



**T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**HODGKİN LENFOMA' DA MİKROÇEVRE PROFİLİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Merve KAKCI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI Prof. Dr. Semra PAYDAŞ

ADANA 2018



**T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

HODGKİN LENFOMA' DA MİKROÇEVRE PROFİLİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Merve KAKCI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI Prof. Dr. Semra PAYDAŞ

ADANA 2018

TEŞEKKÜR

Tez sürecinde bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan, desteğini esirgemeyen hocam

Prof Dr Semra Paydaş'a,

Bana azmi, sabrı öğreten ve üzerimde en çok emek sahibi olan anneme,

İlgi ve şefkatiyle her zaman yanımda olan sevgili eşime,

Bilimsel düşüncenin önemini öğreten, hayatımdaki en önemli rehber olan dayım

Prof Dr Enver Durmuşoğlu'na,

Birlikte çalışıp yorulduğumuz tüm mesai arkadaşlarıma,

Eğitim hayatımda emeği geçen tüm öğretmenlerime

Teşekkürü bir borç bilirim.

Dr Merve KAKCI

ADANA,2018

ÖZET

Hodgkin Lenfoma'da Mikroçevre Profiline Değerlendirilmesi

Amaç: Hodgkin lenfoma, tam kür sağlanabilen, malign bir hastalıktır. Ancak, hastaların %15-20 kadarında relaps veya nüks görülür. Klasik Hodgkin Lenfoma'da Reed-Stenberg hücreleri tümörü başlatır ve seyrek bulunur. Etrafında yoğun mikroçevre alanı bulunur. Mikroçevreyi oluşturan T ve B lenfositlerin rolü tam olarak patogeneze tanımlanamamıştır. T lenfosit fonksiyonlarını düzenleyen Programmed Death-1 (PD-1), Programmed Death Ligand-1 (PDL-1), Forkhead Box-3 (FOXP-3) ile B lenfosit fonksiyonunu gösteren granzim B'nin Hodgkin Lenfoma mikroçevresi ve prognozu ile ilişkili olduğuna dair önemli ipuçları saptanmıştır.

Hastalar ve Yöntem: Çalışmada ÇÜTF Onkoloji Bilim Dalında Hodgkin Lenfoma tanısı alan ve tedavi edilen hastalardan 62'si çalışma grubunu oluşturdu. Hastaların klinik ve demografik özellikleri ile klinik, demografik ve laboratuvar verileri gözden geçirildi. Mikroçevre biyolojisine yönelik PD-1, PDL-1, FOXP-3 ve Granzim B uygun antikorlarla immunhistokimyasal olarak çalışıldı; ekspresyon tümör hücresi ve mikroçevrede ayrı ayrı değerlendirilerek bilinen prognostik parametrelerle kıyaslandı. İstatistiksel analizler, SPSS 22.0 paket programları ile yapıldı. p değerinin <0.05 olması anlamlı kabul edildi.

Bulgular ve sonuç: Yaş (p=0,05), evre 4 hastalık (p=0,01), ilk tedavi yanıtı (p=0,03), hipoalbuminemi (p=0,01), lenfosit sayısının <1000/mm³ olması (p<0,001), nötrofil/lenfosit oranı (p=0,009), lökosit/lenfosit oranı (p=0,01), B semptomu (p=0,002) ve IPS-3,4 ve 7 skorları (p=0,03) sağ kalımla ilişkili bulundu. PD-1, RS hücre boyanmasında sadece bir hastada pozitif. PD-1'in mikroçevre boyanması sağ kalımla ilişkili bulunmadı (p=0,3). PD-L1'in RS hücre boyanması ve mikroçevre boyanması sağ kalımla ilişkili bulunmadı (p=0,3 ve p=0,07). FOXP3 boyanmasında non-spesifik boyanan vaka sayısı 36 idi, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Granzim B'nin RS hücrelerinde pozitif olması sağ kalımla ilişkili bulunmadı (p=0,1). Granzim B'nin mikroçevrede boyanması, sağ kalımla ilişkili bulunmadı (p=0,9). PD-L1'in hem RS hücrelerinde hem de mikroçevrede pozitif boyanmasıyla sağ kalım arasında ilişki bulunmadı (p=0,06). HL'da bilinen prognostik parametreler ve skorların yanısıra LLO ve IPS-4 de yararlı bulunmuştur. Çalışılan biyobelirteçlerden hiçbirisi tek başına doğrudan sağ kalım üzerine etkili bulunmamıştır. Ancak daha geniş hasta gruplarıyla çalışmaları güçlendirmek gelecek tedavi yaklaşımlarına yol gösterecektir.

Anahtar Sözcükler: Hodgkin lenfoma, mikroçevre, PD-1, PDL-1, FOXP-3, Granzim B

ABSTRACT

Evaluation of Microenvironment Profile in Hodgkin's Lymphoma

Purpose: Hodgkin's Lymphoma is a curable malignant disease. However, in 15-20% of patients, the disease recurs or becomes refractory. RS cells are rare in histopathological specimens and initiate the malignancy. There is dense microenvironment around it. However, the role of T and B lymphocytes that constitute the microenvironment has not been exactly defined. Significant clues have been found between prognosis and expression of Programmed Death-1 (PD-1), Programmed Death Ligand (PD-L1), GRB and Forkhead Box3 (FOXP3) which are regulating T and B lymphocyte functions.

Patients and Methods: Sixty-two patients diagnosed with Hodgkin's Lymphoma treated at the Department of Oncology in Çukurova University included in the study. Clinical, demographic and laboratory data of the patients were reviewed. PD-1, PDL-1, FOXP-3 and Granzim B were studied with appropriate antibodies immunohistochemically. Expression analysis performed on tumor cell and microenvironment separately and compared with known prognostic parameters. Statistical analysis performed with SPSS 22.0 software programs. p value <0.05 was considered significant.

Results: Age (p=0,05), stage 4 disease (p=0,01), initial response to treatment (p=0,03), hypoalbuminemia (p=0,01), lymphocyte count <1000/mm³, neutrophil/lymphocyte ratio ≤3,9 (p=0,009), leucocyte/lymphocyte ratio ≤3,9 (p=0,01), B symptom (p=0,02) and IPS-3 score (p=0,03) were found to be associated with event free survival. PD-1 at RS was found to be positive in only one patient. PD-1 staining in microenvironment was not found to be associated with event free survival. Staining for PD-L1 neither in RS-cell nor microenvironment were associated with survival. Non-specific staining for FOXP3 was detected in 36 cases. Intense staining of granzyme B at RS cells was found to be associated with event free survival. Intense staining for granzyme B was found in only two cases statistical analyses was not performed. Granzim B staining at microenvironment was not associated with survival. There was no survival difference between simultaneous PD-L1 staining in RS cells and microenvironment, (p=0,06). In addition to the known prognostic parameters and scores in HL, LLO and IPS-4 score were found to be useful. None of the biomarkers determined in this study were found associated with survival. However, more studies, with larger patient groups may provide more precise future treatment approaches.

Key Words: Hodgkin's Lymphoma, microenvironment, PD-1, PDL-1, FOXP-3, Granzyme B

İÇİNDEKİLER	SAYFA NO
TEŞEKKÜR	I
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER	V
KISALTMALAR	VII
TABLolar VE ŞEKİLLER	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. EPİDEMİYOLOJİ	4
2.2. ETİYOLOJİ	4
2.2.A. GENETİK FAKTÖRLER	4
2.2.B. ENFEKSİYÖZ ETKENLER	4
2.2.C. SİGARA	5
2.2.D. İMMUN YETMEZLİK	5
2.3. PATOGENEZ	6
2.3.A. EBV İLİŞKİLİ PATOGENEZ	6
2.4. MİKROÇEVRE	7
2.4.A. MİKROÇEVREDE T HÜCRENİN ROLÜ	9
2.4.B. MİKROÇEVREDE PD-1 VE PDL-1'İN ROLÜ	13
2.4.C. MİKROÇEVREDE FOXP-3'ÜN ROLÜ	15
2.4.D. MİKROÇEVREDE GRANZİM B'NİN ROLÜ	16
2.5. KLİNİK ÖZELLİKLER	16
2.6. EVRELEME	17
2.7. HODGKİN LENFOMA'NIN SINIFLANDIRILMASI	19
2.7.A. HİSTOPATOLOJİK TİPLENDİRMEYE GÖRE SINIFLANDIRMA	20
2.7.B. PROGNOTİK ALT GRUPLARIN BELİRLENMESİ	21
2.8. TEDAVİ	21
3. HASTA SEÇİMİ VE YÖNTEM	23
3.1. ETİK KURUL VE PROJE DESTEK ONAYI BİLGİLERİ	23
3.2. HASTA SEÇİMİ VE HASTA GRUBU MATERYALLERİ	24

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	25
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	58
EKLER	65
ÖZGEÇMİŞ	66



KISALTMALAR

AIDS	:Kazanılmış İmmun Yetmezlik Sendromu
APC	:Antijen Sunan Hücre
CTLA-4	:Cytotoxic T-lymphocyte-associated Antigen-4
CVID	:Sık Değişken İmmun Yetmezlik
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
EBV	:Ebstein-Barr Virüs
EFS	:Event Free Survival
FDG	:Florodeoksiglukoz
FFP	:Freedom From Progression
FOXP3	:Forkhead Box Protein 3
Gp	:Glikoprotein
HIV	:İnsan İmmun Yetmezlik Virusu
HL	:Hodgkin Lenfoma
HLA	:İnsan Lökosit Antijeni
IFN γ	:İnterferon Gama
IL	:İnterlökin
IPS	:Uluslararası Prognostik Skor
LDH	:Laktat Dehidrogenaz
LLO	:Lökosit/Lenfosit Oranı
LMP	:Latent Membran Protein

LPHL	:Nodüler Lenfosit Predominant Hodgkin Lenfoma
MHC	:Major Doku Uyumluluk Kompleksi
NCCN	:National Comprehensive Cancer Network
NK	:Doğal Öldürücü
NLO	:Nötrofil/Lenfosit Oranı
NS	:Nodüler Sklerozan
OS	:Overall Survival
PD-1	:Programmed Death-1 (Programlanmış hücre ölümü)
PD-L1	:Programmed Death Ligand-1
PET	:Pozitron Emisyon Tomografisi
RS	:Reed-Stenberg
RT	:Radyoterapi
TCR	:T hücre reseptörü
Th	:Yardımcı T hücre
Treg	:Regülatuar T hücre

TABLolar VE ŞEKİLLER**SAYFA NO**

Tablo 1: Ann-Arbor Evrelemesi	17
Tablo 2: Deauville Kriterleri	18
Tablo 3: IPS-3 Kriterleri	20
Tablo 4: IPS-7 Kriterleri	21
Tablo 5: Tedaviye Yanıt Değerlendirmesi	22
Tablo 6: Klinik ve Demografik Özelliklerin Prognoza Göre Dağılımı	26
Tablo 7: Patolojik Özellikler ve Prognoz ile İlişkisi	32
Tablo 8: Klinik ve Demografik Özelliklere Göre Sağkalım Süreleri	40
Tablo 9: Biyobelirteç İle Sağ Kalım Süreleri	49
Şekil 1: Reed-Stenberg Hyesi	6
Şekil 2: Reed-Stenberg Hyesinin Mikroçevre ile Etkileşimleri	8
Şekil 3: T hücre aktivasyonu	9
Şekil 4: Klasik Hodgkin Lenfoma’da İmmun Klirens	13
Şekil 5: Mikroçevrede PD-1 ve PD-L1’in Rolü	14
Şekil 6: RS Hyesinde PD-1 Boyanması	28
Şekil 7: PD-L1’in RS hücrelerinde ve Mikroçevrede Boyanması	29
Şekil 8: Granzim B’nin RS hücrelerinde Boyanması	30
Şekil 9: Granzim B’nin Mikroçevrede Boyanması	30
Şekil 10: FOXP’n Mikroçevrede Boyanması	31
Şekil 11: Yaş ve Sağ Kalım İlişkisi	33
Şekil 12: Evre ve Sağ Kalım İlişkisi	34
Şekil 13: IPS-3 ve Sağ Kalım İlişkisi	35
Şekil 14: IPS-4 ve Sağ Kalım İlişkisi	35
Şekil 15: IPS-7 ve Sağ Kalım İlişkisi	36
Şekil 16: Tedavi Yanıtı ve Sağ Kalım İlişkisi	36
Şekil 17: Hipoalbuminemi ve Sağ Kalım İlişkisi	37
Şekil 18: Lenfopeni ve Sağ Kalım İlişkisi	38

Şekil 19: NLO ve Sağ Kalım İlişkisi	39
Şekil 20: LLO ve Sağ Kalım İlişkisi	39
Şekil 21: B Semptomu ve Sağ Kalım İlişkisi	40
Şekil 22: PD-1 Tümörde Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi	42
Şekil 23: PD-1 Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi	42
Şekil 24: PD-L1 Tümörde Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi	43
Şekil 25: PD-L1 Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi	43
Şekil 26: Granzim B Tümörde Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi	44
Şekil 27: Granzim B Mikroçevrede Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi	45
Şekil 28: FOXP3 Mikroçevrede Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi	46
Şekil 29: PD-1 ve PD-L1 Ko-ekspresyonu ve Sağ Kalım İlişkisi	47
Şekil 30: PD-L1'in Aynı Anda Tümör ve Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalım İlişkisi	47
Şekil 31: Granzim B'nin Aynı Anda Tümör ve Mikroçevrede Pozitif Olması ve Sağ Kalım İlişkisi	48

1-GİRİŞ

Hodgkin Lenfoma (HL), lenf nodlarını ve lenfatik sistemi etkileyen bir malignitedir. Hastaların çoğu 15 ile 30 yaşlarında tanı alır, görülme sıklığı 55 yaşından sonra ikinci bir artış gösterir. Batılı ülkelerde en sık klasik HL alt tipi (%95) görülürken %5 oranında nodüler lenfosit predominant HL (NLPHL) alt tipi görülür. Klasik HL'nin 4 alt tipi vardır: Nodüler sklerozan (NS), mikst sellüler, lenfositten fakir ve lenfositten zengin. Klasik HL'da kemoterapi ve/veya radyoterapi ile %80 kür sağlanabilir. Ancak, hastaların %15-20 kadarında hastalık tekrar eder veya refrakter hale gelir. HL'nin kür oranının yüksek olması, standart kemoterapilerin uzun süreli yan etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve yeni tedavi çalışmaları için teşvik edici olmuştur (1).

Klasik HL, inflamatuvar arka planda Reed-Sternberg (RS) hücreleri ile karakterizedir. LPHL ise, popcorn hücreleri olarak adlandırılan lenfosit-predominant hücrelerle karakterizedir. Klasik HL'da tümörü başlatan RS hücreleri yanısıra hastalığın biyolojisinde oldukça önemli olan mikroçevre bulunmaktadır. Ancak, mikroçevreyi oluşturan T ve B lenfositleri ile diğer hücrelerin rolü ve patogenezdaki katkısı tam olarak tanımlanamamıştır (2).

Tümör mikroçevresinin kanserde kritik rol oynadığı pek çok çalışmada gösterilmiştir. Anormal mikroçevre, tümör gelişiminde, hücre bölünmesinde ve hastalık progresyonunda rol alır. Tümör mikroçevresinde hücre-hücre etkileşimleri olur ve inflamatuvar sitokinler salınır. Klasik HL'da mikroçevre, RS hücreleri ile reaktif hücrelerden oluşur. Bu reaktif hücreler; tümör büyümesini uyaran veya tümör hücrelerinin devamlılığını sağlayan çözünbilir (solübl) ya da hücre membranına yapışık moleküller üretirler (3). Mikroçevrede T Helper-1 (Th-1), T Helper-2 (Th-2), T Regülatuar (Treg), T sitotoksik , malign olmayan B lenfositler ve makrofajlar bulunur (4). En önemli rolü T helper (Th) lenfositleri oynamaktadır. Th alt tiplerinin yoğunlukları tümörün özelliklerine göre değişmektedir (5). Klasik HL'da, sistemik T lenfosit spesifik immun defektler iyi anlaşılmıştır ancak; Th fonksiyonlarının kompleks ve heterojen olması nedeniyle mikroçevredeki spesifik rolü net değildir (6). Klasik HL'da T lenfositlerinin rolünün tümör gelişimini ve büyümesini baskılamak olduğu düşünülmektedir. Uzun süre immunsupresif tedavi alan (T lenfositleri baskılanan) hastalarda lenfoma sıklığının artması bu görüşü destekler (2).

RS Hücresi, Th2 ve Treg hücresi için kemoatraktan olan molekülleri sentezler. Bu moleküller, tümörü infiltre eden T hücrelerinde yeniden programlanmayı başlatır. Yeniden programlanma sonucu immunglobulin süper ailesinin bir üyesi olan “Programmed Death-1 (PD-1)” ve onun ligandı olan PD-L1 üretilir (2). Klasik HL’da PD-1 düzeyinin yüksek olması kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (7,8). PD-1; T lenfositler, B lenfositler, NK hücreleri ve monositler tarafından sentezlenir. T lenfosit aktivasyonunu negatif yönde etkiler. PD-1 knock out farelerde lupus benzeri bir otoimmün hastalık olduğu gözlenmiştir (9). PD-1 blokajı, hem Th hem T sitotoksik hücrelerinde anti tümör yanıtını artırır (10-12). Lökositlerden salınan PD-1 seviyesinin yüksek olması düşük sağkalımla ilişkilendirilmiştir (13). Bazı çalışmalar, sadece PD-L1 düzeyinin yüksek bulunmasının sağkalım üzerinde bağımsız bir negatif etken olduğunu söylese de; bir çalışmada PD-L1 ve PD-1’in birlikte yüksek düzeyde bulunmasının sağkalım üzerinde negatif etkisi saptanmıştır (14).

FOX ailesi, büyük bir transkripsiyon ailesidir. FOXP3, normal T hücre fonksiyonlarını düzenleyen esansiyel bir moleküldür, scurfın olarak da bilinir. Xp11.23 geni üzerinde yer alır. Bu gen üzerindeki IPEX hastalığına yol açan mutasyonlar, fatal immün disregülasyona neden olur (15).

Granzim B ilişkili hücre ölümü, sıklıkla sitotoksik T lenfositler ve NK hücrelerde görülen; allojeneik, virusla enfekte olmuş hücreler ve tümör hücrelerini elimine etme yöntemidir. NK ve sitotoksik T hücrelerinde en bol bulunan serin proteazdır. Enfekte hücre veya tümör hücresi gibi hedef konumdaki hücre T sitotoksik/NK hücre tarafından tanınır. Perforinle immünolojik sinaps oluşur, granzim B hedef hücreye transloke olur ve hedef hücredeki apoptotik süreç başlar (16). Bu yanıtın T sitotoksik ve NK hücrelerine özgü olduğu düşünülse de son çalışmalar, IL-21 ve B hücre reseptör stimülasyonunun B hücresinde granzim B’nin aktif formunun üretimine neden olduğu anlaşılmıştır. Granzim B salgılayan B hücrelerinin otoimmün yanıtlarda ve kanser immünolojisinde önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir (17).

Bu çalışmada, yukarıda mikroçevredeki rolleri özetlenen PD-1, PDL-1, FOXP3 ve granzim B’nin mikroçevre üzerindeki rolleri, tümör biyolojisine etkisi, sağ kalım ve prognozla ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmanın amacı, prognoz üzerine olumlu veya olumsuz etkisi olan molekülleri belirleyerek güncel tedavilerde olası rollerini belirlemektir.

2-GENEL BİLGİLER

HL ile ilişkili klinik bilgiler 1832 yılında Thomas Hodgkin tarafından tanımlanmıştır. Thomas Hodgkin, ilk olarak HL ile ilişkili olarak Londra’da Tıp ve Cerrah Derneği Dergisinde postmortem olarak lenf bezlerinin makroskopik görünümünü vurguladığı 7 olguyu içeren “Tıbbi-Cerrahi Kesitlerde Absorbe Edici Bezler ve Dalakta Morbit Görünüm” isimli makalesini yayınlamıştır. Daha sonra 1856 yılında da Samuel Wilks 45 hastalık bir seriyi yayınlamıştır. HL’ nın histolojik olarak sınıflandırılması ilk olarak Jackson ve Parker tarafından 1944 yılında yapılmıştır. Carl Sternberg ve Dorothy Reed Hodgkin lenfomanın ilk tanımını yapmışlardır. 1930’lu yıllardan sonra tedavide radyoterapinin etkinliği gösterilmiştir. İlk kez 1950 yılında klinik evrelendirme yapılmış ve 1970’li yıllardan itibaren de De Vita ve arkadaşları kombine kemoterapi ile tedavi sonuçlarını yayınlamıştır (18). Klasik HL germinal merkezli B lenfositlerinden köken alan lenfoid dokunun malin bir hastalığıdır. Reed-Sternberg hücrelerinin varlığı ile karakterizedir. Nodüler lenfositten zengin HL tipik B hücre belirleyicilerini ekspres eder, lenfositik ve histiyositik varyantları bulunur (19).

2-1-EPİDEMİYOLOJİ

National Comprehensive Cancer Network (NCCN) verileri doğrultusunda 2017 yılında ABD’ de 8260 kişi HL tanısı alacak ve 1070 kişi HL nedeni ile hayatını kaybedecektir (1). Genç yetişkinlerde NS, ileri yaşlarda ise karışık hücreli (mikst) histoloji daha sık ortaya çıkar (20). Gelişmekte olan ülkelerde çocukluk ve genç erişkinlik döneminde görülür ve insidansı yaşla artarken; gelişmiş ülkelerde daha ileri yaşlarda görülür (21).

2-2-ETİYOLOJİ

Genetik faktörler, enfeksiyöz ajanlar özellikle EBV, sigara, ailesel öykü, immun yetmezlik etiolojide suçlanmıştır.

2-2-A-GENETİK FAKTÖRLER

HL görülen bir kişinin aile üyelerinde HL görülme riski 3-9 kat artmıştır (22). Etiyolojiyi belirlemeye yönelik çalışmalarda kalıtsal yatkınlık yaratan genlerin hastalığın oluşumunda önemli basamak olduğu düşünülmektedir. HLA genleri bu konuda suçlanmaktadır ancak hastalıkla ilişkili HLA alt tipleri net belirlenebilmiş değildir. Diğer yandan; hangi ekstrinsik faktörlerin bu genleri aktive ettikleri de net olarak bilinmemektedir (23). Familial HL' nın; klas I HLA A1, B5, B8 ve B18 allelleri arasında zayıf da olsa bir ilişki vardır, familial NS tip ile HLADRB1*, 1501, DQA1*, 0102, DQB1*, 0602 alleleri ve TAP (transporter associated with antigen processing) geni arasında korelasyon olduğu rapor edilmiştir (24). Yalnızca bir çalışmada HLA-DPB1*0301 varlığının tüm etnik gruplarda HL riskini artırdığı; HLA-DPB1*0401 varlığının Japon ve Çinlilerde düşük riskle ilişkili iken beyaz Amerikalı ve İsraillilerde artmış riskle ilişkili olduğu gösterilmiştir (25).

2-2-B-ENFEKSİYÖZ ETKENLER

Birçok çalışma, enfeksiyöz mononükleoz geçiren bir kişide HL için rölatif riskin yaklaşık 3 kat arttığını göstermiştir (26). EBV enfeksiyonu, T hücre popülasyonunu değiştirir ve bu etki uzun yıllar sürer. Bu etkiye immünolojik skar da denilmekte ve EBV enfeksiyonu geçirildikten ortalama 2.9 yıl sonra HL meydana gelmektedir (27,28). Ayrıca HL' lı hastaların lenf bezlerinde %30-50 oranında EBV genomunun varlığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda, özellikle pediatrik yaş gurubunda EBV-HL ilişkisi %80-100 olarak tanımlanmaktadır (18).

Genç erişkinlik döneminde görülen HL' nın düşük sosyoekonomik düzeyle ters ilişkisi olduğu söylenmektedir (26). Bir çalışmada, oral flora mikrobiyomlarının erken yaşta erişkin oral florasına dönüşümünün (oral bakteriyel mikrobiyota maternal floradan farklılaşmaya başladığında ilk etapta Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria, Spirochaetes grupları baskın olarak izole edilir. Daimi dişlenmeyle beraber gram negatif anaerobik bakteri türlerinin sayısında artış gözlenir) HL için koruyucu olduğu öne sürülmüştür. Mikrobiyatada dönüşümün erken olması, Th-2 düzeyini artırırken, Th-1 düzeyini azaltmaktadır. Bu da Th-1 'in salgıladığı sitokin düzeylerinde azalmaya yol açmaktadır. Bu durum genel olarak hijyen hipotezi olarak bilinmektedir (29,30).

HIV enfeksiyonlu kişilerde özellikle AIDS olan bireylerde HL rölatif riski yaklaşık 10 kat artmıştır, risk artışı immunsupresyonla ilişkilidir. CD4 düzeyinin azalması riski artırır. Mikst sell er ve lenfositten fakir tipler, HIV ilişkili HL’da daha sıktır (31-33).

2-2-C-SİGARA

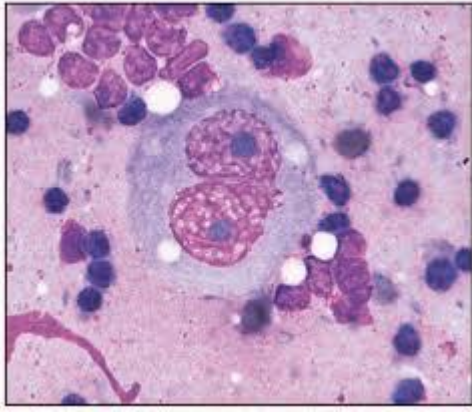
Sigara ve/veya tütün ürünleri tüketiminin HL için artmış riske sebep olduğu birçok çalışmada vurgulanmıştır (34).  alışmalar, sigaranın doza bağımlı olumsuz etkisini kanıtlamakta ve sigaranın HL gelişiminde   lenenebilir bir risk faktörü olduğunu belirtmektedir (35).

2-2-D- İMMUN YETMEZLİK

Edinsel immun yetmezlik tabloları HL riskini artırmaktadır. CVID, Wiskott-Aldrich, Bloom, transplantasyon sonrası gelişen lenfomalar bu grupta sayılabilir (1 ve 36).

2-3-PATOGENEZ

Klasik HL, malign özellikteki RS hücreleri ile immun hücrelerden meydana gelir. Bu immun hücre grubunda Th-1, 2,Treg, malign olmayan B lenfositleri ve makrofajlar bulunmaktadır (4). Tümör içeren dokuda malign hücre dışındaki hücreler mikroçevreyi oluşturmaktadır. HL’da patogenezi oluşturan etkene göre tümör mikroçevresindeki hücre alt gruplarının yoğunluğu değişmektedir. EBV pozitif HL’ da Th-1 lenfositleri daha baskındır, Tbet (TBX21), interferon-  (IFN- ) salınımı artar. EBV negatif HL’da ise; Th17 hücreleri baskındır, IL-23 salınımı artmıştır. Tedavilerin de patogenetik mekanizmalar göz önünde bulundurulup bu mekanizmaların inhibisyonu sağlaması daha mantıklı olacaktır (37).



Şekil 1: Reed-Stenberg Hücresi

2-3-A- HODGKİN LENFOMA'DA EBV İLİŞKİLİ PATOGENEZ

HL, 20. Yüzyılın başlarında yoğun inflamatuvar içeriğinden dolayı lenfoma yerine hastalık olarak tanımlanmıştı. Ancak Hodgkin/Reed-Stenberg hücrelerinin klonal B lenfositleri olduğunun ortaya çıkmasıyla lenfoma netlik kazanmıştır. Vakalarda oranları yaşa ve coğrafik bölgelere göre değişmekle birlikte tümör hücrelerinin EBV ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Primer EBV enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir, ancak enfeksiyöz mononükleoz tablosu da gelişebilmektedir. Enfeksiyon sonrası virolojik yanıt genellikle kontrol altındadır, ancak viral enfeksiyon eradike edilememektedir ve virus konakta persiste olarak kalmaktadır. Nadir görülmekle birlikte bazı vakalarda EBV ilişkili maligniteler gelişir ve immun disfonksiyon da bu duruma katkıda bulunur. EBV ilişkili lenfoproliferatif hastalıkların gelişiminde hem genetik lezyonlar hem de immunsupresifler riski artırmaktadır. EBV ilişkili lenfoid tümörler sıklıkla EBV spesifik T lenfositlerin immunsupresanlarla inhibe edilmesinden kaynaklanmaktadır (37).

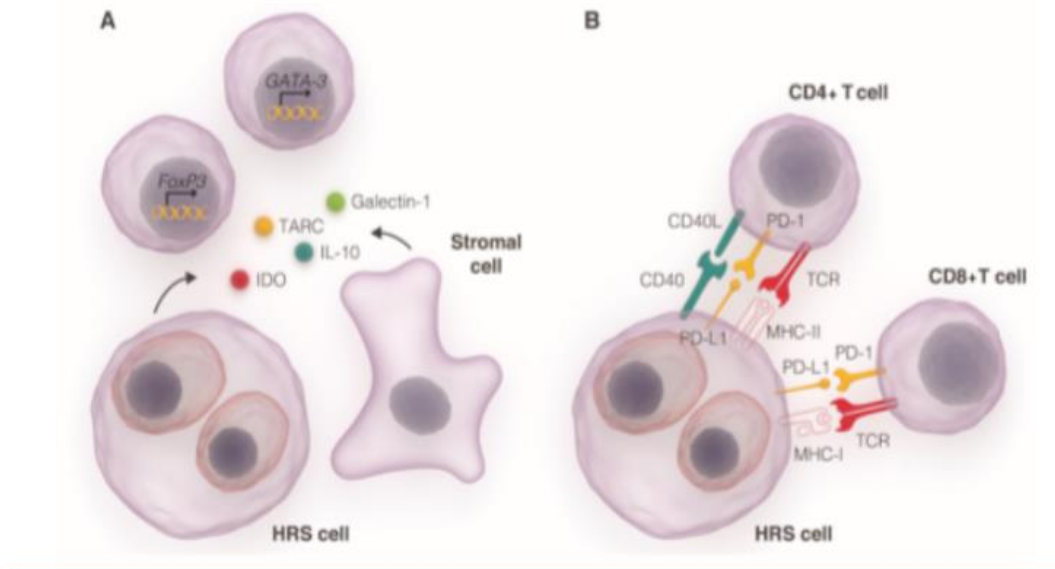
EBV; B lenfositlerine major zarf proteini gp350 aracılığı ile girerek B hücresindeki C3d kompleman reseptörü olan CD21'e bağlanmaktadır, HLA klas II antijenleri kofaktör olarak görev yapmaktadır. Daha sonra EBV'nin gH, gL ve gp42 glikoproteinleri hücre içerisine girmektedir. Ardından EBV'nin lineer DNA'sı sirküler bir yapı olarak epizom şeklini almakta ve EBV bu şekilde B lenfosit içinde latent bir enfeksiyon oluşturarak yıllarca sessiz şekilde bellek B lenfositleri içinde yaşamakta ve latent dönemde de latent membran proteinlerini (LMP) sentezlemeye devam etmektedir. Virusun latent olması NK ve T hücrelerince ortadan kaldırılma olasılığını azaltmaktadır. Virusun insan IL-10'a homolog IL-10 oluşturması ile hücre sağ kalımı

ve bcl-2 düzenlenmesi etkilenir. Makrofaj ve Th-1'den salınan sitokin yapımı azalmaktadır (27).

EBV pozitif RS hücreleri, primer EBV enfeksiyonunda da salgılanan EBV ilişkili proteinleri salgılamaktadır. Bunlar, EBV nükleus antijen-1, latent membran protein (LMP)-1 ve 2'dir (38). LMP-1, CD40 reseptörünü; LMP-2a, B hücre reseptörünü taklit etmektedir. Bu sayede immun sistem hücreleri EBV 'yi tanıyamamaktadır (37).

2-4-MİKROÇEVRE

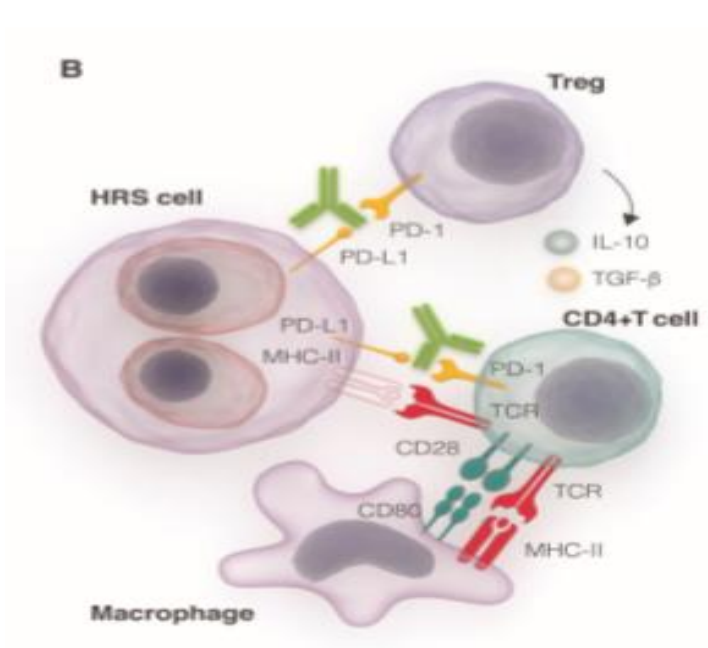
Tümör mikroçevresinin lenfoma patogenezinde kritik rolü olduğu pek çok kez gösterilmiştir. Anormal mikroçevre faktörleri, tümör gelişiminde, hücre bölünmesinde ve hastalık progresyonunda rol alır. Tümör mikroçevresi hücre-hücre etkileşimleri ve inflamatuvar sitokinlerin salınımında önemlidir. Klasik HL'da mikroçevre, RS hücreleri ile reaktif hücrelerden oluşur. Bu reaktif hücreler; tümör büyümesini uyaran veya tümör hücresinin hayatta kalmasını sağlayan eriyebilir ya da hücre membranına yapışık moleküller üretirler (3). Mikroçevrede Th-1, Th-2, Treg, T sitotoksik , malign olmayan B lenfositleri ve makrofajlar bulunur (4).



Şekil 2: Reed-Stenberg Hücresinin Mikroçevre ile Etkileşimleri

(Şekil kaynağı: **Carbone A, Younes A.** Lymphomas and microenvironment: Impact on lymphomagenesis. *Seminars in Cancer Biology* **2015**; Volume 34, Pages 1-92)

En önemli rolü CD4+ T hücreleri oynamaktadır. CD4+ T hücrelerinin alt tiplerinin yoğunlukları tümörün özelliklerine göre değişmektedir (5). Klasik HL’da, sistemik T lenfosit spesifik immun defektler iyi anlaşılmıştır ancak; Th hücre fonksiyonlarının kompleks ve heterojen olması mikroçevredeki spesifik rolünün anlaşılmasını zorlaştırır (6). Klasik HL’da T lenfositlerinin rolünün tümör gelişimini ve büyümesini baskılamak olduğu düşünülmektedir. Uzun süre immunsupresif tedavi alan (T lenfositleri baskılanan) hastalarda lenfoma sıklığının artması bu görüşü destekler (2) (Şekil 3).



Şekil 3: T hücre aktivasyonu

(Şekil kaynağı: **Carbone A, Younes A.** Lymphomas and microenvironment: Impact on lymphomagenesis. *Seminars in Cancer Biology* **2015**; Volume 34, Pages 1-92)

2-4-A-MİKROÇEVREDE T HÜCRENİN ROLÜ

Konak immun sisteminin tümöre olan reaktivasyonun ve buradaki defektleri anlayabilmek için, T lenfosit gruplarını ve görevlerini tanımak önemlidir. Doğumdan itibaren organizma sürekli olarak self antijenler, yabancı patojenlere maruz kalmaktadır. Sağlıklı kalabilmek için immün sistem yabancı antijenlerle savaşacak ancak kendine tolerans gösterecek stratejiler geliştirmiştir. Bu stratejiler arasında efektör T lenfositleri immün cevapları düzenleyen ana oyuncularlardır. T lenfositleri ürettikleri çözünür mediyatörler ve yüzeylerindeki reseptör-ligand etkileşimlerle immün sistemin birçok yolağını düzenleyici role sahiptir. T hücresi reseptörüne (TCR) antijenin bağlanması ve sinyal iletimi ile aktifleşir. Çözünür antijenlere reaksiyon veren B lenfositlerinin aksine, T lenfositleri diğer hücrelerin yüzeylerinde sunulan küçük peptidlerle uyarılır. Bu peptidler major histokompatibilite kompleksinin (MHC) protein oluşuna bağlandığında antijen sunumu gerçekleşebilir. TCR için gerekli ligand antijenik peptidin aminoasitleri ve MHC molekülünün rezidülerinden oluşur. Peptid- MHC kompleksinin TCR'ne bağlanması T lenfosit aktivasyonuna yol açacak bir seri biyokimyasal olayı tetikler (38).

Farklı yerleşimdeki patojenlerin temizlenmesi için farklı stratejiler gerekir. T lenfositleri hem hücre içi hem de hücre dışı patojenlerin kontrolünde farklı alt grupları ile anahtar rol oynar. CD4 yüzey belirleyicisi eksprese eden T lenfositleri hücre dışı patojenleri, CD8 yüzey belirleyicisi eksprese eden T lenfositleri hücre içi patojenleri kontrol eder. Uyarılmış CD4+ T lenfositleri sitokin ve çözünür mediyatörler üreterek hücre dışı patojenleri temizlerken CD8+ T lenfositleri hücre içi organizmalarla enfekte hücreleri doğrudan lizise uğratar. Bir antijenik peptidin CD4+ veya CD8+ T lenfositten hangisini uyaracağını peptidi sunan MHC proteinleri belirler. Doğal immün sistemin profesyonel antijen sunan hücrelerinde, B lenfositleri ve timik epitelde Klas II MHC proteinleri bulunur. Profesyonel antijen sunan hücreler, dendritik hücreler ve çeşitli doku makrofajlarını kapsar. MHC klas II kompleksi tek α ve β zincirinden oluşan bir dimerdir. Her iki zincirde peptid bağlanmasına katkıda bulunur ve TCR ile etkileşir.

T lenfositleri ancak MHC klas I ve II oluşuna bağlanan peptidlere reaksiyon verir. Antijen sunum çeşitliliği üç farklı MHC klas I alleli (HLA A,B,C) ve klas II alleli (HLA DR,DP,DQ) ekspresyonu ile arttırılır. Ancak yine de patojenler MHC oluşuna birleşmeyecek proteinlere sahip olacak şekilde evrimleşebilir. Bu sorunu aşmak için MHC lokusu oldukça polimorfik bir yapıda oluşturulmuştur. MHC klas I ve Klas II kompleksleri oluklarına bağlandığı sürece konak peptidini yabancı peptidden ayıramaz. Birçok MHC kompleksi self antijenlerle doludur. Bu durumda T lenfositleri self olanla olmayanı birbirinden ayırmak zorundadır. T lenfosit immünitesinin yeterli olabilmesi için ikincil lenfoid organlarda çok

sayıda olgun T lenfosit yerleşmelidir. Bu hücre topluluğunun yaşam boyu karşılaşılacak tüm yabancı antijenleri tanıma yeteneğine sahip zengin bir TCR repertuarı olmalıdır. Sadece yabancı antijeni tanıyan T lenfositlerinin perifere dağılması ve kendi antijenlerine reaksiyon verenlerin gelişimini tamamlamaması önemlidir. T lenfositleri timusta gelişir. Birçok T hücre alt tipi vardır. Bunların içinde en çok bilineni α/β T hücreleridir. γ/δ T hücrelerindeki antijen reseptörü hem NK hem de T lenfositlerinin ortak özelliklerini taşıyan ve timusta gelişen NKT (NK-timus) hücrelerinde bulunur. Kemik iliği kökenli timik progenitör hücreler kortikomedüller bağlantıdan timusa girer ve bu dönemde TCR, CD3, veya CD4 veya CD8 eksprese etmezler ve çift negatif timositler olarak adlandırılır. Gelişimin ilk aşamasında diğer hücrelere farklılaşma kapasitelerini kaybederler ve Thy-1, CD44 ve CD25 gibi bazı T lenfosit yüzey belirleyicilerini eksprese etmeye başlarlar. TCR α , β lokuslarında TCR gen rearranjmanı başlatılır. Bu arada korteksten subkapsüler zona geçerler. Gelişen T lenfositlerindeki notch reseptörleri ve özgül notch ligandları arasında sinyalleşme IL-7 reseptörü aracılığı ile gerçekleşerek farklılaşma ve progresyon düzenlenir. Bu aşamadan itibaren T lenfosit gelişimi, çoğalması ve hayatta kalma süresi TCR sinyallerine dayanır. Artık hem CD4 hem de CD8 eksprese eden timositler çift pozitif olarak isimlendirilir ve pozitif ve negatif seleksiyona hazır hale gelir. T lenfositlerinin tam gelişimi için iki kontrol noktasının aşılması gerekir. Timik APC (antijen sunan hücre) tarafından sunulan peptid-MHC kompleksi ile uyarılmayan TCR olan T lenfositleri apoptozis ile ölüme terk edilir. Düşük avidite ve afinite ile tanıyanlar ise tek pozitif olgun T lenfosit haline gelir (pozitif seleksiyon). MHC klas I ile uyarılan TCR olan T lenfositleri CD8+, MHC klas II ile uyarılan TCR olan T lenfositleri CD4+ hale gelir (39).

Timositler timik epitelyal hücreler ve diğer timik antijen sunan hücreler ile yüksek aviditede TCR-peptid MHC kompleksi oluşturuyorsa timositler apoptozise uğrar (negatif seleksiyon). Negatif seleksiyon immün tolerans gelişimi için önemli bir mekanizmadır ancak %100 etkili bir sistem değildir. Timustan ayrılan T lenfositlerinin periferde efektör fonksiyonlarını ortadan kaldırmaya yönelik bir mekanizma Treg gelişimidir. Treg'lerin bir alt grubu da timusta gelişir ve yüzeylerinde CD4 ve CD25 ekspresyonu vardır ve transkripsiyonu FOXP3'e bağlıdır. Naif T hücresi antijen sunan hücre ile temas edince proliferasyon ve farklılaşma programı efektör T lenfositlerine dönüştürür. Böylece antijene karşı hızlı yanıt verir hale gelir. Naif ve aktif T hücreleri arasındaki fark hücre yüzeyindeki kemokin reseptörleri ve integrin ekspresyonudur. CD4+ ve CD8+ T hücreleri fonksiyonel olgunluğa ulaşmak için benzer farklılaşma sürecine uğrar fakat enfeksiyona karşı edinsel immün cevapta farklı roller oynarlar. Her iki serinin naif hücreleri TCR ile peptid MHC kompleksi etkileşimi aracılığıyla

aktifleşir. Farklılaşma, TCR'ün sinyal gücü, diğer T hücre yüzey reseptörleri ile etkileşen ligandların eş-uyarımı ve antijenle karşılaşma sırasında lokal sitokin ortamı gibi şartlardan etkilenir. Bu sinyallerin bir araya gelmesi ile imza transkripsiyon faktörleri ve anahtar efektör moleküllerin ekspresyonu güçlenerek olgun T hücrelerinin fonksiyonlarını göstermesi sağlanır (40).

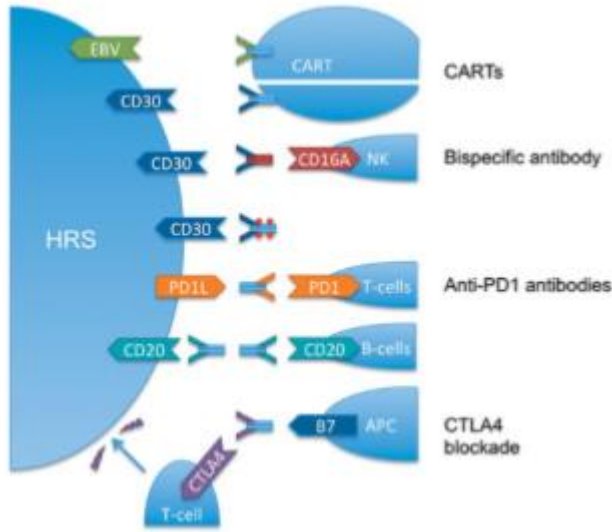
Th1 lenfositler makrofajları, NK hücreleri ve CD8+ T lenfositleri aktifleştirerek hücre içi patojenlerle savaşır. Th2 lenfositler hücre dışı parazitlere karşı immün cevapta kritik role sahiptir. CD8+ sitotoksik T hücreleri patojenle enfekte veya malign dönüşüme uğramış konak hücrelerini öldürür. T sitotoksik lenfosit ile hedef hücre arasında immünolojik sinaps benzeri yapı oluşur. T sitotoksik, özelleşmiş granüller içerir ve bu granüllerini doğrudan hücre teması ile ortama salar. Bu granüller modifiye lizozomlar olup perforin, granzim ve granulozin gibi efektör proteinler içerir (41).

Treg'ler CD4+ T lenfositlerin bir alt grubu olup peptid-MHC ile eş uyaran varlığında uyarılan TCR'ler aktif T lenfositlerin çoğalmasını ve sitokin üretimini baskılar. İntrinsik şekilde işleyen anerjiden farklı olarak Treg, cevaplılığı diğer hücrelerin cevabını düzenleyerek engeller. Treg'ler iki şekilde ortaya çıkar. Doğal Treg (nTreg) timustaki gelişim sırasında fonksiyon kazanır, indüklenebilir Treg (iTreg) periferde naif CD4+ T hücrelerin farklılaşması sırasında gelişir. Hem nTreg hem de iTreg transkripsiyon faktörü FOXP-3 ekspresyonu ve CD25 yüzey ekspresyonu ile karakterizedir. Treg'ler immün baskılayıcı etkilerini IL-10 ve TGF- β gibi baskılayıcı sitokinlerin salınımı, IL-2 lokal konsantrasyonunun tüketimi, apoptozisin tetiklenmesi ve hücre-hücre temasında hücre döngüsünün durdurulması ile gösterir (42).

HL patogenezinde immunsupresyonun altta yatan bir neden olduğu uzun zamandır bilinse de; etkin immün sistem yanıtının kaybının kaynağı bilinmemektedir. Treg'lerin etkilenen lenf nodlarında dominant hücre grubu haline gelmesi, bu mekanizmayı açıklayabilir. HL'dan etkilenen lenf nodlarındaki lenfositler, Th1 ve 2'nin sitokinlerine karşı anerjiktir. İlginç olarak aynı kişilerin periferik kanındaki mononükleer hücrelerde aynı durum gözlenmez. Bu durum mikroçevrenin önemini vurgulamaktadır. Malign hücrelere karşı sitotoksik yanıt oluşmamasını regülatuar T lenfositlerin 3 yolla sağlayabileceği çalışmalarda öne sürülmüştür:

- a) IL-10'un etkisini nötralize ederek,
- b) Hücre-hücre etkileşimini önleyerek,
- c) CTLA-4 blokajı ile.

HL'dan etkilenen lenf nodlarında; Treg'ler, yoğun immünosupresif bir ortamın oluşmasını indükler. Böylece RS hücrelerine karşı etkisiz bir immün klirens ortamı oluşur (43) (Şekil 4).

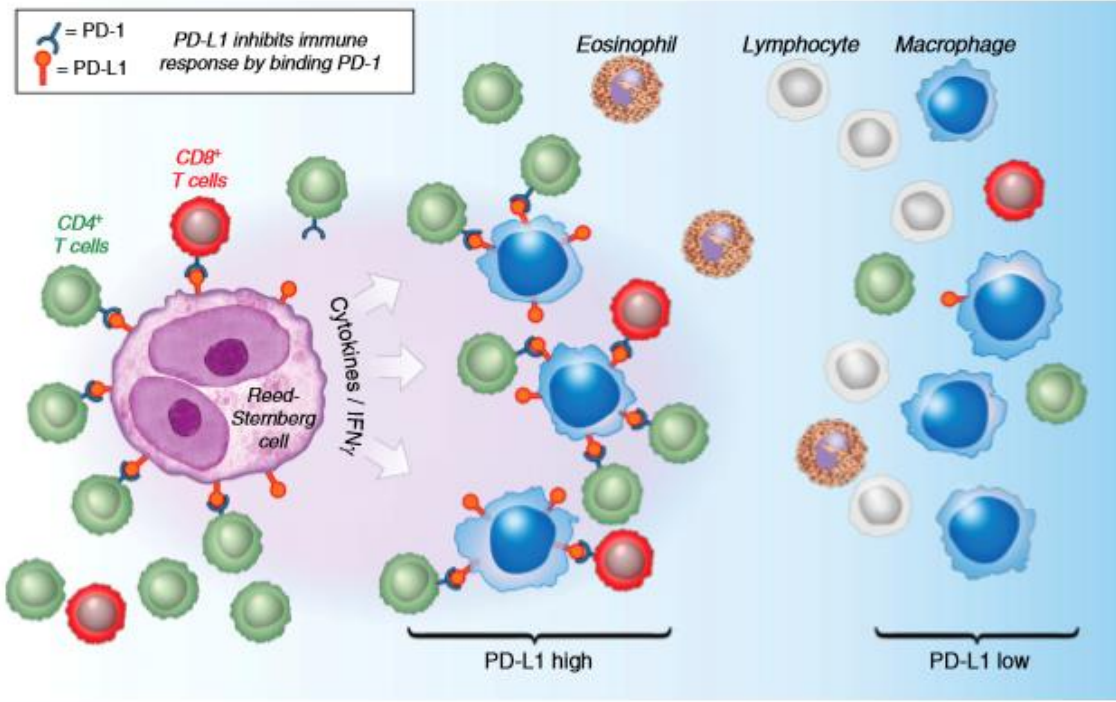


Şekil 4: Klasik Hodgkin Lenfoma'da İmmün Klirens

(Şekil kaynağı: **Bröckelmann PJ, Borchmann P, Engert A.** Current and Future Immunotherapeutic Approaches in Hodgkin Lymphoma. *Leukemia & Lymphoma*. **2016**;DOI: 10.1080/10428194.2016.1185789)

2-4-B- MİKROÇEVREDE PD-1 VE PD-L1'İN ROLÜ

PD-1, B ve T lenfositler, NK hücreleri ve monositlerde eksprese edilir. PD-1'in iki ligandı mevcuttur; PD-L1 ve PD-L2. PD-L1 VE PD-L2, PD-1'e bağlanarak PD1+ lenfositlerin down regülasyonunu ve apoptozisini indükler. PD-L1 ve PD-L2, 9p24.1 up regülasyonunun bir sonucu olarak RS hücreleri ve mikroçevredeki malign olmayan lökositler tarafından eksprese edilir. PD-1'in ekspresyonu, malign hücrelerin öldürülmesini sağlayan immün yanıtı anerjik hale getirir (13) (Şekil 5).



Şekil 5: Mikroçevrede PD-1 ve PD-L1'in Rolü

(Şekil kaynağı: **Steidl C, Connors JM, Gascoyne RD.** Molecular pathogenesis of Hodgkin's lymphoma: increasing evidence of the importance of the microenvironment. *J Clin Oncol.* **2011**;29(14): 1812-1826)

Bu nedenle; PD-1 blokajı, hem T Helper hem sitotoksik T hücrelerinde anti tümör yanıtı artırır (10-12). Lökositlerden salınan PD-1 seviyesinin yüksek olması düşük oranda sağkalımla ilişkilendirilmiştir (13).

Kanser dokusunda PD-L1 ekspresyonu; onkogen yanıtı, tümör hipoksisi ve İnterferon Gamma (IFN- γ)'yı kapsayan lokal inflamatuvar yanıtla ilişkilendirilmiştir. Prostat kanseri üzerine yapılan bir çalışmada, tümör hipoksisinin PD-L1 düzeyini artırarak T lenfosit apoptozisini uyardığı öne sürülmüştür. Renal hücreli karsinomun berrak hücreli alt tipinde PD-L1 ekspresyonu, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) gibi anjiyogenik faktörlerle anlamlı düzeyde korele bulunmuştur. Klasik HL' da 109 hastanın patolojik preparatlarının retrospektif olarak değerlendirildiği bir çalışmada ise; PD-1 düzeyinin olumsuz bir prognostik bir faktör olduğu, PD-L1 ile VEGF düzeylerinin korele olduğu ancak; PD-L1 düzeyi ile VEGF düzeylerinin yüksek olmasının prognoz üzerine etkisi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (44).

Daha agresif bir HL alt tipi olan LPHL'da ise; PD-L1 ve PD-L2 düzeylerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (45).

2-4-C-MİKROÇEVREDE FOXP3'ÜN ROLÜ

FOXP3, normal T hücre fonksiyonlarını düzenleyen esansiyel bir moleküldür, scurfın olarak da bilinir (18). Timositler timik epitelyal hücreler ve diğer timik antijen sunan hücreler ile yüksek aviditede TCR-peptid MHC kompleksi oluşturuyorsa timositler apoptoze uğrar (negatif seleksiyon). Negatif seleksiyon immün tolerans gelişimi için önemli bir mekanizmadır. Timustan ayrılan T hücrelerinin periferde efektör fonksiyonlarını ortadan kaldırmaya yönelik bir mekanizma Treg gelişimidir. Treg'lerin bir alt grubu da timusta gelişir ve yüzeylerinde CD4 ve CD25 ekspresyonu vardır ve transkripsiyonu FOXP3'e bağlıdır (40).

Treg'ler CD4+ T lenfositlerin bir alt grubu olup peptid-MHC ile eş uyaran varlığında uyarılan TCR'ler aktif T hücrelerinin çoğalmasını ve sitokin üretimini baskılar. İntrinsik şekilde işleyen anerjiden farklı olarak Treg, cevaplılığı diğer hücrelerin cevabını düzenleyerek engeller. Treg'ler iki şekilde ortaya çıkar. Doğal Treg (nTreg) timustaki gelişim sırasında fonksiyon kazanır, indüklenebilir Treg (iTreg) periferde naif CD4+ T hücrelerin farklılaşması sırasında gelişir. Hem nTreg hem de iTreg transkripsiyon faktörü FOXP3 ekspresyonu ve CD25 yüzey ekspresyonu ile karakterizedir. Treg'ler immün baskılayıcı etkilerini IL-10 ve TGF- β gibi baskılayıcı sitokinlerin salınımı, IL-2 lokal konsantrasyonunun tüketimi, apoptozisin tetiklenmesi ve hücre-hücre temasında hücre döngüsünün durdurulması ile gösterir (42).

FOXP3, immün yanıtın düzenlenmesinde kritik bir role sahiptir, özellikle tümör ilişkili antijen yanıtı oluşturan lenfositleri baskırlar. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde ve over kanserinde Treg sayısının artışı olumsuz prognozla ilişkilendirilmiştir. Ancak klasik HL'nın prognozunda Treg'in yeri tartışmalıdır. Birkaç çalışmada Treg pozitif prognostik faktör olarak görülse de; başka bir çalışmada relaps açısından oldukça riskli bulunmuştur. Öte yandan, RS hücresinde EBV'nin pozitif olması artmış FOXP3 düzeyiyle ilişkili bulunmuştur. EBV spesifik sitotoksik T lenfositleri, Treg'lerin aktivitesindeki artışa bağlı olarak, EBV ile enfekte olmuş tümör hücrelerini yok edememektedir. Çalışmalarda yüksek FOXP3 düzeyinin iyi prognostik bir faktör olarak bulunması kafa karıştırıcıdır, bu durumu daha geniş hasta gruplu çalışmalar aydınlatacaktır (46).

2-4-D- MİKROÇEVREDE GRANZİM B'NİN ROLÜ

Granzim B ilişkili hücre ölümü, sıklıkla T sitotoksik hücreler ve NK hücrelerde görülen; allojenik, virusla enfekte olmuş hücreler ve tümör hücrelerini elimine etme yöntemidir. NK hücrelerinde ve T sitotoksik hücrelerde en bol bulunan serin proteazdır. Enfekte hücre veya tümör hücresi gibi hedef konumdaki hücre T sitotoksik/NK hücre tarafından tanınır. Perforinle immünolojik sinaps oluşur, granzim B hedef hücreye transloke olur ve hedef hücredeki apoptotik süreç başlar (16).

Granzim B, çalışmalarda T sitotoksik ve NK hücre belirteci olarak kullanılmıştır. Klasik HL mikroçevresinde granzim B'nin yüksek olması prognozu olumsuz etkilemektedir. Bazı çalışmalarda, mikroçevrede granzim B pozitifliği, erkek cinsiyet, 45 yaşından büyük olmak, NS tipte ilişkilendirilmiştir (47). Bir çalışmada ise; EBV+ klasik HL'da granzim B'nin daha büyük oranda pozitif olduğu; kötü prognozda da aslında EBV ile ilişkili olduğu savunulmuştur (48).

Son yıllarda oldukça popüler olan hedefe yönelik tedavide granzim B'nin terapötik gücü tartışılmaya başlanmıştır. Ancak tümör hücrelerinde bulunan serpin B9'un, granzim B'nin spesifik inhibitörü olduğu bilinmektedir. Klasik HL'da EBV+ ise serpin B9 vardır, EBV- ise serpin B9 yoktur. Günümüzde granzim B'yi direkt olarak etkileyen bir tedavi olmamakla birlikte, çalışmaları halen devam etmektedir ve bu konu daha detaylı olarak tartışma bölümünde ele alınacaktır (49).

2-5-KLİNİK ÖZELLİKLER

HL olgularının çoğu supradiyafragmatik lenfadenopati ile başvurmaktadır. Retroperitoneal ve inguinal lenfadenopati daha az sıklıkla görülmektedir. Hastaların yaklaşık olarak üçte birinde konstitüsyonel semptomlar bulunmaktadır. Bu semptomlar; yüksek ateş, gece terlemesi ve son 6 ayda vücut ağırlığının %10 ve fazlası oranında kilo kaybını içermektedir. Bu semptomlara B semptomları denmektedir. Hastalarda kronik kaşıntı da görülebilmektedir (50). Konstitüsyonel semptomların sıklığı hastalığın evresi ilerledikçe artar. Hastaların onda birinde alkol aldıktan sonra lenf bezlerinde ağrı görülebilir. HL'da, lenf tutulumunun yerleri alt tiplere göre farklılıklar gösterebilir. Yeni tanı almış HL hastalarının 2/3'ünde intratorasik tutulum radyolojik olarak saptanır. Ön - arka akciğer grafisinde en uzun transvers transtorasik çapının 1/3'ünü aşan mediastinal kitle “büyük mediastinal kitle” veya “bulky” olarak adlandırılır (51).

Fizik muayenede; lenfadenopatiler palpasyonda tesbit edilebilirler. Mediastinal kitle oluşmasına bağlı vena kava superior sendromu (yüzde şişkinlik, renk değişikliği, boyun

damarlarında belirginleşme) gözlenebilir. Lenf bezleri palpasyon ile genellikle ağrısızdır. Deri üzerinde renk, ısı değişikliği mevcut değildir. Klasik olarak lastik silgi kıvamındadır. Lenf bezinin etrafında küçük birden fazla lenf bezleri palpe edilebilir. Oskültasyonda belirgin bir bulgu mevcut değildir. Plevral mayi gelişen hastalarda akciğer bazallerinde solunum sesleri duyulamaz. Plevral, perikardiyal ve peritoneal mayi gelişimi ektranodal tutulum olarak oluşabilir. Oldukça nadir olan deri tutulumunda deri üzerinde küçük, opak veya kırmızı, papüler ya da ülseratif lezyonlar görülebilir (52).

2-6-EVRELEME

HL evrelemesinde standart olarak 1971 de Ann-Arbor konferansı kriterleri ve bu kriterlerin 1988 de Cotswald'da modifiye edilmiş şekli kullanılmaktadır (Tablo 1: Ann-Arbor Evrelemesi).

Tablo 1: Ann-Arbor Evrelemesi

EVRE	AÇIKLAMA
Evre 1	Tek lenf nodu bölgesinin veya lenfoid yapının (dalak, timus, Waldeyer halkası) veya tek bir ekstralenfatik bölgenin tutulumu (IE)
Evre 2	Diyaframın aynı tarafındaki iki veya daha fazla lenf bölgesi tutulumu veya diyaframın aynı tarafında lokal ekstra-nodal yayılıma ek olarak bir veya daha fazla lenf bölgesi tutulumu (IIE)
Evre 3	Diyafragmanın her iki tarafında lenf bezi bölgesi tutulumu, lokal ekstra-lenfatik yayılım eşlik edebilir (IIIE)
Evre 4	Bir veya daha fazla ekstra-lenfatik organ ya da bölgenin diffüz tutulumu

A	Sistemik semptom yok
B	Son 6 ay içinde bazal vücut ağırlığının % 10 undan daha fazlasının kaybı, yineleyen ve açıklanamayan 38 derece üzeri ateş, yineleyen gece terlemeleri
X	Bulky hastalık varlığı (en büyük çapı 10 cm'in üzerinde olan kitle ya da ön-arka akciğer grafisinde torakal 5-6 intervertebral disk düzeyinde hesaplanan en uzun transvers transtorasik çapın 1/3'ünü aşan mediastinal kitle)

Laboratuvarda tam kan ve eritrosit sedimentasyon hızı, albumin, LDH düzeyi, karaciğer ve böbrek fonksiyonları incelenmelidir. Akciğer grafisi, boyun, toraks, batin ve pelvik BT yapılmalıdır. BT yerine genellikle PET/BT tercih edilmektedir. PET/BT tanı koyma aracı değildir, evreleme ve tedaviye yanıtta kullanılmaktadır. PET/BT kullanımında Deauville kriterleri (Tablo 2: Deauville Kriterleri) tedavide özellikle NCCN kılavuzunda önemli yer tutmaktadır (1).

Tablo 2: Deauville Kriterleri

PET/BT de Deauville Kriterleri
1:tutulum yok
2:tutulum=mediastinal kan havuzu
3:tutulum=karaciğer
4:tutulumda hafif artma>karaciğer

5: tutulumda belirgin artma>karaciğer ve/veya yeni lezyonlar
1-3 arası puan negatif, 4-5 puan= pozitif

2-7-HODGKİN LENFOMA'NIN SINIFLANDIRILMASI

Sınıflandırma; tiplendirmeye göre veya prognoza göre yapılmaktadır. Tiplendirmeye göre sınıflandırma; DSÖ tarafından yapılmıştır. Buna göre; HL öncelikle klasik ve Lenfosit Predominant Tip HL olarak ikiye ayrılır. Klasik HL ise; NS, LZHL, LFHL ve mikst sellüler tip olarak dört gruba ayrılır. Prognoz değerlendirilmesinde ise, 1998 yılında Hasenclever ve Diehl tarafından önerilen “International Prognostic Score” (IPS-7) yaygın bir şekilde kabul görmüştür. Serum albumin düzeyi, hemoglobin düzeyi, erkek cinsiyet, 45 yaş üstü olmak, beyaz küre sayısı, lenfopeni ve evre IV hastalık bağımsız risk faktörleri olarak ortaya konmuştur. IPS-3 olarak isimlendirilen prognostik sınıflama da pratik olup kullanım alanı bulmaktadır (Tablo 3: IPS-3 Skorlaması).

Tablo 3: IPS-3 Kriterleri

IPS-3	Değerlendirme
Yaş ≥ 45	0 puan düşük risk
Evre IV hastalık	1-2 puan orta risk
Hemoglobin < 10,5 gr/dl	3 puan yüksek risk

2-7-A-HİSTOPATOLOJİK TİPLENDİRMEYE GÖRE SINIFLANDIRMA

LPHL; HL olgularının %5 kadarını oluşturmaktadır. 30-50 yaş arasında ve erkeklerde daha fazla görülmektedir. Servikal lenf bezlerine ek olarak aksiller ve inguinal lenf nodları da başvuru anında tutulabilmektedir. Mediastinal, splenik ve kemik iliği tutulumu çok nadirdir. Diğer HL'den farklı bir özelliği geç relapsların görülebilmesidir. Çoklu relapslara karşın hastalık genellikle yavaş seyirli özelliğini korumaktadır.

NS; klasik HL'nin en sık görülen şeklidir ve vakaların %60-80'ini oluşturmaktadır. Median görülme yaşı 28 olup kadınlarda kısmen daha fazladır. Hastaların önemli bir kısmı mediastinal kitle ve bulky hastalık ile prezente olabilmektedir.

LZHL; klasik HL Klasik HL'nin %3-5'ini oluşturmaktadır. Güncel tedavi yöntemleri uygulandığında çok iyi bir prognoza sahiptir.

Mikst Sellüler; klasik HL, gelişmiş ülkelerde tüm HL'nin %15-25'ini oluştururken gelişmekte olan ülkelerde vakaların %50 kadarını oluşturmaktadır. Erkek/kadın oranı 3/1 olup tanı anında sıklıkla B semptomları eşlik etmektedir. Tanı anında hastaların çoğunluğu evre 3 veya 4'tür.

LFHL; klasik HL HL'lerin %1'inden azını oluşturmaktadır. Hastaların çoğunda tanı döneminde olumsuz prognostik göstergeler eşlik etmektedir.

2-7-B-PROGNOSTİK ALT GRUPLARIN BELİRLENMESİ

HL' da tedaviye yaklaşımda prognostik faktörler önemli rol oynamaktadır. Hastalarda yaş, cins, evre, hemoglobin düzeyi, beyaz küre sayımına göre prognostik faktörler geliştirilmiştir (Tablo 4: IPS-7 Kriterleri). Tüm bunlara ilave olarak, hastalarda tedaviden 2 kür sonra PET/BT değerlendirmesi ve tedavi sonrası rezidüel hastalığın varlığı veya yokluğu prognozu belirleyici faktörlerdir (1).

Tablo 4: IPS-7 Kriterleri

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

2-8-TEDAVİ

HL' da tedavi, hastalık evresi ve prognostik faktörleri göz önünde bulundurularak yapılmaktadır. Tedaviye yanıtta ise uluslararası terminolojiyi kullanmak önemlidir (Tablo 5: Tedaviye Yanıt Değerlendirmesi).

Tablo 5: Tedaviye Yanıt Değerlendirmesi

Tam Yanıt (TY)	Hastalığa ait belirti olmaması. Başlangıçta PET pozitif veya herhangi bir rezidüel kitlesi olanlarda PET'in negatifleşmesi. Başlangıçta kemik iliği tutulumu var ise daha sonraki biyopsilerde tutulum olmaması.
Kısmi yanıt (KY)	En büyük çapa sahip 6 lenfadenopatinin büyüklüğünde>%50 küçülme. Diğer lenf bezleri, karaciğer ve dalakta büyüme olmaması. Tedavi sonra tutulan alanlardan en

	az birinde FDG pozitifliği. KY'da kemik iliği değerlendirmeye alınmaz.
Stabil hastalık (SH)	TY, KY veya progressif hastalık grubuna girmeyenler. En az bir alanda FDG pozitifdir, yeni bir alanda FDG pozitifliği gelişmemiştir.
İlerleyici hastalık	Aşağıdakilerden birinin varlığı: A) 1.5 cm çapında yeni bir lezyonun gelişmesi (burada sadece FDG pozitifliği değerlendirmeye alınmaz. B) bir lenf bezinden daha fazla olmak üzere toplam %50 den fazla büyüme. C) Daha evvel kısa aksı>1cm olan lenf bezinde uzun çapın %50'den fazla büyümesi. Lezyonlar FDG-PET pozitif olmalıdır.

Erken evre iyi prognostik özelliklere sahip Hodgkin hastalarında 2 kür ABVD (Doksorubisin, bleomisin, vinblastin, dakarbazin) sonrası lokal 20 Gy RT etkin ve toksisitesi az olan en uygun yaklaşım şekli olarak kabul edilmektedir (1).

Erken evre kötü prognostik özelliklere sahip Hodgkin lenfomalı hastalarda 4 kür ABVD ve dar lokal 30Gy RT'nin beraberce kullanılması esastır (1).

İleri evre hastalıkta (evre 2b, evre 3, evre 4) kombinasyon tedavileri kabul görmüştür. 6-8 kür BEACOPPyoğun (Bleomisin, etoposid, doksorubisin, siklofosfamid, vinkristin, prokarbazin, prednizon) tedavisi en etkin tedavi şekli olarak öne çıkmaktadır. Eğer ileri evre hasta tedaviye cevap verdiyse bu hastalarda konsolidatif RT'nin yeri tartışmalıdır (1).

Kök hücre nakli; başlangıç tedavisinden sonra hastalığı nüks eden hastalarda klasik kurtarma tedavisi sonrası uygulanır. Sadece lokal nüks varsa RT almamış bölgelerde RT denenebilir. Yalnız RT verilen erken evre hastalarda nüks olduğunda kök hücre nakli yerine kombinasyon kemoterapisi düşünülmelidir. Transplant adayı hastalarda kurtarma tedavisi

verildikten sonra yapılan otolog kök hücre naklinde %35-60 oranında uzun süreli hastalıksız sağ kalım elde edilebilir (1).

3-HASTA SEÇİMİ VE YÖNTEM

3-1- ETİK KURUL VE PROJE DESTEK ONAYI BİLGİLERİ

Bu tez çalışması 07.07.2017 tarihinde 66 numarası ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından değerlendirmeye alınarak yazılı olarak onaylandı, 16.03.2018 tarihinde TTU-2018-9965 Proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmesi uygun bulundu.

3-2- HASTA SEÇİMİ VE HASTA GRUBU MATERYALLERİ

ÇÜTF Onkoloji bölümünde takip ve tedavisi yürütülen 62 hasta çalışmaya alındı. Hastaların tanı sırasındaki yaş, cinsiyet, hastalık evresi, hemoglobin, lökosit sayısı, nötrofil sayısı, lenfosit sayısı, albümin, sedimentasyon hızı, B semptomu, kitle boyutu (yüksek tümör yükü olup olmaması) değerlendirildi. NCCN'e göre IPS-3 ve 7 skorları belirlendi. Performans skorlarının belirlenmesinde ECOG performans skoru kullanıldı.

Hastaların tanı aldıkları patolojik materyalde hem tümöral dokuda hem de mikroçevrede;

- PD-1,
- PDL-1,
- Granzim B
- FOXP-3 ekspresyonlarının belirlenmesi için Anti-PD-1, Anti PD-L1, Anti-granzim B ve Anti-FOXP-3 antikorları kullanıldı.

Formalin fikse, parafin dokulardan her hasta için uygun bloklar seçildi. Seçilen bloklardan hazırlanan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Ventana marka BenchMark XT model otomatik immunhistokimya boyama cihazında Ultraview Universal DAB Detection Kit (Ventana, 760-500) uygulandı. Ardından her bir blok için

- Anti PD-1 Rabbit Monoclonal Antibody (Abcam ab 137132),

- Anti PD-L1 Rabbit Monoclonal Antibody (Cell Signaling Technology 13684),
- Anti Granzyme B Rabbit Monoclonal Antibody (Abcam ab 208586)
- Anti FOXP3 Mouse Monoclonal Antibody (Santa Cruz Biotechnology sc 53876) uygulandı.

Işık mikrobi ile her alanda her bir antikor için RS hücreleri ve mikroçevre ayrı olarak değerlendirildi.

- Anti PD-1 ve anti PD-L1 antikorları için RS hücrelerinde %5 üzeri hücrede membranöz veya membranöz/sitoplazmik boyanma
- Anti PD-1 ve PD-L1 mikroçevresi için, boyanma şiddetine göre
- negatif (boyanma yok),
- +1 (zayıf veya belirsiz boyanma),
- +2 (orta şiddetli boyanma), +3 (kuvvetli boyanma) olarak derecelendirildi. Anti-FOXP-3'ün RS boyamalarında pozitiflik saptanmadı.

Anti-Granzim B'nin RS hücrelerinde >%5 boyanması pozitif olarak kabul edildi.

Anti Granzim B ve FOXP3 boyamalarında,

- mikroçevrenin %20'nin üzerindeki boyanma +1 pozitif,
- %20-%50 arası +2 pozitif,
- >%50 boyanma +3 pozitif olarak kabul edildi.

3-3- İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Gruplar arasındaki değişkenler ki-kare testi kullanılarak analiz edildi. Sağ kalımın belirleyicileri Kaplan-Meier yöntemi ile analiz edildi ve Mantel log-rank testi ile kıyaslandı. p değerinin <0.05 olması anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler, SPSS 22.0 paket programları ile yapıldı.

4-BULGULAR

Toplam 62 hastanın demografik özellikleri incelendiğinde, hastaların yaşı minimum 17, maksimum 78'di, ortalama yaş 36, hastaların yaş ortalaması 39'du. Hastaların 40'ı (%64.5'i) 45 yaşının altında idi. 62 hastanın 25'i (%40.3'ü) kadın, 37'si (%59.7'si) erkekti. Hastalık alt tiplerine ayrıldığında NS 40 (%64.5), karışık hücreli 15 (%24.2), LPHL 5 (%8.1), LFHL 1 (%1.6), LZHL 1 (%1.6) hasta mevcuttu. Hastalar, evrelerine göre değerlendirildiğinde, sadece 3 hasta evre 1 idi. Bu nedenle evre 1 hastalar, evre 2 hastalarla birlikte analiz edildi. Evre 1 ve

2 hastaların toplam sayısı 26 (%42), evre 3 hasta sayısı 18 (%29), evre 4 hasta sayısı 18 (%29) idi.

IPS-3 ve 7 skorlamalarının her bir parametresi ayrı ayrı değerlendirildi. Albümin değerlerine bakıldığında ortalama 3.6 g/dl, (1.6-5 g/dl), ortanca değer ise 3.8 g/dl idi. Hipoalbuminemi için sınır değer 4 g/dl olarak kabul edildi, hastaların %58'inde albümin 4 g/dl'nin altındaydı. Lökosit için sınır değer mm³'te 15.000 ve 10.000 olarak ayrı ayrı değerlendirmeye alındı. Sınır değer 15.000/mm³ alındığında hastaların %11.7'sinde lökositoz mevcuttu. Sınır değer 10.000/mm³ için ise, 22 hastada (%36.7) lökositoz saptandı. Lenfopeni için sınır değer mutlak lenfosit sayısının 600/mm³ olması ve/veya lökosit sayısının %8'inden az olması olarak değerlendirildi; hastaların %5'inde mevcuttu. Lenfopeni için 1000/mm³ sınır değer olarak alındığında ise 11 hastanın (%18.3) lenfosit sayısı 1000'in altında saptandı. B semptomu hastaların %70.5'inde mevcuttu. Yüksek tümör yükü (>10 cm) hastaların %5'inde mevcuttu. Nötrofil/lenfosit oranı hesaplandığında; ortalama değer 4.4, (0.7-11.5), ortanca değer 4.6 idi. Sınır değer 3,9 olarak belirlendi. Lökosit/lenfosit oranı hesaplandı. Oran için sınır değer 3,9 olarak belirlendi. 29 hastada (%48.3) $\leq 3,9$, 31 hastada (%51.7) $> 3,9$ olarak hesaplandı. Ortalama değer 6.2 idi. Sedimentasyon değerlerine bakıldığında ortalama eğer 34 mm/saat (2-120 mm/saat), ortanca değer ise 44.4 mm/saat idi. Hemogloblin değerleri incelendiğinde ortalama değer 11.8 g/dl (7.8-17 g/dl), ortanca değer 12.1 g/dl idi.

Hastalar, IPS-3 skoruna göre değerlendirildiğinde; hastaların %35.5'i düşük riskli, %56.4'ü orta riskli, %8.1'i yüksek riskli olarak gruplandırıldı. IPS-7'ye göre değerlendirmede ise, hastaların %59.7'si düşük riskli, %30.6'sı orta riskli, %9.7'si yüksek riskliydi. Hastalara 1. basamak tedavi olarak ABVD uygulandı. Hastaların 51'i (%82.3) tedaviye yanıt verirken, 11'inde (%17.7) tedaviye yanıt yoktu. Hastaların demografik özellikleri ve bu özelliklerin prognoz ile ilişkisi Tablo 6'da özetlenmiştir (Tablo 6: Klinik ve demografik özelliklerin prognoza göre dağılımı)

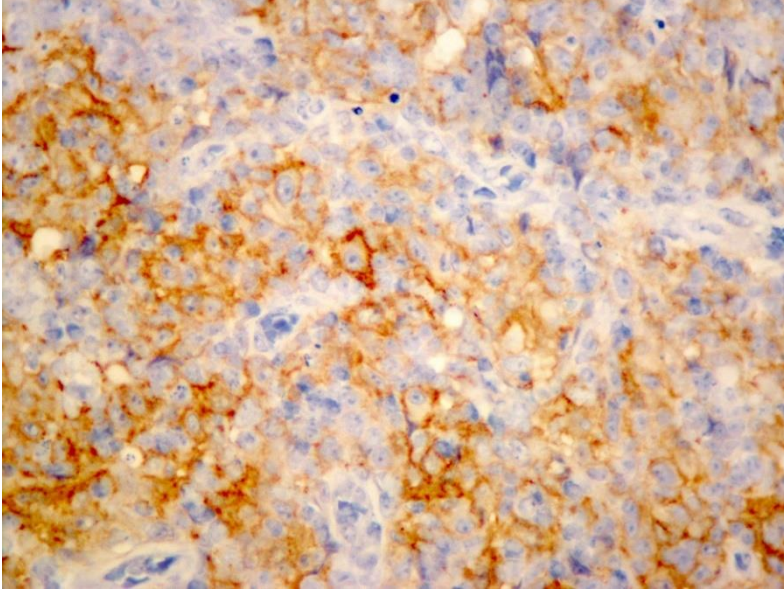
Tablo 6: Klinik ve demografik özelliklerin prognoza göre dağılımı

		Son durum				Toplam		
		Yaşıyor		Relaps/ölüm				
		n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet	K	15	(39,5)	10	(41,7)	25	(40,3)	0,864
	E	23	(60,5)	14	(58,3)	37	(59,7)	

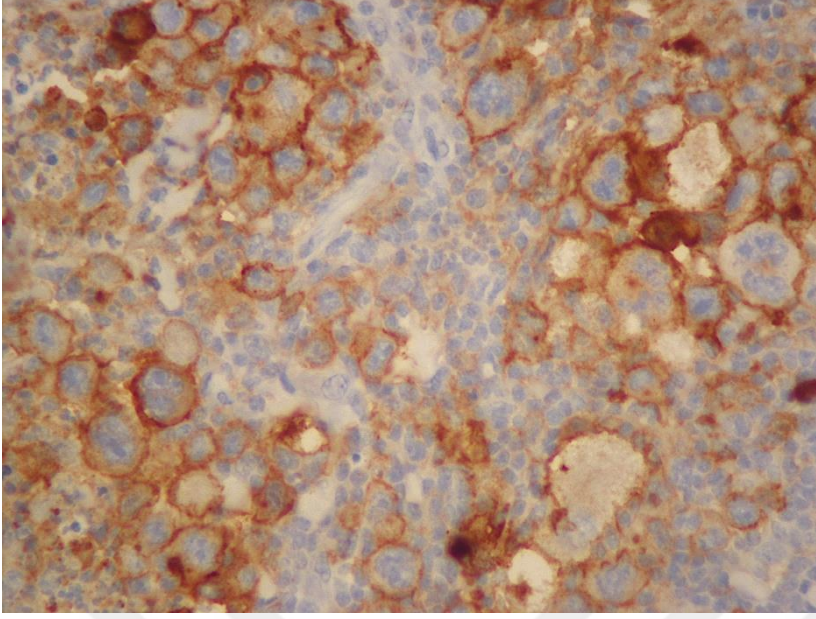
Yaş	<45 yaş	28	(73,7)	12	(50,0)	40	(64,5)	0,058
	>44 yaş	10	(26,3)	12	(50,0)	22	(35,5)	
Evre	2	17	(44,7)	9	(37,5)	26	(41,9)	0,198
	3	13	(34,2)	5	(20,8)	18	(29,0)	
	4	8	(21,1)	10	(41,7)	18	(29,0)	
Histoloji	LFHL	0	(0)	1	(4,2)	1	(1,6)	0,657
	LPHL	3	(7,9)	2	(8,3)	5	(8,1)	
	LZHL	1	(2,6)	0	(,0)	1	(1,6)	
	Mikst	10	(26,3)	5	(20,8)	15	(24,2)	
	NS	24	(63,2)	16	(66,7)	40	(64,5)	
Histoloji (3 Grup)	NS	24	(63,2)	16	(66,7)	40	(64,5)	0,877
	Mikst	10	(26,3)	5	(20,8)	15	(24,2)	
	Diğer	4	(10,5)	3	(12,5)	7	(11,3)	
Histoloji (2 Grup)	NS	24	(63,2)	16	(66,7)	40	(64,5)	0,779
	Diğer	14	(36,8)	8	(33,3)	22	(35,5)	
Tedavi Yanıtı	Yok	4	(10,5)	7	(29,2)	11	(17,7)	0,061
	Var	34	(89,5)	17	(70,8)	51	(82,3)	
Hipoalbumine mi	Yok	18	(50,0)	7	(29,2)	25	(41,7)	0,109
	Var	18	(50,0)	17	(70,8)	35	(58,3)	
Lenfopeni (<600)	Yok	35	(97,2)	22	(91,7)	57	(95,0)	0,333
	Var	1	(2,8)	2	(8,3)	3	(5,0)	
Lenfopeni (<1000)	Yok	33	(91,7)	16	(66,7)	49	(81,7)	0,014
	Var (<1000)	3	(8,3)	8	(33,3)	11	(18,3)	
Lökositöz (>10.000)	Yok	23	(63,9)	15	(62,5)	38	(63,3)	0,913
	Var	13	(36,1)	9	(37,5)	22	(36,7)	
Lökositöz (>15.000)	Yok	31	(86,1)	22	(91,7)	53	(88,3)	0,511
	Var	5	(13,9)	2	(8,3)	7	(11,7)	
NLO	≤3,9	19	(52,8)	10	(41,7)	29	(48,3)	0,399
	>3,9	17	(47,2)	14	(58,3)	31	(51,7)	
LLO	≤3,9	14	(38,9)	8	(33,3)	22	(36,7)	0,662
	>3,9	22	(61,1)	16	(66,7)	38	(63,3)	
B Semptom	Yok	16	(43,2)	2	(8,3)	18	(29,5)	0,003
	Var	21	(56,8)	22	(91,7)	43	(70,5)	
Bulky	Yok	35	(94,6)	22	(95,7)	57	(95,0)	0,855
	Var	2	(5,4)	1	(4,3)	3	(5,0)	

(n: Hasta sayısı, p: İstatistiksel anlamlılık, LPHL: Lenfositlen fakir Hodgkin Lenfoma, LPHL: Lenfosit predominant Hodgkin Lenfoma, LZHL: Lenfositlen zengin Hodgkin lenfoma, Mikst: Karışık hücreli Hodgkin Lenfoma, NLO: Nötrofil/Lenfosit Oranı, LLO: Lökosit/Lenfosit Oranı, IPS-3 ve 7: International Prognostic Score)

Mikroçevre biyolojisinde etkili olduğunu düşünerek bakılan biyobelirteçlerden; PD-1 RS hücrelerinde sadece 1 hastada pozitif saptandı (Şekil 6: RS Hücresinde PD-1 Boyanması). PD-1 boyanmasında; mikroçevrede 38 (%61.3) vakada boyanma yoktu, 13 (%21) vakada zayıf boyanma, 5 (%8) vakada +2 pozitif boyanma, 6 (%9.7) vakada +3 pozitif boyanma saptandı. 56 (%85.5) vakada RS hücrelerinde PD-L1 boyanma gösterdi; negatif boyanma ise 9 (%14.5) vakada saptandı. PD-L1 mikroçevrede incelendiğinde; 34 olguda (%54.8) boyanma yoktu ya da zayıf boyanma saptandı. 28 olguda (%45.2) kuvvetli pozitif boyanma mevcuttu. (Şekil 7:PD-L1'in RS hücrelerinde ve Mikroçevrede Boyanması)

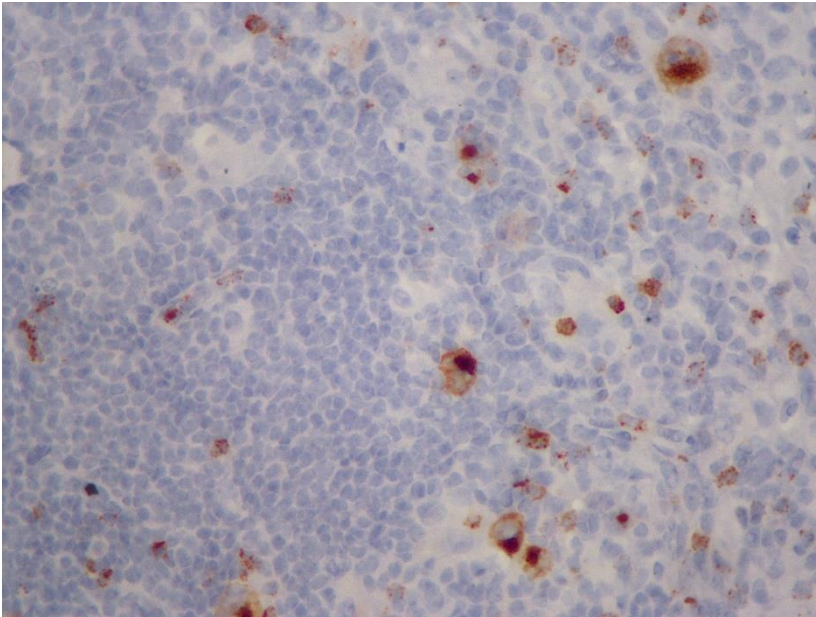


Şekil 6: RS Hücresinde PD-1 Boyanması

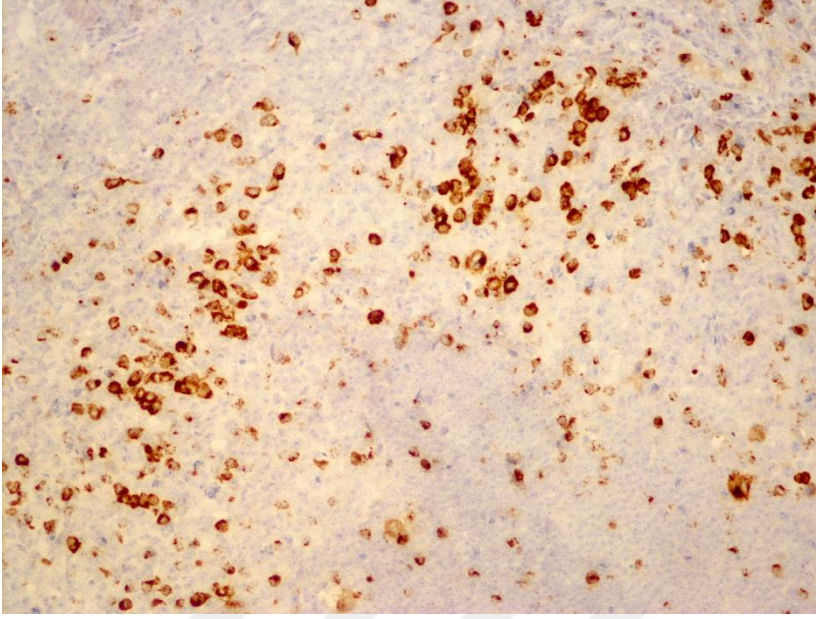


Şekil 7: PD-L1'in RS hücrelerinde ve Mikroçevrede Boyanması

Granzim B, RS hücrelerinde değerlendirildi; 56 hastada negatif (%90.3), 4 hastada (%6.5) +1 pozitif, 2 hastada (%3.2) +2 pozitif. Mikroçevrede değerlendirildi; 23 hastada (%37) negatif, 35 hastada (%56.5) +1 pozitif, 4 hastada (%6.5) +2 pozitif (Şekil 8: Granzim B'nin RS hücrelerinde Boyanması, Şekil 9: Granzim B'nin Mikroçevrede Boyanması)

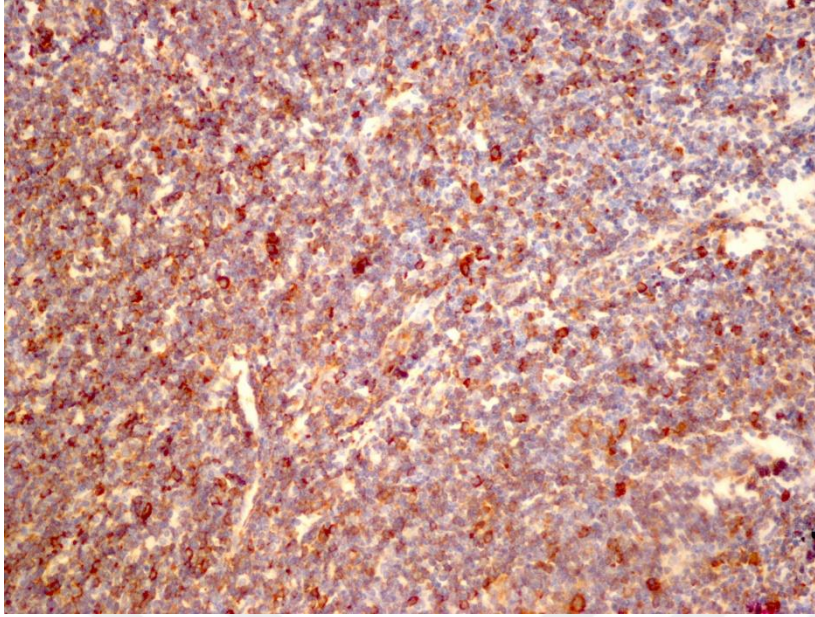


Şekil 8: Granzim B'nin RS hücrelerinde Boyanması



Şekil 9: Granzim B'nin Mikroçevrede Boyanması

FOXP3 boyanma özelliği dikkate alınarak sadece mikroçevrede değerlendirildi. Ancak teknik sebepler ile 36 (%58.1) vakada non-spesifik boyanma saptandı, 10 (%16.1) vakada boyanma saptanmadı, 16 (%25.8) vakada +1 pozitif boyanma saptandı (Şekil 10: FOXP'ün Mikroçevrede Boyanması)



Şekil 10: FOXP3'ün Mikroçevrede Boyanması

Patolojik özellikler ve bu özelliklerin prognoz ile ilişkisi Tablo 7'de özetlenmiştir (Tablo7: Patolojik Özellikler ve Prognoz ile İlişkisi)

Tablo7: Patolojik Özellikler ve Prognoz ile İlişkisi

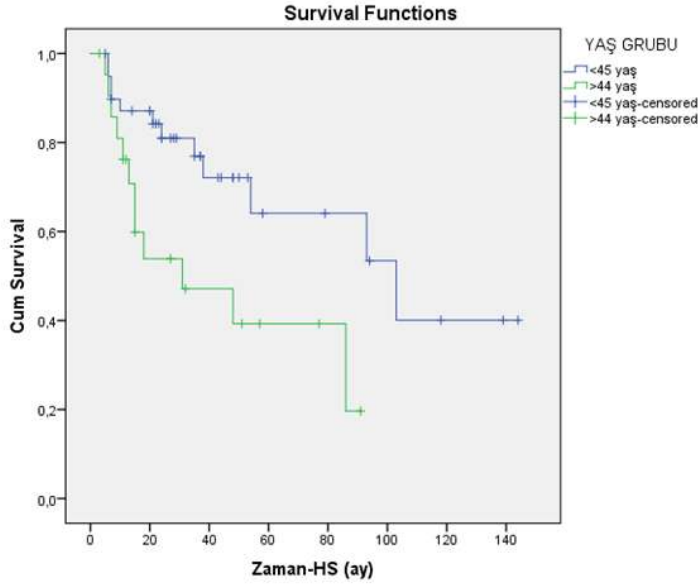
		Son durum				Toplam		
		Yaşıyor		Relaps/ölüm				
		n	%	n	%	n	%	
PD-1 tümör	Negatif	37	(97,4)	24	(100,0)	61	(98,4)	0,423
	Pozitif (+)	1	(2,6)	0	(0)	1	(1,6)	
	Pozitif (++)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
	Pozitif (+++)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
PD-L1 tümör	Negatif	6	(15,8)	3	(12,5)	9	(14,5)	0,557
	Pozitif (+)	29	(76,3)	17	(70,8)	46	(74,2)	
	Pozitif (++)	3	(7,9)	4	(16,7)	7	(11,3)	

	3 Pozitif (+++)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
PD-1 mikroçevre	Negatif	26	(68,4)	12	(50,0)	38	(61,3)	0,377
	Pozitif (+)	6	(15,8)	7	(29,2)	13	(21,0)	
	Pozitif (++)	2	(5,3)	3	(12,5)	5	(8,1)	
	Pozitif (+++)	4	(10,5)	2	(8,3)	6	(9,7)	
PD-L1 mikroçevre	Negatif	8	(21,1)	2	(8,3)	10	(16,1)	0,495
	Pozitif (+)	14	(36,8)	10	(41,7)	24	(38,7)	
	Pozitif (++)	13	(34,2)	11	(45,8)	24	(38,7)	
	Pozitif (+++)	3	(7,9)	1	(4,2)	4	(6,5)	
GrB tümör	Negatif	35	(92,1)	21	(87,5)	56	(90,3)	0,172
	Pozitif (+)	3	(7,9)	1	(4,2)	4	(6,5)	
	Pozitif (++)	0	(,0)	2	(8,3)	2	(3,2)	
	Pozitif (+++)	0	(,0)	0	(,0)	0	(,0)	
GrB Mikroçevre	Negatif	15	(39,5)	8	(33,3)	23	(37,1)	0,823
	Pozitif (+)	21	(55,3)	14	(58,3)	35	(56,5)	
	Pozitif (++)	2	(5,3)	2	(8,3)	4	(6,5)	
	Pozitif (+++)	0	(,0)	0	(,0)	0	(,0)	
FOXP3 mikroçevre	Negatif	7	(18,4)	3	(12,5)	10	(16,1)	0,527
	Pozitif	8	(21,1)	8	(33,3)	16	(25,8)	
	Non spesifik	23	(60,5)	13	(54,2)	36	(58,1)	
PD-1/PD-L1 mikroçevrede koekspresyon	Her ikisi (-)	8	(21,1)	1	(4,2)	9	(14,5)	0,160
	Biri pozitif	23	(60,5)	19	(79,2)	42	(67,7)	
	Her ikisi (+)	7	(18,4)	4	(16,7)	11	(17,7)	
PD-L1 tümör ve mikroçevre	Her ikisi (-)	3	(7,9)	1	(4,2)	4	(6,5)	0,491
	Biri pozitif	17	(44,7)	8	(33,3)	25	(40,3)	
	Her ikisi (+)	18	(47,4)	15	(62,5)	33	(53,2)	
GrB tümör ve mikroçevre	Her ikisi (-)	15	(39,5)	8	(33,3)	23	(37,1)	0,575
	Biri pozitif	21	(55,3)	13	(54,2)	34	(54,8)	
	Her ikisi (+)	2	(5,3)	3	(12,5)	5	(8,1)	

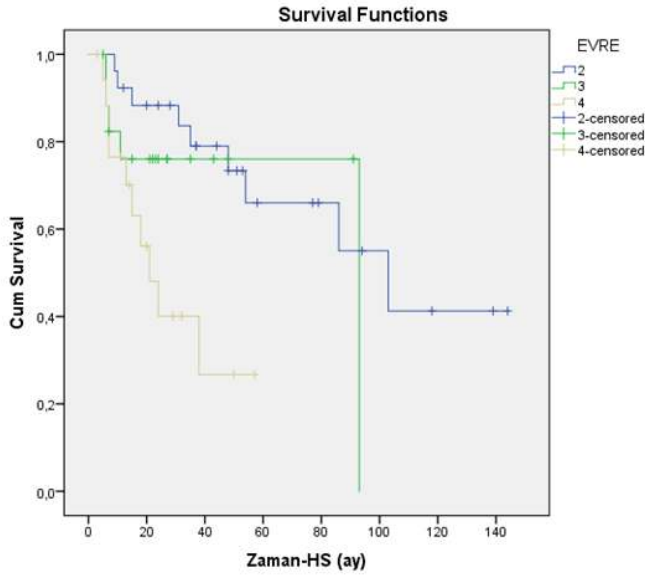
(n: Hasta sayısı, p: İstatistiksel anlamlılık)

Hastaların sağ kalım sürelerini etkileyen faktörler Kaplan Mayer ile değerlendirildi. Cinsiyet ile sağ kalım arasında ilişki yoktu ($p=0,574$). 45 yaşından küçük hastaların %70'i

hayatta kalırken, ≥ 45 yaşındaki hastaların %45'i analiz yapıldığı sırada yaşamaktaydı. Hastaların ≥ 45 yaş olmalarının sağ kalımı olumsuz yönde etkilediği bulundu ($p=0,012$) (Şekil 11: Yaş ve Sağ Kalım İlişkisi). Evre 1 ve 2 hastaların %65'i, evre 3 hastaların %72'si, evre 4 hastaların ise %44'ü analiz yapıldığı sırada yaşamaktaydı. Evre 4 hastalık, sağ kalımı olumsuz yönde etkiledi ($p=0,010$) (Şekil 12: Evre ve Sağ kalım İlişkisi).

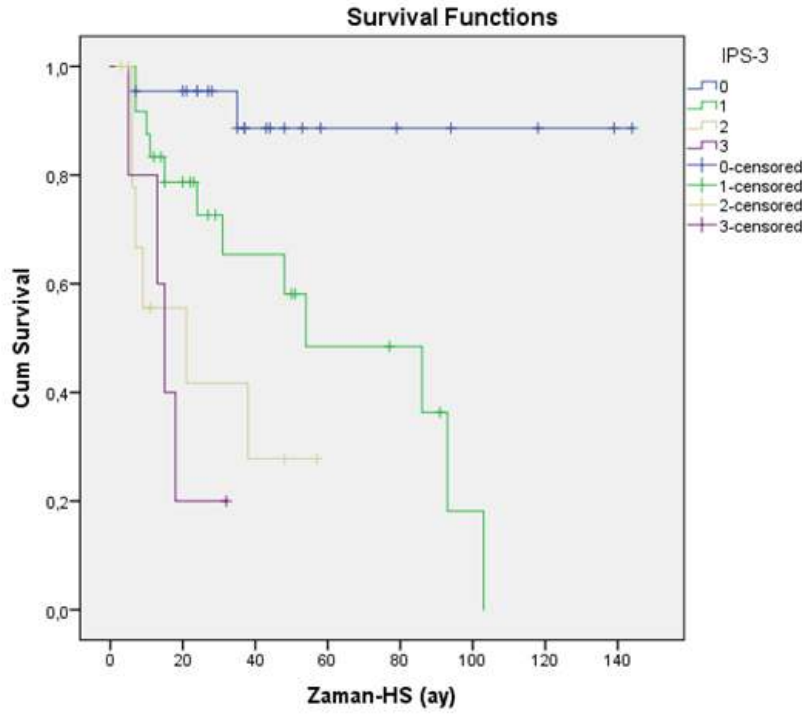


Şekil 11: Yaş ve Sağ Kalım İlişkisi

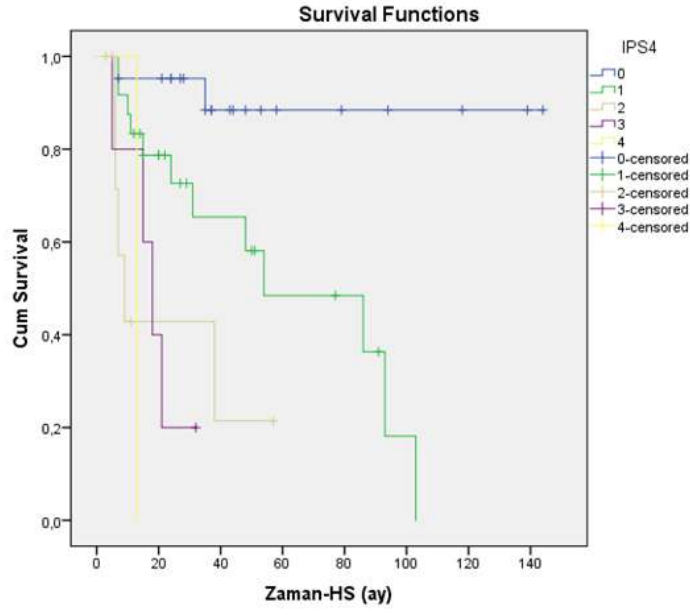


Şekil 12: Evre ve Sağ Kalım İlişkisi

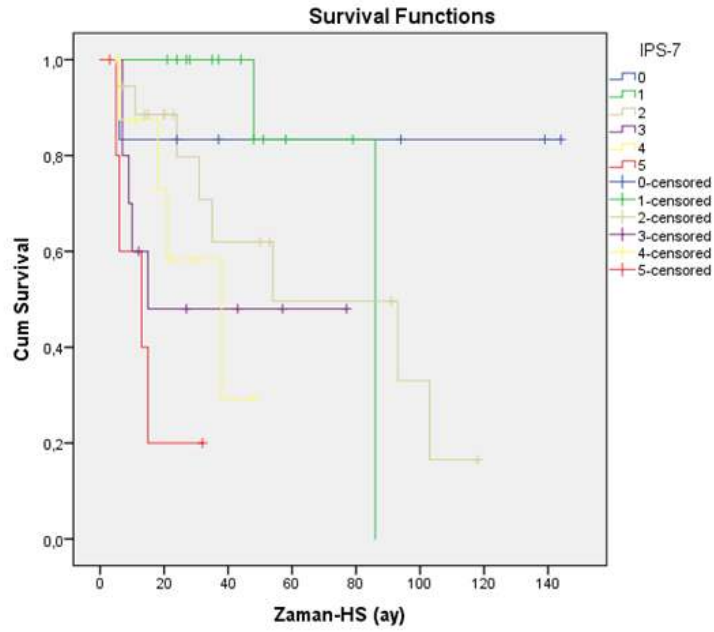
IPS-3, 4 ve 7 sağ kalımla ilişkili bulundu (p değerleri sırasıyla $<0,001$, $<0,001$ ve $0,001$) (Şekil 13: IPS-3 ve Sağ Kalım İlişkisi, Şekil 14:IPS-4 ve Sağ Kalım İlişkisi, Şekil 15: IPS- 7 ve Sağ Kalım İlişkisi). İlk tedaviye yanıt verenlerin %66'sı, ilk tedaviye yanıt vermeyenlerin %36'sı analiz yapıldığı sırada yaşamaktaydı. İlk tedaviye yanıt alınması, sağ kalımla ilişkili bulundu ($p=0,036$) (Şekil 16: Tedavi Yanıtı ve Sağ Kalım İlişkisi).



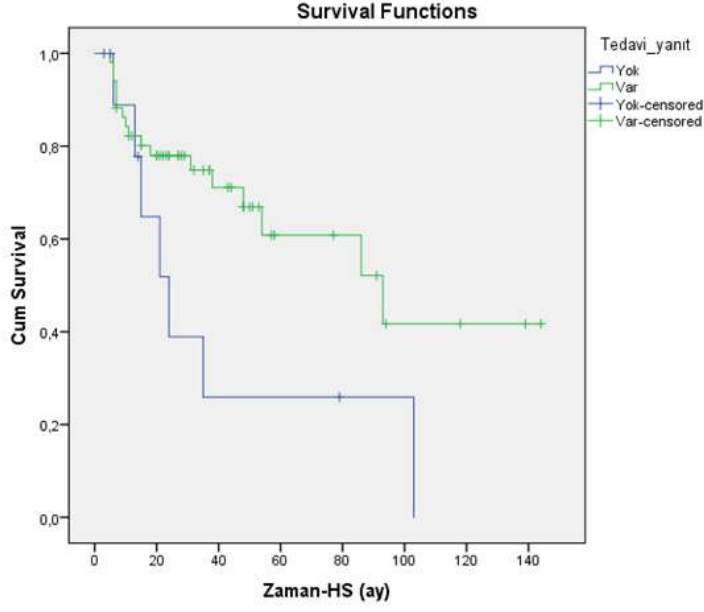
Şekil 13: IPS-3 ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 14: IPS-4 ve Sağ Kalım İlişkisi

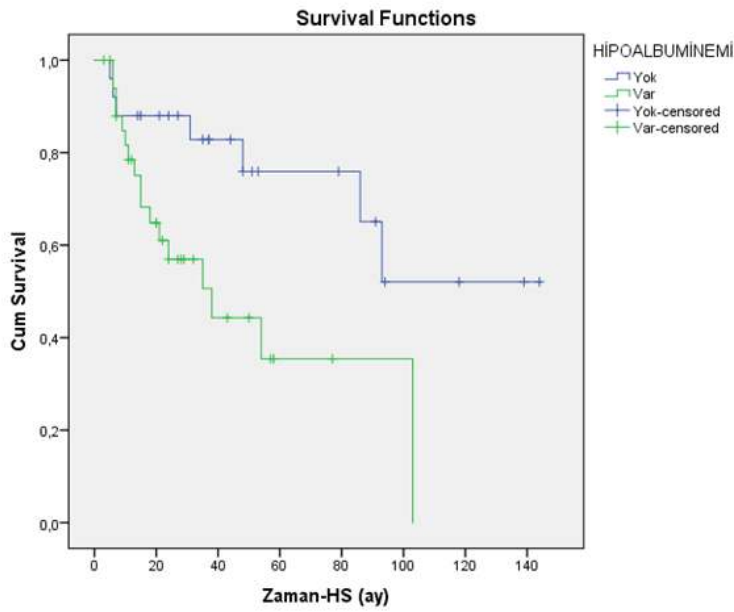


Şekil 15: IPS-7 ve Sağ Kalım İlişkisi



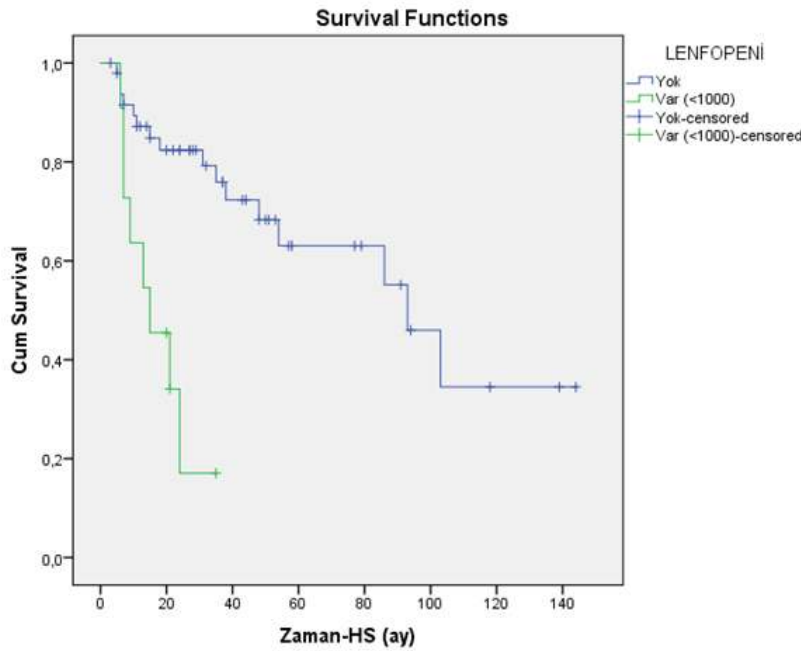
Şekil 16: Tedavi Yanıtı ve Sağ Kalım İlişkisi

Hipoalbuminemisi olan hastaların %51'i, albümin değeri ≥ 4 mg/dl olan hastaların ise %72'si analiz yapıldığı sırada yaşamaktaydı. Hipoalbuminemi, sağ kalımı olumsuz yönde etkiledi ($p=0,01$) (Şekil 17: Hipoalbuminemi ve Sağ Kalım İlişkisi).

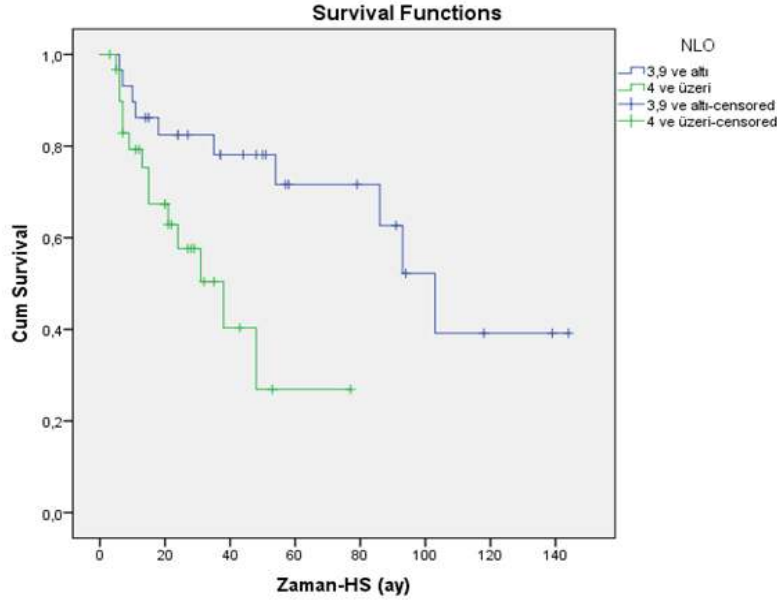


Şekil 17: Hipoalbuminemi ve Sağ Kalım İlişkisi

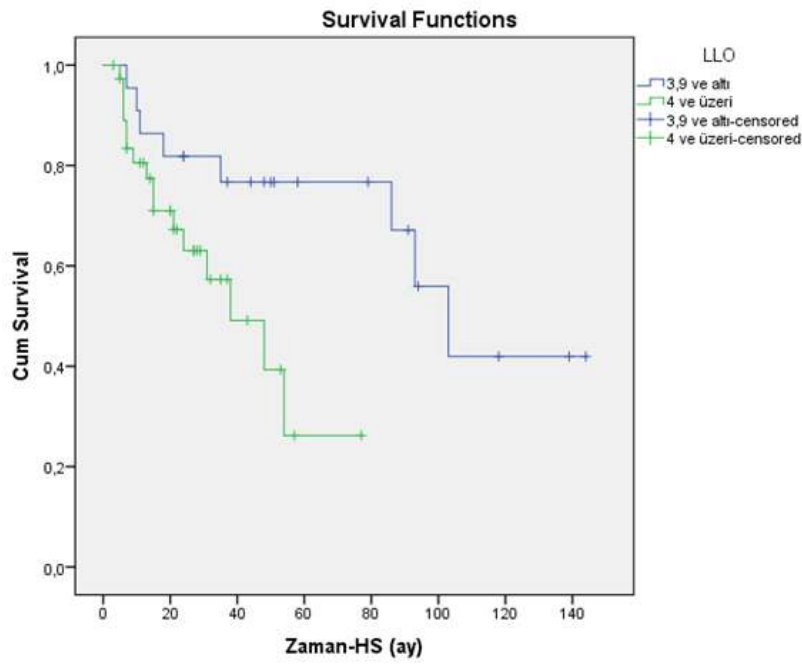
Lenfosit sayısı için sınır değer $600/\text{mm}^3$ olarak alındığında da sağ kalımla ilişkili bulunmazken ($p=0,161$), sınır değer $1000/\text{mm}^3$ olarak alındığında sağ kalımla ilişkili bulundu ($p<0,001$) (Şekil 18: Lenfopeni ve Sağ Kalım İlişkisi). Lökosit değeri her iki sınır değerinde de sağ kalımla ilişki göstermedi. Nötrofil/lenfosit (NLO) oranı sınır değer 3,9 olarak alındığında, 3,9'un üzerindeki değeri olan hastalarda sağ kalım %54, $\leq 3,9$ ise sağ kalım %65 olarak hesaplandı. NLO'nun düşük olması yüksek sağ kalımla ilişkilendirildi ($p=0,009$) (Şekil 19: NLO ve Sağ Kalım İlişkisi). Lökosit/lenfosit oranı (LLO) için sınır değer 3,9 olarak alındı. Oranın $>3,9$ olduğu hastalarda sağ kalım %57, $\leq 3,9$ hastalarda ise %63 olarak hesaplandı. LLO'nun düşük olması yüksek sağ kalımla ilişkili bulundu ($p=0,019$) (Şekil 20: LLO ve Sağ Kalım İlişkisi). B semptomu olan hastaların %48'i, görülmediği hastaların %88'i analiz yapıldığı sırada yaşamaktaydı. B semptomunun olması, sağ kalım üzerinde negatif etkiye sahipti ($p=0,002$) (Şekil 21: B Semptomu ve Sağ Kalım İlişkisi).



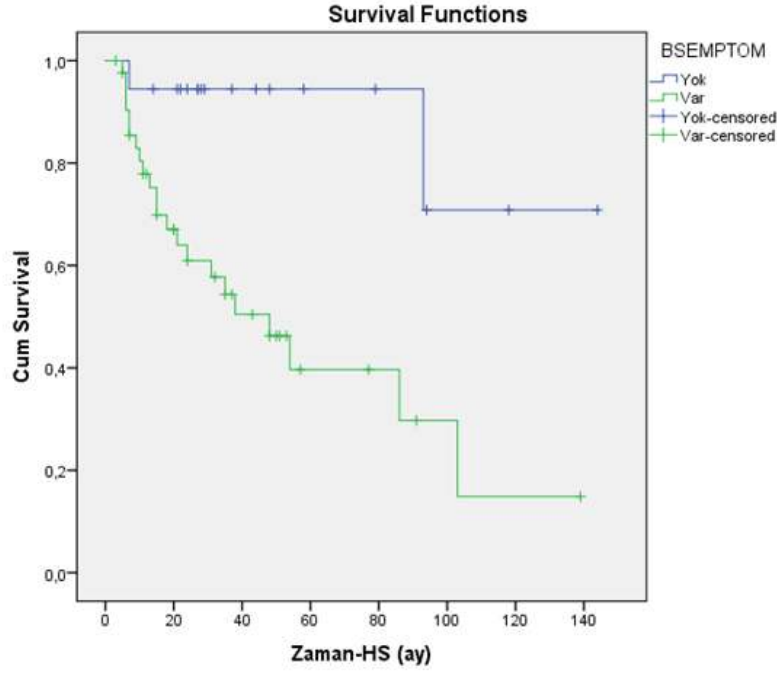
Şekil 18: Lenfopeni ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 19: NLO ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 20: LLO ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 21: B Semptomu ve Sağ Kalım İlişkisi

Yüksek tümör yükü olan hastaların sayısı sadece 3 olması nedeniyle sağ kalımla ilişkili bulunmadı ($p=0,785$).

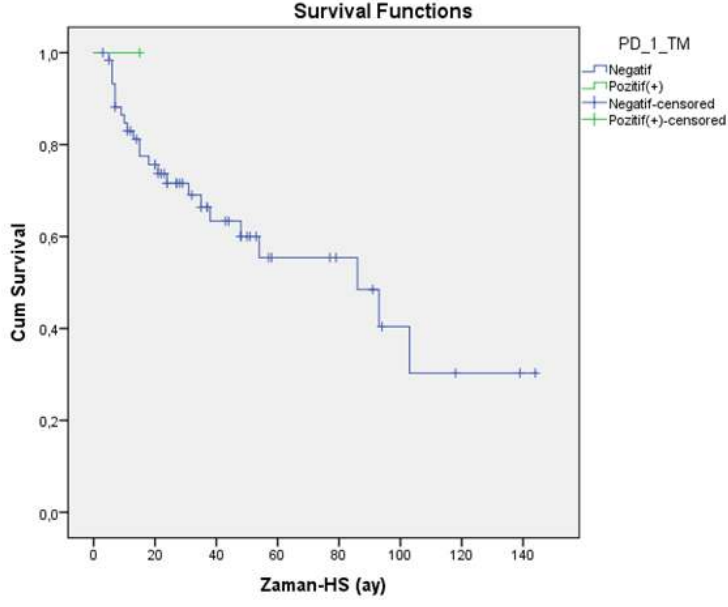
Hastaların klinik ve demografik özellikleri ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişki, Tablo 8’de özetlenmiştir (Tablo 8: Klinik ve Demografik Özelliklere Göre Sağkalım Süreleri).

Tablo 8: Klinik ve Demografik Özelliklere Göre Sağkalım Süreleri

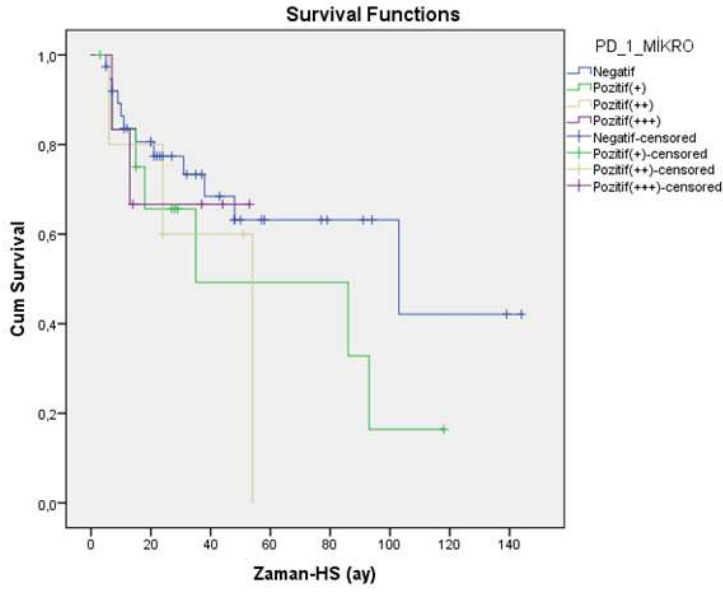
		Toplam/ölüm (n)	Yaşayan %	Ortalama	Medyan	p
Cinsiyet	K	25/10	60,0	82,8	86,0	0,574
	E	37/14	62,2	67,3	93,0	
Yaş	<45 yaş	12/40	70	91,3	103,0	0,012
	>44 yaş	12/22	45,5	45,9	31,0	
Evre	2	9/26	65,4	94,1	103,0	0,010
	3	5/18	72,2	72,5	93,0	
	4	10/18	44,4	28,5	21,0	
Tedavi Yanıtı	Yok	7/11	36,4	41,1	24,0	0,036

	Var	17/51	66,7	87,0	93,0	
Hipoalbuminemi	Yok	7/25	72	102,0		0,010
	Var	17/35	51,4	51,5	38,0	
Lenfopeni (<600)	Yok	22/57	61,4	78,9	86,0	0,161
	Var	2/3	33,3	18,3	21,0	
Lenfopeni (<1000)	Yok	16/49	67,3	86,8	93,0	p<0.001
	Var	8/11	37,3	17,6	15,0	
NLO	≤ 3,9	10/29	65,5	94,1	103,0	0,009
	>3,9	24/31	54,8	38,5	38,0	
LLO	≤3,9	8/22	63,6	97,3	103,0	0,019
	>3,9	16/38	57,9	41,3	38,0	
B Semptomu	Yok	2/18	88,9	124,3		0,002
	Var	22/43	48,8	58,4	48,0	
Bulky	Yok	22/57	61,4	80,2	93,0	0,785
	Var	1/3	66,7	21,0		

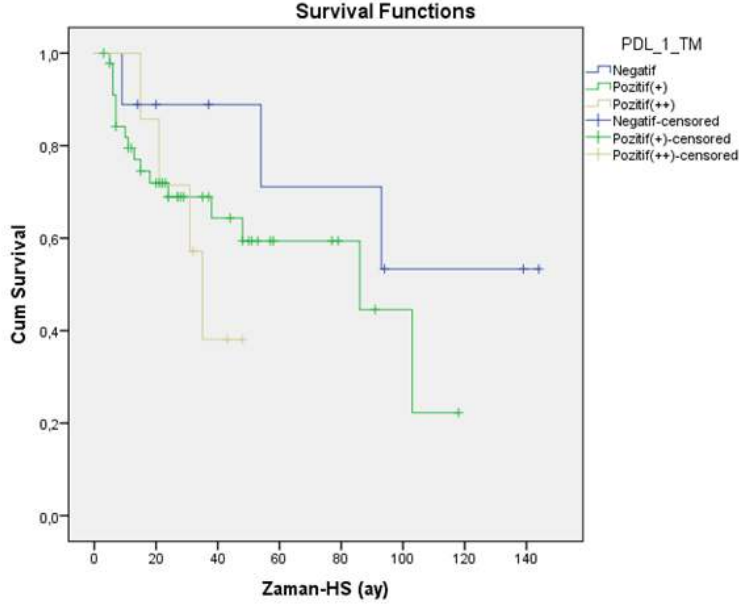
Biyobelirteçlerin sağ kalım ile ilişkisi, Kaplan Mayer analizleri ile değerlendirildi. PD-1, RS hücrelerinde sadece bir hastada pozitif saptandığı için istatistiksel olarak sağ kalımla ilişkilendirilmedi (p=0,614) (Şekil 22: PD-1 Tümörde Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi). PD-1'in mikroçevre değerlendirmesinde, PD-1 negatif hastaların sağ kalım oranı %68, PD-1 +1 hastaların sağ kalımı %46, PD-1 +2 pozitif hastaların sağ kalımı %40, PD-1 +3 pozitif hastaların sağ kalımı %66 olarak hesaplandı. PD-1'in mikroçevrede pozitif olması ile sağ kalım arasında ilişki saptanmadı (p=0,489) (Şekil 23: PD-1 Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi). PD-L1, RS hücrelerinde negatif olduğu hastalarda sağ kalım %66, +1 pozitif olduğu hastalarda %63, +2 pozitif olduğu hastalarda %42 idi. PD-L1, RS hücrelerinde sadece 9 hastada negatifti. PD-L1'in RS hücrelerinde boyanması sağ kalımla ilişkisiz bulundu (p=0,321) (Şekil 24: PD-L1 Tümörde Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi). PD-L1'in mikroçevrede değerlendirmesinde, PD-L1'in negatif olduğu hastalarda sağ kalım %80, +1 pozitif olduğu hastalarda %58, +2 pozitif olduğu hastalarda %54, +3 pozitif olduğu hastalarda %75 saptandı. PD-L1'in mikroçevre boyanmasında +3 pozitiflik görülen sadece 4 hasta mevcuttu. Negatif ve +1 pozitif hastalar aynı grupta, +2 ve +3 pozitif hastalar aynı grupta değerlendirildiğinde, PD-L1'in mikroçevrede pozitif olması sağ kalımla ilişkilendirilmedi (p=0,073) (Şekil 25: PD-L1 Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi).



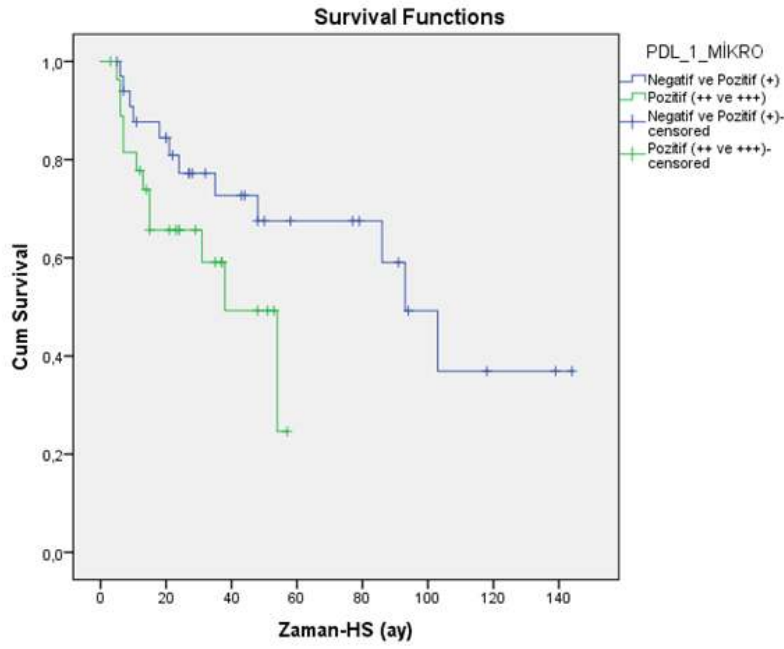
Şekil 22: PD-1 Tümörde Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 23: PD-1 Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi

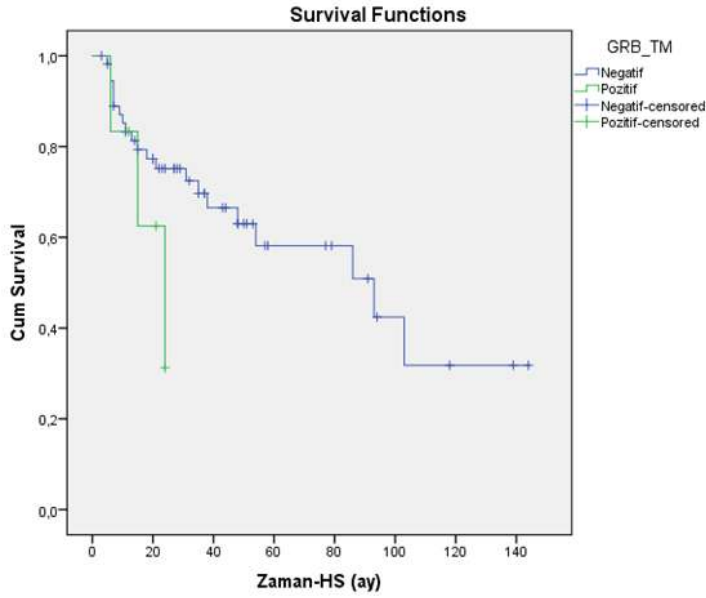


Şekil 24: PD-L1 Tümörde Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi

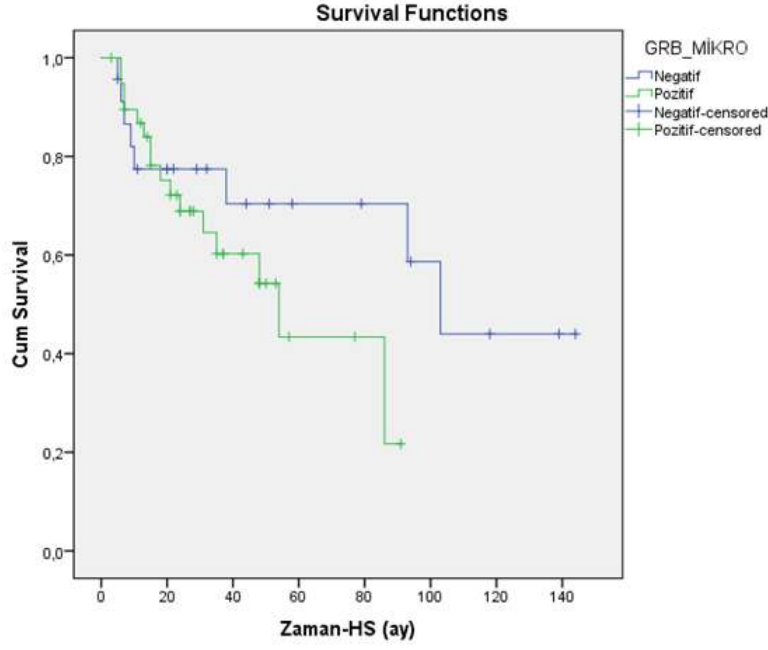


Şekil 25: PD-L1 Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalımla İlişkisi

Granzim B'nin RS hücrelerinde pozitif olması sağ kalımla ilişkilendirildi ($p=0,031$). Yoğun boyanma görülen hastaların sağ kalımı 15 ay olarak hesaplandı (Şekil 26: Granzim B Tümörde Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi). Granzim B'nin mikroçevre boyanmasında ise, negatif olan hastaların sağ kalım oranı %65, +1 pozitif hastaların sağ kalımları %60, +2 pozitif hastaların toplam sağ kalımları %50 olarak hesaplandı. Granzim B'nin mikroçevrede boyanması, sağ kalımla ilişkilendirilmedi ($p=0,328$) (Şekil 27: Granzim B Mikroçevrede Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi)

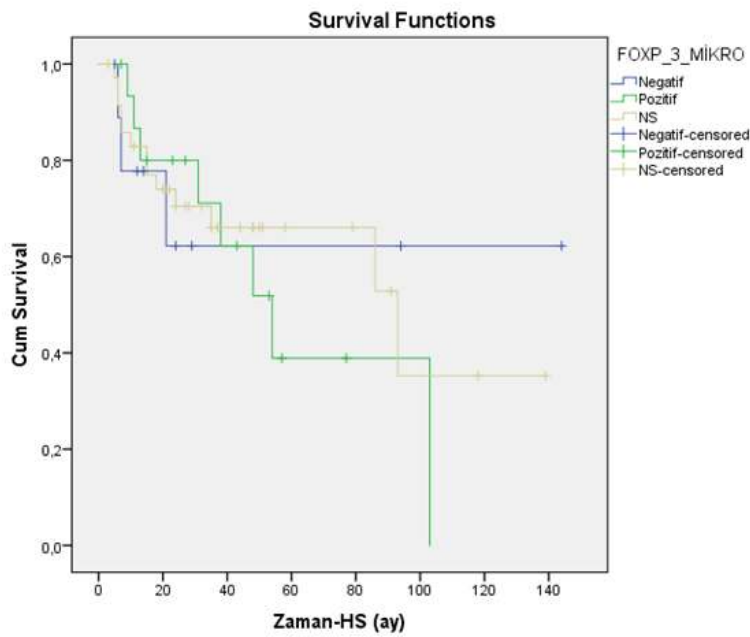


Şekil 26: Granzim B Tümörde Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi



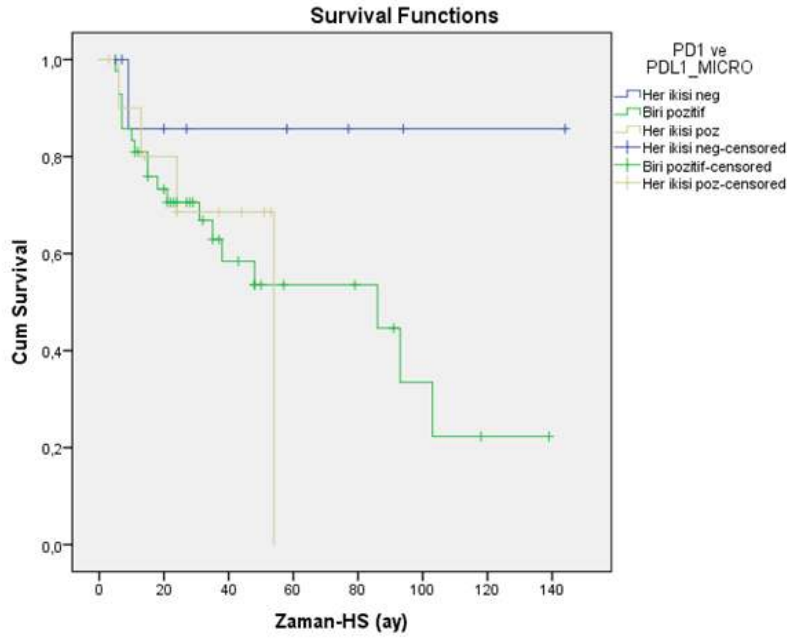
Şekil 27: Granzim B Mikroçevrede Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi

FOXP3 boyamasında ise sadece mikroçevre değerlendirildi. Hastaların 36'sında nonspesifik boyanma mevcuttu, boyama anlamsız olarak değerlendirildi (Şekil 28: FOXP3 Mikroçevrede Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi)

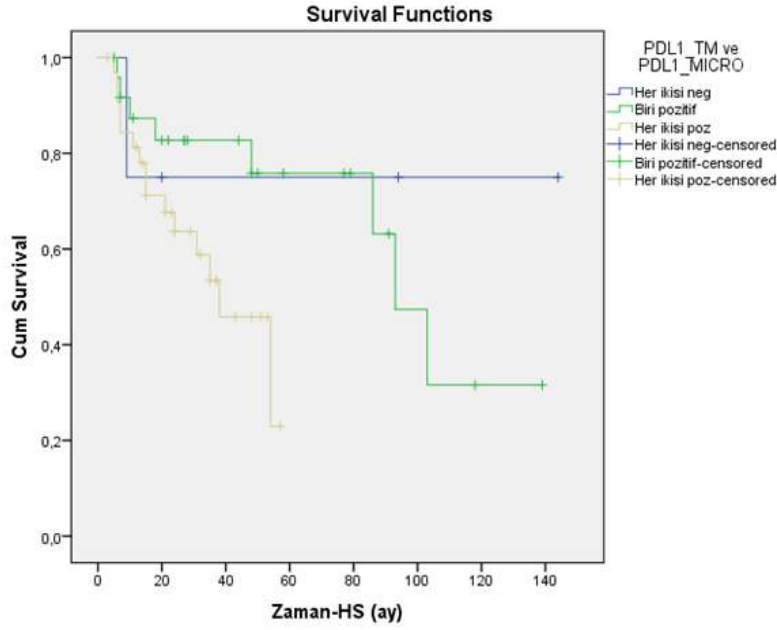


Şekil 28: FOXP3 Mikroçevrede Boyanma ve Sağ Kalım İlişkisi

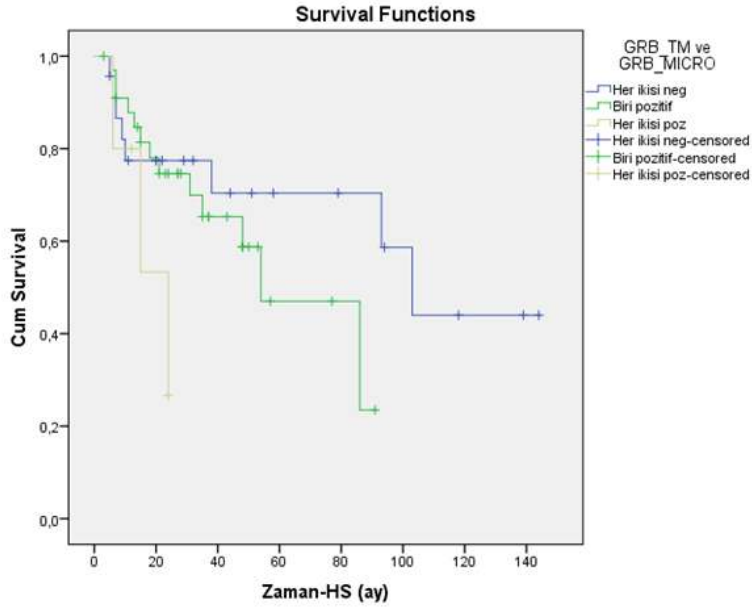
Hem PD-1 hem PD-L1'in mikroçevrede pozitif boyanması (kuvvetli pozitif boyanma grubu alındı) ve sağ kalım ilişkisi değerlendirildi, ko-ekspresyonla sağ kalım arasında ilişki saptanmadı ($p=0,248$) (Şekil 29: PD-1 ve PD-L1 Ko-ekspresyonu ve Sağ Kalım İlişkisi). PD-L1'in hem RS hücrelerinde hem de mikroçevrede pozitif boyanmasıyla sağ kalım arasında ilişki araştırıldı, ancak anlamlı sonuç elde edilemedi ($p=0,064$) (Şekil 30: PD-L1'in Aynı Anda Tümör ve Mikroçevrede Pozitif Olması ve Sağ Kalım İlişkisi). Benzer şekilde granzim B'nin hem RS hücrelerinde hem mikroçevrede boyanması ile sağ kalım arasında da anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,114$) (Şekil 31: Granzim B'nin Aynı Anda Tümör ve Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalım İlişkisi).



Şekil 29: PD-1 ve PD-L1 Ko-ekspresyonu ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 30: PD-L1'in Aynı Anda Tümör ve Mikroçevrede Boyanması ve Sağ Kalım İlişkisi



Şekil 31: Granzim B'nin Aynı Anda Tümör ve Mikroçevrede Pozitif Olması ve Sağ Kalım İlişkisi

IPS-3 ile biyobelirteçlerin ilişkisi de incelendi. IPS-3 ile hastalar dört gruba ayrıldı. Bu dört gruptaki biyobelirteç pozitifliği ile sağ kalım arasındaki ilişki incelendi. IPS-3 ile PD-1/PD-L1'in mikroçevrede birlikte pozitif olması sağ kalım üzerinde etkili bulundu ($p=0,01$). IPS-3 ile PD-L1 tümör ile PD-L1'in mikroçevrede birlikte pozitif olması sağ kalım üzerinde anlamlı olarak etkili bulundu ($p=0,007$). IPS-3 ile granzim B'nin hem tümör hem mikroçevrede pozitif olması da sağ kalım üzerinde etkili bulundu ($p=0,02$). IPS-3 ile PD-L1'in mikroçevrede pozitif olması da sağ kalım üzerinde etkili bulundu ($p=0,02$). Ancak IPS-3'ün kendisi sağ kalımı güçlü bir şekilde etilediği için istatistiksel anlamı sınırlı olarak değerlendirildi.

Biyobelirteçler ile sağ kalım süreleri arasındaki ilişki Tablo 9'da özetlenmiştir (Tablo 9: Biyobelirteç İle Sağ Kalım Süreleri)

Tablo 9: Biyobelirteç İle Sağ Kalım Süreleri

		Toplam/ölüm (n)	Yaşayan %	Ortalama	Medyan	p değeri
PD-1 tümör	Negatif	24/61	60,7			0,614
	Pozitif (+)	0/1	100,0			
PD-L1 tümör	Negatif	3/9	66,7	103,9		0,321
	Pozitif (+)	17/46	63,0	69,5	86,0	
	Pozitif (++)	4/7	42,9	34,5	35,0	
PD-1 mikroçevre	Negatif	12/38	68,4	90,4	103,0	0,489
	Pozitif (+)	7/13	46,2	58,5	35,0	
	Pozitif (++)	3/5	40,0	38,4	54,0	
	Pozitif (+++)	2/6	66,7	38,7		
PD-L1 mikroçevre	Negatif	2/10	80,0	111,6		0,298
	Pozitif (+)	10/24	58,3	82,3	93,0	
	Pozitif (++)	11/24	54,2	36,6	38,0	
	Pozitif (+++)	1/4	75,0	13,5	13,0	
GrB tümör	Negatif	21/56	62,5	80,8	93,0	0,031
	Pozitif (+)	1/4	75,0	21,0		
	Pozitif (++)	2/2	0,0	15,0	6,0	
GrB mikroçevre	Negatif	8/23	65,2	93,7	103,0	0,328
	Pozitif (+)	14/35	60,0	55,8	54,0	
	Pozitif (++)	2/4	50,0	21,0	24,0	
FOXP3 mikroçevre	Negatif	3/10	70,0	94,3		0,796
	Pozitif	8/16	50,0	60,4	54,0	
	NS	13/36	63,9	81,7	93,0	
	Her ikisi negatif	1/9	88,9	124,7		0,248

PD-1/PD-L1 koekspresyonu	Biri pozitif	19/42	54,8	70,3	86,0	
	Her ikisi pozitif	4/11	63,6	41,7	54,0	
PD-L1 tümör+mikroçevre	Her ikisi negatif	1/4	75,0	110,2		0,064
	Biri pozitif	8/25	68,0	90,8	93,0	
	Her ikisi poz	15/33	54,5	36,1	38,0	
GrB tümör+mikroçevre	Her ikisi negatif	8/23	65,2	93,7	103,0	0,114
	Biri pozitif	13/34	61,8	57,3	54,0	
	Her ikisi pozitif	3/5	40,0	18,0	24,0	
IPS3 IPS-3	0	2/22	90,9	29,6		<0.001
	1	12/24	50	13,0	54,0	
	2	6/11	45,5	130,3	21,0	
	3	4/5	20	60,6	15,0	
IPS7 IPS-7	0	1/6	83,3	121,0		0,001
	1	2/13	84,6	79,6	86,0	
	2	8/18	55,6	67,5	54,0	
	3	5/10	50,0	42,0	15,0	
	4	4/9	55,6	31,5	38,0	
	5	4/6	33,3	14,2	13,0	

5-TARTIŞMA

HL, lenf nodlarını ve lenfatik sistemi etkileyen bir malignitedir, Hastaların %80’inde kür sağlanabilirken, %20’sinde relaps ya da refrakter hastalık gelişebilir. HL’nın erken yaşta görülmesi nedeniyle, tedavi ilişkili toksik etkiler akut dönem kadar kronik dönemde de çok önemlidir ve verilecek tedavilerin hastaya en uygun şekilde planlanması ya da diğer deyimle kişiselleştirilmiş/en uygun tedavinin verilmesi temel önemdedir (1). HL, malign B hücreleri olan RS hücreleri ile karakterizedir (2). Ancak RS hücreleri tümöral infiltratın yaklaşık %1’lik kısmını oluştururken yoğun bir mikroçevre bulunur ve mikroçevrenin hastalık biyolojisinde çok önemli olduğu konusunda kuşku yoktur (3). Son yıllarda mikroçevreyi tanımlamaya yönelik çalışmalar ile mikroçevrede prognoza katkısı olabilecek belirteçlere özgü geliştirilen tedaviler oldukça gündemdedir (1).

Bu çalışmada, PD-1, PDL-1, FOXP3 ve granzim B'nin mikroçevre üzerindeki rolleri, tümör biyolojisine etkisi, sağ kalım ve prognozla ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmanın amacı, prognoz üzerine olumlu veya olumsuz etkisi olan molekülleri belirleyerek güncel tedavilerde olası rollerini belirlemektir.

Birçok çalışmada HL'nın mikroçevresinde bulunan, prognozla en anlamlı ilişkili olan belirteci bulmaya ve bu belirtece karşı yaklaşım oluşturmak çabası mevcuttur. Bu çalışmada, PD-1, PDL-1, FOXP3 ve granzim B'nin RS hücrelerinde ve mikroçevrede ekspresyonu ve diğer prognostik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır. 62 hastanın ilk tanı aldığı histolojik materyalde gereç ve yöntemde detaylı olarak anlatılan hazırlık aşamalarından sonra immunhistokimyasal boyama yapıldı, materyaller her bir belirteç için hem RS hücrelerinde hem de mikroçevrede değerlendirildi. Belirlenen sınır değere göre pozitif veya negatif olarak gruplandırıldı. Bu belirteçlerin mikroçevrede ve/veya RS hücrelerinde bulunması ile IPS-3 ve 7 kriterleri ile bu kriterleri oluşturan parametreler tek değişkenli analizlerle kıyaslandı.

ÇÜTF Onkoloji Bili Dalı'nda izlenen olgulardan 62'sinde yaş, cinsiyet, lökositöz varlığı, lenfopeni varlığı, anemi varlığı ve evre değerlendirildi. Ayrıca nötrofil sayımı, lökosit/lenfosit oranı, nötrofil/lenfosit oranı, IPS-3 ve IPS-7 skorları, histolojik alt tip, tedaviye yanıt durumu, B semptomu varlığı, yüksek tümör yükü varlığı değerlendirildi. Hastaların sağ kalımları Event Free Survival (EFS) ve Overall Survival (OS) olarak değerlendirildi. EFS, tanı anından hastalığın progresyonu veya relapsı ile tedaviyi kesme veya herhangi bir nedenle ölüme kadar geçen süre olarak tanımlandı. OS ise hastalığın tanı anından herhangi bir nedenle ölüme kadar geçen süre olarak tanımlandı. Bu çalışmada Freedom Free Progression (FFP) kullanılmadı. Ancak kıyaslanan bazı çalışmalarda FFP de sağ kalımı değerlendirmek için kullanılmıştır; tedavi sonrası hastalığın progresyonuna kadar geçen süreyi tariflemektedir.

Hastaların klinik/laboratuvar parametreleri ile EFS/OS tek değişkenli analizlerle değerlendirildi. Ancak, mevcut hasta sayısından dolayı, hastalar homojen gruplara dağıtılamadı. Erkek hastalar (n=37), kadın (n=25) hastalara göre sayıca daha üstündü. 45 yaşının altındaki hastalar (n=40), 45 yaşının üzerindeki hastalara (n=22) göre sayıca oldukça üstündü. Evre 1 hastalar sayıca oldukça azdı (n=3). Histolojik alt tipler ele alındığında NS tip sayıca üstündü (hastaların %64.5'i). Bulky hastalığı olan sadece 3 hasta mevcuttu. Lökositöz ($WBC > 15.000/mm^3$), sadece 6 hastada mevcuttu. Bu nedenle sınır değer $10.000/mm^3$ kabul edilerek ikinci bir analiz yapıldı. Hastalara ait bu demografik, klinik ve laboratuvar verilerle istatistiksel anlamlı sonuçlar elde etmek oldukça zordu. Hasta sayısı, özellikli alt grupların daha detaylı değerlendirilebilmesi ve istatistiksel olarak daha anlamlı sonuçlar elde edebilmek için

çok yeterli değildir. Ancak finansal nedenlerle hasta sayısı artırılmamıştır. Daha geniş bir hasta grubunda bu parametrelerin çalışılması çok daha emin sonuçları ortaya çıkaracaktır.

IPS-7, ileri evre HL için en sık kullanılan risk sınıflandırma aracıdır. Diefenbach ve arkadaşlarının yaptığı 1996-2006 yılları arasında takip edilen 854 hastanın takip edildiği E2496 çalışmasında, IPS-7 ile hastalar 6 gruba ayrıldı, risk faktörü ≥ 5 olan hastalar için 5 yıllık FFP %42, hiç bir risk faktörü bulunmayan hastalar için 5 yıllık FFP ise %84 olarak hesaplanmıştır. Yine aynı çalışmada, ≥ 5 risk faktörü bulunan hastalar için 5 yıllık OS %56, hiçbir risk faktörü bulunmayan hastalar için 5 yıllık OS %89 olarak hesaplanmıştır (53). IPS öngördürücü değerini saptamak amacıyla Moccia ve arkadaşlarının yaptığı 740 hastayı kapsayan retrospektif çalışmada ise, hastaların genel 5 yıllık FFP %78 ve OS %90 olarak hesaplanmıştır. IPS, hem FFP ($p<0,001$) hem OS ($p<0,001$) için prognostik önemini korumuştur. 5 yıllık FFP %62 ile %88 aralığında, OS %67 ile %98 aralığında saptanmıştır. Analizler 16 ile 65 yaşları arasında sınırlandırıldığında ($n=686$), 5 yıllık FFP %70-88 aralığında, OS ise %73-98 aralığında saptanmıştır (54). Bizim çalışmamızda, IPS-7 skoruna göre hiç risk faktörü olmayan hastaların %83'ü hayatta kalmış, 5 veya daha fazla risk faktörü olan hastaların ise %33'ü hayatta kalmıştır ($p=0,001$).

Diefenbach ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, değişen tedavi rejimleri ile IPS-7'nin prognostik gücünün kısıtlandığı savunulmuştur. Bu amaçla, tek değişkenli ve çok değişkenli Cox analizleri ile IPS-7 kriterlerinin prognostik gücü, FFP ve OS değerleri ile hesaplanmıştır. Sonuçta IPS-7 prognostik öngördürücü olarak kalmış, ancak prognostik aralığı daralmıştır. Çok değişkenli analizde, FFP için iki faktör (yaş, evre) ve OS için üç faktör (yaş, evre, hemoglobin seviyesi) anlamlı kalmıştır. Alternatif bir prognostik indeks olan IPS-3, dört ayrı risk grubu sağlayan yaş, evre ve hemoglobin seviyesi kullanılarak oluşturulmuştur (FFS için $p=0,0001$ ve OS için $p<0,0001$). IPS-3, IPS-7'nin hem FFP hem de OS için risk tahmini üzerinde, model ve ayrımcılık kriterlerine göre daha iyi performans göstermiştir. Tekrar sınıflandırma kalibrasyonu kullanılarak, IPS-7 skoru düşük risk olarak hesaplananların %18'i orta risk grubuna, IPS-7 skoru orta risk skoru hesaplananların %13'ü düşük risk skoruna dahil edilmiştir. Günümüzde ileri evre HL için IPS-3'ün, risk değerlendirmesi için daha basit ve daha doğru bir çerçeve sağlayabileceği savunulmuştur (53).

Bizim çalışmamızda ise IPS-3 kriterlerine göre hiçbir risk faktörü bulunmayan hastaların sağ kalım oranı %90 iken, 3 risk faktörünü de taşıyan hastaların sağ kalım oranı %20 olarak hesaplanmıştır.

Ülkemizde çok merkezli olarak yapılan ve 857 olgunun değerlendirildiği analizde ise IPS-3 için belirlenen parametrelerin yanısıra lenfositopeni de eklenerek yapılan çoklu analiz sonuçlarına göre OS ve EFS için 4 faktör önemli bulundu: evre, yaş, hemoglobin ve lenfositopeni. Bu faktörlere göre IPS-4 hesaplanmış ve IPS-3' ten daha kullanışlı bulunmuştur (55).

Koh ve arkadaşlarının 312 klasik HL'lı hastada yaptığı çalışmada, tedavi öncesi NLO'nun sağ kalımla ilişkisi anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmada NLO için sınır değeri 4.3 olarak belirlenmiştir. NLO'nun ≥ 4.3 olması düşük sağ kalımla ilişkilendirilmiştir ($p < 0.01$) (56). Reddy ve arkadaşlarının 338 evre 1 ve 2 klasik HL'lı hastada yapılan çalışmada, NLO için sınır değeri 6.3 olarak alınmıştır. NLO'nun ≥ 6.4 olması düşük sağ kalımla ilişkilendirilmiştir ($p < 0.001$) (57). Bizim çalışmamızda NLO için sınır değeri 3,9 olarak belirlendi, sağ kalımla ilişkili bulundu ($p = 0.009$). Çalışmamızda diğer çalışmalarda yer almayan LLO hesaplandı, sağ kalımla ilişkili bulundu (0,019).

Benzer çalışmalar incelendiğinde; Greaves ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, çalışmaların tekrarlanabilirliği açısından preparatlardaki asellüler/fibrotik alanlar devre dışı bırakılmış ve incelenen materyaller otomatize bir sistem yardımı ile taranmıştır (6). Bu çalışmada seçilen hastaların %64.5'inin NS alt tipinde olduğunu da göz önünde bulundurursak; bu standardizasyon yönteminin önemi daha açık hale gelmektedir.

PD-1 ve PD-L1'in bu çalışmada biyobelirteç olarak kullanılmasının nedeni immün kontrol noktasında etkili olmaları ve birbirleriyle etkileşerek sitotoksik hücrelerin malign hücreleri yok etme yeteneğini ortadan kaldırarak immünsüpresif bir etki göstermeleridir. Bu nedenle PD-1/PD-L1 yolağı klasik HL'da patogenezinde önemli olduğunu telkin etmektedir. Relaps ve refrakter klasik HL'ın tedavisinde kontrol noktası inhibitörlerinin, özellikle de PD-1 inhibitörlerinin üstün başarısı, gerçekten rutin pratiği değiştirecek nitelitedir. Ek olarak, seçeneklerin daha önce sınırlı olduğu hastalar için etkili tedavi sağlamanın yanı sıra, bu iyi tolere edilen ajanları daha erken tedavi yöntemlerinde kullanmak ve klasik HL tedavisinin toksisitesini en aza indirirken potansiyel olarak hastalığın seyrini değiştirmek için bir fırsat sunmaktadır. Bu amaçla, relaps/refrakter HL'da anti PD-1 olan nivolumab kullanımı ile ilgili ilk Faz 1 çalışma olan CheckMate-039 çalışması 2015'te yayınlanmıştır. CheckMate-039 çalışmasında 23 relaps refrakter, ağır tedaviler alan hastaya nivolumab verilmiştir. %87 lik genel sağ kalım oranı (OS) ve %20 lik tamamen kür (CR) elde edilmiştir. Bu sonuçlardan sonra hastaların doku örneklerinde RS hücrelerinde yüksek oranda PD-1 ligandı olan PD-L1'in

yüksek oranda ekspresyonu immunhistokimyasal boyamayla doğrulanmıştır. Bu çalışmadan sonra nivolumab FDA tarafından relaps/refrakter HL tedavisinde onaylanmış ve NCCN kılavuzunda yerini almıştır. Bu durum kontrol noktası inhibitörlerinin ve HL mikroçevresi profilinin belirlenmesi ile ilgili çalışmaları hızlandırmıştır (45).

Bu çalışmada PD-1 ve PD-L1 hem mikroçevrede hem de RS hücrelerinde ayrı ayrı değerlendirildi. Birçok çalışmada sadece mikroçevre boyanması değerlendirilmiş; esas tümöral özellik gösteren RS hücreleri göz ardı edilmiştir. Bu çalışmada, Anti PD-1 ve anti PD-L1 antikorları için RS hücrelerinde %5 üzeri hücrede membranöz veya membranöz/sitoplazmik boyanma pozitif (+) olarak kabul edildi, +2 orta şiddetli boyanma, +3 kuvvetli boyanma olarak kabul edildi. Anti PD-1 ve PD-L1 mikroçevresi için, boyanma şiddetine göre negatif (boyanma yok), +1 (zayıf veya belirsiz boyanma), +2 (orta şiddetli boyanma), +3 (kuvvetli boyanma) olarak derecelendirildi. Literatürde, neredeyse her çalışmada PD-1/PD-L1 pozitifliği için ayrı bir sınır değeri kullanılmıştır. PD-1 ve PD-L1'in mikroçevrede yüksek oranda ekspresyonunun EFS üzerine negatif etkisinin ilk kez gösterildiği çalışma olan Holander ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sınır değerler oldukça farklıdır ve değerlendirmede karışıklık yaratmaması için bazı hücre grupları hücre sayımına dahil edilmemiştir. Hollander ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada;

- PD-1+, PD-L1+ lenfositlerin sayısı görüntü analiz yazılımı ile hesaplanmıştır. Lenfosit ve monositler, tahmini olarak hesaplanmıştır.
- RS hücreleri, granülositler ve büyük aktive makrofajlar PD-1 boyamasında değerlendirme dışı bırakılmıştır. PD-L1 analizinde ise değerlendirmeye alınmıştır.
- Yazılım, kahverengi membranöz boyanmayı pozitif kabul etmek üzere programlanmıştır.
- PD-1+, PD-L1+ hücrelerin oranı; pozitif hücre sayısı, pozitif ve negatif toplam hücre sayısına bölünerek hesaplanmıştır. PD-L1+ lökositlerin oranı, pozitif ve negatif HRS hücrelerini toplam selülariteden çıkararak belirlenmiştir. Fibrotik alanlar ve aktif germinal merkezler değerlendirme dışı bırakılmıştır.
- Tümör dokuları ayrıca PD-1+ lenfositlerde ayrıca en azından bir RS hücresinin etrafında rozet formasyonu oluşturması incelenmiştir. PD-1+ lenfositlerin yüksek/düşük oran tanımlaması için %10 cut-off değeri olarak kullanılmıştır. PD-L1+ lenfositler için ise bu oran %5 olarak belirlenmiştir. PD-L1+ RS hücreleri için bu oran %90 olarak belirlenmiştir (13).

Bu veriler de göz önünde bulundurularak; mikroçevrede yapılan çalışmalarda histolojik olarak net bir sınır değerinin belirlenemediği, patolojik inceleme yöntemlerinde

standardizasyonun oldukça zor olduğu, ışık mikroskopunda inceleme öncesi görüntü analiz yazılım programlarının gerekliliği daha önemli hale gelmiştir.

Bu çalışmada, PD-1'in RS hücrelerinde sadece bir hastada pozitif olduğu saptandı. Hollander ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hiç boyanma saptanmamıştır. Bu çalışmada PD-1 mikroçevrede incelendiğinde; boyanma yok veya zayıf boyanma aynı grupta boyanma yok/belirsiz boyanma grubu olarak; +2 ve +3 pozitif boyanma ise kuvvetli pozitif boyanma grubu olarak ayrı gruplarda değerlendirildi. 53 hastada (%85.5) boyanma yok/zayıf boyanma saptandı, 9 hastada (%14.5) kuvvetli pozitif boyanma saptandı. PD-1'in immunhistokimyasal olarak incelendiği çalışma örnekleri olarak; Hollander ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PD-1'in mikroçevrede yüksek oranda boyanması hastaların %50'sinde saptanırken, Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %25, Paydaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise %20 oranında boyanma saptanmıştır. Çalışmalar arasında büyük farkların olması, patolojik değerlendirme kriterlerinin farklılığından ve kullanılan çalışma kitlerinin farklılığından kaynaklanabilir. Hollander ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PD-1 diğer prognostik faktörlerden herhangi biriyle korele bulunmamış, EFS ve OS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde olumsuz etkisi görülmüştür. Bu çalışmada, PD-1'in sağ kalım ile ilişkisi saptanamamıştır.

PD-L1 boyanması için benzer çalışma yöntemi kullanılan Hollander ve arkadaşlarını yaptığı çalışmada, PD-L1'in RS hücrelerinde boyanması %9 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada PD-L1'in hem RS hücrelerinde hem de mikroçevrede boyanması sağ kalım ile ilişkili bulunmadı. Ancak; PD-L1'in hem RS hücrelerinde hem de mikroçevrede pozitif olması sağ kalım yönünden anlamlılık sınırında bulundu ($p=0,064$). Bu durum daha önce herhangi bir çalışmada belirtilmemiştir. Ancak daha fazla olgunun değerlendirilmesi net sonuçlar verebilir.

Hollander ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mikroçevrede PD-1 ve PD-L1'in her ikisi de ayrı ayrı sağ kalım üzerine olumsuz etkili bağımsız risk faktörleri olarak bulunmuştur. Paydaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise PD-1 ve PD-L1'in prognoz üzerinde anlamlı etkileri bulunmamış; PD-1 ve PD-L1'in ko-ekspresyonu ise sağ kalımı ciddi yönde azaltmıştır (14). Bu çalışmada, PD-1/PD-L1 ko-ekspresyonu sağ kalımla ilişkili bulunmadı ($p=0,248$). Bu durumdaki hasta sayısının 11 olması bu sonuca yol açmış olabilir.

Granzim B, sitoplazmik boyanma özelliği gösterir. Granzim B'nin, daha önceki çalışmalarda sadece mikroçevrede boyanma göstereceği belirtilmişti (47). Bu çalışmada 6 hastada granzim B RS hücrelerinde boyanma gösterdi. Sadece 2 hastada +2 pozitif boyanma

gösterdi, o hastalarda relaps/ölüm görüldüğünden p değeri 0,031 olarak hesaplandı. Granzim B'nin mikroçevre değerlendirmesinde 39 (%62.9) hastada pozitiflik saptandı. Kelley ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada granzim B'nin mikroçevrede yüksek oranda bulunması prognoz üzerine anlamlı etki göstermemiştir. Bizim çalışmamızda, granzim B'nin mikroçevrede boyanması sağ kalımla ilişkili bulunmadı ($p=0,328$). Öte yandan granzim B'nin tedavi hedefi olabileceği tartışılmaktadır. Hehmann-Titt ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, granzim B'nin potent bir immuntoksin olduğu, hedefe yönelik tedavi olarak terapötik olarak kullanılabileceğinden bahsedilse de, granzim B'nin klinik kullanımının iki temel nedenle kısıtlandığı ifade edilmiştir. Birincisi; tümörlerde granzim B'ye karşı spesifik olarak üretilen serpin B9 (PI-9)' dan kaynaklanmaktadır. PI-9 ekspresyonu özellikle, HL, pankreatik karsinom, blast krizindeki KML, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, meme kanseri, malign melanom, nazofaringeal karsinom ve AML'de saptanmıştır. İkincisi, granzim B önemli bir pozitif yüzey yüküne (şarjına) sahiptir. Bu durum, spesifik olarak negatif yüklü hücre yüzeyine bağlanmasına ve hedef dışı etkilere yol açmaktadır. Bu nedenlerle granzim B'nin klinik kullanımı halen biyomühendislik tarafından araştırılan bir konudur. İlerleyen yıllarda daha yüksek teknoloji ile bu alanlarda bir tedavi ajanı geliştirilmesi belki de söz konusu olacaktır (49).

FOXP3, nükleer boyanma gösterir. FOXP3 boyanması ve prognoz üzerindeki önceki çalışmalar çelişkili ve karmaşık bilgiler içermektedir. Bazı çalışmalar FOXP3 pozitifliğinin prognozu olumlu yönde etkilediğini savunmuştur (6, 46, 47). Bizim çalışmamızda anlamlı olan FOXP3 boyamaları göz önüne alındığında hastaların %25'inde pozitiflik saptanırken; Kelley ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada FOXP3 pozitifliği %44; Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise %52 bulunmuştur. Bu farklılığın en önemli nedeni teknik nedenlerden dolayı olabilir. FOXP3 boyanması bizim çalışmamızda patolojik örneklerdeki boyanmanın nitelikleri nedeniyle boyanma ve değerlendirme problemi olarak yorumlandı.

Bizim çalışmamızda çok değişkenli analizde değerlendirildiğinde hem IPS-3 ve 7 hem de NLO ile LLO'nun sağ kalıma etkisi anlamlı bulunmuştur.

Biyobelirteç çalışmalarının büyük bir kısmı immunhistokimyasal boyama yöntemi ile yapılmıştır. Visser ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hücre alt gruplarını belirlemek için akım sitometri yöntemi kullanılmıştır (58).

Literatür taramalarında, mikroçevreyle ilgili belirteçler araştırılırken çalışmaların büyük çoğunluğu klasik HL'da yapılmış, LPHL çalışmalara dahil edilmemişti. Visser ve arkadaşlarını

yaptığı çalışmada NLPHL'nın mikroçevresi incelenmiştir. Çalışmada, 10 NLPHL'lı doku örneği ile 7 reaktif lenf nodu kıyaslanmıştır. Çalışmanın sonucunda, NLPHL olan dokuda reaktif lenf noduna göre, PD-1+ T lenfosit oranı daha yüksek, FOXP3+ T lenfosit oranı daha düşük saptanmıştır (58). Bu çalışmada LPHL alt tipinde 5 hasta bulunmaktadır. Bu hastaların 3'ü ilk tedaviye yanıt vermiş, 2'sinde relaps gelişmiştir. Diğer hastalarla kıyaslamak için oldukça az sayıda hasta olduğundan daha detaylı sonuçlara ulaşmak için daha geniş bir hasta grubu gereklidir.

6-SONUÇ VE ÖNERİLER

HL, sıklıkla genç popülasyonu etkileyen, yüksek kür oranına sahip bir malignitedir. Yüksek kür oranı nedeniyle tedavinin akut yan etkileri kadar kronik yan etkileri de önemlidir. Bu nedenle hastalara en uygun tedavinin yapılması hem kür oranını artırma hem de tedavi ilişkili yan etki azaltma potansiyeline sahiptir. Yani giderek daha güncel hale gelen "Precision Medicine" kavramına en fazla uyulması gereken malign hastalıkların başında gelmektedir. Çok net bilinmektedir ki ilk tedaviye yanıt iyi değilse, daha sonraki tedavilere yanıt olasılığı da azalmaktadır. Bu durumu sağlamanın en önemli basamağı hastalığın biyolojisinin daha iyi anlaşılmasıdır. HL'da, malign hücreler RS hücreleridir ancak bu hücreler toplam tümör içindeki hücrelerin % 0.1-10'unu teşkil ederler. Bu azınlıktaki malign hücrelere karşın RS hücreleri etrafında yoğun bir immun hücre topluluğu vardır ki mikroçevre olarak değerlendirilmektedir. Hodgkin lenfoma tedavisinde başarı medikal onkolojideki en önemli gelişmelerden biri olmasına karşın bu hastalıkta mikroçevrenin biyolojisinin daha iyi anlaşılması daha uygun ve muhtemelen daha az toksik yaklaşımlarla tedavi olanağını sağlayacaktır. Hodgkin lenfoma biyolojisindeki en sıcak ve önemli çalışmalar mikroçevrenin daha iyi tanımlanması ve bunun kliniğe yansımalarıdır. Son yıllarda mikroçevrenin daha iyi anlaşılması ve buna yönelik tedavilerle çok önemli gelişmeler kaydedilmiştir ve bilgiler hızla artmaktadır. Mikroçevredeki biyolojik olayların daha iyi tanımlanması hastalık patogenezindeki belirsizlikleri ve dolayısıyla tedavide başarısızlıkları giderme potansiyeline sahiptir. Mikroçevre biyolojisi ve ilişkili biyobelirteçlerin profili ile ilişkili çalışmalar hastalık patogenezinin yeni ufuklar getirmiştir ve

bilgi artmaktadır. Bu amaçla programlı hücre ölümü yolları ile FOXP3 ve Granzim B sistemi pek çok çalışmada önemli bulunmuştur. Biz de bu çalışmada bu belirteçleri immun-histokimyasal olarak değerlendirdik ve bu parametreleri çok iyi bilinen IPS gibi prognostik skorla ve pek çok neoplastik hastalıkta prognostik önemi olan nötrofil/lenfosit oranları ile kıyasladık. Çalışılan biyobelirteçlerden hiçbirisi tek başına doğrudan sağ kalım üzerine etkili bulunmamıştır. Ancak daha geniş hasta gruplarıyla çalışmalarını güçlendirmek gelecek tedavi yaklaşımlarına yol gösterecektir.

KAYNAKLAR

1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Guidelines Version 1.2018 Hodgkin Lymphoma
2. **Vardhana S, Younes A.** The Immune Microenvironment In Hodgkin Lymphoma: T Cells, B Cells, And Immune Checkpoints. *Haematologica* **2016**; Volume 101(7):794-802.
3. **Carbone A, Younes A.** Lymphomas and microenvironment: Impact on lymphomagenesis. *Seminars in Cancer Biology* **2015**; Volume 34, Pages 1-92.
4. **Steidl C, Connors JM, Gascoyne RD.** Molecular pathogenesis of Hodgkin's lymphoma: increasing evidence of the importance of the microenvironment. *J Clin Oncol.* **2011**;29(14): 1812-1826.
5. **R Wu, A Sattarzadeh, B Rutgers, A Diepstra, A van den Berg, and L Visser.** The microenvironment of classical Hodgkin lymphoma: heterogeneity by Epstein–Barr virus presence and location within the tumor. *Blood Cancer Journal* **2016**;6, e417.
6. **Greaves P, Clear A, Owen A, Iqbal S, Lee A, Matthews J, Wilson A, Calaminici M, and Gribben J.** Defining characteristics of classical Hodgkin lymphoma microenvironment T-helper cells. *Blood.* **2013**;Oct 17; 122(16): 2856–2863.
7. **Chemnitz JM, Eggle D, Driesen J, et al.** RNA fingerprints provide direct evidence for the inhibitory role of TGFbeta and PD-1 on CD4+ T cells in Hodgkin lymphoma. *Blood.* **2007**;110(9):3226-3233.
8. **Yamamoto R, Nishikori M, Kitawaki T, et al.** PD-1-PD-1 ligand interaction contributes to immunosuppressive microenvironment of Hodgkin lymphoma. *Blood.* **2008**;111(6): 3220-3224.

9. **Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T.** Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*. **1999**;11(2):141-151.
10. **Honda T, Egen JG, Lammermann T, Kastenmuller W, Torabi-Parizi P, Germain RN.** Tuning of antigen sensitivity by T cell receptor-dependent negative feedback controls T cell effector function in inflamed tissues. *Immunity*. **2014**;40(2):235-247.
11. **Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al.** Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature*. **2006**;439(7077):682-687.
12. **Wei F, Zhong S, Ma Z, et al.** Strength of PD-1 signaling differentially affects T-cell effector functions. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2013**;110(27):E2480-2489.
13. **Hollander P, Kamper P, Smedby K, Enblad G, Ludvigsen M, Mortensen J, Amini R, Hamilton-Dutoit S, d'Amore F, Molin D, and Glimelius I.** High proportions of PD-1+ and PD-L1+ leukocytes in classical Hodgkin lymphoma microenvironment are associated with inferior outcome. *Blood Adv*. **2017**;Aug 8; 1(18): 1427–1439.
14. **Paydas S, Bağır E, Seydaoglu G, Ercolak V, Ergin M.** Programmed death-1 (PD-1), programmed death-ligand 1 (PD-L1), and EBV-encoded RNA (EBER) expression in Hodgkin lymphoma. *Ann Hematol*. **2015**;94(9):1545-1552.
15. **Lai CS, Fisher SE, Hurst JA, Levy ER, Hodgson S, Fox M, Jeremiah S, Povey S, Jamison DC, Green ED, Vargha-Khadem F, Monaco AP.** The SPCH1 region on human 7q31: genomic characterization of the critical interval and localization of translocations associated with speech and language disorder. *Am J Hum Genet*. **2000** Aug;67(2):357-68.
16. **Rouslova I, Krepela E.** Granzyme B-induced apoptosis. *Int J Oncol*. **2010** Dec;37(6): 1361-78
17. **Hahn M, Jahrsdörfer B.** Why do human B cells secrete granzyme B? Insights into a novel B-cell differentiation pathway. *Oncoimmunology*. **2012** Nov 1; 1(8): 1368–1375.
18. **DeVita V, Serpick A, Carbone P.** Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin's disease. *Ann Intern Med* **1970**; 71:881-884.
19. **Horning SA.** Hodgkin Lymphoma. In *Williams Hematology*. Kaushansky K, Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal JT eds. Eighth ed. **2010** McGraw-Hill China pp:1527.
20. **Shenoy P, Maggioncalda A, Malik N, Flowers CR.** Incidence patterns and outcomes for Hodgkin lymphoma patients in the United States. *Adv Hematol* **2011**;725219 Epub 2010 Dec 16.
21. **Mozaheb Z.** Epidemiology of Hodgkin's lymphoma. *Health*. **2013**;Vol.5, No.5A, 17-22.

22. **Abramson J, Pridan H, Sacks M, Avitzour M, Peritz E.** A case-control study of Hodgkin's disease in Israel. *Journal of the National Cancer Institute*. **1978**;61, 307-314.
23. **Goldin L, McMaster M, Ter-Minassian M, Saddlemire S, Harmsen B, Lalonde G.** A genome screen of families at high risk for Hodgkin lymphoma: Evidence for a susceptibility gene on chromosome 4. *Journal of Medical Genetics*. **2005**;42, 595-601.
24. **Harty LC, Lin AY, Goldstein AM, Juffe ES, Currington M, Tucker MA.** HLA DR, HLA DQ and TAP genes in familial Hodgkin's disease. *Blood*. **2002**; 99:690-693.
25. **Oza AM, Tonks S, Lim, J, Fleetwood MA, Lister TA, Bodmer JG.** A clinical and epidemic- ological study of human leukocyte antigen-DPB alleles in Hodgkin's disease. *Cancer Research*. **2005**;54, 5101.
26. **Swerdlow AJ.** Epidemiology of Hodgkin's dis- ease and non-Hodgkin's lymphoma. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. **2003**;30, S3-S12.
27. **Hjalgrim H, Askling J, Rostgaard K, Hamilton-Dutoit S, Frisch M, Zhang JS.** Characteristics of Hodgkin's Lymphoma after infectious mononucleosis. *New England Journal of Medicine*. **2003**;349, 1324-1332.
28. **Sauce D, Larsen M, Leese A, Millar D, Khan N, Hislop A.** IL 7R versus CCR7 and CD45 as markers of virus specific CD8+ T cell differentiation: Contrasting pictures in blood and tonsillar lymphoid tissue. *Journal of Infectious Diseases*. **2007**;195, 268-278.
29. **Matricardi PM and Bonini S.** High microbial turnover rate preventing atopy: A solution to inconsisten- cies impinging on the Hygiene hypothesis? *Clinical & Experimental Allergy*. **2000**;30, 1506-1510.
30. **Cozen W, Hamilton AS, Zhao P, Salam MT, Deapen DM, Nathwani BN, Weiss LM, Mack TM.** A protective role for early oral exposures in the etiology of young adult Hodgkin lymphoma. *Blood*. **2009**;114, 4014-4020.
31. **Goedert, JJ.** The epidemiology of acquired im- munodeficiency syndrome malignancies. *Seminars in Oncology*. **2000**;27, 390-401.
32. **Frisch M, Biggar RJ, Engels EA and Goedert JJ.** Association of cancer with AIDS-related immunosuppression in adults. *The Journal of the American Medical Association*. **2001**;285, 1736-1745.
33. **Clarke CA and Glaser SL.** Epidemiologic trends in HIV-associated lymphomas. *Current Opinion in Oncology*. **2001**;13, 315-413.

34. **Glaser SL, Keegan THM, Clarke CA, Darrow LA, Gomez SL, Dorfman RF, Mann RB, DiGiuseppe JA, Ambinder RF.** Smoking and Hodgkin Lymphoma Risk in Women United States. *Cancer Causes & Control*. May **2004**;Volume 15, Issue 4, pp 387–397.
35. **Briggs NC, Hall HI, Brann EA, Moriarty CJ and Levine RS.** Cigarette Smoking and Risk of Hodgkin's Disease: A Population-based Case-Control Study. *American Journal of Epidemiology*. **2002**;Vol. 156, No. 11.
36. **Karadogan M, Yologlu N, Demirsoy U, Aydogan M, Ercin C, Corapcioglu F.** Lymphocyte depleted Hodgkin lymphoma with common variable immunodeficiency. *Pediatr Hematol Oncol*. **2014** May;31(4):369-71.
37. **Duffield AS, Ascierto ML, Anders RA, Taube JM, Meeker AK, Chen S, McMiller TL, Phillips NA, Xu H, Ogurtsova A, Berger AE, Pardoll DM, Topalian SL and Ambinder RF.** Th17 immune microenvironment in Epstein-Barr virus–negative Hodgkin lymphoma: implications for immunotherapy. *Blood advances*. 25 July **2017**, Volume 1, Number 17.
38. **Abbas AK, Lichtman AH.** Cellular and molecular immunology. 5.baskı. *Philadephia.Elsevier Saunders*. **2005**:163-188.
39. **Germain RN.** T cell development and the CD4-CD8 lineage decision. *Nat Rev Immunol*. **2002**;2:309-22.
40. **Palmer E.** Negative selection-clearing out the bad apples from the T cell repertoire. *Nat Rev Immunol*. **2003**;3:383-391.
41. **Williams MA, Bevan MJ.** Effector and memory CTL differentiation. *Annu Rev Immunol*. **2007**;25:171.
42. **Sakaguchi S.** Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self tolerances and negative control of immune responses. *Ann Rev Immunol*. **2004**;22:531-62.
43. **Marshall NA, Christie LE, Munro LR, Culligan DJ, Johnston PW, Barker RN and Vickers MA.** Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma. *Blood*. **2003**; 2004 103: 1755-1762.
44. **Koh YW, Han JH, Yoon DH, Suh C, Huh J.** PD-L1 expression correlates with VEGF and microvessel density in patients with uniformly treated classical Hodgkin lymphoma. *Annals of Hematology*. **2017**; 3115-6
45. **Lin J, Diefenbach CS.** Checkpoint Inhibition in Hodgkin Lymphoma: Saving the Best for Last?. *Cancer Network*.
Erişim: (<http://www.cancernetwork.com>) 2016
Erişim Tarihi: 15.10.2016

46. **Wang C, Xia B, Wang T, Tian C, Yu Y, Wu X, Sun B, Da W, Li S, Zhang Y.** PD-1, FOXP3, and CSF-1R expression in patients with Hodgkin lymphoma and their prognostic value. *Int J Clin Exp Pathol.* **2018**;11(4):1923-1934
47. **Kelley TW, Pohlman B, Elson P, Hsi ED.** The Ratio of FOXP3+ Regulatory T Cells to Granzyme B+ Cytotoxic T/NK Cells Predicts Prognosis in Classical Hodgkin Lymphoma and Is Independent of bcl-2 and MAL Expression. *American Society for Clinical Pathology.* **2007**;128:958-965 958.
48. **Oudejans JJ, Jiwa NM, Kummer JA, Ossenkuppele GJ, vanHeerde P, Baars PW, Kluin M, Kluin-Nelemans JC, vanDiest P, Middeldorp JM, Meijer CJLM.** Activated Cytotoxic T Cells as Prognostic Marker in Hodgkin's Disease. *Blood.* **1997**;89: 1376-1382.
49. **Hehmann-Titt G, Schiffer S, Berges N, Melmer G, Barth S.** Improving the Therapeutic Potential of Human Granzyme B for Targeted Cancer Therapy. *Antibodies.* **2013**;2, 19-49.
50. **Ansell SM.** Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings.* November **2015**; Volume 90, Issue 11, Pages 1574–1583.
51. **Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC.** Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol.* **1989**;7: 1630-6.
52. **Eichenauer DA, Engert A, Diehl V. Hodgkin lymphoma.** Clinical manifestations, staging and treatment In Hematology Basic Principles and Practice. Hoffman R, Benz EJ Jr, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J eds sixth ed. 2013 Elsevier Inc. Canada pp:1139-1156.
53. **Diefenbach CS, Li H, Hong F, Gordon LI, Fisher RI, Bartlett NL, Crump M, Gascoyne RD, Wagner H, Stiff PJ, Cheson BD, Stewart DA, Kahl BS, Friedberg JW, Blum KA, Habermann TM, Tusciano JM, Hoppe RT, Horning SJ, Advani RH.** Evaluation of the International Prognostic Score (IPS-7) and a Simpler Prognostic Score (IPS-3) for advanced Hodgkin lymphoma in the modern era. *British Journal of Haematology.* **2015**;171, 530–538.
54. **Moccia AA, Donaldson J, Chhanabhai M, Hoskins PJ, Klasa RJ, Savage KJ, Shenkier TN, Slack GW, Skinnider B, Gascoyne RD, Connors JM, Sehn LH.** International Prognostic Score in Advanced-Stage Hodgkin's Lymphoma: Altered Utility in the Modern Era. *American Society of Clinical Oncology.* **2012**;30:3383-3388.
55. **Paydaş S, Laçın Ş, Doğan M, Yıldız B, Barışta İ, Karadurmuş N, Erçolak V, Seydaoğlu G.** Gönderen: sepay@cu.edu.tr (Sat, 20 Oct 2018); Hodgkin lenfomada ips-7 skorlama sistemine karşı güncel ve pratik skorlamaların geliştirilmesi ve kullanılabilirliği. Alıcı: merveeyahsi@gmail.com.
56. **Koh YW, Kang HJ, Park C, Yoon DH, Kim S, Suh C, MD, Kim JE, Kim CW, MD, Huh J.** Prognostic Significance of the Ratio of Absolute Neutrophil Count to Absolute Lymphocyte Count in Classic Hodgkin Lymphoma. *Am J Clin Pathol.* **2012**;138:846-854.
57. **Reddy JP, Hernandez M, Gunther JR, Dabaja BS, Martin GV, Jiang W, Akhtari M, Allen PK, Atkinson BJ, Smith GL, Pinnix CC, Milgrom SA, Yehia ZA, Osborne EM, Oki Y, Lee H, Hagemeister F, Fanale MA.** Pre-treatment neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio are prognostic of progression in early stage classical Hodgkin lymphoma. *British Journal of Haematology,* **2018**;180, 545–549.

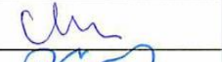
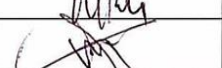
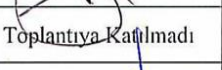
58. **Visser L, Wu R, Rutgers B, Diepstra A, Berg A.** Characterization of the Microenvironment of Nodular Lymphocyte Predominant Hodgkin Lymphoma. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**;17, 2127.



**T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

Toplantı Sayısı		Tarih
66		7 Temmuz 2017

KARAR NO 5- İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Semra Paydaş yönetiminde, Prof. Dr. Melek Ergin'in ve Doç. Dr. Arbil Açıkalmın'ın katkılarıyla, Araş. Gör. Dr. Merve Kacıcı tarafından yürütülmesi öngörülen, "Hodgkin Lenfomada Mikroçevre Profiline Değerlendirilmesi" başlıklı tıpta uzmanlık tez projesi araştırma etiği yönünden değerlendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN	Doç Dr Selim Kadioğlu Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	Prof Dr Davut Alptekin Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	
	Prof Dr Mehmet Kanadaşı Kardiyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gülşah Seydaoğlu Biyoistatistik Anabilim Dalı	
	Prof Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Prof Dr Murat Gündüz Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı	
	Av. Zehra Bulut Hukukçu Üye	Toplantıya Katılmadı
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	Toplantıya Katılmadı

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :Merve KAKCI

Doğum Tarih ve Yeri :15.04.1990

Medeni Durumu :Evli

Adres : Gürselpaşa Mah. 75496 Sk. Serçe Apt. No:19 Seyhan-ADANA

Telefon :507 062 97 27

E.posta :merveeyahsi@gmail.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi :Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yabancı Dil(ler) :İngilizce