 (n: 18)	9,1 (n: 2)	4,5 (n: 1)
KLL/SLL (n: 6)	%33,3 (n: 2)	66,7 (n: 4)	83,3 (n: 5)	83,3 (n:5)	0
FL (n:7)	0	14,3 (n: 1)	42,9 (n: 3)	71,4 (n:5)	0
MCL (n: 3)	0	66,7 (n: 2)	33,3 (n: 1)	33,3 (n: 1)	0

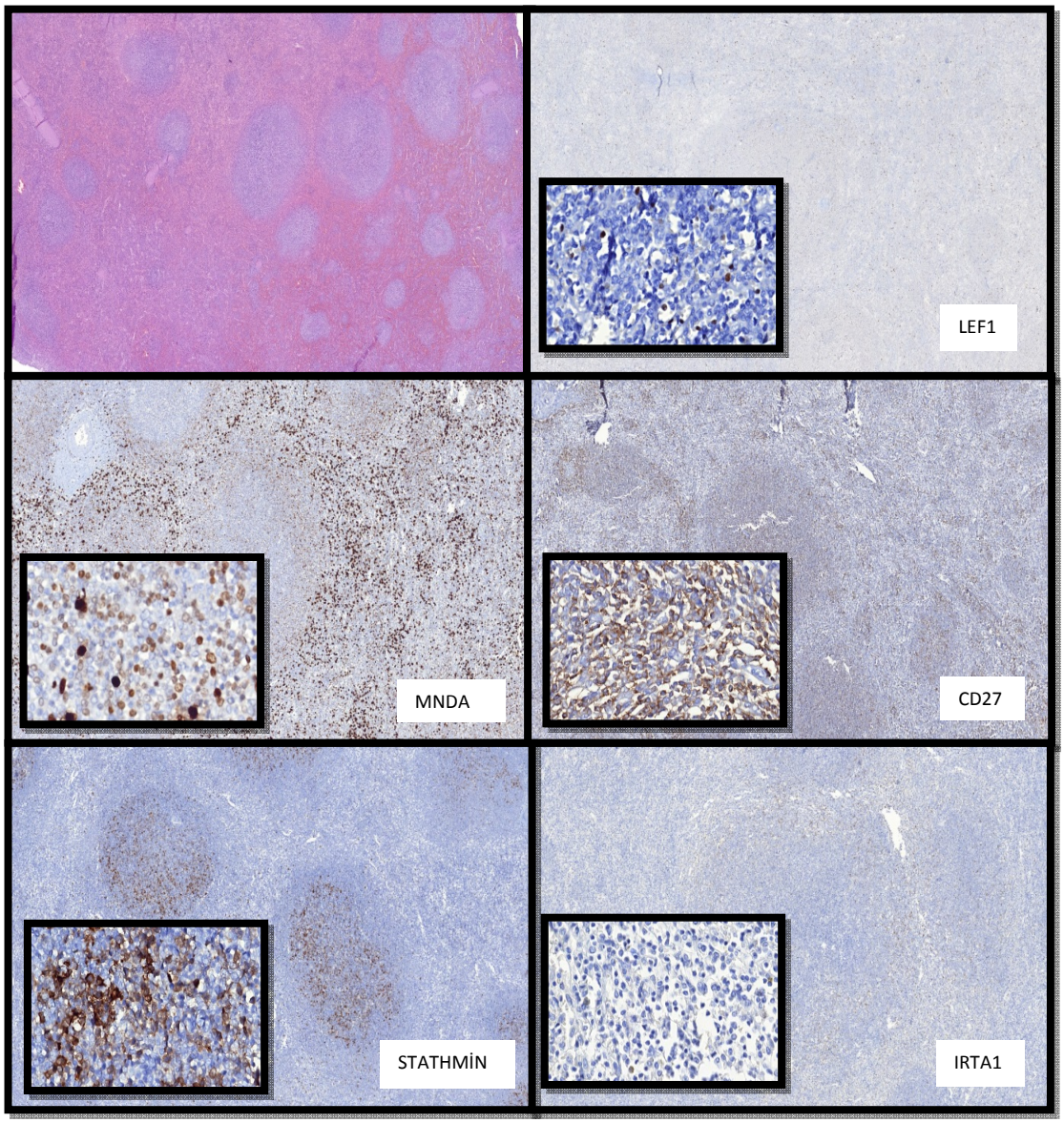
LEF1 ekspresyonunun tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 6 KLL/SLL olgusunun 2'sinde (%33,3) ve 22 MZL-NOS olgusunun 2'sinde (%9,1) ekspresyonu izlenmiştir. İstatistiksel olarak LEF1 ekspresyonu KLL/SLL grubunda anlamlı bulunmuştur (p: 0.014).

MNDA ifadesinin tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 52 SMZL olgusunun 38'inde (%73,1), 17 LPL/WM olgusunun 5'inde (%29,4), 22 MZL-NOS olgusunun 10'unda (%63,6), 13 NMZL olgusunun 10'unda (%76,9), 7 FL olgusunun 1'inde (%14,3), 6 KLL/SLL olgusunun 4'ünde (%66,7),6 ENMZL olgusunun 1'inde (%16,7) ve 3 MCL vakasının 2'sinde (%59,5) ekspresyon bulunduğu izlenmiştir. SMZL grubuna dahil 1 dalak, 2 Kİ lokalizasyonlu 3 olguda ve LPL/WM grubuna dahil Ki incelenen birolguda zeminde bulunan normal hücrelerin pozitifliği ve

neoplastik hücrelerin sayıca az olması nedeniyle, neoplastik hücrelerde MNDA ifadesi konusunda kesin bir kanıya varılamamış ve bu vakalar çalışma dışı bırakılmıştır. İstatistiksel olarak MNDA ekspresyonunun SMZL, MZL-NOS, NMZL ve KLL/SLL grubunda ifadesi diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p: 0.001).

CD27 ifadesinin tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 54 SMZL olgusunun 27'sinde (%50), 17 LPL/WM olgusunun 5'inde (%29,4), 22 MZL-NOS olgusunun 18'inda (%81,8), 13 NMZL olgusunun 9'unda (%69,2), 7 FL vakasının 3'ünde (%42,9), 6 KLL/SLL olgusunun 4'ünde (%66,7), 6 ENMZL olgusunun 5'inde (%83,3) ve 3 MCL olgusunun 1'inde (%33,3)ifade edildiği izlenmiştir. Kİ lokalizasyonlu 1 SMZL ve 1 LPL/WM olgusunda iç pozitif kontrol çalışmadığındanneoplastik hücrelerin CD27 bulundurduğuna dair kesin kanıt bulunmamış ve bu olgular da istatistiksel değerlendirme dışı bırakılmıştır. MNDA ifadesi MZL-NOS, NMZL, KLL/SLL ve ENMZL grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p: 0.010).

Stathmin ekspresyonunun tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında7 FL vakasının 5'inde (%71,4), 18 LPL/WM olgusunun 1'inde (%5.6), 22 MZL-NOS olgusunun 2'sinde (%9,1), 6 KLL/SLL olgusunun 5'inde (%83,3), 6 ENMZL olgusunun 2'sinde (%33,3) ve 3 MCL olgusunun 1'inde (blastoid MCL vakası) (%33,3) ifadesi izlenmiş; SMZL ve NMZL gruplarında neoplastik lenfositlerde pozitiflik saptanmamıştır. Stathmin ifadesi FLve KLL/SLL grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur($p<0.0001$). KLL/SLL grubunda sadece paraimmünoblastlarda ekspresyonu izlenmiştir.



Resim 4.1. SMZL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili

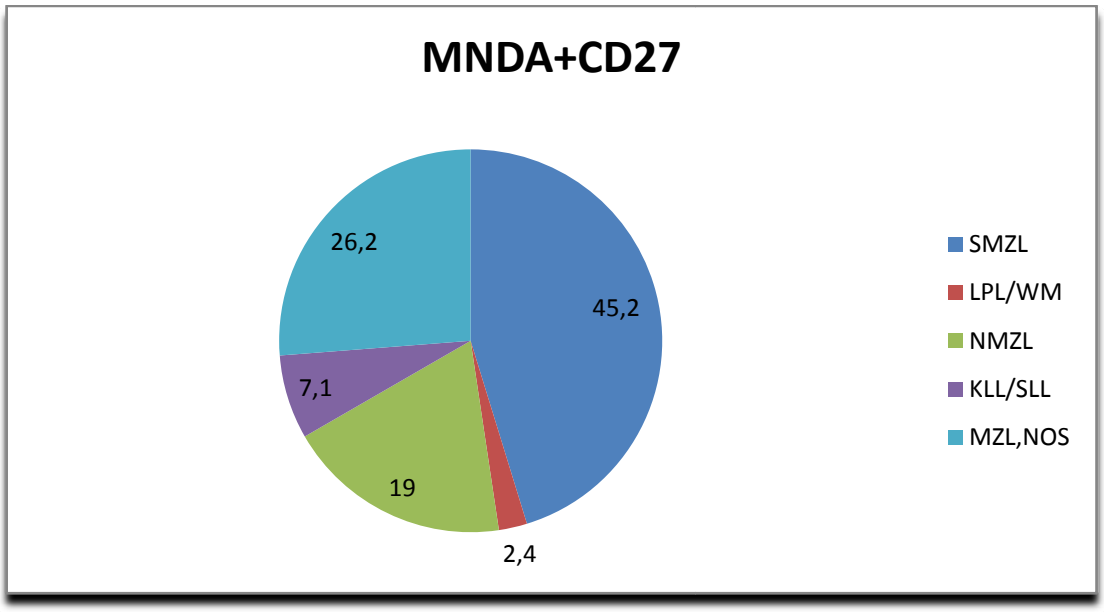
IRTA1 ifadesi tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 55 SMZL olgusunun 1'inde (%1,8), 22 MZL-NOS olgusunun 1'inde (%4,5), 13 NMZL olgusunun 4'ünde (%30,8), 6 ENMZL olgusunun 1'inde (%16,7) ifade olduğu izlenmiş; LPL/WM, KLL/SLL, MCL ve FL gruplarında neoplastik lenfositlerde pozitiflik saptanmamıştır. IRTA1 in NMZL grubunda ifadesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p: 0.019).

Pür plazma hücre farklılaşması görülen durumlarda CD27 dışındaki belirteçlerin hiçbirinde pozitiflik saptanmamaktadır.

MNDA ve CD27 ifadesinin birlikte pozitif olduğu olguların tanı gruplarına göre dağılımları Tablo 4.5'de ve Şekil 4.4'de özetlenmektedir.

Tablo 4.5. MNDA ve CD27'nin birlikte ifade olduğu vakaların tanılara göre dağılımı

Lenfoma tipi	MNDA	CD27	MNDAveCD27
SMZL	%73.1 (n: 38)	%50(n: 27)	%34,5 (n: 19)
LPL/WM	%29,4 (n: 5)	%29,4 (n: 5)	%5,6(n: 1)
NMZL	%76,9 (n: 10)	%69,2 (n: 9)	%61,5 (n: 8)
ENMZL	%16.7 (n: 1)	%83,3 (n: 5)	%0
MZL,NOS	%63,6 (n: 14)	%81,8 (n: 18)	%50 (n: 11)
KLL/SLL	%66,7 (n: 4)	%83,3 (n: 5)	%50 (n: 3)
FL	%14,3 (n: 1)	%42,9 (n: 3)	%0
MCL	%66,7 (n: 2)	%33,3 (n: 1)	%0
TOPLAM	%59,5 (n: 75)	%57 (n: 73)	%32,3 (n: 42)



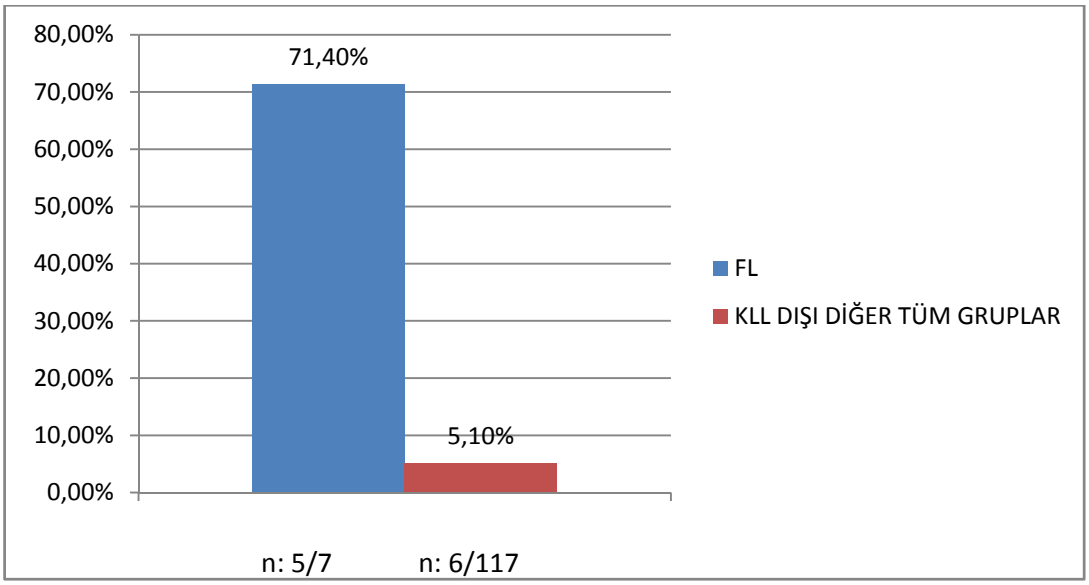
Şekil 4.4. MNDA ve CD27'nin birlikte pozitif izlendiği vakaların kendi içinde dağılım yüzdesi

MNDA ve CD27'nin birlikte pozitif oldukları vakaların dağılımına bakıldığında SMZL, LPL/WM, NMZL, KLL/SLL ve MZL,NOS gruplarında her iki belirtecin de birlikte ifade edildiği izlenmiştir. Bu grupların kendi içlerindeki dağılımlarında ise en yüksek oranda (%45,2) SMZL grubunda, daha sonra sırası

ile %26,2 oranında MZL,NOS, %19 NMZL, %7,2 KLL/SLL ve %2,4 oranında da LPL/WM grubunda ifadeleri görülmüştür.

Stathmin1'in en yüksek oranda izlendiği FL ile diğer tanı gruplarının karşılaştırmasıŞekil 4.5'de verilmiştir.

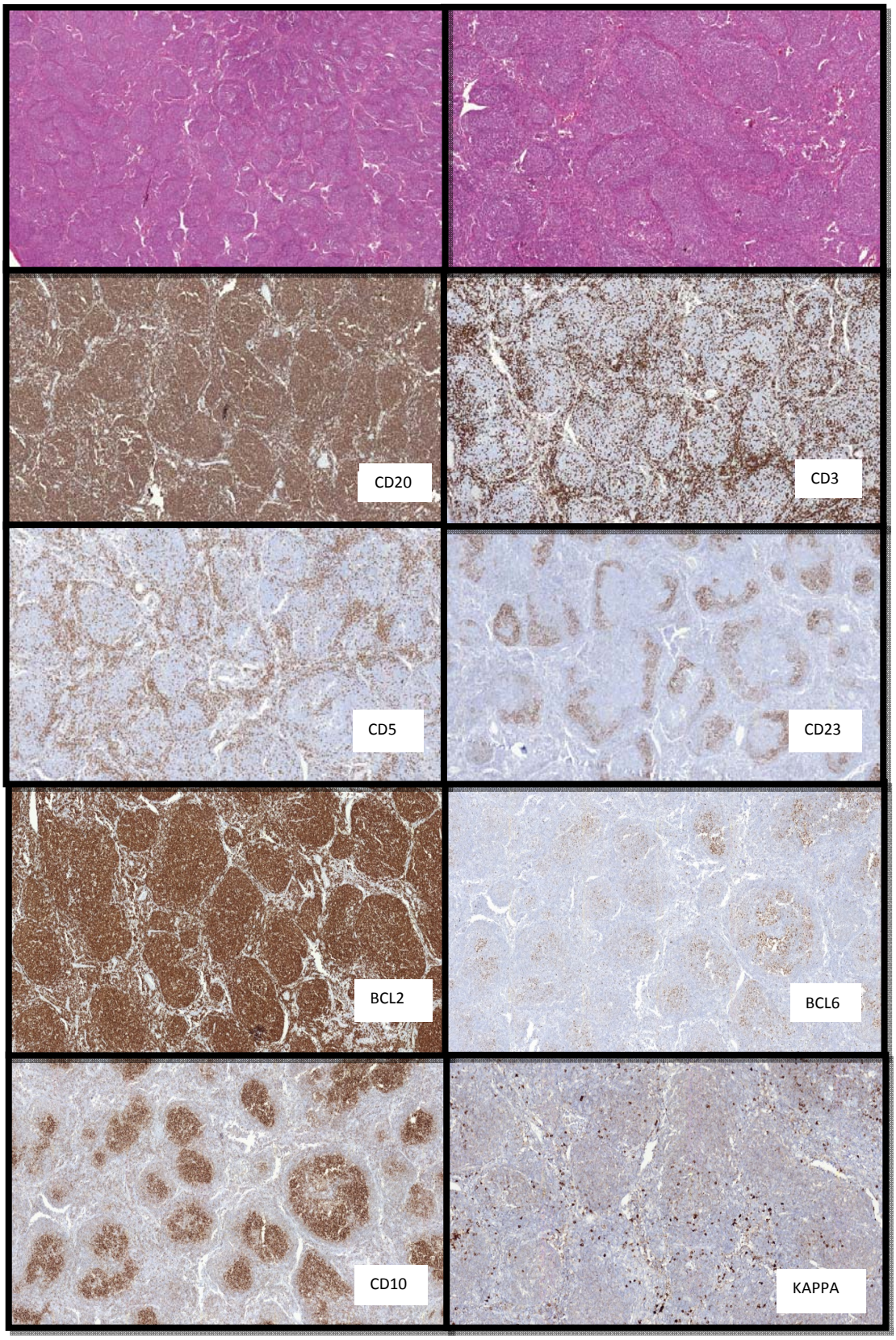
Stathmin1'in, KLL/SLL grubunda sadece paraimmünoblastlarda ifadesi izlendiği için bu grup değerlendirme dışı bırakıldığında 7 FL olgusunun 5'inde (%71,4) Stathmin1 ifadesi izlenirken; diğer gruplarda yer alan 117 olgunun sadece 6'sında (%5,1) Stathmin1 ifadesi saptanmıştır. P değeri 0,001'in altındadır. Stathmin1 negatif 1 doku Kİ biyopsisi iken kalan 1 doku LN örneğidir. Pozitif ve negatif vakaların Grade, BCL1, BCL2 ve CD10 ifade dağılımları Tablo 4.6'de özetlenmiştir.



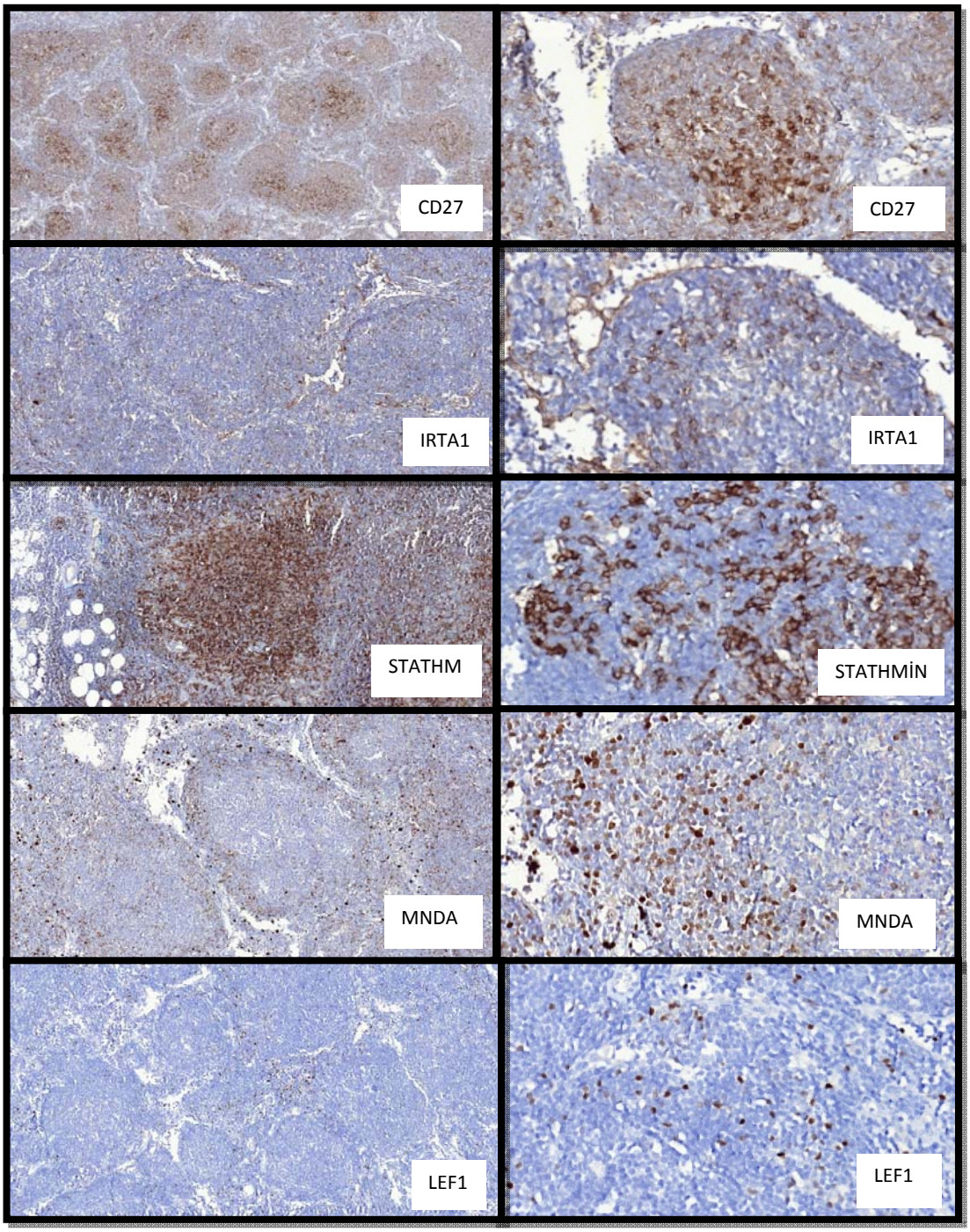
Şekil 4.5. Stathmin1'in FL ve FL dışı vakalarda ifade dağılım durumu (p<0,001)

Tablo 4.6. Stathmin1 ifadesine göre FL olgularının özellikleri

STATHMİN1 DURUMU	VAKA SAYISI	GRADE 1	GRADE 2	GRADE 3	BCL2 (+)	BCL6 (+)	CD10 (+)
POZİTİF (n)	5	1	2	2	4	5	3
NEGATİF (n)	2		1		2	2	2

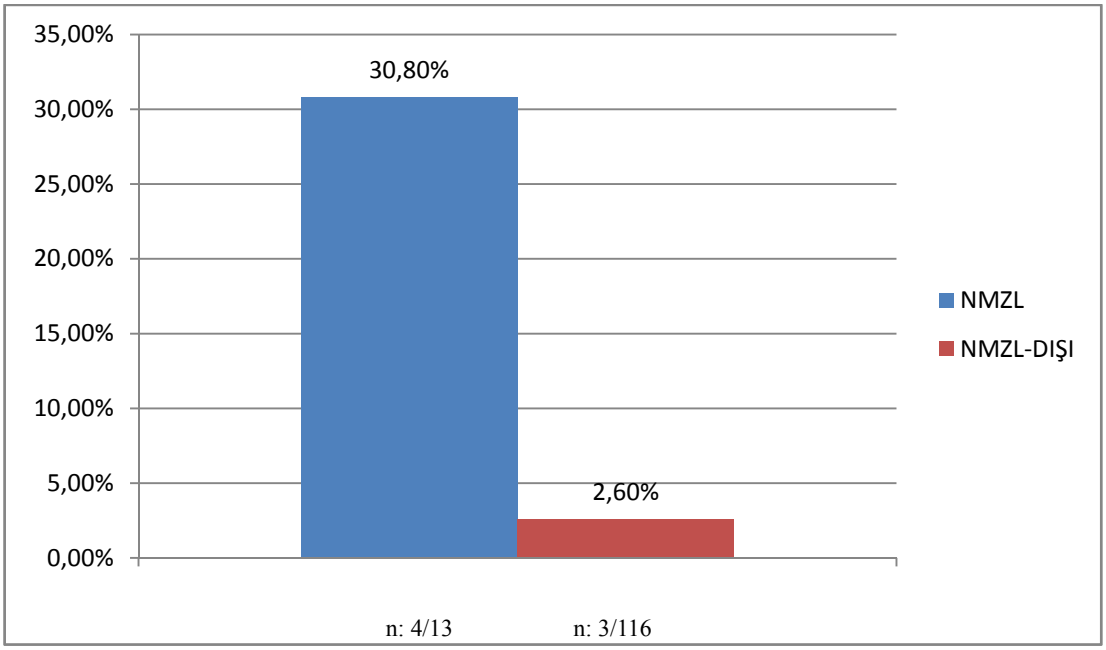


Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili



Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili

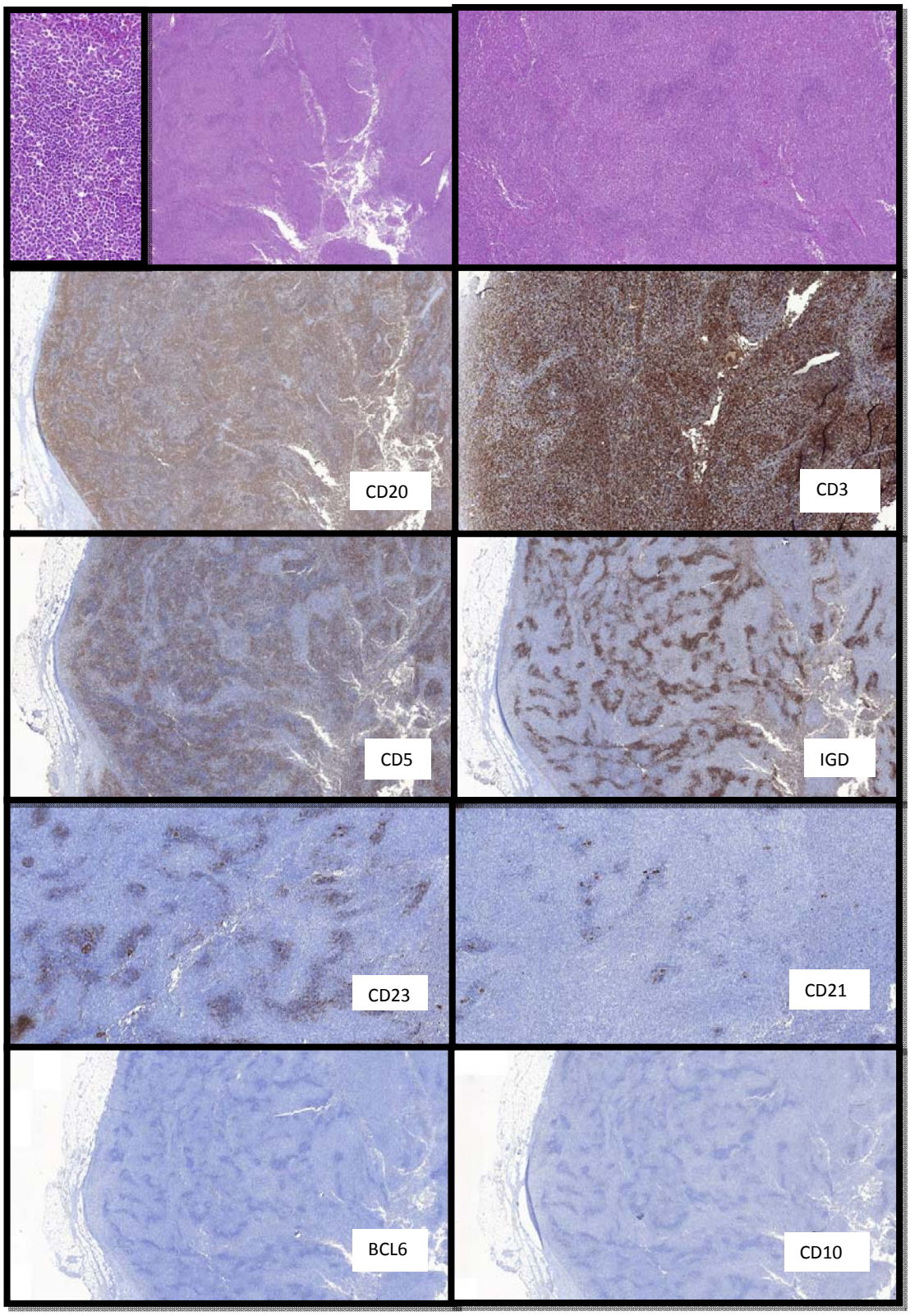
IRTA1 ifadesinin en yüksek oranda görüldüğü NMZL vakalarının diğer tanı grubundaki vakalr ile IRTA1 ifadesi açısından karşılaştırılması Şekil 4.6'da özetlenmiştir.



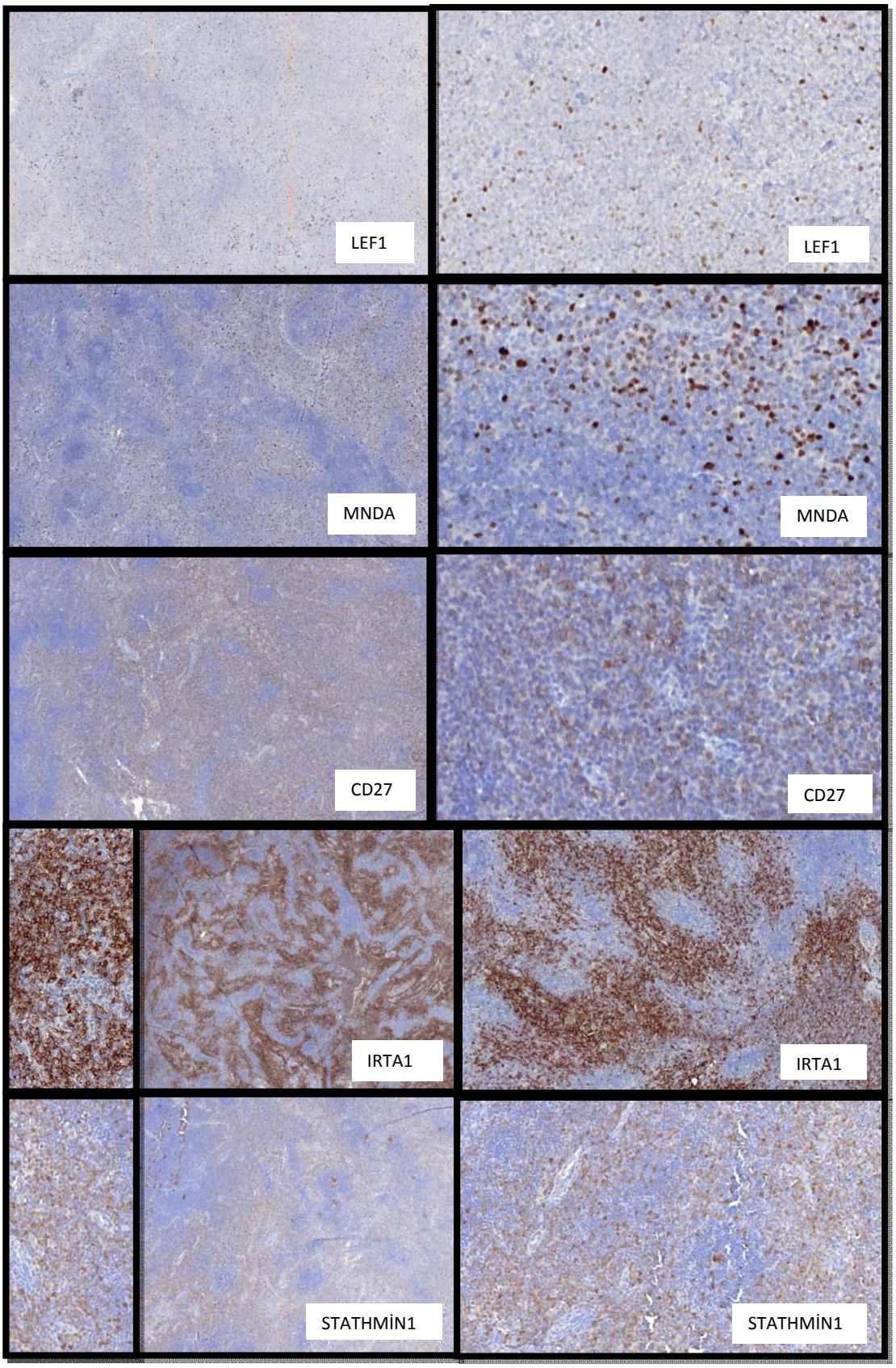
Şekil 4.6.IRTA1'in NMZL ve NMZL-DIŞI vakalarda dağılım yüzdesi (p:0,002)

NMZL olgularının %30,8'inde (4/13 olguda) ve NMZL dışı diğer tüm vakaların %2,6'sında (3/116 olguda) IRTA1 ifadesi saptanmıştır. P değeri 0.002'dir.

Bu 3 olgudan biriKİ dokusu değerlendirilmiş, SMZL olgusu, biri LN değerlendirilmiş MZL,NOS olgusu, sonuncusu ise LN incelenmiş ENMZL olgusudur. MZL,NOS vakasında CD23, BCL1, BCL6 ve CD10 negatiftir.Kappa ve Lambda ile az sayıda politipik özellikte plazma hücreleri bulunmaktadır. ENMZL olgusu IGD, CD5, CD23 negatif olup, BCL2 ve BCL6 ifadesi göstermektedir ve Kappa monoklonal plazma hücreleri eşlik etmektedir. SMZL vakasında ise sadece IGD pozitif, CD5 ve CD23 negatiftir.

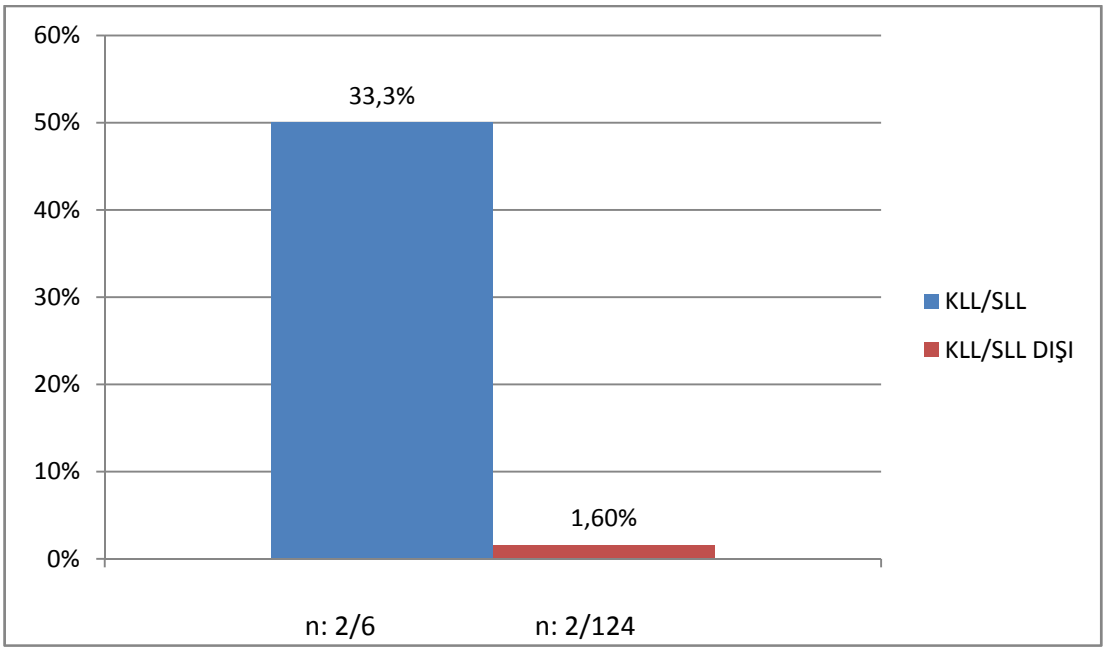


Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili



Resim 4.1. FL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili

LEF1 ifadesinin en yüksek oranda görüldüğü KLL/SLL vakalarının diğer tanı grubundaki vakalar ile LEF1 ifadesi açısından karşılaştırılması Şekil 4.7'de özetlenmiştir.



Şekil 4.7. LEF1'ın KLL/SLL ve KLL/SLL -DIŞI vakalarda dağılımı (p:0,01)

LEF1'ın KLL/SLL ve KLL/SLL dışındaki tüm çalışma gruplarında dağılım oranlarına bakıldığında 6 KLL/SLL olgusunun 2'sinde ifadesi izlenirken (%33), diğer tüm gruplardaki 124 olgudan 2'sinde pozitiflik saptanmıştır (%1,6).P değeri 0.01'dir.

KLL/SLL grubunda olup LEF1 ifadesi göstermeyen vakalara bakıldığında;

İlk vaka Kİ lokalizasyonlu ve sadece MNDA ifadesi göstermektedir. CD5 pozitif, CD23 ve Siklin D1 negatiftir.Neoplastik hücrelere Lambda monotipik plazma hücreleri eşlik etmektedir. Olgunun klinik olarak tanı anında lökositoz ve lenfositozu, periferik lenfadenopatileri bulunmakta hepatosplenomegalisi bulunmamaktadır.

İkinci vaka LN lokalizasyonlu ve neoplastik lenfositlerin hepsinde CD27 vesadece paraimmünoblastlarda Stathmin1 ifadesi göstermektedir. CD5, BCL1, BCL6 negatif; CD23, BCL2 ve CD10 pozitiftir. Neoplastik infiltrasyona az sayıda politipik plazma hücresi eşlik etmektedir.tanı anında hemogram bulguları normal

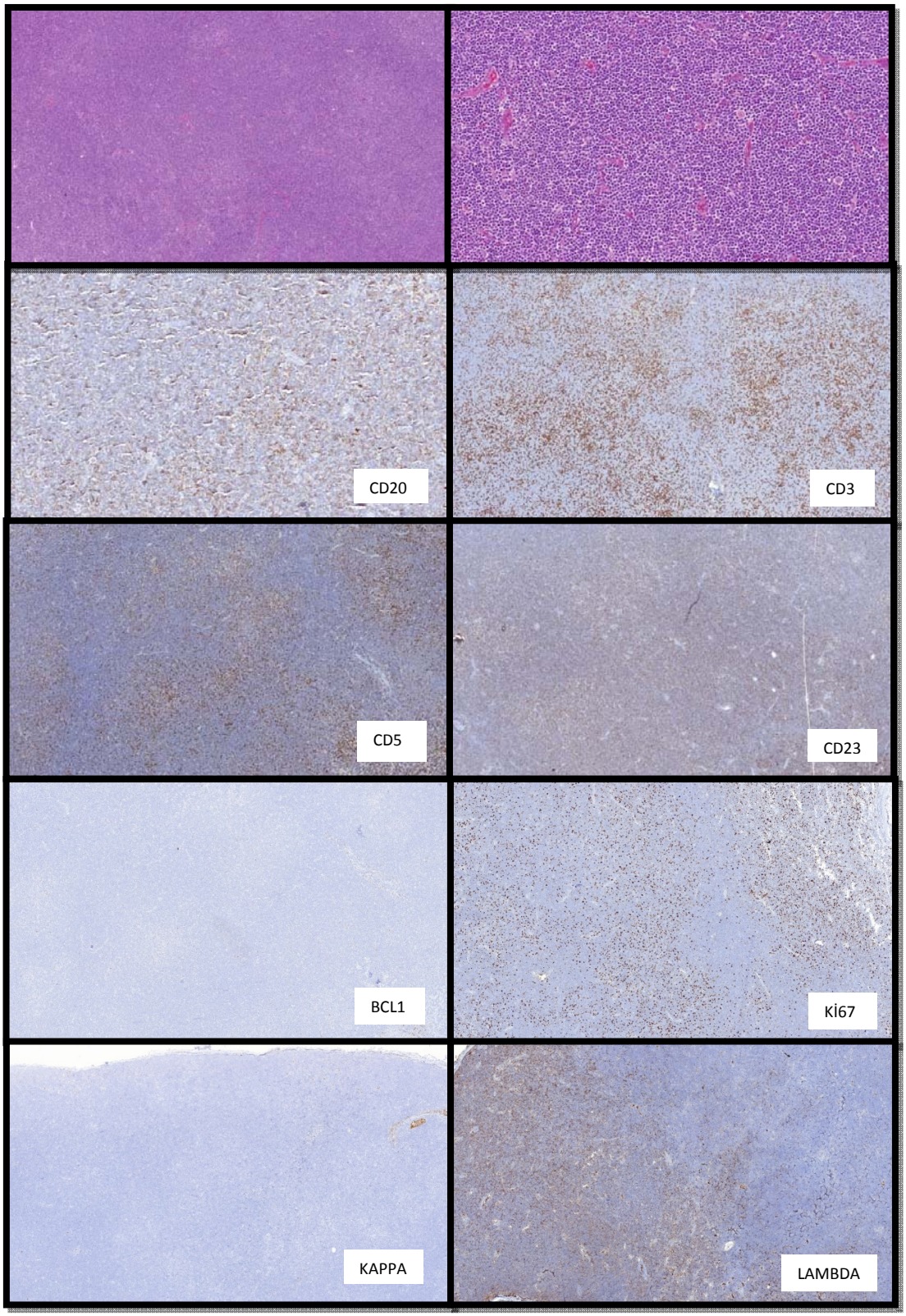
olan hastanın, periferik lenfadenopatileri bulunmakta ancak organomegalisi bulunmamaktadır.

Üçüncü ve dördüncü vakalarda LN lokalizasyonludur. Neoplastik lenfositler MNDA ve CD27 ifadesi gösterirken, paraimmünoblastlarda Stathmin1 ifadesi saptanmıştır. Olgulardan biri CD5, CD23, CD21 ve Kappa monoklonal plazma hücreleri bulunduruyor iken, diğeri sadece CD23 ifadesi bulundurmaktadır.

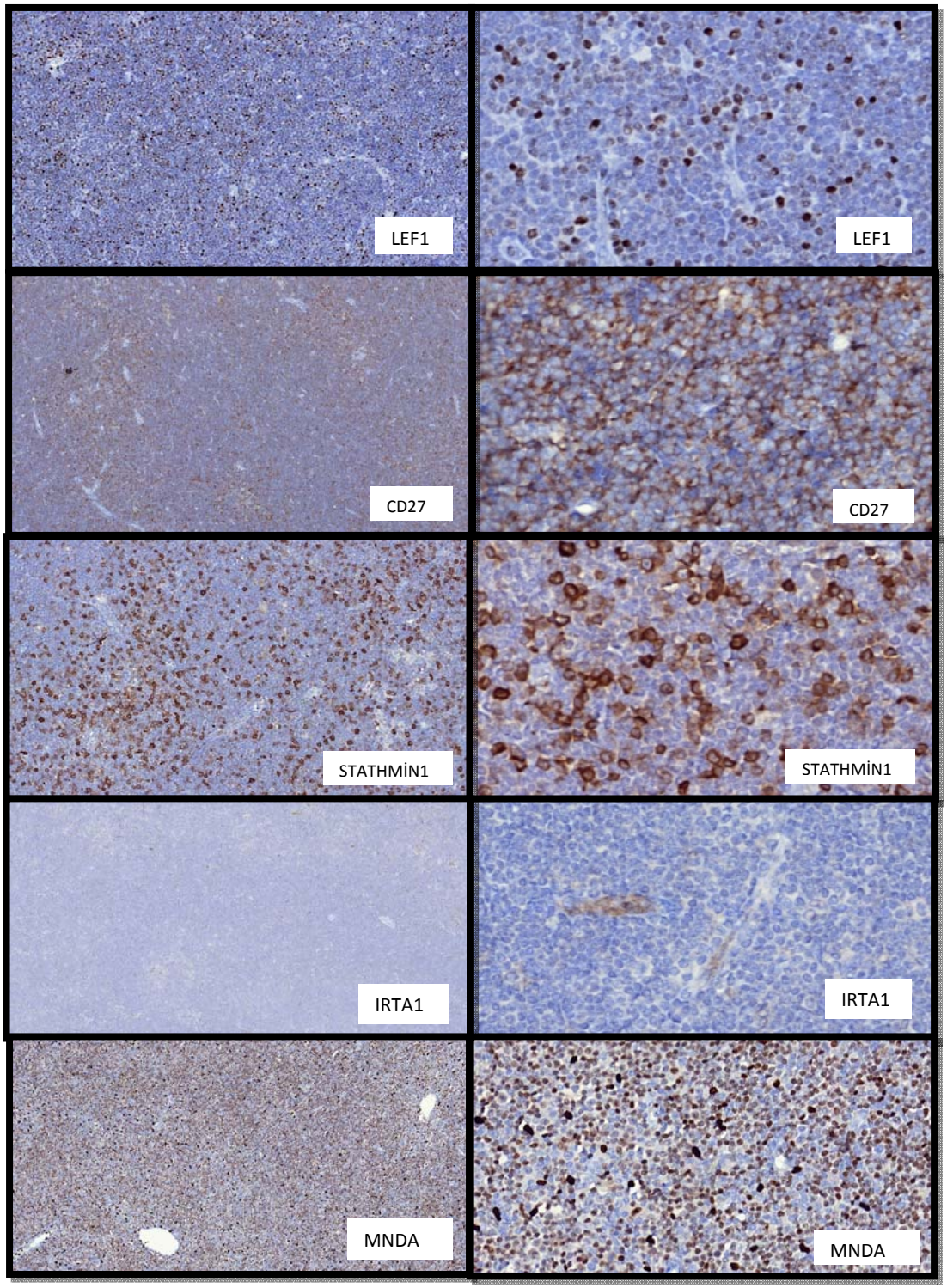
Diğer gruplarda LEF1 pozitif 2 olgunun özellikleri incelendiğinde her 2 olguda MZL,NOS grubunda bulunmaktadır. İmmünekspresyon profillerine bakıldığında;

İlk olgu LN dokusu incelenmiş ve LEF1, CD27, IGD, IGM, BCL6 pozitif; CD5, CD23, BCL1 negatiftir. Proliferasyon indeksi diffüz alanlarda %5-7 oranında izlenmiştir.

İkinci olgunun Kİ dokusu incelenmiş, CD27 pozitif; IGD, IGM negatiftir bulunmuştur. Kappa monotipik plazma hücreleri eşlik etmektedir. Bu vakada Kİ67 proliferasyon indeksi incelenmemiştir.



Resim 4.2. KLL/SLL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili



Resim 4.2. KLL/SLL olgusunun morfolojisi ve immünekspresyon profili

Tablo 4.7. LEF1, Stathmin1 ve IRTA1 için duyarlılık, seçicilik, negatif prediktif değer (NPV) , pozitif prediktif değer (PPV) değerler, Pozitif Olabilirlik Oranı (LR+) ve Negatif Olabilirlik Oranı (LR-)

	LEF1	**STATHMİN1**	**IRTA1**
DUYARLILIK	0,33	0,71	0,30
SEÇİCİLİK	0,98	0,91	0,97
PPV	0,50	0,31	0,57
NPV	0,96	0,98	0,92
LR+	20,67	7,99	11,90
LR-	0,68	0,31	0,71

LEF1 için duyarlılık %33, özgüllük %98 oranında bulunmuştur. Duyarlılık için güven aralığı 0,096-0,70'dir. Özgüllük için güven aralığı 0,94-0,99'dur. PPV %50 iken, NPV %96'dır.

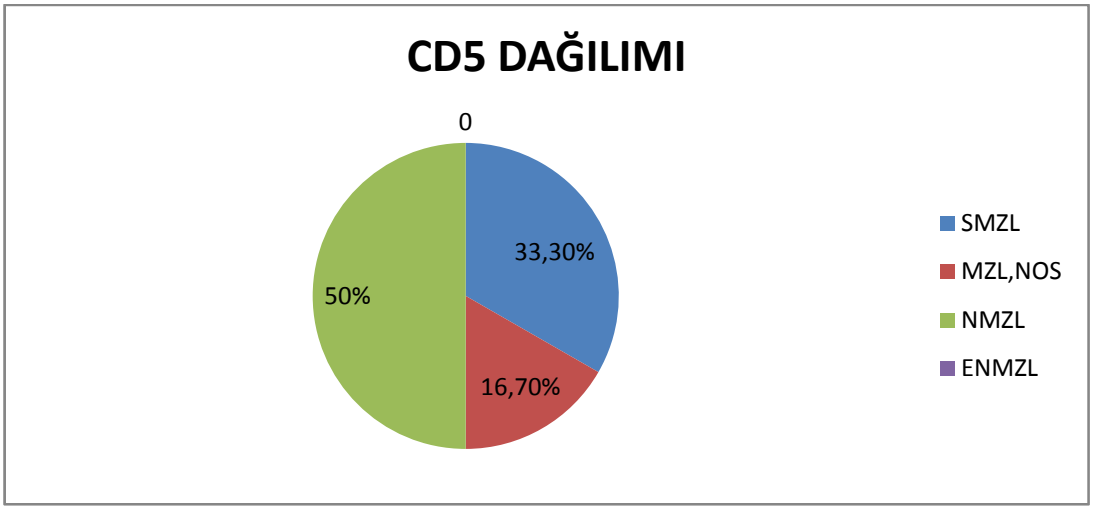
Stathmin1 için duyarlılık %71, seçicilik %91 oranında bulunmuştur. Duyarlılık için güven aralığı 0,35- 0,91'dir. Özgüllük için güven aralığı 0,84-0,94'tür. PPV %31 iken, NPV %98'dir.

IRTA1 için duyarlılık %30, özgüllük %97 oranında bulunmuştur. Duyarlılık için güven aralığı 0,12-0,57'dir. Özgüllük için güven aralığı 0,93-0,96'dır. PPV %57 iken, NPV %92 oranında bulunmuştur.

CD5 ifadesinin MZL tanılı gruplarda dağılımı Tablo 4.8'de ve Şekil 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. CD5 ifadesinin MZL tanılı olgularda dağılımı

Lenfoma tipi	CD5 (+)
SMZL	%16,7 (n: 2/49)
MZL,NOS	%6,2 (n: 1/16)
NMZL	%23,1 (n: 3/13)
ENMZL	%0
TOPLAM	%7,3 (6/82)



Şekil 4.8. CD5 ifadesinin MZL'lar arasında dağılımı (p:0,108)

MZL olgulardaki CD5 ifadesi dağılımlarına %23,1 oranında (n: 3) NMZL olgularında, %16,7 oranında (n: 2) SMZL olgularında ve %6,2 oranında (n: 1) MZL,NOS olgularında CD5 ekspresyonu saptanmıştır. Ancak MZL olgularında CD5 pozitif vakaların dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç yoktur.

4.2.2. Ara Vaka Olgularının Özellikleri

Morfolojik, immünhistokimyasal veriler ile kesin tanıya varılamamış 8 ARA VAKA olgusuna ait klinik ve immünhistokimyasal veriler Tablo 4.9'da özetlenmiştir.

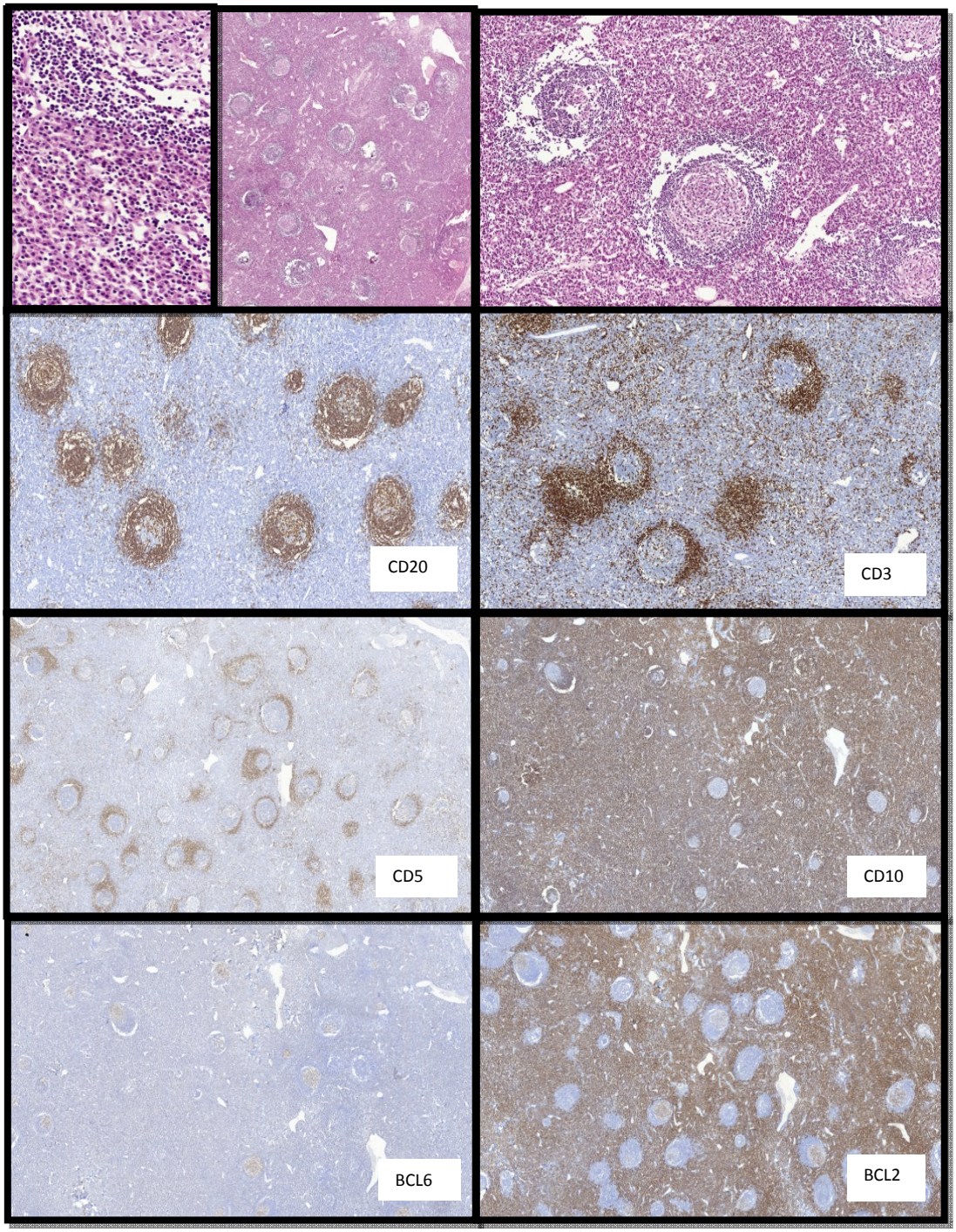
Tablo 4.9. ARA VAKA olgularının yaş, cinsiyet, lokalizasyon ve antikor ifade özellikleri (PNK: Pankreas)

OLGULAR	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**
YAŞ	35	81	75	55	57	64	41	80
CİNS	K	E	E	K	E	E	E	E
DOKU	LN	LN	Kİ	LN/Kİ	Kİ/LN	PNK	LN/LN	LN
LEF1	-	-	-	-/-	-/-	-	-/-	-
MNDA	-	+	-	+/-	-/-	-	-/-	-
CD27	-	+	+	+/+	+/+	+	+/+	+
STAT.1	-	-	-	-/-	-/-	-	-/-	+
IRTA1	-	-	-	-/-	-/-	-	-/-	-

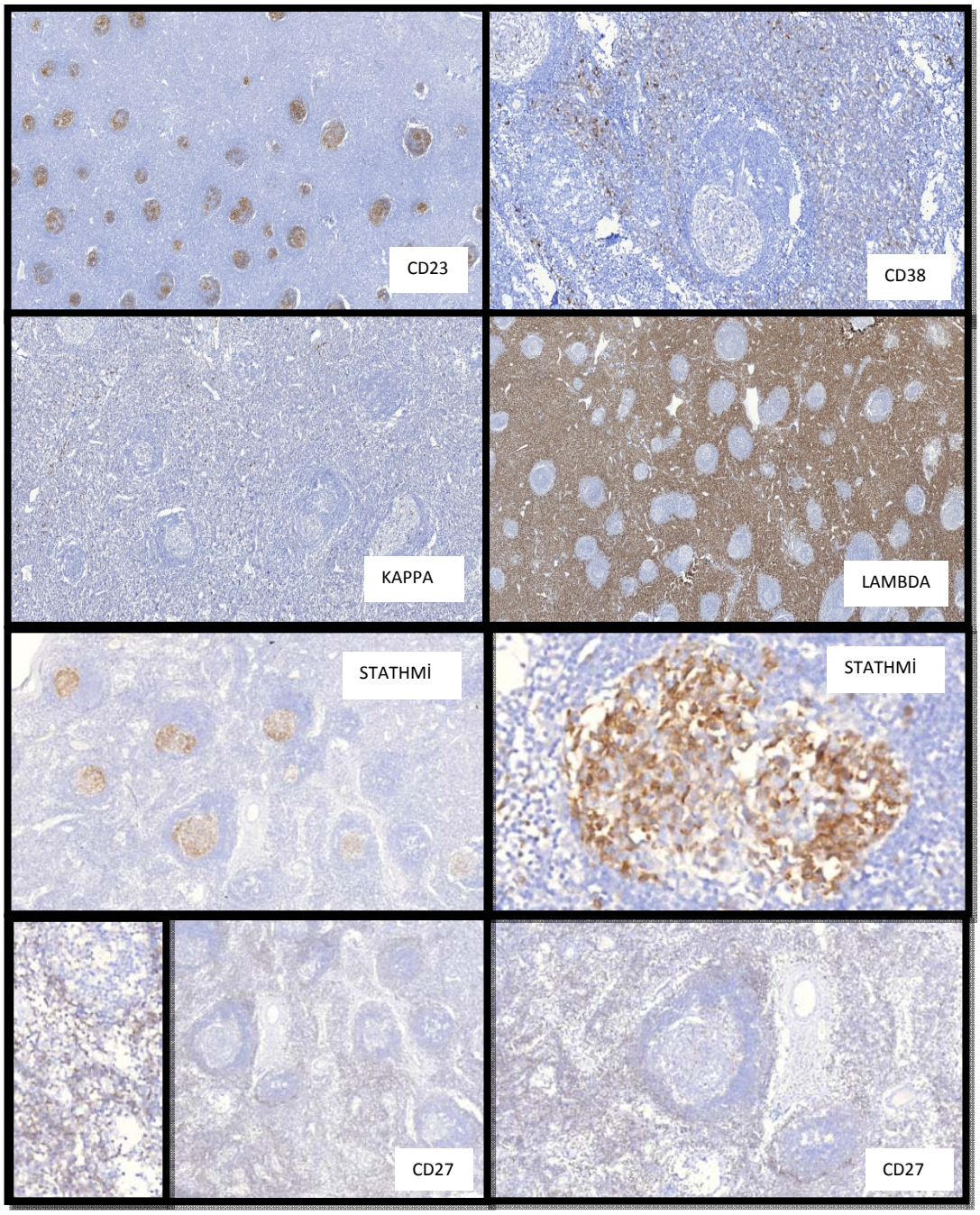
ARA VAKA olarak gruplanan ve kesin alt tiplendirme yapılamadığı için istatistiksel incelemelere dahil edilmeyen vakaların ortalama yaşı 61'dir. Olguların %25'i (n: 2) kadın, %75'i (n: 6) erkektir. 8 olguya ait toplam 11 doku örneği izlenmiştir. Lokalizasyon dağılımlarına bakıldığında %64 oranında(n:7) LN, %27 oranında(n:3) Kİ ve %9 oranında (n:1) diğer dokular(pankreas başı) incelenmiştir. Hiçbir olguda LEF1 ve IRTA1 ifadesi saptanmamıştır. %18 oranında (n:2) MNDA, %91 oranında (n:10) CD27, %9 oranında (n:1) Stathmin1 ifadesi izlenmiştir .

4.2.3. Birden Çok Lokalizasyonda Biyopsisi incelenen Vakalarda Antikorların İfade Dağılımında Lokalizasyonlar Arasında Uyumsuzluk Bulunanlar

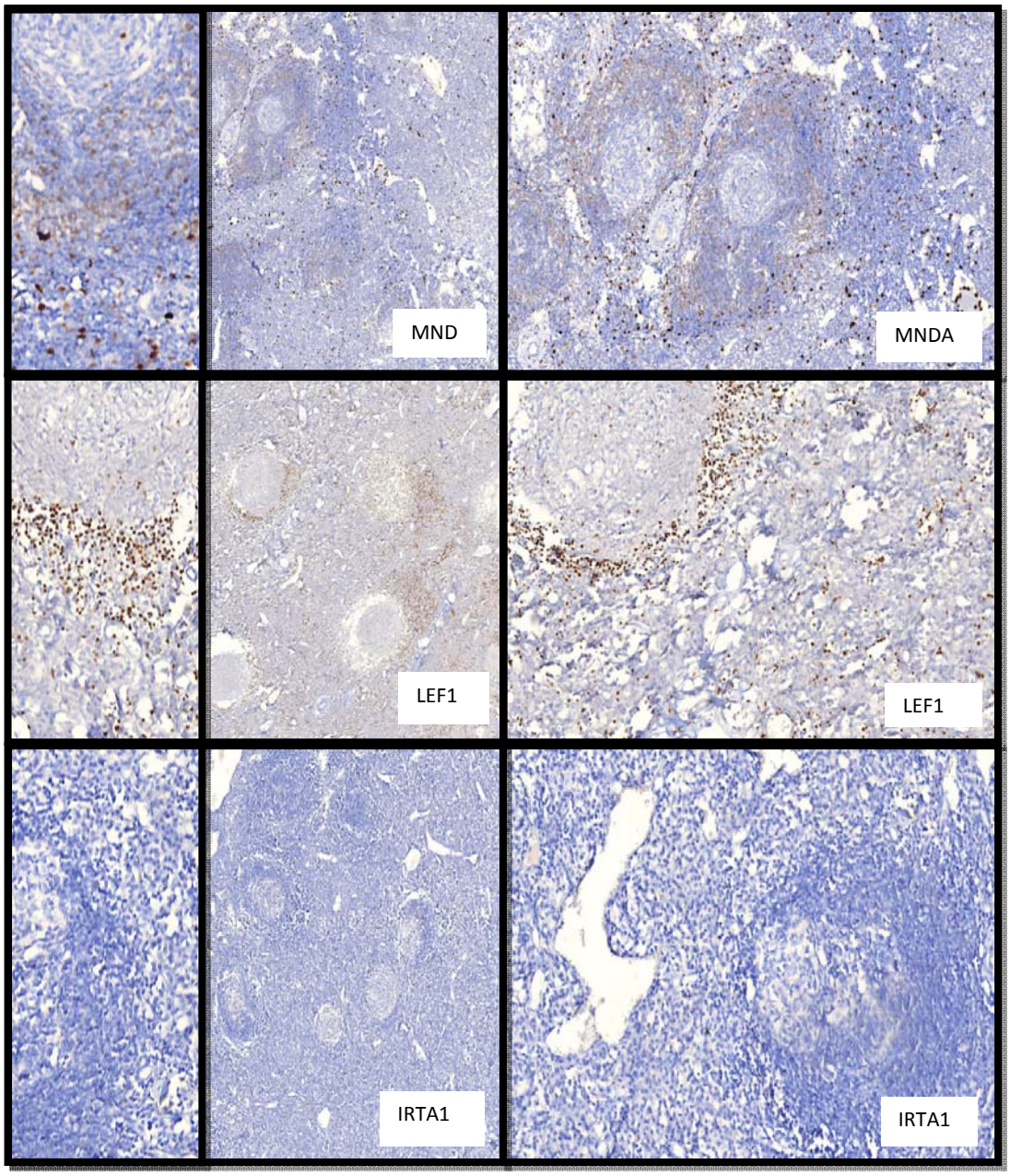
Birden fazla lokalizasyondan dokusu incelenen vakaların dağılımına bakıldığında çoklu lokalizasyon örneklerinin en sık olarak SMZL olgularında (%54,5) bulunduğu görülemktedir. 33 SMZL olgusunun 18'inde birden fazla lokalizasyondan doku örneği çalışmaya alınmıştır. Bu olguların 2'ünde dalak+Kİ, 2'sinde dalak+Kİ+hiler LN ve 1'inde Kİ+hiler LN değerlendirilmiştir. Lokaliasyonları ve belirteç ifadelerine göre dağılımlarının karşılaştırması Tablo 4.10'da özetlenmektedir.



Resim 4.2. Pür plazma hücre farklılaşması gösteren bir olgunun morfolojisi ve immünekspresyon profili



Resim 4.2. Pür plazma hücre farklılaşması gösteren bir olgunun morfolojisi ve immünekspresyon profili



Resim 4.2. Pür plazma hücre farklılaşması gösteren bir olgunun morfolojisi ve immünekspresyon profili

Tablo 4.10. Farklı Dokularda MNDA ve CD27 belirteçleri arasında uyumsuzluk olan vakalar

TANI	Olgu	Lokalizasyon	LEF1	MNDA	CD27	STAT.1	IRTA1
SMZL	1	Dalak	-	-	+	-	-
		Kİ	-	+	-	-	-
SMZL	2	Dalak	-	+	+	-	-
		Kİ	-	+	-	-	-
SMZL	3	Dalak	-	+	+	-	-
		Kİ	-	+	-	-	-
SMZL	4	Dalak	-	+	+	-	-
		Kİ	-	+	+	-	+
SMZL	5	Dalak	-		+	-	-
		Hiler LN	-	-	+	-	-
		Kİ	-	+	-	-	-
SMZL	6	Dalak	-	+	-	-	-
		Hiler LN	-	+	+	-	-
		Kİ	-	+	+	-	-
SMZL	7	Hiler LN	-	-	-	-	-
		Kİ	-		+	-	-
LPL/WM	8	LN	-		-	+	-
		Kİ	-	-		-	-
MZL, NOS	9	LN	-	-	+	-	-
		Kİ	+	-	+	-	-
FL	10	LN	-	-	+	+	-
		Kİ	-	-	+	-	-

Çalışmamızda 33 SMZL vakasının 18'inde, 14 LPL/WM vakasının 1'inde, 16 MZL,NOS olgusunun 6'sında, 10 NMZL vakasının 2'sinde v 6 FL vakasının 1'inde birden fazla lokalizasyondan alınan biyopsiler incelenmiştir. Bu vakalarda çalışmada kullanılan antikorların ifade durumlarına bakıldığında SMZL'lerin %39'unda, çoklu biyopsili 1 LPL/WM vakasının 1'inde (%100), MZL,NOS vakalarının %16,6'sında ve çoklu biyopsisi incelenen 1 FL vakasının 1'inde (%100) çalışma antikorlarının farklı lokalizasyonlardaki ifadeleri açısından uyumsuzluk bulunmuştur.

7 SMZL vakasının 4'ünde dalak dokusunda CD27 ifadesi görülmüş ancak Kİ negatif bulunmuştur. 1 vakada tam tersi şekilde Kİ CD 27 pozitif iken, dalak dokusu

negatiftir. 1 vakada da Kİ negatif, hiler LN pozitif bulunmuştur. Hiler LN'lerinin incelendiği 3 vakanın 2'sinde MNDA hiler LN negatif bulunmuştur. 1 vakada dalak dokusundan farklı olarak Kİ'de IRTA1 ifadesi saptanmıştır.

1 LPL/WM olgusunda LN'de Stathmin1 ifadesi izlenmiş ancak Kİ'de negatif bulunmuştur. 1 MZL,NOS vakasında Kİ'de LEF1 pozitif iken LN'de negatif saptanmıştır. 1 FL olgusunda da LN Stathmin1 ifadesi göstermekteyken, Kİ negatiftir.

5. TARTIŞMA

DSÖ 2008 sınıflamasında olgun B hücrelilenfomalar büyük bir grup hastalığı kapsamakta ve Non-Hodgkin lenfomaların %90'ını oluşturmaktadır. Olgun B hücreli lenfomalar grubunda yer alan KLL/SLL, SMZL, NMZL, ENMZL, MCL, FL'da neoplastik lenfositler plazma hücre farklılaşması gösterebilmekte veya neoplastik hücrelere monoklonal veya poliklonal plazma hücreleri eşlik edebilmektedir. Yukarıda adı geçen ve çalışmamıza konu olan bu düşük dereceli B hücreli lenfomalar için tanısal olan tek bir morfoloji veya immünhistokimyasal belirteç olmadığı için benzer morfolojiler sergileyebilen bu olgularda kesin tanıya varabilmede güçlükler ve hatta imkansızlıklar ile karşılaşılmaktadır.

Son yıllarda hem tanı hem de tedavide önemli hedef molekülleri saptamaya yönelik araştırmalar hız kazanmıştır. Birçok kanser türünde olduğu gibi hematolojik neoplastik hastalıklarda da moleküler değişiklikler ve bu moleküler değişikliklerin gerçekleştiği yolaklara ilişkin çalışmalar devam etmektedir. Bu nedenle lenfoid malignitelerde spesifik olabilecek yeni belirteçlerin dağılımının saptanması ve bu belirteçlerin hangi yolaklarda görevli olduğunun ortaya konması gittikçe önem kazanmaktadır. Bu belirteçler sadece hastaların tanısını koymada işe yaramakla kalmayıp, aynı zamanda tedavi hedefi olma potanisyeline de sahiptir.

5.1. LEF1 İFADESİ

Çalımamızda tanı grupları arasında LEF1 ifadesinin dağılımına bakıldığında 6KLL/SLL olgusunun 2'sinde (%33,3) ve 22 MZL-NOS olgusunun 2'sinde (%9,1) ekspresyonu izlenmiştir. Diğer tanı gruplarında LEF1 ifadesi izlenmemiştir. LEF1 ekspresyonu KLL/SLL grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p: 0.01). KLL/SLL grubunda izlenen pozitiflik KLL/SLL dışı gruplar ile karşılaştırıldığında KLL/SLL'de saptanan %33,3 oranındaki ifadesine karşın diğer gruplarda %1,6ifadesi

saptanmıştır. Literatürde LEF1 ifadesinin değerlendirildiği çalışmalar, bu çalışmanın sonuçları ile birlikte Tablo 5.1'de özetlenmiştir.

Tablo 5.1. Literatürde LEF1 ekspresyonunun İHK'sal olarak araştırıldığı çalışmalar

LEF-1	BEVAN TANDON-2011	THOMAS MENTER-2015	ÇALIŞMAMIZ
KLL/SLL		39/56 (%70)	2/6 (%33,3)
KLL/SLL RİCHTER TRANSFOMRASYON(-)	84/84 (%100)	3/14 (%18)	
KLL/SLL RİCHTER TRANSFOMRASYON(+)	8/8 (%100)		
SPLENİK MZL	0/3 (%0)		0/55 (%0)
NODAL MZL	0/15 (%0)		0/10 (%0)
EKSTRANODAL MZL	0/13 (%0)		0/6 (%0)
MZL,NOS		1/102 (%1)	2/22 (%9,1)
LPL		0/4 (%0)	0/18 (%0)
FL			0/7 (%0)
FL, GRADE 1 VE 2	0/31 (%0)	1/60 (%1)	
FL, GRADE 3	6/12 (%50)		
MCL	0/5 (%0)	2/17 (%12)	0/3 (%0)
POZİTİFLİK ALT SINIRI		%10	%10

Bevan Tandon ve arkadaşlarının çalışmasında 84 Richter transformasyonu göstermeyen ve 8 Richter transformasyonu gösteren toplam 92 KLL/SLL olgusunun %100'ünde, 12 FL, Grade 3 olgusunun %50'sinde LEF1 ekspresyonu izlenmiş; 5 MCL, 15 NMZL, 3 SMZL, 13 ENMZL, 31 Grade 1 ve 2 FL olgusunun hiçbirinde ifadesine rastlanmamıştır. Çalışmadaki olgulardan KLL/SLL grubuna dahil vakalardan 2'sinde CD5 ifadesi yokken, MZL grubundaki olguların 3'ünde CD5 ifadesi bulunduğu belirtilmiştir(84).

Thomas Menter ve arkadaşlarının çalışmasında 56 KLL/SLL olgusunun %70'inde, 17 MCL olgusunun %18'inde, 60 FL Grade 1 olgusunun ve 102 MZL olgusunun %1'inde LEF1 ifadesi saptamış ve 4 LPL olgusunu negatif bulmuşlardır. LEF1'ın KLL/SLL olguları için spesifitesi %92, sensitivitesi %72 oranında bulunmuştur. LEF1 ve ZAP70 ifadesi arasında korelasyon bulunduğu belirtilmiş, CD38 ifadesi ile korelasyon saptanmamıştır.Kötü prognostik belirteçler

olan p53 pozitifliği (FISH yöntemi ile bakılmıştır) ve Trizomi 12 ile ilişkisi bulunmamıştır. Araştırmacılar LEF1'ın neoplastik lenfositlerin en az %10'unda ifade edilmesi durumunda KLL/SLL tanısında yardımcı ve oldukça spesifik bir tanısal belirteç olduğu sonucuna varmışlardır(85).

Ayrıca KLL/SLL olgularında, Wnt sinyal yolağının hedef genleri, ligandları ve sinyalizasyonda görevli üyelerin araştırıldığı (Western Blot, ELISA, PCR ve flow sitometrik yöntelmer ile) iki çalışmada hem KLL olgularında, hem de KLL'nin prekürsörü olan monoklonal B hücre lenfositozisli olgularda LEF1 anlamlı olarak yüksek bulunmuştur(23, 88). Normal matür B hücreleri ile KLL hücreleri karşılaştırıldığında, KLL hücrelerinde normal lenfositlere göre 28 kat yüksek oranda istatistiksel anlamlı bulunan LEF1 ifadesi saptanmıştır(23).

Bizim çalışmamızda değerlendirilen 6 KLL/SLL olgusunun 4'ünde plazma hücre diferansiasyonu görülmektedir ve bu vakaların 2'sinde Kappa, 2'sinde Lambda monoklonalitesi saptanmıştır. 1 vakada da Kappa ve Lambda ile politipik özellikte plazma hücreleri eşlik etmektedir. LEF1 ifadesi 6 vakanın 2'sinde pozitif saptanmıştır (%33,3) ve bu vakaların 1'inde Lambda monoklonalitesi, 1'inde ise Kappa monoklonalitesi bulunmuştur. LEF1 ifadesinin izlenmediği 4 biyopsinin 3'ü LN, 1'i Kİ'ne ait örnektir. Kİ'ne ait örnekte saptana negatif sonucun teknik nedenler ile ilişkili olup olmadığı ayırt edilememiştir. Bu olguda CD5 pozitif, CD23 negatif saptanmıştır. Diğer 3 olguda LN örneği incelenmiştir. Bu olguların 2'sinde CD5 negatif, 1'inde pozitiftir. 3 olguda da CD23 ifadesi saptanmıştır.MZL,NOS grubundaki LEF1 ifadesi gösteren 2 vakanın 1'inde Kappa monotipik plazma hücreleri diğerinde ise az sayıda politipik plazma hücresi eşlik etmektedir.

LEF1 ifadesi izlenen 2 MZL,NOS olgusdan biri Kİ lokalizasyonlu, biri LN lokalizasyonludur. Kİ lokalizasyonlu olan olguda ilk değerlendirme kesitlerde mevcut olmayan ancak yeni belirteçler için alınan yeni kesitlerde 1 intertrabeküler nodüler lenfoid odak izlenmiş, LEF1 ifadesine bu odakta rastlanmıştır. CD3 ve CD20 boyalı kesitlerde bu odak bulunmadığından, LEF1 pozitif hücreleri yoğun içeren bu lenfoid odaktaki hücrelerin B ve T lenfoid hücre kökeni net anlaşılamamakla birlikte

bu hücrelerde yoğun LEF1 pozitivitesi izlenmesi nedeni ile olgu pozitif kabul edilmiştir.

Thomas Menter ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak bizim serimizde MCL olgularında LEF1 ifadesi izlememiştir.5 MCL vakasının değerlendirildiği Bevan Tandon ve arkadaşlarının çalışmasında da 3 MCL vakasının değerlendirildiği çalışmamıza benzer sonuç bulunmuştur. Bu nedenle örnek sayısının yetersizliği MCL'larda gerçek LEF1 ifadesini yansıtıyor olabilir. MCL gelişiminde de LEF1'ın görev aldığı Wnt/B Katenin yolağının tümörogenezisden sorumlu olduğu düşünülse de yapılan çalışmalarda MCL vakalarında downregülasyonu veya upregülasyonunun MCL gelişimi ile anlamlı ilişkisi saptanmamıştır (89).Bu konuda sağlıklı yorum yapabilmek için daha geniş serileri içeren daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunduğu açıktır.

Thomas Menter ve arkadaşlarının çalışmasında LEF1'ın seçiciliği %92, duyarlılığı %72 oranında bulunmuştur. NPV ve PPV'dan bahsedilmemektedir. Bizim çalışmamızda duyarlılığı %33, seçiciliği %98, NPV'yi %96, PPV'yi %50 oranında bulunmuştur.

Burada diğer çalışmalar ile bizim çalışmamızın önemli farkı hem vaka sayısının azlığı, hem de özellikle seçilmiş plazma hücre farklılaşması bulunduran KLL/SLL olgularından oluşmasından ileri gelebilir. Literatürde LEF1'ın KLL/SLL olgularındaki ifadesini araştıran çalışmalar olmakla birlikte plazma hücre farklılaşması gösteren vakalarda ifadesini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda LEF1 eşlik eden neoplastik plazma hücrelerinde ifade edilmediğini gördük.

5.2. STATHMIN1 İFADESİ

Çalışmamızda Stathmin1 ekspresyonunun tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 7 FL vakasının 5'inde (%71,4), 18 LPL/WM olgusunun 1'inde (%5.6), 22 MZL-NOS olgusunun 2'sinde (%9,1), 6 KLL/SLL olgusunun 5'inde (%83,3), 6

ENMZL olgusunun 2'sinde (%33,3) ve 3 MCL olgusunun 1'inde (%33,3) ekspresyonu izlenmiştir. SMZL ve NMZL gruplarında neoplastik lenfositlerde pozitiflik saptanmamıştır. Stathmin ekspresyonu FLve KLL/SLL grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur($p< 0.001$). KLL/SLL grubunda sadece paraimmünoblastlarda ekspresyonu izlenmiştir. Bu nedenle KLL/SLL grubu değerlendirme dışı bırakıldığında 7 FL olgusunun 5'inde (%71,4) Stathmin1 ifadesi izlenirken; diğer gruplarda yer alan 117 olgunun sadece 6'sında (%5,1) Stathmin1 ifadesi saptanmıştır. P değeri 0,001'in altındadır. Literatürde Stathmin1 ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızınsonuçları Tablo 5.2'de özetlenmiştir.

İşlevi açısından değerlendirildiğinde Şekil 4.4'de belirtildiği gibi mikrotübül ilişkili molekül olan Stathmin1'in lenfoid neoplazilerdeki işlevleri ile myeloid hücrelerdeki fonksiyonları arasında bazı farklılıklar, normal ve neoplastik lenfoid hücreler arasında da ifade farklılıkları olduğu belirtilmektedir(64). Marafioti ve arkadaşlarının kapsamlı immünhistokimyasal çalışmasında FL ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, çalışmamızda az sayıda kontroller arasında bulunan FL olgularımızdaki ifadesinin yanında farklı lenfoma tiplerinde de ifadesi saptanmıştır. Yapılan temel bilim çalışmalarında molekülün birbiri ile çelişen bazı biyolojik aktiviteleri konusunda zaman zaman ekspresyon artışının anlamı açısından yorum güçlüğü bulunsa da bu molekülün inhibisyonunun tümör proliferatif aktivitesi azaltması ile ilişkili olduğu şeklindeki bulgular mevcuttur. Potansiyel ilaç hedefi olabilecek bu molekülü ifade artışının önemi olan neoplastik hastalıkların tedavisinde önemili hale getirebilecektir. Bizim çalışmamızda da FL dışında gözlediğimiz Stathmin1 pozitif olguların özellikle KLL/SLL grubunda çok daha yüksek oranda ve yüksek proliferatif aktivite gösteren paraimmunoblast morfolojisindeki hücreler ile ilişkili olması molekülün fonksiyonunu araştıran literatür bilgileri ile bu yönü ile uyumlu görünümdedir. Ancak bu konuda tartışmayı ilerletecek çalışmalar bulunmamktadır.

Tablo 5.2. Literatürde Stathmin1 ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızın karşılaştırılması

STATHMİN-1	MARAFİOTİ-2013	ÇALIŞMAMIZ
SPLENİK MZL		0/55 (%0)
NODAL MZL		1/10 (%10)
EKSTRANODAL MZL		0/6 (%0)
MZL,NOS		2/22 (%9,1)
LPL		1/18 (%5,6)
FL	198/205 (%97)	5/7 (%71.4)
FL, GRADE 1 VE 2	138/198 (%70)	
FL, GRADE 3	60/198 (%30)	
KLL/SLL		5/6 (%83,3)
MCL		1/3 (%33.3)
YÖNTEM	İHK	İHK
POZİTİFLİK ALT SINIRI		%10

Literatürde bizim incelediğimiz serideki lenfomaları kapsayan Stathmin1 ile yapılmış tek bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada da Marafioti ve arkadaşları 205 vakalık bir FL içeren serisidir. Burada 198 vakada %97 Stathmin1 ifadesi saptamışlardır. Pozitif vakaların dağılımına bakıldığında %70'i Grade 1 ve 2 FL iken, %30'u Grade 3 FL olgusudur. Daha çok nodal prezentasyonlu vakalarda Stathmin pozitifliği saptanmış (%89), ekstranodal olgularda bu oran %11'e düşmektedir. Özellikle ekstranodal yerleşimli ve CD10 ve/veya BCL6 negatif atipik immünprofil sergileyen vakalarda Stathmin1 ifadesi %0-15 arasında değiştiği belirtilmiştir. Ayrıca olgu bazında foliküler kolonizasyonlu 3 NMZL ve ENMZL vakasında Stathmin1 ifadesi görmediklerini belirten araştırıcılar bu vakalar ile ayrıntılı bilgileri vurgulamamakta ve bunları istatistik değerlendirmeye dahil etmemektedirler. Stathmin1 ifadesi saptanmayan 7 FL olgusunun klasik immünfenotipe sahip (CD10+, BCL6+), genellikle Grade 1 veya 2, düşük Kİ67 proliferasyon indeksine sahip olagular olduğunu belirtmektedir. Çalışmada plazma hücre farklılaşmasından bahsedilmemektedir (63).

Çalışmamızda 4 vakada Kappa, 1 vakada ise Lambda monotipik hafif zinciryapımı saptanmıştır ve Lambda saptanan bir olguda Stathmin ifadesi izlenmemektedir. 1 olguda da politipik plazma hücreleri eşlik etmektedir. Stathmin1 ifadesi izlenmeyen iki olgunun 1 tanesi LN, diğeri Kİ lokalizasyonludur ve her iki olguda da CD10 ve BCL6 ile ekspresyon kaybı gözlenmemiştir. Serimizdeki Kİ lokalizasyonlu olgu ekstranodal yerleşimli olduğu için Stathmin1 ifadesi izlenmemiş olabilir. LN lokalizasyonlu Stathmin1 negatif olgunun Kİ67 proliferasyon indeksi %10 civarında düşük oranda ve Marafioti serisinde belirtilene benzer şekilde bulunmuştur.

Ayrıca istatistiksel anlamlı olarak KLL/SLL grubunda %83,3 oranında Stathmin1 ifadesi saptanmıştır. Bu vakalarda sadece paraimmünoblast özelliğindeki büyük hücrelerde ekspresyon izlenmiştir. Bu vakalar dışarıda bırakılarak yapılan çapraz değerlendirmede Stathmin1'in FL tanısı için duyarlılığı %71, seçiciliği %91, PPV %31 ve NPV %98 oranında saptanmıştır.

LN lokalizasyonlu 1 NMZL olgusunda kesitlerde düşük ve yüksek dereceli lenfoma alanları bir alanda bulunmaktadır. Bu olguda da düşük dereceli alanlarda Stathmin1 ifadesi saptanmazken, yüksek dereceli alanlarda diffüz Stathmin1 ifadesi izlenmiştir.

LN lokalizasyonlu 1 LPL/WM olgusunda yaygın Stathmin1 ifadesi görülmüştür. Bu olgunun Kİ'de kuvvetli Stathmin1 ifadesi izlenmezken, LN'de özellikle büyük hücre transformasyonunun düşündüren görüntüler saptanmış. Stathmin1 pozitifliğinin LN'de izleniyor olması, KLL/SLL grubuna benzer şekilde yüksek proliferasyon ile ilişkili olabileceği şeklinde düşünülmüştür.

Stathmin 1 ifadesinin yüksek saptandığı 2 MZL-NOS biyopsisi de aynı vakaya ait olup 1'i Kİ, 1'i LN lokalizasyonundan alınmıştır. Her iki örnekte de yüksek Kİ67 ifadesi saptanmış ve Stathminve1 ifadesi ile Kİ67 ifadesi paralel görünümdedir. LN lokalizasyonlu 1 MCL olgusunda da (Blastoid MCL olarak değerlendirilmiştir) Stathmin1 ifadesininyüksek Kİ67 proliferasyon indeksi ile paralel olduğu görülmüştür.

FL dışındaki tanı gruplarında izlenen Stathmin1 ifadesinin tüm olgularda yüksek Kİ67 proliferasyon indeksi ile ilişkili olduğunu destekleten özellikler saptanmıştır.

5.3. IRTA1 İFADESİ

IRTA1 ekspresyonunun tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 55 SMZL olgusunun 1'inde (%1,8), 22 MZL-NOS olgusunun 1'inde (%4,5), 13 NMZL olgusunun 4'ünde (%30,8), 6 ENMZL olgusunun 1'inde (%16,7) ifadesi izlenmiş; LPL/WM, KLL/SLL, MCL ve FL gruplarında neoplastik lenfositlerde pozitiflik saptanmamıştır. IRTA1 ekspresyonu NMZL grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.(p: 0.019) IRTA1 ifadesinin en yüksek oranda görüldüğü NMZL vakalarının diğer tanı grubundaki vakalar ile IRTA1 ifadesi açısından karşılaştırıldığında NMZL olgularının %30,8'inde (4/13 olguda) ve NMZL dışı diğer tüm vakaların %2,6'sında (3/116 olguda) IRTA1 ifadesi saptanmıştır. P değeri 0.002'dir. IRTA1 için duyarlılık %30, özgüllük %97 oranında bulunmuştur. Duyarlılık için güven aralığı 0,12-0,57'dir. Özgüllük için güven aralığı 0,93-0,96'dır. PPV %57 iken, NPV %92 oranında bulunmuştur.

Literatürde IRTA1 ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızın sonuçlarıTablo 5.3'de özetlenmiştir.

Tablo 5.3. Literatürde IRTA1 ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızın sonuçları

IRTA1	**Fallini(73) 2012**	**ÇALIŞMAMIZ**
SMZL	0/21 (%0)	1/55(%1,8)
NMZL	154/210 (%73)	4/13 (%30,8)
ENMZL	307/329 (%93)	1/6 (%16,7)
MZL,NOS	22/30 (%73)	1/22(%4,5)
LPL	0/30 (%0)	0/17 (%0)
FL, NOS	0/80 (%0)	0/7(%0)
FL, GRADE1/2	0/130 (%0)	
FL, GRADE 3	0/110 (0%0)	

KLL/SLL	0/325 (%0)	0/6(%0)
MCL	0/121 (%0)	0/3 (%0)
YÖNTEM	İHK	İHK

Korinna Jöhrens ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada 7 dalak, 9 mezenterik LN, 9 toksoplazma LAP olan olgunun servikal LN'ü, 8 hiperplastik tonsil vakasında IRTA1 ile birlikte T-Bet, CD27, CD21, BCL2, CD75, CD45RA ifadesi incelenmiştir. IRTA1 ifadesine tonsilde epitel ilişkili B lenfositlerde ve mezenterik LN ve Toxoplazma ilişkili LN'lerinde monositoid hücrelerde rastlamışlar; dalak ve mezenterik LN'deki MZ hücrelerinde IRTA1 ifadesi görmemişlerdir(90).

Ira Miller ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı çalışmada nothern blot ve ISH yöntemi ile dalakta ve reaktif tonsil dokusunda ve nothern blot yöntemi ile ana hematopoetik seri hücrelerinde IRTA aile üyelerinin ekspresyonu incelenmiştir. Tüm IRTA aile üyelerini sadece B lineagede saptanmıştır. IRTA1 ve IRTA2'nin bazı lenfoblastoid hücrelerde de ekspresyonu izlenmiştir. Yine tüm aile üyeleri yüksek oranda Burkitt Lenfomada ifade edilmektedir.IRTA1 ifadesine MZ hücrelerinde ve intraepitelyal lenfositlerde rastlanmıştır(74). Başka bir çalışmada da benzer şekilde tonsilde perifoliküler alanlarda MZ'a uyacak şekilde ve epitel içindeki lenfositlerde IRTA ifadesi saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada IRTA ailesi üyelerinin ekstraselüler domainlerinde, intraselüler domainlerinde ve kullandıkları ITA M benzeri yolakdaki sinyal moleküllerinin aminoasit sekanslarındaki benzerlikler nedeni ile IG süperailesinin(Fc reseptör ailesi) bir alt grubu olduklarını düşündürür bulgular elde edilmiştir(91).

Lazzi ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada farklı enfeksiyöz sebeplere bağlı gelişen ve monositoid B hücelerinin yoğun bulunduğu 25 reaktif LAP olgusunda IRTA1 ifadesi incelenmiştir. IRTA1 ifade eden hücrelerin subkapsüler ve intemedier sinüs bölgelerinde yoğunlaştığı, tonsil ve intestinal MALT'daki IRTA1 ifade eden B hücrelerden farklı olarak GM'ler de de az sayıda IRTA1 pozitif B hücresinin (Pax 5 ile double staining yapılarak) bulunduğu saptanmıştır. GM'deki bu hücrelerde BCL6 ifadesi izlenmezken, CD27 pozitiftir. Sinüslerin içerisinde izlenen

monositoid B hücrelerde diğer lokalizasyondakilerden farklı olarak CD27 ifadesi saptanmamıştır. IG değişken bölgelerindeki mutasyon açısından bazı hücreler mutasyonlu iken bazılarında mutasyon izlenmemiştir. Sonuç olarak araştırmacılar IRTA1 ifadesi gösteren hücrelerin farklılaşma aşamarını şöyle özetlemiştir;

Afferent lenfatikler ile LN'e gelen antijen subkapsüle sinüs yerleşimli CD27 (-), IRTA1 (+) monositoid hücre tarafından karşılanırlar.

GM'e göç edip somatik hipermutasyon ve afinite matürasyonu geçirirler.

Daha sonrada medülladaki efferent damarlara doğru göç ederler(92).

Brunangelo Fallini ve arkadaşlarının 2003 yılındaki çalışmasında 15 tonsil, 5 dalak, 3 timus, 5 Peyer plağı, 10 foliküler hiperplazi gösteren LN, 15 monositoid B hücrelerden zengin reaktif LN, 7 MALT dokusu ve 3 representatif MALT Lenfoma (1 akciğer, 2 mide) dokularında İHK'sal, akım sitometri ve PCR yöntemleri ile IRTA1 ifadesi araştırılmıştır. Tonsillerde yüzey epitelinin altında ve içinde; Peyer plaklarında ise yüzey epitelinin içindeki lenfositlerde IRTA1 ifadesi saptanmış ve bu hücreler hafıza B hücre özelliğini yansıtacak şekilde CD27 pozitif bulunmuştur. IG değişken bölgelerinde mutasyon taşıyan, CD27 ifadesi gösteren ve BCL6 gibi GM belirteçlerini eksprese etmeyen hafıza B hücresi özelliğindeki olgularda IRTA1 ifadesi, Lazzi ve arkadaşlarının çalışmasındaki gibi Th hücre bağımlı GM reaksiyonundan geçtikleri şeklinde açıklanabilirken, IG değişken bölgelerinde mutasyon taşımayan olguların Ig değişken bölge mutasyonundan kaçmış hafıza B hücreleri veya Th bağımsız yanıt ile oluşan hafıza B hücreleri olabilecekleri şeklinde yorumlanmıştır. Tonsil ve peyer plaklarının tersine dalak ve mezenterik LN'lerinde çok seyrek IRTA1 ifadesine sahip hücre tespit edilmiş. Bu pozitiflik dalakta çok seyrek MZ hücrlerinde, mezenterik LN'de de MZ'a uyan alanlarda izlenmiş. Monositoid B hücrelerde de güçlü IRTA1 ifadesi saptanmış(72).Yine aynı araştırmacının 2012 yılında yayınlanan çalışmalarında 2104 farklı dalak dışı gelişim gösteren MZL lenfoma olgusu IRTA1 ifadeleri açısından araştırılmıştır. Sadece NMZL (%73) ve ENMZL (%93) olgularında IRTA1 ifadesi saptanmıştır. Çok seyrek pozitiflik izlenen FL, KLL/SLL ve MCL olgularında bu ekspresyon, morfolojik ve topografik olarak MZ farklılaşması görülmesi ile açıklanmış ve fokal izlenen bu

ekspresyonların mikroçevrenin IRTA1 ekspresyonu üzerine etkisi olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Plazma hücre farklılaşması görülmesi durumunda ise IRTA1 negatif bulunmuştur. NMZL splenik tiptekine benzer şekilde SMZL olgularının bazılarında minör pozitiflik saptanmıştır. IRTA1, MALT'da izlenen atipik MZ hiperplazisini, ENMZL'dan ayırt edememektedir. Sonuç olarak NMZL ve ENMZL olgularında özellikle doku bütünlüğünün görülemediği küçük biyopsi örneklerinde veya yeterli klinik bilginin olmadığı durumlarda IRTA1 ifadesinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır(73).

Roshanak Bob ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada monositoid B hücre ve/veya genişlemiş MZ alanları bulunduran 60 LN, IRTA1 ve T-Bet ifadeleri ve moleküler özellikleri açısından incelenmiştir. Olgular morfolojik olarak monomorfik ve polimorfik olarak sınıflandırılmıştır. 19 reaktif lezyonun %79'unda, 5 monomorfik lezyonun %1'inde, 36 polimorfik lezyonun%67'sinde IRTA1 ifadesi saptanmıştır. Bu olguların 41'i neoplastik olup, bunların %61'inde (n: 25) IRTA1 pozitiftir. Reaktif ve neoplastik proliferasyonu IRTA1 ifadesine göre ayrımanın mümkün olamdığını ancak klonalite analizleri ile bu ayrımın yapılabileceği sonucuna varılmıştır(19).

Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak NMZL ve EMZL olgularında IRTA1 pozitif bulunmuştur. Ancak serimizde literatürde bulunan pozitiflik oranlarından daha düşük 13 NMZL olgusunun 4'ünde (%30,8) ve 6 ENMZL olgusunun 1'inde (%16,7) IRTA1 ifadesi saptanmıştır.

IRTA1 ekspresyonu görülen NMZL olguların 3'ünde (%75) IRTA1 ile birlikte CD27 ifadesi saptanmıştır IRTA1 ifadesi gösteren ancak CD27 negatif NMZL ve ENMZL olgular değerlendirildiğinde; 1 NMZL olgusunda CD27 ve IGD negatif, IGM pozitiftir. IRTA1 pozitifliği, CD27 ve IGD negatifliği birlikte değerlendirildiğinde neoplastik hücrelerin GM reaksiyonuna girmeden somatik hipermutasyona uğramış olabileceğini olduklarını düşündürmektedir. ENMZL grubundasadece 1 vakada IRTA1 ifadesi bulunmakta ve bu vakada IGD pozitif, CD27 negatiftir. Bu olguda da yine neoplastik hücrelerin GM reaksiyonuna henüz girmemiş oldukları düşünülmüştür.

Ayrıca 55 SMZL olgusunun 1'inde IRTA1 pozitiftir. Bu olguda dalakta MZL zemininde büyük hücreli lenfoma transformasyonu gösteren bir olgunun Kİ örneğidir. Bu olguda dalak dokusunda IRTA1 negatif, Kİ'de pozitif bulunması açıklanamamıştır. SMZL vakalarında böyle bir pozitiflik belirtilmemektedir. Ancak DLBCL'da %27 oranında IRTA1 pozitifliği bildirilmektedir. Bu olguda dalakta düşük dereceli ve yüksek dereceli komponentte IRTA1 negatif iken, dalaktaki düşük dereceli komponentte pozitiftir. Bu durum açıklanamamıştır.

5.4. MNDA İFADESİ

MNDA ekspresyonunun tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 52 SMZL olgusunun 38'inde (%73,1), 17 LPL/WM olgusunun 5'inde (%29,4), 22 MZL-NOS olgusunun 10'unda (%63,6), 13 NMZL olgusunun 10'unda (%76,9), 7 FL olgusunun 1'inde (%14,3), 6 KLL/SLL olgusunun 4'ünde (%66,7), 6 ENMZL olgusunun 1'inde (%16,7) ve 3 MCL vakasının 2'sinde (%59,5) ekspresyonu izlenmiştir. İstatistiksel olarak MNDA ekspresyonu SMZL, MZL-NOS, NMZL ve KLL/SLL grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p: 0.001).Literatürde MNDA ifadesinin değerlendirildiği çalışmalar ve çalışmamızın sonuçları Tablo 5.4'de özetlenmiştir.

Tablo 5.4. Literatürde MNDA ifadesinin değerlendirildiği çalışma ve çalışmamızın sonuçları

MNDA	METCALFET 2011 (70)EKSTRAMEDÜLLER DOKULAR	METCALFET 2011Kİ	G. KANELİS 2009	G. KANELİS, 2009, KEMİK İLİĞİ	ÇALIŞMAMIZ
SMZL	5/21 (%23.8)		20/20 (%100)	9/9 (%100)	38/52 (%73,1)
NMZL	16/24 (%66.7)		43/57 (%75)		10/13 (%76,9)
ENMZL	27/44 (%61.4)		19/20 (%95)		1/6 (%16,7)
LPL	2/8 (%25)	0/28 (%0)	10/12 (%83)		5/17 (%29,4)
KLL/SLL	4/31 (%12.9)	0/15 (%0)	23/35 (%65)		4/6 (%66,7)
FL		2/87 (%2.3)	9/184 (%5)	0/5 (%0)	1/7 (%14,3)
FL, GRADE 1 VE 2	3/69 (%4.3)				
FL, GRADE 3	3/41 (%7.3)				

MCL	9/140 (%6.4)	1/18 (%5.6)	61/74 (%82)		2/3 (%66,7)
YÖNTEM	İHK	İHK	İHK (WB,FISH)	İHK	İHK
CUT-OFF	%15	%15	%15	%15	%15

Kanelis ve arkadaşlarının 2009 yılındaki çalışmasında normal dokularda ve farklı lenfoma gruplarında MNDA ifadesi araştırılmıştır.Normal dokulardaki dağılımına bakıldığında GM'lerde, reaktif monositoid B hücrelerde ve plazma hücrelerinde MNDA negatiftir. MZ hücrelerinde (double floresan teknik ile CD20, IGM ve CD27 pozitif iken IGD negatif) ve az sayıda mantle zon hücresinde (CD20, IGM, IGD pozitif iken CD27 negatif) MNDA pozitif bulunmuştur. Tanı gruplarına göre ise; KLL/SLL grubunda %65, MCL grubunda %82, NMZL grubunda %75, SMZL grubunda %100, ENMZL grunbunda %95, LPL grubunda %83, FL grubunda %5 oranında MNDA pozitivitesi saptanmıştır. MNDA pozitif NMZL hücrelerinde %13 oranında CD5 ve %32 oranında IGD ifadesi ve %32 oranında plazma hücre farklılaşması varken, MNDA negatif NMZL hücrelerinde %14 oranında CD5, %64 oranında IGD ifadesi ve %14 oranında plazma hücre farklılaşması saptanmıştır. MNDA ifadesi gösteren az sayıdaki olgunun ise Grade3a, post-GM belirteçlerinden MUM1 ifadesi gösteren ve t(14;18) bulundurmayan olgular olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak MZ farklılaşması gösteren FL olguları ile foliküler kolonizasyon yapmış NMZL olgularında MNDA'nın NMZL tanısı yönünde faydalı bir belirteç olduğu belirtilmiştir(68).

Metcalfet ve arkadaşlarının 2011 yılındaki çalışmasında ise440 ekstramedüller lenfoma olgusu ve atipik ve neoplastik lenfoid infiltrat içeren 216 Kİ, MNDA ifadesi açısından araştırılmıştır. Ekstramedüller dokularda NMZL olgularında %66,7, ENMZL olgularında %61,4, SMZL olgularında %23,8, LPL olgularında %25, FL olgularında Grade 1 vakalarda %4,3, Grade 2 vakalarda %7,3, KLL/SLL olgularında %12,9 ve MCL olgularına %6,4 oranlarında MNDA ifadesi saptanmıştır. 216 Kİ'nin değerlendirmesinde ise MCL'da %5,6, FL'da %2,3 oranında pozitiflik görülürken; tüm KLL/SLL ve LPL olguları negatiftir. MNDA MZL'larda daha yüksek oranlarda pozitif saptanmıştır. Aynı klon antikorun kullanıldığı Kanelis ve arkadaşlarının çalışmasına kıyasla KLL/SLL, MCL ve LPL olgularında çok düşük pozitiflik oranları elde edilmiş, bunun takip ve tespit problemleri nedeni ile dokunun

antijenik özelliğindeki kayba bağlı olabileceği düşünülmüştür. Kİ örneklerinde sadece 5 olguda MNDA ifadesi saptanmıştır. Bu olguların 2'si FL, 1'i MZL,NOS grubundadır. Pozitiflik izlenen olgularda MNDA ekspresyonunun iç kontroller olan myelomonositik hücrelere göre daha zayıf olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak MNDA'nın özellikle HGAL gibi güçlü GM belirteçlerini eksprese etmeyen olgularda MZL ile FL'nın ayrımında MZL lehine değerlendirilebilecek bir belirteç olduğu sonucuna varılmıştır(70).

Avadhut D. Joshi ve arkadaşlarının 2014 yılındaki KLL/SLL olgularında CD38'in prognostik önemini araştırdıkları çalışmasında 39 KLL olgusunda oligonükleotid mikroarray yöntemi ile gen analizi yapılmış ve MNDA ifadesinin düşük CD38 ifadesi ile birlikte olduğu vebu hastalarda klinik prognozun daha iyi olduğu tespit edilmiştir (71).

Çalışmamızda benzer şekilde MNDA ifadesi SMZL ve NMZL grubunda yüksek oranlarda, FL grubunda düşük oranda saptanmıştır. ENMZL grubunda ise literatürden farklı olarak düşük oranda bulunmuş ancak incelenen vaka sayısı çok azdır. Literatürle uyumlu şekilde Kİ'de MNDA ifade eden hücrelerde myelomonositik seride kuvvetli pozitiflik bulunmaktadır. Pozitif lenfoid hücrelerde miyeloid seriye göre daha soluk bir pozitiflik saptanmıştır. Yine literatür ile uyumlu şekilde MNDA pozitif olan hücrelerin büyük oranda CD27 pozitif olduğu görülmüştür. Her iki belirteçinde birlikte ifade olduğu vakaların tanı gruplarındaki dağılımına bakıldığında en yüksek oranda (%45,2) SMZL grubunda, daha sonra sırası ile %26,2 oranında MZL,NOS, %19 NMZL, %7,2 KLL/SLL ve %2,4 oranında da LPL/WM grubu gelmektedir. MCL olgularında literatür ile faklı şekilde yüksek oranda MNDA ifadesi izlenmiştir, ancak değerlendirilen olgu sayısı çok azdır(n:3). Literatür ile uyumlu şekilde pür plazma hücre farklılaşması gösteren olgularda plazma hücrelerinde MNDA ifadesi saptanmamıştır.

5.5. CD27 İFADESİ

CD27 ekspresyonunun tanı gruplarına göre dağılımına bakıldığında 54 SMZL olgusunun 27'sinde (%50), 17 LPL/WM olgusunun 5'inde (%29,4), 22 MZL-NOS olgusunun 18'inda (%81,8), 13 NMZL olgusunun 9'unda (%69,2), 7 FL vakasının

3'ünde (%42,9), 6 KLL/SLL olgusunun 4'ünde (%66,7), 6 ENMZL olgusunun 5'inde (%83,3) ve 3 MCL olgusunun 1'inde (%33,3) ekspresyonu izlenmiştir. Kİ lokalizasyonlu 1 SMZL ve 1 LPL/WM olgusunda neoplastik hücrelerin CD27 ekspresyonlarına dair kesin kanıya varılamamış ve olgular missing olarak kabul edilmiştir. CD27 ekspresyonu SMZL, NMZL, ENMZL, MZL-NOS ve KLL/SLL gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p: 0.010).

CD27 immatür ve naive B lenfositlerde negatif olan, GM reaksiyonu ile birlikte ifadesi izlenen ve hafıza B hücreleri ile plazma hücrelerinde pozitif olan bir belirteçtir.

Çalışmalarda normal dağılımına uygun şekilde dalak ve LN'de MZ hücrelerinde, NMZL ve SMZL olgularında pozitifliği izlenirken monositoid B hücrelerde ifadesi görülmemektedir(49, 68, 72, 90, 92).

5.6. LENFOPLAZMASİTİK LENFOMA VE MARJİNAL ZON LENFOMALARDA CD5 İFADESİ

CD5 normalde naive B lenfositlerde ve T lenfositlerde eksprese edilen bir membran glikoproteinidir. Aktive B lenfositlerde ifadesi azalır. Ancak IL-10 gibi sitokinler ile tekrar ifadesi artabilir. Non-neoplastik CD5 ifade eden B lenfositler küçük, dar sitoplazmalıı yuvarlak nükleuslu ve kümelenmiş kromatine sahip hücrelerdir. Bunlarda CD23, IGM ve IgD ifadesi izlenirken, Ig ağır zincir bölgelerinde mutasyonlar izlenmez. Neoplastik CD5 pozitif B lenfositlerde ise hipermutasyonlar izlenir. Klasik olarak KLL/SLL ve MCL'da CD5 ifadesini görmeyi beklerken, MZL'larda, FL'da ve LPL/WM'de de neoplastik hücrelerde ifadesi izlenebilir(27, 46).

SMZL'de CD5 ekspresyonu genellikle beklenmez.

Bir çalışmada akımsitometrik olarak perifer kanında CD5 ifadesine bakılmış ve tüm vakalarda negatif bulunmuştur. 1 yıl sonra bu 4 vakadan 3'ünde masif LAP ve Kİ tutulumu gelişmiş ve buradaki hücreler güçlü CD20 ve CD5 ifade etmekteymiş.

Takiplerde bu 3 olgu exitus olmuş ve CD5 pozitif SMZL vakalarının daha agresif seyrettiği sonucuna varılmış(25).

Başka bir çalışmada PB'den akım sitometrik olarak CD5 ifade eden 24 SMZL vakası saptanmış ve bu vakaların %75'inde splenektomi materyalinde CD5 ekspresyonu bulunmuştur. Klinik takiplerde 2 grup arasında fark saptanmamıştır.5 vakada plazma hücre farklılaşması görülmüştür. Bu vakaların hepsi CD5 negatiftir.Plazma hücre farklılaşması gösteren ve SMZL'de beklenmeyen yaygın Kİ tutulumu bulunan bu grupta LPL/WM ile ayırıcı tanı güçlüğü yaşanmıştır. Bu nedenle moleküler özellikleri araştırılan vakaların 4'ünde trizomi 3, 7q delesyonu ve trizomi 18 saptanıp bu olgular SMZL olarak yorumlanmıştır. 1 vakada tri 4 saptanmış ve bu özelliğin ayrıcı tanıda LPL/WM'den uzaklaştırdığı söylenmiştir(26).

Başka bir çalışmada PB tutulumu olan 11 tane CD5 pozitif SMZL vakası çalışılmış. Hastalarda CD5 negatif olanlar ile karşılaştırıldığında klinik olarak fark saptanmamıştır. Hepsinde neoplastik hücreler monositoid morfolojide izlenmiş, hiçbirinde kırmızı pulpada diffüz infiiltrasyon görülmemiş ve tüm vakalarda CD11c negativitesi ile Hairy Hücreli Lösemi dışlanmıştır. SMZL'de Kİ'de sıklıkla intrasinüzoidal infiltrasyon beklenmesine rağmen, bu vakalarda nodüler veya interstisyel diffüz infiltrasyon görülmüştür(93).

Yine başka bir çalışmada akım sitometrik olarak MZL'de %29, FL'de %12, LPL/WM'de %25 oranında CD5 ifadesi saptanmıştır(27).

MALT Lenfoma'da CD5 ifadesinden bahsedilen literatürlere bakıldığında göz, göz kapağı, konjonktiva, uterus, akciğer, rektum, bukkal mukoza gibi farklı lokalizasyonlarda bildirilen olgular bulunmaktadır(93). Bildirilen vakalar genellikle olgu sunumu şeklindedir. CD5 ekspresyon oranı yaklaşık %5'dir(46). Lokalize hastalık olarak kaldığı veya daha agresif seyredip Ki tutulumunun izlendiğine dair farklı çalışmalarda farklı klinik veriler bulunmaktadır ancak hasta sayısı az olduğundan biyolojik özellikleri konusunda yorum yapmak güçtür(94-99).

NMZL'de CD5 ekspresyonu sık beklenen bir bulgu değildir.

Bir çalışmada akım sitometrik ve immünhistokimyasal olarak CD5 ekspresyonu gösteren 7 vaka ile CD5 ifadesi göstermeyen 91 vaka karşılaştırılmıştır. 7 vakanın 4'ünde belirgin foliküler kolonizasyon, bu 4 vakanın 2 'sinde belirgin plazmositoid farklılaşma saptanmıştır. Vakaların hiçbirinde proliferasyon merkezi görülmemiştir. 6/7 vakanın Kİ'ne ulaşılabilmiş ve 3 vakada interstisyel, 3 vakada nodüler infiltrasyon paterni saptanmıştır. Vakalar CD5 ekspresyonları dışında morfolojik ve immünfenotipik olarak klasik NMZL'ye benzemektedir. CD5 ifade oranı %8.6 bulunmuş ve ileri evre hastalık ve Kİ tutulumu ile ilişkili olduğu söylenmiştir ancak bu vakaların indolent seyrettikleri ve prognozları çok iyi olduğu belirtilmiştir(46).

124 Non-MALT MZL'nın değerlendirildiği bir çalışmada 59 splenik, 37 nodal, 20 yaygın (splenik ve nodal) ve 8 lösemik fazdaki (splenik ve nodal olmayan) vaka çalışılmıştır. NMZL'de PB ve Kİ infiltrasyonu sık olarak izlenmiş, ancak kötü prognoz ile ilişkili bulunmamıştır. 15 vakada CD5, 13 vakada CD23 ifadesi görülmüştür(100).

CD5 eksprese eden KLL/SLL ve MCL vakalarının, klinik bulgular, demografik veriler, FISH ile mutasyon analizleri (13q-, +12, 11q-, 17p-, diğer) ve CD38 ekspresyonlarına göre yeniden değerlendirildiği bir çalışmada Kİ dokusu olmayan 75 vakaya ait dokuların %44'ünün KLL/SLL, %34'ünün MZL, %11'inin LPL olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada sadece Kİ değerlendirildiğinde %20'sine LPL, %1'ine KLL/SLL, %76'sına CD5(+), B Hücreli Lenfoma-NOS denmiştir(101).

LPL/WM'de %5-9 vakada CD5 ifadesinden bahseden yayınlar bulunmaktadır(34, 35).

Çalışmamızda MZL'larda CD5 ifade profillerine baktığımızda SMZL'lerde %16,7, NMZL'de %23,1, MZL,NOS'da %6,2 oranında pozitiflik saptanmıştır. ENMZL grubundaki olguların hiçbiri CD5 iadesi göstermemektedir. MZL grubunda CD5'in toplam ifadesi %7,3'tür (n: 6/82). Olguların prognostik özellikleri çalışmamızın konusu olmadığından CD5 ifadesi eden vakaların klinik seyirleri ile ilgili bilgi bulunmamaktadır.

6. SONUÇLAR

Cinsiyet ve yaşa göre dağılımlar arasında hiçbir tanı grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak yaş dağılımı izlenmemiştir. Olguların yaş ortalamalarına bakıldığında DSÖ 2008'e göre MCL dışındaki grupların beklenen yaş dağılımında oldukları görülmüştür. MCL ortalama 60 yaş civarında görülmekteyken bizim çalışmamızda ortalama yaş 72,3 bulunmuştur. Ancak çalışmada 3 MCL vakası olması nedeni ile bu durumun denek yetersizliği nedeni ile olabileceği düşünülmüştür.

LEF1 KLL/SLL vakalarında; Stathmin 1 FL vakalarında ve KLL/ SLL olgularında Ki67 ile yüksek proliferasyon gösteren paraimmünoblastlarda; IRTA1 NMZL vakalarında diğer lenfolara göre istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak şekilde ifade edilmektedir.

MNDA ve CD27 ifadeleri genel olarak birbirleri ile paralel görünümde ve MZL ve KLL/SLL vakalarında bulunmaktadır. CD27 ayrıca ENMZL olgularındada yüksek oranda pozitif bulunmuştur. Bu iki belirteç ayırıcı tanı güçlüğü yaratabilecek diğer tanı gruplarından MZL vakalarını ayırmakta yardımcı olabilmekte ancak MZL'nın alt tiplerinin ayrımında yardımcı olmamaktadır.

Değerlendirilen farklı gruplardaki lenfoma vakalarında neoplastik lenfositler plazmositoid farklılaşma gösterdiği durumda veya pür plazma hücresi şeklinde izlendiğinde CD27 dışındaki diğer belirteçlerin ifade kaybı görülmüştür.

MNDA tüm olgularda myelomonositer seride daha kuvvetli, neoplastik lenfositlerde görece daha soluk pozitiflik göstermektedir. Bu şekilde özellikle Kİ gibi infiltratif hücrelerin seyrek izlenebileceği dokularda MNDA pozitifliğinin neoplastik hücreye ait olup olmadığını değerlendirmek mümkün olabilmektedir. Ancak arada kalınan vakalarda mutlaka CD20 ile birlikte değerlendirilmeli veya nükleer bir belirteç olması nedeni ile CD20 ile çift boyama tercih edilmelidir. Benzer şekilde LEF1'ın T lenfositlerde de ifade olması ve düşük dereceli B lenfoproliferatif hastalıkların doğası gereği T lenfositlerin neoplastik hücrelere bazen çok yoğun eşlik

edebilmesi nedeni ile Kİ'de yorumu güçleştirebilmektedir. Bu nedenle LEF1 değerlendirmesinin net yapılamadığı olgularda nükleer bir belirteç olması nedeni ile CD3 ile çift boyama yapılabilir.

7. ÖZET

Amaç: Plazma hücrelerinin eşlik ettiği veya plazma hücre farklılaşması gösteren küçük B hücreli lenfomalar non-Hodgkin lenfomaların ayırıcı tanı güçlüğü yaşanan büyük bir grubunu oluşturmaktadır. Bu grup içerisinde yer alan KLL/SLL, FL, MZL'lar, LPL/ WM ve MCL bulunmaktadır. Plazma hücre farklılaşması gösterebilen bu alt tiplerde histomorfolojik, immünohistokimyasal, moleküler veriler ile klinik ve radyolojik korelasyon da yapılarak çoğu zaman tanıya gidilebilirken, tipik prezentasyonu ile karşımıza gelmeyen, beklenen klasik immünohistokimyasal özelliklerini sergilemeyen ya da histomorfolojik olarak benzer özellikler sergileyen vakalar yanlış tanı almaktadır. Çalışmamızda PHDBHL grubunda yer alan ve bu yönde tanı almış hastalarda, Farklı gelişim aşamalarındaki B hücrelerininin işlevlerinde rol alan ve literatürde de bu aşamadaki B hücrelerinden gelişen lenfomaların ayırıcı tanısında umut vaad ettiği söylenen Immune Receptor Translocation-Associated Protein 1(IRTA1), Myeloid Cell Nuclear Differantation Antigen(MNDA), Lymphoid enhancer binding factor-1 (LEF1), Stathmin1 ve CD27 immünhistokimyasal belirteçlerinin tanı gruplarındaki araştırmak dağılımlarını saptamak ve PHDBHL'larda ayırıcı tanıda kullanılabilirliklerini saptamak amaçlanmıştır.

Materyal-Metod: 2006 ile 2014 yılları arasında Ankara Ünversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gelen materyallerden düşük dereceli B hücreli lenfoma tanısı almış ve plazma hücrelerinin eşlik ettiği veya plazmositoid farklılaşma gösteren 93 olguya ait 130 örnek çalışmaya dahil edilmiş ve bu örnekler LEF1, MNDA, CD27, IRTA1 ve Stathmin1 antikorları ile incelenmiştir.

Sonuçlar: LEF1, Stathmin1 ve IRTA1 belirteçleri sırası ile KLL/SLL, FL ve NMZL vakalarında diğer gruplar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak pozitif bulunmuştur. Antikorların pozitif öngörü değeri (Positive Predictive Value: PPV)'ları daha düşük iken, negatif öngörü değeri (Negative Predictive Value: NPV) daha yüksek saptanmıştır. Ayrıca Stathmin1'in Kİ67 proliferasyon indeksi ile

korelasyon gösterdiği ve yüksek dereceli lenfomaya transformasyonun izlendiği alanlarda pozitiflik olduğu saptanmıştır. MCL vakalarında denek sayısı çok az olduğu için antikor ifadelerinin geneli yansıttığı şeklinde yorumu mümkün olmamıştır. CD27 dışındaki tüm çalışma antikorları neoplastik hücrelerin plazma hücrelerine dönüşümü oranı arttıkça ifadelerini kaybetmektedir.

Yorum: Bu çalışmada PHDGBL'ların ayrımında en başarılı sonuçlar LEF1, IRTA1 ve Stathmin1 ile alınmıştır. Ayırıcı tanı güçlüğü yaşanan vakalarda diğer tanısal belirteçler ve klinik bulgular ile kombine edilmemeri halinde; LEF1 KLL/SLL tanısında, Stathmin1 FL tanısında, IRTA1 NMZL olgularında özellikle monositoid farklılaşma gösterenlerin tanısında, MNDA ise genel olarak MZL tanısında kullanılabilecek yardımcı antikorlardır. Bunların hiçbirisinin tek başına çok kuvvetle bir antiteyi işaret edecek boyanma özelliği bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Plazma hücre farklılaşması, Non-Hodgkin Lenfoma, MNDA, IRTA1, LEF1, Stathmin1, CD27.

8. SUMMARY

AIM: Small B-cell lymphomas with plasma cell differentiation are a frequently seen group of non-Hodgkin lymphomas constitute difficulty on differential diagnosis. The entities are Chronic Lymphocytic Leukemia/ Lymphoma (CLL/SLL), Follicular Lymphoma (FL), Nodal Marginal Zone Lymphoma (NMZL), Extranodal Marginal Zone Lymphoma (ENMZL), Splenic Marginal Zone Lymphoma (SMZL), Lymphoplasmacytic Lymphoma/ Waldenström's macroglobulinemia (LPL/WM) and Mantle Cell Lymphoma (MCL). The diagnosis for the unspecified cases can be made by the help of clinical and radiological findings with histomorphological, immunohistochemical, and molecular data. However, the cases showing atypical presentation, unexpected immunohistochemical characteristics and or similar histology, can be misdiagnosed. In our study, we aimed to analyse the expression of Immune Receptor Translocation-Associated Protein 1(IRTA1), Myeloid Cell Nuclear Differentiation Antigen(MNDA), Lymphoid enhancer binding factor-1 (LEF1), Stathmin1 and CD27 which are involved in different stages of B cell ma and reported to be helpful in the differential diagnosis, and to detect the utility of these markers in the differential diagnosis of PHDBHL.

MATERIAL and METHODS: The cases of low-grade B-cell lymphomas and low-grade B-cell lymphoma with plasma cell differentiation, diagnosed between 2005-2014 in Ankara University, Department of Pathology were included in this study. Immunohistochemical stainings on 130 samples of 93 cases were analysed by using. LEF1, MNDA, CD27, IRTA1 and Stathmin1 antibodies were examined.

RESULTS: Statistically significant correlation with LEF1 in CLL/SLL, with Stathmin1 in FL and with IRTA1 in NMZL in comparison with other groups were detected. The positive predictive value of the antibodies were low, whereas negative predictive value were high. Besides these findings, there was a striking correlation between the Stathmin 1 expression and Ki67 proliferation index on CLL/SLL and blastoid mantle cell lymphomas, Stathmin 1 was mostly positive in higher grade areas of the CLL/SLL cases. Since the number of MCL cases were very few, we could not make a strong comment on MCL with the expression profile of these

antibodies. We observed decreased expression of all antibodies except CD27 on cases with pure plasma cell differentiation.

CONCLUSION: In this study, we obtained the most successful results with LEF1, IRTA1 ve Stathmin1 for differentiation of PHDGBL. LEF1 for CLL/SLL, Stathmin1 for FL, IRTA1 for NMZL especially with monocytoid differentiation, and MNDA for MZL in combine with clinical features and other diagnostic tests, could be helpful in cases showing diagnostic difficulty. None of these markers were found to be specific for any entity.

Key Words: Plasma cell diferentiation, Non-Hodgkin Lymphoma, MNDA, IRTA1, LEF1, Stathmin1, CD27.

9. KAYNAKLAR

1. Swerdlow S.H. CE HN, Jaffe E.S. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.2008.

2. Ioachim H L MLJ. Lymph Node Pathology2008.

3. al JESe. Hematopathology. 2011.

4. Naeim F RN GW. Hematopathology Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics and Molecular Approaches2008.

5. de Souza AW, Mesquita Junior D, Araujo JA, Catelan TT, Cruvinel Wde M, Andrade LE, et al. Immune system: part III. The delicate balance of the immune system between tolerance and autoimmunity. Revista brasileira de reumatologia. 2010;50(6):665-79.

6. Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-cell biology and development. The Journal of allergy and clinical immunology. 2013;131(4):959-71.

7. MREJoİ FS. Tools For B Cells2006.

8. Berkowska MA, van der Burg M, van Dongen JJ, van Zelm MC. Checkpoints of B cell differentiation: visualizing Ig-centric processes. Annals of the New York Academy of Sciences. 2011;1246:11-25.

9. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. The Journal of allergy and clinical immunology. 2010;125(2 Suppl 2):S33-40.

10. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. Nature reviews Immunology. 2015;15(3):149-59.

11. Mesquita Junior D, Araujo JA, Catelan TT, Souza AW, Cruvinel Wde M, Andrade LE, et al. Immune system - part II: basis of the immunological response mediated by T and B lymphocytes. Revista brasileira de reumatologia. 2010;50(5):552-80.

12. Cambier JC, Getahun A. B cell activation versus anergy; the antigen receptor as a molecular switch. Immunology letters. 2010;128(1):6-7.

13. Niemann CU, Wiestner A. B-cell receptor signaling as a driver of lymphoma development and evolution. Semin Cancer Biol. 2013;23(6):410-21.

14. Carroll MC. The complement system in regulation of adaptive immunity. Nature immunology. 2004;5(10):981-6.

15. De Silva NS, Klein U. Dynamics of B cells in germinal centres. Nature reviews Immunology. 2015;15(3):137-48.

16. Victora GD, Nussenzweig MC. Germinal centers. Annual review of immunology. 2012;30:429-57.

17. Berkowska MA, Driessen GJ, Bikos V, Grosserichter-Wagener C, Stamatopoulos K, Cerutti A, et al. Human memory B cells originate from three distinct germinal center-dependent and -independent maturation pathways. Blood. 2011;118(8):2150-8.

18. A Warsame JD, A Malecka. . Monocytoid B cells: An Enigmatic B cell Subset Showing Evidence of Extrafollicular Immunoglobulin gene Somatic Hypermutation. Basic Immunology. 2011.

19. Bob R, Falini B, Marafioti T, Paterson JC, Pileri S, Stein H. Nodal reactive and neoplastic proliferation of monocytoid and marginal zone B cells: an immunoarchitectural and molecular study highlighting the relevance of IRTA1 and T-bet as positive markers. Histopathology. 2013;63(4):482-98.

20. Roulland S, Suarez F, Hermine O, Nadel B. Pathophysiological aspects of memory B-cell development. Trends in immunology. 2008;29(1):25-33.

21. Stephen L. Nutt PDH, David M. Tarlinton, Lynn M. Corcoran. The generation of antibody-secreting plasma cells. 2015.

22. Bain B. Bone Marrow Pathology 4th Edition2010.

23. Gutierrez A, Jr., Tschumper RC, Wu X, Shanafelt TD, Eckel-Passow J, Huddleston PM, 3rd, et al. LEF-1 is a prosurvival factor in chronic lymphocytic leukemia and is expressed in the preleukemic state of monoclonal B-cell lymphocytosis. Blood. 2010;116(16):2975-83.

24. Gine E, Martinez A, Villamor N, Lopez-Guillermo A, Camos M, Martinez D, et al. Expanded and highly active proliferation centers identify a histological

subtype of chronic lymphocytic leukemia ("accelerated" chronic lymphocytic leukemia) with aggressive clinical behavior. Haematologica. 2010;95(9):1526-33.

25. Giannouli S, Paterakis G, Ziakas PD, Anagnostou D, Voulgarelis M. Splenic marginal zone lymphomas with peripheral CD5 expression. Haematologica. 2004;89(1):113-4.

26. Baseggio L, Traverse-Glehen A, Petinataud F, Callet-Bauchu E, Berger F, Ffrench M, et al. CD5 expression identifies a subset of splenic marginal zone lymphomas with higher lymphocytosis: a clinico-pathological, cytogenetic and molecular study of 24 cases. Haematologica. 2010;95(4):604-12.

27. Challagundla P, Jorgensen JL, Kanagal-Shamanna R, Gurevich I, Pierson DM, Ferrajoli A, et al. Utility of quantitative flow cytometry immunophenotypic analysis of CD5 expression in small B-cell neoplasms. Archives of pathology & laboratory medicine. 2014;138(7):903-9.

28. Soljic V, Perak RB, Vukojevic K, Saraga-Babic M, Bubalo P, Karan D, et al. ZAP-70 expression and proliferative activity in chronic lymphocytic leukemia. Leukemia & lymphoma. 2013;54(6):1171-6.

29. Erdfelder F, Hertweck M, Filipovich A, Uhrmacher S, Kreuzer KA. High lymphoid enhancer-binding factor-1 expression is associated with disease progression and poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia. Hematology reports. 2010;2(1):e3.

30. Naderi N, Yang DT. Lymphoplasmacytic lymphoma and Waldenstrom macroglobulinemia. Archives of pathology & laboratory medicine. 2013;137(4):580-5.

31. Pei Lin SH BCH. Lymphoid Neoplasms Associated With IgM Paraprotein. 2005.

32. Iwatani K, Takata K, Sato Y, Miyata-Takata T, Iwaki N, Cui W, et al. Low-grade B-cell lymphoma presenting primarily in the bone marrow. Human pathology. 2014;45(7):1379-87.

33. Sovani V, Harvey C, Haynes AP, McMillan AK, Clark DM, O'Connor SR. Bone marrow trephine biopsy involvement by lymphoma: review of

histopathological features in 511 specimens and correlation with diagnostic biopsy, aspirate and peripheral blood findings. Journal of clinical pathology. 2014;67(5):389-95.

34. Hunter ZR, Branagan AR, Manning R, Patterson CJ, Santos DD, Tournilhac O, et al. CD5, CD10, and CD23 expression in Waldenstrom's macroglobulinemia. Clinical lymphoma. 2005;5(4):246-9.

35. Konoplev S, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE, Jorgensen JL, Lin P. Immunophenotypic profile of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenstrom macroglobulinemia. American journal of clinical pathology. 2005;124(3):414-20.

36. Poulain S, Roumier C, Decambron A, Renneville A, Herbaux C, Bertrand E, et al. MYD88 L265P mutation in Waldenstrom macroglobulinemia. Blood. 2013;121(22):4504-11.

37. Treon SP, Patterson CJ, Munshi NC, Anderson KC. Proceedings of the Seventh International Workshop on Waldenstrom Macroglobulinemia. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2013;13(2):181-3.

38. Bianchi G, Sacco A, Kumar S, Rossi G, Ghobrial I, Roccaro A. Candidate genes of Waldenstrom's macroglobulinemia: current evidence and research. Appl Clin Genet. 2013;6:33-42.

39. Braggio E, Philipsborn C, Novak A, Hodge L, Ansell S, Fonseca R. Molecular pathogenesis of Waldenstrom's macroglobulinemia. Haematologica. 2012;97(9):1281-90.

40. Gachard N, Parrens M, Soubeyran I, Petit B, Marfak A, Rizzo D, et al. IGHV gene features and MYD88 L265P mutation separate the three marginal zone lymphoma entities and Waldenstrom macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphomas. Leukemia. 2013;27(1):183-9.

41. Martinez-Lopez A, Curiel-Olmo S, Mollejo M, Cereceda L, Martinez N, Montes-Moreno S, et al. MYD88 (L265P) Somatic Mutation in Marginal Zone B-cell Lymphoma. The American journal of surgical pathology. 2015.

42. Jares P, Colomer D, Campo E. Molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma. J Clin Invest. 2012;122(10):3416-23.

43. Vegliante MC, Palomero J, Perez-Galan P, Roue G, Castellano G, Navarro A, et al. SOX11 regulates PAX5 expression and blocks terminal B-cell differentiation in aggressive mantle cell lymphoma. Blood. 2013;121(12):2175-85.

44. Lu TX, Li JY, Xu W. The role of SOX11 in mantle cell lymphoma. Leukemia research. 2013;37(11):1412-9.

45. Schrader C, Janssen D, Klapper W, Siebmann JU, Meusers P, Brittinger G, et al. Minichromosome maintenance protein 6, a proliferation marker superior to Ki-67 and independent predictor of survival in patients with mantle cell lymphoma. Br J Cancer. 2005;93(8):939-45.

46. Jaso JM, Yin CC, Wang SA, Miranda RN, Jabcuga CE, Chen L, et al. Clinicopathologic features of CD5-positive nodal marginal zone lymphoma. American journal of clinical pathology. 2013;140(5):693-700.

47. Campo E, Miquel R, Krenacs L, Sorbara L, Raffeld M, Jaffe ES. Primary nodal marginal zone lymphomas of splenic and MALT type. The American journal of surgical pathology. 1999;23(1):59-68.

48. Salama ME, Lossos IS, Warnke RA, Natkunam Y. Immunoarchitectural patterns in nodal marginal zone B-cell lymphoma: a study of 51 cases. American journal of clinical pathology. 2009;132(1):39-49.

49. Traverse-Glehen A, Felman P, Callet-Bauchu E, Gazzo S, Baseggio L, Bryon PA, et al. A clinicopathological study of nodal marginal zone B-cell lymphoma. A report on 21 cases. Histopathology. 2006;48(2):162-73.

50. Molina TJ, Lin P, Swerdlow SH, Cook JR. Marginal zone lymphomas with plasmacytic differentiation and related disorders. American journal of clinical pathology. 2011;136(2):211-25.

51. Matutes E, Oscier D, Montalban C, Berger F, Callet-Bauchu E, Dogan A, et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. Leukemia. 2008;22(3):487-95.

52. Kuper-Hommel MJ, van Krieken JH. Molecular pathogenesis and histologic and clinical features of extranodal marginal zone lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue type. Leukemia & lymphoma. 2012;53(6):1032-45.

53. Kwee I, Rancoita PM, Rinaldi A, Ferreri AJ, Bhagat G, Gascoyne RD, et al. Genomic profiles of MALT lymphomas: variability across anatomical sites. Haematologica. 2011;96(7):1064-6.

54. Gradowski JF, Jaffe ES, Warnke RA, Pittaluga S, Surti U, Gole LA, et al. Follicular lymphomas with plasmacytic differentiation include two subtypes. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2010;23(1):71-9.

55. KENJI YAMADA AMM HT. Follicular lymphoma with marked monocytoid or plasmacytoid differentiation and tiny or indistinct follicles: a case study of four patients. Leukemia & lymphoma. 2010.

56. Weiss LM, O'Malley D. Benign lymphadenopathies. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2013;26 Suppl 1:S88-96.

57. Arber DA, George TI. Bone marrow biopsy involvement by non-Hodgkin's lymphoma: frequency of lymphoma types, patterns, blood involvement, and discordance with other sites in 450 specimens. The American journal of surgical pathology. 2005;29(12):1549-57.

58. Torlakovic E, Torlakovic G, Brunning RD. Follicular pattern of bone marrow involvement by follicular lymphoma. American journal of clinical pathology. 2002;118(5):780-6.

59. Link BK, Maurer MJ, Nowakowski GS, Ansell SM, Macon WR, Syrbu SI, et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: a report from the University of Iowa/MayoClinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. J Clin Oncol. 2013;31(26):3272-8.

60. Casulo C, Burack WR, Friedberg JW. Transformed follicular non-Hodgkin lymphoma. Blood. 2015;125(1):40-7.

61. Goteri G, Lucarini G, Zizzi A, Costagliola A, Giantomassi F, Stramazzotti D, et al. Comparison of germinal center markers CD10, BCL6 and human germinal center-associated lymphoma (HGAL) in follicular lymphomas. Diagnostic pathology. 2011;6:97.

62. Dyhdalo KS, Lanigan C, Tubbs RR, Cook JR. Immunoarchitectural patterns of germinal center antigens including LMO2 assist in the differential diagnosis of marginal zone lymphoma vs follicular lymphoma. American journal of clinical pathology. 2013;140(2):149-54.

63. Marafioti T, Copie-Bergman C, Calaminici M, Paterson JC, Shende VH, Liu H, et al. Another look at follicular lymphoma: immunophenotypic and molecular analyses identify distinct follicular lymphoma subgroups. Histopathology. 2013;62(6):860-75.

64. Machado-Neto JA, Saad ST, Traina F. Stathmin 1 in normal and malignant hematopoiesis. BMB Rep. 2014;47(12):660-5.

65. Nemunaitis J. Stathmin 1: a protein with many tasks. New biomarker and potential target in cancer. Expert Opin Ther Targets. 2012;16(7):631-4.

66. Li Y, Hu S, Zuo Z, Hong M, Lin P, Li S, et al. CD5-positive follicular lymphoma: clinicopathologic correlations and outcome in 88 cases. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2015.

67. Ludlow LE, Johnstone RW, Clarke CJ. The HIN-200 family: more than interferon-inducible genes? Experimental cell research. 2005;308(1):1-17.

68. Kanellis G, Roncador G, Arribas A, Mollejo M, Montes-Moreno S, Maestre L, et al. Identification of MNDA as a new marker for nodal marginal zone lymphoma. Leukemia. 2009;23(10):1847-57.

69. van den Brand M, van Krieken JH. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. Haematologica. 2013;98(7):1003-13.

70. Metcalf RA, Monabati A, Vyas M, Roncador G, Gualco G, Bacchi CE, et al. Myeloid cell nuclear differentiation antigen is expressed in a subset of marginal zone lymphomas and is useful in the differential diagnosis with follicular lymphoma. Human pathology. 2014;45(8):1730-6.

71. Joshi AD, Hegde GV, Dickinson JD, Mittal AK, Lynch JC, Eudy JD, et al. ATM, CTLA4, MNDA, and HEM1 in high versus low CD38 expressing B-cell

chronic lymphocytic leukemia. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2007;13(18 Pt 1):5295-304.

72. Falini B, Tiacci E, Pucciarini A, Bigerna B, Kurth J, Hatzivassiliou G, et al. Expression of the IRTA1 receptor identifies intraepithelial and subepithelial marginal zone B cells of the mucosa-associated lymphoid tissue (MALT). Blood. 2003;102(10):3684-92.

73. Falini B, Agostinelli C, Bigerna B, Pucciarini A, Pacini R, Tabarrini A, et al. IRTA1 is selectively expressed in nodal and extranodal marginal zone lymphomas. Histopathology. 2012;61(5):930-41.

74. Miller I, Hatzivassiliou G, Cattoretti G, Mendelsohn C, Dalla-Favera R. IRTAs: a new family of immunoglobulinlike receptors differentially expressed in B cells. Blood. 2002;99(8):2662-9.

75. Erlichman B, Howard OM. CD27 signals through PKC in human B cell lymphomas. Cytokine. 1999;11(7):476-84.

76. Nilsson A, de Milito A, Mowafi F, Winberg G, Bjork O, Wolpert EZ, et al. Expression of CD27-CD70 on early B cell progenitors in the bone marrow: implication for diagnosis and therapy of childhood ALL. Experimental hematology. 2005;33(12):1500-7.

77. Goto N, Tsurumi H, Takemura M, Kanemura N, Kasahara S, Hara T, et al. Serum soluble CD27 level is associated with outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone. Leukemia & lymphoma. 2012;53(8):1494-500.

78. De Roos AJ, Mirick DK, Edlefsen KL, LaCroix AZ, Kopecky KJ, Madeleine MM, et al. Markers of B-cell activation in relation to risk of non-Hodgkin lymphoma. Cancer research. 2012;72(18):4733-43.

79. Sakanishi T, Yagita H. Anti-tumor effects of depleting and non-depleting anti-CD27 monoclonal antibodies in immune-competent mice. Biochemical and biophysical research communications. 2010;393(4):829-35.

80. Ody C, Jungblut-Ruault S, Cossali D, Barnet M, Aurrand-Lions M, Imhof BA, et al. Junctional adhesion molecule C (JAM-C) distinguishes CD27+ germinal

center B lymphocytes from non-germinal center cells and constitutes a new diagnostic tool for B-cell malignancies. Leukemia. 2007;21(6):1285-93.

81. Franco V, Florena AM, Ascani S, Paulli M, Salvato M, Pileri SA. CD27 distinguishes two phases in bone marrow infiltration of splenic marginal zone lymphoma. Histopathology. 2004;44(4):381-6.

82. Nylander K, Marklund U, Brattsand G, Gullberg M, Roos G. Immunohistochemical detection of oncoprotein 18 (Op18) in malignant lymphomas. The Histochemical journal. 1995;27(2):155-60.

83. Machado-Neto JA, de Melo Campos P, Favaro P, Lazarini M, Lorand-Metze I, Costa FF, et al. Stathmin 1 is involved in the highly proliferative phenotype of high-risk myelodysplastic syndromes and acute leukemia cells. Leukemia research. 2014;38(2):251-7.

84. Tandon B, Peterson L, Gao J, Nelson B, Ma S, Rosen S, et al. Nuclear overexpression of lymphoid-enhancer-binding factor 1 identifies chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma in small B-cell lymphomas. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2011;24(11):1433-43.

85. Menter T, Dirnhofer S, Tzankov A. LEF1: a highly specific marker for the diagnosis of chronic lymphocytic B cell leukaemia/small lymphocytic B cell lymphoma. Journal of clinical pathology. 2015.

86. Grumolato L, Liu G, Haremaki T, Mungamuri SK, Mong P, Akiri G, et al. beta-Catenin-independent activation of TCF1/LEF1 in human hematopoietic tumor cells through interaction with ATF2 transcription factors. PLoS genetics. 2013;9(8):e1003603.

87. Howe D, Bromidge T. Variation of LEF-1 mRNA expression in low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Leukemia research. 2006;30(1):29-32.

88. Liu P, Xu B, Shen W, Zhu H, Wu W, Fu Y, et al. Dysregulation of TNFalpha-induced necroptotic signaling in chronic lymphocytic leukemia: suppression of CYLD gene by LEF1. Leukemia. 2012;26(6):1293-300.

89. Kimura Y, Arakawa F, Kiyasu J, Miyoshi H, Yoshida M, Ichikawa A, et al. The Wnt signaling pathway and mitotic regulators in the initiation and evolution of

mantle cell lymphoma: Gene expression analysis. International journal of oncology. 2013;43(2):457-68.

90. Johrens K, Shimizu Y, Anagnostopoulos I, Schiffmann S, Tiacci E, Falini B, et al. T-bet-positive and IRTA1-positive monocytoid B cells differ from marginal zone B cells and epithelial-associated B cells in their antigen profile and topographical distribution. Haematologica. 2005;90(8):1070-7.

91. Hatzivassiliou G, Miller I, Takizawa J, Palanisamy N, Rao PH, Iida S, et al. IRTA1 and IRTA2, novel immunoglobulin superfamily receptors expressed in B cells and involved in chromosome 1q21 abnormalities in B cell malignancy. Immunity. 2001;14(3):277-89.

92. Lazzi S, Bellan C, Tiacci E, Palummo N, Vatti R, Oggioni M, et al. IRTA1+ monocytoid B cells in reactive lymphadenitis show a unique topographic distribution and immunophenotype and a peculiar usage and mutational pattern of IgVH genes. The Journal of pathology. 2006;209(1):56-66.

93. Kojima M, Sato E, Oshimi K, Murase T, Koike T, Tsunoda S, et al. Characteristics of CD5-positive splenic marginal zone lymphoma with leukemic manifestation ; clinical, flow cytometry, and histopathological findings of 11 cases. Journal of clinical and experimental hematopathology: JCEH. 2010;50(2):107-12.

94. Terada T. CD5-positive marginal zone B-cell lymphoma of the mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) of the lung. Diagnostic pathology. 2012;7:16.

95. Ballesteros E, Osborne BM, Matsushima AY. CD5+ low-grade marginal zone B-cell lymphomas with localized presentation. The American journal of surgical pathology. 1998;22(2):201-7.

96. Tasaki K, Shichishima A, Furuta M, Yoshida S, Nakamura N, Abe M. CD5-positive mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma of ocular adnexal origin: usefulness of fluorescence in situ hybridization for distinction between mantle cell lymphoma and MALT lymphoma. Pathology international. 2007;57(2):101-7.

97. Wenzel C, Dieckmann K, Fiebiger W, Mannhalter C, Chott A, Raderer M. CD5 expression in a lymphoma of the mucosa-associated lymphoid tissue (MALT)-

type as a marker for early dissemination and aggressive clinical behaviour. Leukemia & lymphoma. 2001;42(4):823-9.

98. Tanaka T, Kitabatake K, Iino M, Goto K. Immunohistochemical comparison of CD5, lambda, and kappa expression in primary and recurrent buccal mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphomas. Diagnostic pathology. 2011;6:82.

99. Ferry JA, Yang WI, Zukerberg LR, Wotherspoon AC, Arnold A, Harris NL. CD5+ extranodal marginal zone B-cell (MALT) lymphoma. A low grade neoplasm with a propensity for bone marrow involvement and relapse. American journal of clinical pathology. 1996;105(1):31-7.

100. Berger F, Felman P, Thieblemont C, Pradier T, Baseggio L, Bryon PA, et al. Non-MALT marginal zone B-cell lymphomas: a description of clinical presentation and outcome in 124 patients. Blood. 2000;95(6):1950-6.

101. Dronca RS, Jevremovic D, Hanson CA, Rabe KG, Shanafelt TD, Morice WG, et al. CD5-positive chronic B-cell lymphoproliferative disorders: diagnosis and prognosis of a heterogeneous disease entity. Cytometry Part B, Clinical cytometry. 2010;78 Suppl 1:S35-41.