

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**LENFOMALI HASTALARDA PERİFERİK KAN CD4 + CD25 +
FOXP3 + DÜZENLEYİCİ T HÜCRE DÜZEYLERİ VE KLİNİK
ÖZELLİKLER ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Serap ŞERMET

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Eskişehir
2015**

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**LENFOMALI HASTALARDA PERİFERİK KAN CD4 + CD25 +
FOXP3 + DÜZENLEYİCİ T HÜCRE DÜZEYLERİ VE KLİNİK
ÖZELLİKLER ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Serap ŞERMET

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI
Doç. Dr. Eren GÜNDÜZ**

**Eskişehir
2015**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI
T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Serap ŞERMET'e ait "Lenfomalı Hastalarda Periferik Kan CD4+ CD25+ FOXP3+ Dzenleyici T H¼cre D¼zeyleri ve Klinik Özellikler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi" isimli çalışma j¼rimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

J¼ri BaŐkanı Doç. Dr. Eren G¼ND¼Z
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

¼ye Doç. Dr. Olga Meltem AKAY
İ Hastalıkları Anabilim Dalı

¼ye Doç. Dr. Vildan ÖZKOCAMAN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fak¼ltesi Fak¼lte Kurulu'nun/...../.....Tarih ve/..... Sayılı Kararıyla onaylanmıŐtır.

Prof. Dr. Enver İHTİYAR

Dekan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimi hazırlama sürecinde bilgi ve deneyimi ile bana yol gösteren tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Eren GÜNDÜZ'e, katkılarından dolayı Doç. Dr. Olga Meltem AKAY'a, Doç. Dr. Vildan ÖZKOCAMAN'a, düzenleyici T hücre düzeylerini çalışan biyolog Gülcihan DEMİREL ve Mediha KAYMAK'a, istatistiksel değerlendirmeleri yapan Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'ndan Arş. Gör. Ahmet MUSMUL'a teşekkür ederim.

ÖZET

Şermet, S. Lenfomalı hastalarda periferik kan CD4+ CD25+ FOXP3+ düzenleyici T hücre düzeyleri ve klinik özellikler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2015. Lenfoma, lenf nodları ve ektranodal lenfoid dokulardan kaynaklanan malign bir tümördür. Malign lenfoma başlığı altında iki hastalık incelenir: Hodgkin Lenfoma (HL) ve Non Hodgkin Lenfoma (NHL). Lenfoma ve immunsupresyon arasındaki ilişki son zamanlarda önemli bir tartışma konusudur fakat henüz net bir sonuç elde edilememiştir. Düzenleyici T hücreler (Treg) CD4+ CD25+ FOXP3+ olarak timustan köken alarak gelişirler ve dolaşımında yaklaşık %8-10 civarında bulunmaktadır. Çalışmamızın amacı lenfomanın patogenezinde sorumlu olduğu ileri sürülen immun baskılanmanın varlığını Treg hücrelerin durumu açısından değerlendirerek güncel tedavi geliştirme çabalarına katkı sağlamaktır. Bu çalışmada yeni tanı lenfomalı hastalarda CD4+ CD25+ FOXP3+ düzenleyici T hücre düzeyleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemlerde değerlendirilmiş ve tedavi öncesi düzeylerle klinik özellikler arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır. Akım sitometri kullanılarak periferik kan CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg düzeyleri 21 HL, 40 NHL hastasında ve 30 kişilik sağlıklı kontrol grubunda ölçülmüştür. Hastaların ortalama Treg düzeyleri HL grubunda %3.79 (%2.31-%5.29), NHL grubunda %4.61 (%2.5-%8.28) ve kontrol grubunda %3.57 (%2.47-%4.35) olarak bulundu. Hastaların Treg düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek saptansa da istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (p=0.09). HL grubunda Treg düzeyleri IPS, CRP, LDH ile pozitif, albumin ve ALS ile negatif ilişkili bulundu. HL grubunda erkek cinsiyette ve sigara içenlerde Treg düzeyleri daha yüksekti. NHL grubunda Treg düzeyleri evre, IPI, CRP, LDH ile pozitif ilişkili albumin, ALS ve sağkalım süresi ile negatif ilişkili saptandı. Mevcut bulgularla çalışmamız bazı klinik ve laboratuvar kötü prognostik parametrelerle ilişkili bulunduğundan lenfomada Treg hücrelerin immunsupresif etkisini destekler gözükmektedir.

Anahtar kelimeler: Lenfoma, Düzenleyici T hücre

ABSTRACT

Şermet, S. Assessment of the relationship between peripheral blood CD4+ CD25+ FOXP3+ regulatory T cells and clinical characteristics of patients with lymphoma. Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine Medical Speciality Thesis in Department of Internal Medicine, Eskişehir, 2015.

Lymphoma is a malignant tumor of lymph nodes and extranodal lymphoid tissues. Malignant lymphoma can be divided into two groups: Hodgkin Lymphoma (HL) and Non Hodgkin Lymphoma (NHL). Recently, the relationship between lymphoma and immunosuppression is a debate however there are no clear results. CD4+ CD25+ FOXP3+ regulatory T cells are derived from thymus and found in approximately 8-10% in circulation. The aim of our study is to add new insights to current lymphoma treatment by showing the relationship between Treg cells and immunosuppression which is proposed to be responsible in lymphoma pathogenesis. In this study, our purpose is to assess the levels of CD4+ CD25+ FOXP3+ regulatory T cells before and after treatment in newly diagnosed patients with lymphoma and find a relationship between Treg levels and clinical characteristics. In our study by using flow cytometry the percentages of CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg in peripheral blood of 40 NHL, 21 HL newly diagnosed patients and 30 healthy controls were evaluated. The peripheral blood Tregs were 3.79% (2.31%-5.29%), 4.61% (2.5%-8.28%), 3.57% (2.47%-4.35%) in HL, NHL and healthy controls, respectively. The peripheral blood level of Treg was higher than healthy controls in HL and NHL patients, but the difference was not statistically significant. Treg level of HL patients was positively correlated with IPS, CRP, LDH and negatively correlated with albumin and ALS. The peripheral blood Tregs was significantly higher in male HL patients and smokers. Treg level of NHL patients was positively correlated with stage, IPI, CRP, LDH and negatively correlated with albumin, ALS and survival. The relationship between Tregs and clinical and laboratory poor prognostic parameters supports the immunosuppressive effects of Tregs in lymphoma.

Key words; Lymphoma, regulatory T cells

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Etyoloji	2
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Sınıflama	6
2.4. Tanı	8
2.5. Evreleme	8
2.6. Tedavi	9
2.7. Hodgkin Lenfoma	10
2.7.1. Hodgkin Lenfoma Epidemiyoloji	10
2.7.2. Hodgkin Lenfoma Etyoloji	10
2.7.3. Hodgkin Lenfoma Patogenez	11
2.7.4. Hodgkin Lenfoma Klinik Bulgular	13
2.7.5. Hodgkin Lenfoma Sınıflama	14
2.7.6. Hodgkin Lenfoma Prognostik Sınıflama	15
2.7.7. Hodgkin Lenfoma Tedavi	17
2.8. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma	19
2.8.1. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma Epidemiyoloji	21
2.8.2. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma Patogenez	21
2.8.3. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma Klinik Bulgular	22
2.8.4. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma Prognostik Graplama	23

	Sayfa
2.8.5. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma Tedavi	23
2.9. Düzenleyici T Hücreler	25
2.9.1. Tanım ve Tarihçe	25
2.9.2. Treg Hücreleri Alt Grupları ve Fonksiyonları	25
2.9.3. Treg Hücrelerinin İmmun Sistem Üzerindeki Düzenleyici Etkileri	31
2.9.4. Treg Hücreleri ve Kanser İlişkisi	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Etik Kurul ve Proje Destek Onayı Bilgileri	38
3.2. Hasta Seçimi ve Hasta Grubu Materyalleri	38
3.3. Akım Sitometri ile CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg Hücrelerin Seviyelerinin Tespiti	39
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	40
4. BULGULAR	41
4.1. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Sonuçlar	41
4.2. Non Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Sonuçlar	47
4.3. Hodgkin ve Non Hodgkin Lenfomalı Hastaların Karşılaştırma Sonuçları	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABC	Aktive B hücre benzeri tip
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AHKHN	Allogenik hematopoetik kök hücre nakli
Alb	Albumin
ALP	Alkaleen fosfataz
ALS	Absolu lenfosit sayısı
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
Bil	Bilurubin
BL	Burkitt lenfoma
BUN	Kan üre azotu
BT	Bilgisayarlı tomografi
Ca	Kalsiyum
cHL	Klasik Hodgkin lenfoma
Cl	Klor
Cr	Kreatinin
CRP	C-Reaktif Protein
CTC	Sitotoksik T hücreler
DBBHL	Diffuz büyük B hücreli lenfoma
DH	Dendritik hücre
DM	Diabetes Mellitus
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EBV	Epstein Barr virus
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EFS	Olaysız sağkalım
EORTC	European Organization for Research and Treatment of Cancer
ESR	Eritrosit sedimentasyon hızı
ESOGÜTF	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ex-Treg	FOXP3 ekspresyonunu kaybetmiş Treg
FL	Foliküler lenfoma
FLİPİ	Foliküler International Prognostic Index

FOXP3	Forkhead box protein 3
GBC	Germinal merkezli B hücre benzeri tip
GELA	Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte
GHSB	German Hodgkin Study Group
GC	Germinal merkez
gr	gram
Gy	Grey
Glu	Glukoz
GGT	Gama glutamil transferaz
Hb	Hemoglobin
HBV	Hepatit B virusu
HCV	Hepatit C virusu
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HL	Hodgkin Lenfoma
HT	Hipertansiyon
Ig	Immunoglobulin
IL	İnterlökin
iTreg	İndüklenmiş düzenleyici T hücre
İPI	International Prognostic Index
İPS	International Prognostic Score
İPSİD	İmmunoproliferatif ince barsak hastalığı
iv	intravenöz
JAK-STAT	Janus kinaz transducer ve transkripsiyon sinyal aktivatörü
K	Potasyum
KAH	Koroner arter hastalığı
LDH	Laktat dehidrogenaz
LFHL	Lenfositten fakir Hodgkin lenfoma
LZHL	Lenfositten zengin Hodgkin lenfoma
m ²	metrekare
mg	miligram
MHL	Mantle hücreli lenfoma
MSHL	Mikst sellüler Hodgkin lenfoma

MZL	Marjinal zon lenfoma
Na	Sodyum
NCCN	The National Comprehensive Cancer Network
NCIC	National Cancer Institute of Canada
NHL	Non-Hodgkin Lenfoma
NLPHL	Noduler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma
NK	Doğal öldürücü
NOS	Başka türlü belirlenmemiş olan
NSHL	Noduler sklerozan Hodgkin lenfoma
nTreg	Doğal düzenleyici T hücre
OHKHN	Otolog hematopoetik kök hücre nakli
OS	Genel sağkalım
P	Fosfor
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PET	Pozitron emissiyon tomografi
PFS	Progresyonsuz sağkalım
PMBBHL	Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma
RS	Reed-Sternberg
RT	Radyoterapi
TART	Tutulu alan radyoterapisi
Teff	Efektör T hücre
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü beta
Th	T yardımcı
THR	T hücre reseptörü
TNF	Tümör nekroz faktör
TNFR	Tümör nekroz faktör reseptörü
Treg	Düzenleyici T hücre

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Reed Stenberg hücresi	10
2.2. Treg hücre analizi	40

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. Etyolojik Etkenler	2
2.2. Enfeksiyöz Etkenler ve İlişkili Oldukları Lenfoma Türleri	3
2.3. Kromozomal Anomaliler ve İlişkili Oldukları Lenfoma Türleri	4
2.4. Hodgkin Lenfoma DSÖ 2008 Sınıflaması	6
2.5. Non-Hodgkin Lenfomalarda DSÖ 2008 Sınıflaması	7
2.6. Yeni Tanı Almış Lenfomada Değerlendirme	8
2.7. Ann Arbor/Costwold Evrelemesi	9
2.8. Hodgkin Lenfomada EORTC, GELA VE GHSG, NCIC Gruplarınca Önerilen Prognostik Sınıflama	16
2.9. İleri Evre HL'de IPS	17
2.10. DBBHL Varyantları, Alt Grupları ve Alt Tipleri	20
2.11. DBBHL Prognostik Gruplama	23
2.12. Doğal ve İndüklenmiş CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg Hücrelerin Temel Özellikleri	28
4.1. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Hematolojik Laboratuvar Parametreleri	42
4.2. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Lenfosit Alt Grupları	43
4.3. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Biyokimyasal Test Sonuçları	44
4.4. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Düzenleyici T Hücre Düzeyleri	45
4.5. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Hematolojik Laboratuvar Parametreleri	48
4.6. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Lenfosit Alt Grupları	49
4.7. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Biyokimyasal Değerlendirme	50
4.8. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Düzenleyici T hücre Düzeyleri	51
4.9. Lenfomalı Hastalar ve Kontrol Grubuna Ait T Hücre Düzeyleri	54

1. GİRİŞ

Lenfoma, lenf nodları ve ektranodal lenfoid dokulardan kaynaklanan malign bir tümördür. Malign lenfoma başlığı altında iki hastalık incelenir: Hodgkin Lenfoma (HL) ve Non Hodgkin Lenfoma (NHL). Lenfoma ve immunsupresyon arasındaki ilişki son zamanlarda önemli bir tartışma konusudur fakat henüz net bir sonuç elde edilememiştir.

Düzenleyici T hücreler (Treg) CD4+ CD25+ FOXP3+ olarak timustan köken alarak gelişirler ve dolaşımda yaklaşık %8-10 civarında bulunmaktadır. Vücutta gelişen otoantijenlere karşı oluşacak immun yanıtı baskılayarak, otoimmun hastalıkları engellemektedirler. Timustan gelişerek primer lenf nodlarına ulaştıklarında tekrar otoantijenlere karşı aktive olurlar ve bölünerek antijen spesifik olarak çoğalırlar. Doğal CD4+ CD25+ FOXP3+ T hücrelerin fonksiyon bozukluğunda ya da genetik olarak FOXP3'e müdahale edildiğinde IPEX (immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome) meydana geldiği, bunun birçok otoimmun hastalığı ortaya çıkardığı ve şiddetli allerjik reaksiyonlara yol açtığı gözlenmiştir.

Düzenleyici T hücre düzeyleri ile over kanseri vb. solid tümörler arasında negatif prognostik ilişki, lenfoma ile arasında ise pozitif prognostik ilişki rapor edilmiştir.

Bu çalışmada yeni tanı lenfomalı hastalarda CD4+ CD25+ FOXP3+ düzenleyici T hücre düzeyleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemlerde değerlendirilmiş ve tedavi öncesi düzeylerle klinik özellikler arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca tedavi sonrası düzeyler ile remisyon durumu arasındaki ilişki de araştırılmıştır. Çalışmamızın amacı lenfomanın patogenezinde sorumlu olduğu ileri sürülen immun baskılanmanın varlığını Treg hücrelerin durumu açısından değerlendirerek güncel tedavi geliştirme çabalarına katkı sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Lenfoid maligniteler hematopoetik kök hücrelerden lenfositlerin gelişimi sırasında herhangi bir aşamadaki duraksama ile oluşan klonal proliferasyon sonucu meydana gelir. Temel olarak Hodgkin Lenfoma (HL) ve Non Hodgkin lenfoma (NHL) olarak ikiye ayrılır.

2.1. Etyoloji

Genel olarak ele alındığında çeşitli enfeksiyonların, immun yetersizlik ve/veya otoimmün hastalık durumlarının, kronik inflamasyon, ailevi zemin, çevresel etkenler ve kromozomal anomalilerin lenfoma gelişmesinde etkili olduğuna dair bulgular mevcuttur (Tablo 2.1. ve 2.2)(1).

Tablo 2.1. Etyolojik Etkenler

Kromozomal translokasyonlar	Edinsel/doğumsal immun yetersizlik sendromları
Genetik faktörler	Otoimmün hastalıklar (çölyak hastalığı, kollajen doku hastalıkları vb.)
Erkek cinsiyet	Kimyasal madde maruziyeti (benzen, pestisit vb.)
İleri yaş	Kemoterapi ve radyoterapi öyküsü
Kanser öyküsü/ailede lenfoma öyküsü	İlaçlar (fenitoin, digoksin vb.)
Obezite	Mesleksi maruziyet (boyacılık, dokumacılık, dericilik)
Enfeksiyöz etkenler	

Tablo 2.2. Enfeksiyöz Etkenler ve İlişkili Oldukları Lenfoma Türleri

EBV	Burkitt lenfoma, posttransplant lenfoma, primer beyin lenfoması, Hodgkin lenfoma, ektranodal T/NK hücreli lenfoma
HTLV-1	Erişkin T hücreli lenfoma
HIV	Diffüz büyük B hücreli lenfoma, Hodgkin Lenfoma, Burkitt lenfoma
HCV	Lenfoblastik lenfoma
H.Pylori	Gastrik MALT lenfoma
C. psittaci, C.trachomatis	Oküler adneksal MALT lenfoma
C. jejuni	Alfa ağır zincir ile ilişkili intestinal MALT lenfoma
HHV-8	Primer effüzyon lenfoması

Non-Hodgkin lenfoma olgularının önemli bir kısmında çeşitli kromozomal translokasyonların varlığı dikkati çekmektedir. Eşlik eden kromozomal kayıplar ve mutasyonlardan bağımsız olarak bu translokasyonlar, moleküler düzeyde onkojen aktivasyonunu veya tümör baskılayıcı gen inaktivasyonunu hızlandırarak hastalığın oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Tablo 2.3.). Örneğin germinal merkez kaynaklı sentroblastlar/sentrositler normal B hücre gelişimi sırasında BCL-2 ekspresyonlarını kaybederek apoptoza eğilimli hale gelirler ve bu durum onların sayıca artmalarını engelleyerek farklılaşmalarına yardımcı olur. Ancak t(14;18) translokasyonu varlığında oluşan gen yeniden düzenlenmesi BCL-2 protein ekspresyonunun baskılanmasını önler; sebat eden BCL-2 ekspresyonu sentroblastları/sentrositleri apoptozdan koruyarak sayıca artmalarına ve sonuç olarak germinal merkez kaynaklı foliküler lenfomanın gelişmesine neden olur.

Tablo 2.3. Kromozomal Anomaliler ve İlişkili Oldukları Lenfoma Türleri

t(11;14)	Mantle hücreli lenfoma
t(11;14)	Plazma hücreli myelom
t(14;18)	Foliküler lenfoma
t(8;14)	Burkitt lenfoma
t(9;14)	Lenfoplazmositik lenfoma
t(11;18), t(1;14), t(14;18)	MALT lenfoma, anaplastik büyük hücreli lenfoma
t(11;18)	Ekstranodal düşük dereceli MALT lenfoma
t(1;14)	Ekstranodal MALT lenfoma
del(7)	Splenik marjinal zon lenfoma
İzokromozom 7q	Hepatosplenik T hücreli lenfoma

2.2. Epidemiyoloji

Coğrafi bölgelere ve etyolojik etkenlere göre dağılım farklılıkları göstermesine rağmen kabaca bakıldığında tüm lenfomaların yaklaşık %75' ini NHL, %25' ini HL oluşturmaktadır (2). Türkiye için bu oran %80'e %20 olarak bulunmuştur. Genel olarak lenfoma insidansında 20. yüzyılın 2. yarısında belirgin bir artış dikkat çekmektedir. Bu durum AIDS'in ortaya çıkışı ile ilişkilendirilse de çevresel koşullardaki değişiklikler, artan ve gelişen tanı koyma olanakları gibi etkenlerin de bu artışa katkı sağladığı düşünülmektedir (3). Tüm kanserlerin yaklaşık % 3'ünü oluşturan lenfomalar hematolojik kanserler arasında en sık rastlanan gruptur. Dünyada önemli bir morbidite ve mortalite sorunu olan lenfomalar kansere bağlı ölüm nedenleri arasında erkeklerde 9. , kadınlarda 6. sırada yer almaktadır (4). Ülkemiz ile ilgili yeterli veri olmamakla birlikte NHL tüm kanserlerin yaklaşık olarak %4'ünü ve yine kansere bağlı ölümlerin % 4'ünü oluşturmaktadır. Türkiye Sağlık Bakanlığı 2008 verilerine göre NHL, erkeklerde 7. kadınlarda ise 8. sırada en sık görülen kanserdir (5).

NHL insidansında yaş ile birlikte artış olduğu gösterilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Batı ülkelerinde hastalar genellikle 60-70'li yaşlarda tanı alırken, Asya ve Ortadoğu ülkelerinde hastalık 40-50'li yaşlarda daha sık görülmektedir. NHL;

erkeklerde kadınlardan daha sıktır, erkek/kadın oranı 1.2-2.1 arasında değişmektedir. NHL'lerde histolojik alt tip dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılık gösterir. T hücreli lenfomalar Asya'da Batı'ya nazaran daha fazla görülürken, foliküler lenfomaya Avrupa'da daha sık rastlanmaktadır. Dünyada en sık görülen histolojik alt tip diffüz büyük B hücreli lenfomadır (6).

Batılı kaynaklar NHL olgularının büyük çoğunluğunun primer nodal tutulumla başvurduğunu bildirmektedir. Primer ektranodal hastalık daha nadirdir; Avrupada primer ektranodal hastalık oranı %30, ABD'de ise %22-25 olarak bulunmuştur. Ancak Ortadoğu ve Asya ülkelerinde bu oran %50 ye kadar çıkmaktadır (6,7). Coğrafi farklılıklar görülmesine rağmen en sık ektranodal tutulum bölgeleri mide, cilt, ince barsak ve tonsillerdir. Batı ülkelerinde birincil gastrointestinal lenfomaların büyük çoğunluğunu mide lenfomaları oluştururken, Ortadoğu ülkelerinde İPSİD (immunoproliferatif ince barsak hastalığı) ile ilişkili olarak ince barsak lenfomaları daha sıktır.

HL tüm kanserlerin %1'ini, lenfomaların yaklaşık % 25'ini oluşturur (8). İki tepeli bir yaş dağılımı gösterir, 10 yaşından sonra sıklığı giderek artar ve 20 li yaşlarda bir zirve yapar, 45 yaşından sonra ise ikinci bir zirve görülür. Sosyoekonomik durumu iyi olan genç erişkinlerde HL sıklığı artmakta iken gelişmemiş ülkelerde azalmaktadır (9). Genç erişkin yaşta görülen HL insidansı ile sosyoekonomik durum arasındaki bu ilişki özellikle noduler sklerozan klasik tip HL'de daha belirgindir. Hem gelişmekte olan toplumlarda, hemde gelişmiş toplumlarda, düşük sosyoekonomik düzeydeki bireylerde mikst hücreli ve lenfositten fakir HL histolojik alt tiplerinin daha baskın olduğu dikkati çekmektedir. Bu durum sıklıkla EBV pozitifliği ile yakından ilişkili bulunmuştur (10). Batılı kaynaklar temel alındığında kadın erkek oranı 2/3 gibidir. Noduler sklerozan hariç tüm tipler erkeklerde daha sık izlenmektedir. Mikst sellüler tipin sıklığı yaş ile birlikte artış göstermektedir (11).

HL'de 5 yıllık beklenen genel sağkalım oranları %85 civarında iken bu oran NHL de %65'tir. Ancak gerek HL gerekse NHL'de 5 yıllık sağkalım oranlarının hastalığın evresi ve histolojik alt tip de dahil olmak üzere birçok prognostik ölçüte göre değişkenlik gösterdiği unutulmamalıdır (12).

2.3. Sınıflama

Lenfomalar, öncelikle tümörün ve malign lenfositlerin morfolojik özelliklerine göre Hodgkin ve non Hodgkin olarak 2 grupta sınıflandırılmıştır (13). 1966 yılında

Rappaport, 1974'te Lukes/Collins, 1982'de Working Formulation, 1994'de REAL ve 2001 yılında dünya sağlık örgütü (DSÖ) sınıflamaları kullanılmıştır. DSÖ sınıflaması, hematopatoloji ve klinik onkoloji konusunda deneyimli otörlerin morfolojik, klinik, immünolojik ve genetik verileri dikkate alarak oluşturdukları fikir birliği sonucunda ortaya konmuştur. DSÖ sınıflaması 2008 yılında tekrar gözden geçirilmiştir (14). DSÖ sınıflaması Tablo 2.4. ve 2.5.'te belirtilmiştir.

Tablo 2.4. Hodgkin Lenfoma DSÖ 2008 Sınıflaması

Hodgkin Lenfoma
Noduler lenfosit predominat Hodgkin lenfoma (NLPHL)
Klasik Hodgkin lenfoma (cHL)
Nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma (NSHL)
Lenfositlen zengin Hodgkin lenfoma (LZHL)
Mikst sellüler Hodgkin lenfoma (MSHL)
Lenfositlen fakir Hodgkin lenfoma (LFHL)

Tablo 2.5. Non-Hodgkin Lenfomalarda DSÖ 2008 Sınıflaması

Prekürsör Lenfoid Neoplaziler
<ul style="list-style-type: none">• B lenfoblastik lösemi / lenfoma• B lenfoblastik lösemi / lenfomanın çeşitli genetik anomalilerle olan formları (BCR/ABL, MLL, TEL/AML1, hiperdiploidi, hipodiploidi, IL3-IGH, TCF3/PBX1)• T lenfoblastik lösemi / lenfoma
Matür B Hücre Neoplazileri
<ul style="list-style-type: none">• Kronik lenfositik lösemi / küçük lenfositik lenfoma• B hücreli prolenfositik lösemi• Splenik marjinal zon lenfoma• Saçlı hücreli lösemi• Sınıflandırılmayan splenik lenfoma• Küçük B hücreli splenik diffüz kırmızı pulpa lenfoması• Varyant saçlı hücreli lösemi• Lenfoplazmasitik lenfoma• Waldenström makroglobulinemisi• Ağır zincir hastalıkları (alfa, gama, mü ağır zincir hastalıkları)• Plazma hücre neoplazmaları• Ekstranodal mukoza ilişkili marjinal zon lenfoma• Nodal marjinal zon lenfoma (MZL)• Pediatrik tip nodal MZL• Foliküler lenfoma (FL)• Pediatrik tip foliküler lenfoma• Primer kutanöz folikül merkezli lenfoma• Mantle hücreli lenfoma (MHL)• Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL)• T hücre / histiyositten zengin DBBHL• Kronik enflamasyon ilişkili DBBHL• EBV pozitif ileri yaş DBBHL• Lenfomatoid granülomatozis• Primer mediastinal (timik) büyük B hücreli lenfoma (PMBHL)• İntravasküler büyük B hücreli lenfoma• Primer kutanöz bacak tipi DBBHL• ALK pozitif DBBHL• Plazmablastik lenfoma• Primer effüzyon lenfoması• HHV-8 ilişkili multisentrik Castleman hastalığından oluşan DBBHL• Burkitt lenfoma (BL)• Burkitt ve DBBHL ayırımı yapılamayan B hücreli lenfoma• DBBHL ve klasik Hodgkin lenfoma ayırımı yapılamayan lenfoma
Matür T ve NK Hücre Neoplazileri
<ul style="list-style-type: none">• T hücreli prolenfositik lösemi• T hücreli büyük granüler lenfositik lösemi• Agresif NK hücreli lösemi• Sistemik EBV ilişkili çocukluk çağı T hücreli lenfoproliferatif hastalık• Hydroa vaccineforme dermatozu benzeri lenfoma• Erişkin T hücreli lösemi / lenfoma• Ekstranodal nazal tip NK/T hücreli lenfoma• Enteropati ilişkili T hücreli lenfoma• Hepatosplenik T hücreli lenfoma• Subkutan pannikülit benzeri T hücreli lenfoma• Mikozis fungoides• Sezary sendromu• Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma• Primer kutanöz agresif epidermotrofik CD-8 pozitif sitotoksik T hücreli lenfoma• Primer kutanöz gamma-delta T hücreli lenfoma• Primer kutanöz küçük/orta CD-4 pozitif T hücreli lenfoma• Periferik T hücreli lenfoma• Anjiyoimmünoblastik T hücreli lenfoma• ALK pozitif anaplastik büyük hücreli lenfoma (ABHL)• ALK negatif anaplastik büyük hücreli lenfoma

2.4. Tanı

Lenfoma tanısı için doku biyopsisi yapılmalıdır. Tanı amaçlı girişim öncesi ulaşılamayan bir lezyonun biyopsisinin kolaylaştırılmasında görüntüleme yöntemleri yararlı olmaktadır. Sağkalım ile ilişkili olan sedimentasyon ve laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyleri tanıda yapılması gereken tetkiklerdendir (15,16). Yeni tanı lenfomada tanısal değerlendirme Tablo 2.6'da özetlenmiştir.

Tablo 2.6. Yeni Tanı Almış Lenfomada Değerlendirme

Öykü: Ateş, gece terlemesi, kilo kaybı, kaşıntı, alkol sonrası ağrı, HIV serolojisi, kardiyak hastalık, pulmoner hastalık, renal hastalık, hepatit B ve C varlığı

Fizik muayene: Periferik lenf nodları, karaciğer ve dalağın değerlendirilmesi

Laboratuvar: Tam kan sayımı, laktat dehidrogenaz, karaciğer fonksiyon testleri, sedimentasyon

Görüntüleme: Baş ve boyun, toraks, abdominopelvik BT ve/veya PET BT

Kemik iliği biyopsisi: Özellikle B semptomu varlığında, kan sayımı bozukluklarında ve evre III-IV hastalıkta yapılmalıdır.

2.5. Evreleme

Lenfoma tanısı doku biyopsisi ile koyulduktan sonra prognoz ve uygun tedavinin belirlenmesi amacı ile hastalığın yaygınlığı yani evresi belirlenmelidir.

Günümüzde lenfomaların evrelendirilmesi modifiye Ann Arbor sistemi ile yapılmaktadır (Tablo 2.7.) (17,18).

Tanı anında prognoz tahmin edilmesi amacı ile klinik ve laboratuvar ışığında diffüz büyük lenfoma için IPI (International Prognostic Index), folliküler lenfoma için FLIPI (Folliküler International Prognostic Index), HL için IPS (International Prognostic Score) gibi skora sistemleri kullanılmaktadır (19,20).

Tablo 2.7. Ann Arbor/Costwold Evrelemesi

Evre	Açıklama
Evre I	Tek lenf nodu bölgesinin veya lenfoid yapının (dalak, timus, waldeyer halkası) veya tek bir ekstralenfatik bölgenin tutulumu (IE)
Evre II	Diyaframın aynı tarafındaki iki veya daha fazla lenf bölgesi tutulumu veya diyaframın aynı tarafında lokal ektranodal yayılıma ek olarak bir veya daha fazla lenf bölgesi tutulumu (IIE)
Evre III	Diafragmanın her iki tarafında lenf bezi bölgesi tutulumu, lokal ekstralenfatik yayılım eşlik edebilir (IIIE)
Evre IV	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

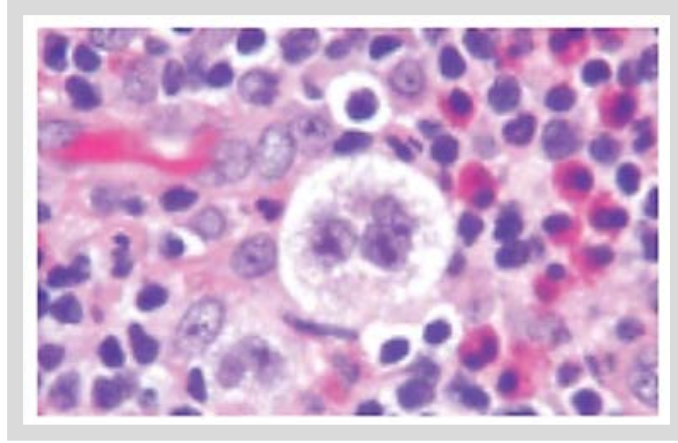
X: Kitlesel (bulky) hastalık varlığı (en büyük çapı 10 cm'in üzerinde olan kitle ya da ön-arka akciğer grafisinde torakal 5-6 intervertebral disk düzeyinde hesaplanan en uzun transvers transtorasik çapın 1/3'ünü aşan mediastinal kitle)

2.6. Tedavi

HL ve NHL sitotoksik kemoterapiler ve monoklonal antikolar ile tedavi edilir. Kemoterapotikler, hücre bölünmesini ve DNA sentezini engelleyerek malign ya da malign olmayan bölünen hücrelerde ölüme neden olurlar. Sınırlı hastalık veya rezidü kitlenin tedavisinde ise radyoterapi (RT) kullanılabilir (21). Rituksimab gibi antikolar ise antijenlere bağlanarak apoptozis, kompleman ilişkili lizis, antikor bağımlı hücrel sitotoksisite yoluyla malign hücrelere etkirler (22). Bazı yavaş seyirli lenfomalarda radyoimmunoterapi kullanılabilir. Radyoimmunoterapide, monoklonal antikora bağlı radyasyon yayan radyoaktif madde kullanılır (23). Rekürren veya birincil tedaviye dirençli lenfomalar, kurtarma kemoterapisini takiben otolog hematopoetik kök hücre nakli (OHKHN) ile tedavi edilebilir (24). Lenfomada monoklonal antikolar, histon deasetilaz inhibitörleri, immünomodülatör ilaçlar, tirozin kinaz inhibitörleri gibi yan tedaviler araştırma sürecindedir.

2.7. Hodgkin Lenfoma

HL'ye ait patolojik bulguların ilk tanımlaması 180 yıl kadar önce Dr. Thomas Hodgkin tarafından yapılmış olup bu antiteye özel bir isim verilmemiştir (25). HL isimlendirilmesi 30 yıl kadar sonra aynı bulgulara sahip vaka serisini yayınlayan Dr.Samuel Wilks tarafından yapılmıştır. HL'ye özgü malign dev hücreler Carl Stenberg ve Dorothy Reed tarafından 1800 sonları ve 1900 başlarında tanımlanmış ve Reed Stenberg hücreleri adını almıştır (26).



Şekil 2.1. Reed Stenberg Hücresi

2.7.1. HL Epidemiyoloji

HL'nın yıllık insidansı 2-3/100.000 olup erkeklerde kadınlara göre daha sık görülür. Tüm lenfomaların % 11'ini oluşturmaktadır. Hastalık 15-34 ve 60 yaş üzeri olarak iki tepeli dağılım gösterir. Genç erişkinlerde noduler sklerozan, ileri yaşlarda ise mikst sellüler histoloji daha sık ortaya çıkar (27). İki bin on dört yılında ABD'de 9190 yeni tanı HL hastası olacağı, 1180 kişinin HL nedeni öleceği tahmin edilmektedir.

2.7.2. HL Etyoloji

Genetik

HL aile bireyleri arasında daha sık görülür. Rölatif risk 4.8'dir. Risk özellikle 40 yaş üzerinde, erkek kardeşlerde artmıştır. Risk aynı cinste belirgindir. Bazı HLA tipleri ile familial HL ve sınıf 1 HLA B1, B5, B8 ve B18 alelleri arasında zayıf da olsa bir ilişki

vardır. Familial nodüler sklerozan tip ile HLA DRB1, 1501, DQA1, DQB1, 0602 alelleri ve TAP geni arasında korelasyon olduğu rapor edilmiştir (28). Finlandiya'da yapılan bir çalışmada risk faktörleri bilinmeyen nodüler lenfositten zengin HL'de aile bireyleri arasında hastalığın yüksek oranda görüldüğü ve nükleer protein ataksia-telenjiyektazi lokus ile ilişki gösterilmiştir (29).

Enfeksiyon

HL ile Epstein Barr virüs (EBV) ilişkisi olduğu bilinmektedir. Serolojik olarak EBV enfeksiyonu geçirdiği gösterilen genç erişkinlerde HL 3 kat daha fazla görülmektedir. Tek yumurta ikizlerinde yapılan bir çalışmada HL gelişen hastaların barsak mikroorganizmalarında eksiklik saptanmıştır (30). HIV ile enfekte kişilerde AIDS olmaksızın bilhassa CD4+ lenfosit sayısının azlığı ile yakından ilişkili olmak üzere HL gelişme riski 10 kat artmıştır (31).

Sigara ve Alkol

HL ile sigara ilişkisini inceleyen meta-analizde 30-40 yaşından büyüklerde özellikle erkeklerde, günlük sigara sayısı, ve sigara kullanılan yıl süresi ile hastalık gelişme riski artmakta; sigarayı bıraktıktan sonra zamanla risk azalmaktadır (32). Alkol kullanımının HL üzerine etkisi olmadığı düşünülmektedir (33).

İmmün Yetmezlik

Wiscott-Aldrich, Bloom, otoimmün lenfoproliferatif sendrom ve transplantasyon sonrası lenfoproliferatif hastalıklar yanında sarkoidoz ve multiple sklerozlu hastalarda klasik HL sıklığı yüksektir (34).

2.7.3. Patogenez

EBV

HL patogenezinde suçlanan en önemli etkenlerden biri EBV'dir. Bazı Reed-Sternberg (RS) hücreleri içerisinde EBV varlığı gösterilmiştir. EBV pozitif HL'de plazma veya serumda EBV DNA polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile gösterilebilir.

EBV; B hücrelerine major zarf proteini gp350 aracılığı ile girerek B hücresindeki C3d kompleman reseptörü olan CD21'e bağlanır, bu esnada HLA sınıf II antijenleri kofaktör olarak görev yapar. Daha sonra EBV'nin lineer DNA'sı sirküler bir

yapı olarak epizom şeklini alır ve EBV bu şekilde B lenfosit içinde latent bir enfeksiyon oluşturarak yıllarca sessiz bir şekilde bellek B hücreleri içinde yaşar. Virus bu dönemde farklı 94 protein kodlar ve bu proteinler viral replikasyon sırasında eksprese edilir. Virusun latent olması NK ve T hücrelerince ortadan kaldırılma olasılığını azaltır. Virusun insan IL-10'a homolog IL-10 oluşturması ile hücre sağkalımı ve BCL-2 düzenlenmesi etkilenir. Makrofaj ve Th1'den salınan sitokin yapımı azalır. EBV'nin latent genleri LMP1, LMP2 ve EBNA1'dir. LMP1 CD40 reseptörünü, LMP2a B hücre reseptörünü taklit eder. Tüm bu olaylar lenfosit içersindeki EBV'nin immün sistem tarafından neden tam olarak tanınmadığına ait nedenlerdir (35).

Mikroçevre

RS hücresi etrafında başlıca olarak CD4+ hücreler (genellikle T helper ve Treg) bulunur. RS bazı kemokin ve sitokinleri salgılar. RS çevresindeki neoplastik olmayan hücreler salgılanan kemokin ve sitokinlere duyarlıdır. Bu hücreler salgıladıkları sitokinler ile RS hücrelerinin idamesinde rol oynar.

HL'de mikroçevreye bağlı sinyalizasyon ile sinyalizasyon yolağı arasında yakın bir ilişki söz konusu olup janus kinaz transducer ve transkripsiyon sinyal aktivatörü (JAK-STAT) aktivasyonu oluşur. Mikroçevrede oluşturulan sinyal yüzey reseptörleri aracılığı ile iletilir. Başlıca reseptör aile üyeleri NFK-B yolağı aktivasyonunda yer alan standart yapılardır. NFK-B transmembran aktivatör reseptörleri, kalsiyum modulatör, siklofilin ligand interaktör, B hücre matürasyon antijen ile standart dışı da aktive olabilir.

2.7.4. HL Klinik Bulgular

HL yaşa göre uyarlanmış görülme oranı yılda 2,7/100000 olarak bildirilmektedir. HL görülme sıklığı yaş gruplarına göre 15-30 yaş ve 6. dekatta olmak üzere iki tepeli dağılım gösterebilmektedir. Erken yaş grubu pikinde hastalığın çoğunu noduler sklerozan tip oluşturmakta olup sosyoekonomik yapıyla görülme sıklığı arasında bir paralellik olduğu, ilginç bir şekilde yüksek sosyoekonomik düzeye sahip kesimde daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (36).

Başından beri HL'nin bir lenf nodu alanından diğer lenf nodu alanına komşuluk yolu ile yayıldığı varsayılmaktadır. HL'nin tek bir lenf nodu grubunda başladığına ve

lenfatik yol ile yayıldığına dair güçlü kanıtlar olmasına rağmen, daha agresif tümöral hücrelerinin hematojen yayıldığı düşünülmemektedir (26).

HL'de en sık başvuru nedeni genellikle boyun bölgesinde gelişen ağrısız lenf nodudur. Akciğer, perikard, plevra ve göğüs duvarı invazyonu NSHL'de daha sık olmak üzere görülebilir. Lenf nodu basısına bağlı bölgesel komplikasyonlar, efüzyonlar, öksürük, nefes darlığı, vena kava superior sendromu gelişebilir.

HL'de, 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 adlandırılabilir (37). Tanı anında %30-%35 hastada dalak tutulumu mevcut olup sıklıkla subklinik ve tanı koyması zor olabilir. Subdiyagrafmatik lenf nodu tutulumu, sistemik semptomu olanlarda ve mikst sellüler histolojide dalak tutulumu daha sık görülür. Karaciğer tutulumu nadir olup sıklıkla eş zamanlı dalak tutulumu ile birlikte dir. Kemik iliği tutulumu, sık olmamakla beraber genellikle odaklıdır ve hemen her zaman ileri evre hastalık, sistemik semptomlar ve olumsuz histoloji ile ilişkilidir.

Önemli miktarda sayılabilecek bir grup hasta ise Hodgkin lenfoma tanısı almadan sistemik semptomlar ile başvurabilir. Tipik semptomlar; ateş, ciddi gece terlemeleri, kilo kaybıdır. Ateş genellikle periyodik ve birkaç günden birkaç haftaya kadar değişebilecek aralıklarda yineleyen şekildedir. Sistemik semptomlar ilk başvuruda %25 hastada görülebilir. İleri evre hastalıkta bu oran %50'ye kadar artabilir. Kaşıntı, yorgunluk, alkol alımı sonrasında lenf nodu ağrısı diğer sistemik semptomlardır. Hastaların %20'den azında görülen kaşıntı, B semptomları arasında tanımlanmamakla beraber eskiden kötü prognostik özellik kabul edilen önemli bir semptomdur (38).

2.7.5. Hodgkin Lenfoma Sınıflama

2001 yılında DSÖ tarafından günümüzde geçerli olan HL sınıflaması belirlenmiştir.

Nodüler Lenfosit Predominant HL

HL olgularının %5 kadarını oluşturur. 30-50 yaş arasında ve erkeklerde daha fazla görülür. Servikal lenf bezlerine ek olarak aksiller ve inguinal lenf nodları da başvuru anında tutulmuş olabilir. Mediastinal, splenik ve kemik iliği tutulumu çok

nadirdir. Diğer HL'den farklı bir özelliği geç relapsların görülebilmesidir. Çoklu relaplara karşı hastalık genellikle yavaş seyirli özelliğini korur.

Nodüler Sklerozan Klasik HL

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

Lenfosit Zengin Klasik HL

Klasik HL'nin %3-5'ini oluşturur. 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 oluşturur. Erkek/kadın oranı 3/1 olup başlangıç anında sıklıkla B semptomları eşlik eder. Tanı anında hastaların çoğunluğu evre III-IV'tür.

Lenfosit Fakir Klasik HL

HL'lerin %1'inden azını oluşturur. Hastaların çoğunda tanı döneminde olumsuz prognostik göstergeler eşlik etmektedir.

2.7.6. HL Prognostik Sınıflama

Genel olarak uygun ve kabul edilebilir prognostik faktörleri açıklamak için yapılan birçok çalışma olmasına rağmen, halen prognoz ve tedavi yönetimini belirleyen en önemli özellik hastalığın evresi ve sistemik semptomların varlığıdır. Bu özelliklerin arasına bulky hastalık varlığı dahil edilebilir (39). Çeşitli gruplar tarafından Hodgkin lenfoma iyi, orta, kötü prognostik grup olarak ayrılmıştır. Hodgkin lenfomada European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC), Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte ve German Hodgkin Study Group (GELA ve GHSG), National Cancer Institute of Canada (NCIC) gruplarınca önerilen prognostik sınıflama özellikleri Tablo 2.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.8. Hodgkin Lenfomada EORTC, GELA ve GHSG, NCIC Gruplarınca Önerilen Prognostik Sınıflama

Prognostik Grup	EORTC/GELA	GHSG	NCIC/ECOG
Erken evre iyi prognostik grup	Evre I-II, Risk faktörü yok, Diyafam üstü hastalık	Evre I-II, Risk faktörü yok	Standart risk grubu: Evre I-II + olumlu özellikler, risk faktörü yok
Erken evre, kötü prognostik grup (orta dereceli)	Evre I-II, Diyafam üstü hastalık, ≥1 risk faktörü	Evre I-IIA + ≥1 risk faktörü Evre IIB + C veya D risk faktörü	Standart risk grubu: Evre I-II + olumsuz özellikler + ≥1 risk faktörü
İleri evre hastalık	Evre III-IV	Evre IIB + A veya B risk faktörü Evre III-IV	Yüksek risk grubu: Evre I-II + bulky hastalık, İntraabdominal hastalık Evre III-IV
Risk faktörleri	A: Büyük mediastinal kitle B: Yaş ≥50 C: Yüksek sedimantasyon* D: ≥4 alan tutulumu	A: Büyük mediastinal kitle B: Ekstranodal hastalık C: Yüksek sedimantasyon* D: ≥3 alan tutulumu	A: Yaş ≥40 B: NS veya NLPHL olmama C: Sedimantasyon ≥50 mm/saat D: ≥4 alan tutulumu
*sedimantasyon: >50 mm/saat veya B semptomu + sedimantasyon: >30 mm/saat ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; EORTC: European Organization for Research and treatment of Cancer; GELA: Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte; GHSG: German Hodgkin Study Group; NCIC: National Cancer Institute of Canada			

1998 yılında Hasenclever ve Diehl tarafından önerilen "International Prognostic Score" (IPS) 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. Bu model erken evre hastalıktan çok ilerlemiş hastalık için daha uygulanabilir bulunmuştur.

Tablo 2.9. İleri Evre HL'de IPS

Prognostik Faktör
Serum albümin <4 g/dl
Hemoglobin <10,5 g/dl
Erkek cinsiyet
Evre IV hastalık
Yaş ≥45
Lökosit ≥15000/mm ³
Lenfosit <600/mm ³ veya total lökositin <%8'i
5 yıllık hastaliksız sağkalım: 0-1 faktör varlığında %84-77, 2-4 faktör %67-54, >5 faktör %42

2.7.7. Hodgkin Lenfoma Tedavi

Radyoterapi ve ardından kemoterapi uygulamalarının devreye girmesi sonuçlarda dramatik bir düzelme sağlamış ve HL modern tedavi yaklaşımları sayesinde önemli oranda kür edilebilir bir hastalık haline gelmiştir (40). Özellikle erken evre hastalarda elde edilen büyük başarılar (%90 lara ulaşan kür oranları) uzun süreli takipleri beraberinde getirmiş ve geç etkiler olarak adlandırdığımız tedavi ilişkili sorunlar ve bunlara bağlı morbidite ve mortalite doğal olarak önem kazanmıştır (41). Buna karşın ileri evre hastalarda sonuçlar bu kadar yüz güldürücü olmamakta, tekrarlamış ve primer refrakter hastalık ise ciddi bir sorun olarak klinisyenlerin karşısında durmaktadır. Sonuç olarak hastalığa tedavi yaklaşımları 2 ana başlık halinde irdelenebilir: 1) Erken evre hastalık 2) İleri evre hastalık. Buna ek olarak refrakter ve nüks hastalığa yönelik tedaviye de ayrı bir başlık altında değinilecektir.

Erken Evre HL'de Tedavi

Erken evre iyi prognostik grupta kısa süreli kombine kemoterapi (2-4 kür ABVD ya da 8 haftalık Stanford V) ve ardından tutulu alana radyoterapi (30 Gy) önerilmektedir. Radyoterapinin uygun olmadığı hastalarda 6 kür ABVD de uygulanabilir. Erken evre kötü prognostik grupta 4-6 kür ABVD kemoterapisi ve ardından 30 Gy tutulu alan radyoterapisi önerilir.

İlerlemiş Hastalıkta Tedavi

Erken evre HL'de %90 lara varan uzun süreli sağkalımlardan söz edilebilmemize karşı ilerlemiş hastalıkta bu oranlar ancak %70'lere ulaşabilmektedir.

İlerlemiş hastalıkta standart bir rejim haline gelen ABVD rejimine arşın dozu arttırılmış BEACOPP gibi daha intensif kemoterapi uygulamaları araştırılmış, etkinlikte kısmi bir artış göstermesine karşın toksisistelerinin fazla olması bu rejimlerin dezavantajını oluşturmuştur (42). Günümüzde ilerlemiş HL tedavisinde standart yaklaşım 6-8 kür ABVD rejimi ve varsa Bulky hastalığa yönelik 30Gy radyoterapidir. İnterim PET analizlerinin dahil edildiği risk adapte tedavi yaklaşımları da uygun bir yaklaşım gibi görülmektedir. Yine NCCN rehberleri doğrultusunda bir diğer alternatif 3 kür Stanford V rejimi + bulky hastalık bölgesine 36Gy radyoterapidir (43).

Relaps Refrakter Hastalıkta Tedavi

HL'de hastaların yaklaşık %5-10 kadarı başlangıç tedavisine refrakter iken %10-30 hastada remisyon sonrası relaps gözlenebilmektedir (44). Refrakter veya tekrarlamış hastalık klinisyenler için önemli bir sorunu oluşturup seçilmiş vakalar dışında kurtarıcı kemoterapi ve radyoterapi uygulamalarının belirgin bir yararı gösterilememiştir. Otolog kök hücre destekli yüksek doz kemoterapi standart bir yaklaşım haline gelmiştir. Transplantasyon sonucunu etkileyen birçok prognostik faktör ortaya konmuştur. Multipl relaps, radyoterapi alanından relaps, ileri yaş, kötü performans, B semptomları, ileri evre, ektranodal hastalık, anemi ve relapsa kadar geçen sürenin kısa oluşu olumsuz prognostik faktörler olarak bildirilmiştir (45).

Noduler Lenfosit Predominat HL'de Tedavi

Erken evre noduler lenfosit predominant HL'de tek başına 30-36 Gy tutulu alana yönelik radyoterapi ile büyük oranda yanıt elde edilebilir. Tek başına kemoterapi veya kemoterapi + radyoterapi kombinasyonu tercih edilebilecek (özellikle daha ileri evrelerde) diğer tedavi yöntemleridir. Bu grup hastalarda rituksimab da önemli tedavi alternatiflerinden birini oluşturmaktadır.

Yeni Ajanlar

Birçok yeni ajan refrakter relaps HL'de araştırılmıştır. Özellikle CD30'a karşı (brentuximab vedotin/SGN-35) ve CD20'ye karşı (rituksimab) monoklonal antikolar ile hatırı sayılır başarılar elde edilmiştir. Bu alanda uzun verimli randomize çalışmalara gereksinim vardır (46).

2.8. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma

Diffüz büyük B hücreli lenfomalar (DBBHL) büyük, transforme olmuş B hücrelerden oluşan agresif lenfomalardır. Çeşitli protein ve gen ekspresyon paterni gösteren heterojen bir gruptur. Dünya sağlık örgütü (DSÖ) DBBHL alt tiplerini klinik, morfolojik, immunolojik ve genetik özelliklerine göre ayırmaktadır (Tablo 2.10.).

Tablo 2.10. DBBHL Varyantları, Alt Grupları ve Alt Tipleri (47)

1. Başka türlü belirlenmemiş olan (NOS) DBBHL
A. Yaygın morfolojik varyantlar
1.Sentroblastik
2.İmmunoblastik
3.Anaplastik
B. Nadir morfolojik varyantlar
C. Moleküler alt gruplar
1.Germinal merkez B hücresi benzeri(GCB)
2.Aktive B hücresi benzeri (ABC)
D. İmmunohistokimyasal alt gruplar
1.CD25 pozitif DBBHL
2.Germinal merkez B hücresi benzeri
3. Germinal merkez B hücresi benzeri olmayan (non-GCB)
2. Diffüz büyük B hücreli lenfoma alt tipler
A.T hücre / histiyositten zengin büyük B hücreli lenfoma
B. Santral sinir sisteminin büyük B hücreli lenfoması
C. Primer büyük B hücreli cilt lenfoması , bacak tipi
D. Yaşlıların EBV pozitif büyük B hücreli lenfoması
3. Diğer büyük B hücreli lenfomalar
A. ALK pozitif büyük B hücreli lenfoma
B. Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma
C. İntravasküler büyük B hücreli lenfoma
D. Kronik inflamasyonla ilişkili büyük B hücreli lenfoma
E. HHV-8 ilişkili multisentrik Castleman hastalığında görülen lenfoma
F. Plazmablastik lenfoma
G. Primer effüzyon lenfoması
4. Borderline lenfomalar
A. DBBHL ve Burkitt lenfoma arası sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma
B. DBBHL ve klasik HL arası sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma

2.8.1. DBBHL Epidemiyoloji

DBBHL tüm B hücreli lenfomaların %28'ini ve NHL'lerin %30-40'ını oluşturur (48). Tüm dünyada en sık görülen NHL alt tipidir. İnsidansı Birleşmiş Milletler ve İngiltere'de yılda yaklaşık 7/100000, Avrupa'da ise 4,92/100.000 civarındadır (49). Ortalama görülme yaşı 65 olmasına rağmen her yaştaki çocuk ve erişkinleri etkileyebilir. İnsidansı yaşla birlikte artış göstermektedir. Erkek/kadın görülme oranı 1.2'dir (50).

2.8.2. DBBHL Patogenez

DBBHL sitogenetik ve gen ekspresyon profillemeye ile belirlenen çoklu kompleks kromozomal translokasyonlar ve genetik anomalilere sahip moleküler heterojenitesi olan bir hastalıktır. Gen ekspresyon profillemeye kullanılarak moleküler alt gruplara ayrılır. Bunlar germinal merkezli B-hücre benzeri tip (GBC), aktive B-hücre benzeri tip (ABC) ve primer mediastinal büyük B-hücreli lenfomadır (PMBBHL) (51). Bu alt gruplar lenf nodunun germinal merkezindeki immunglobulin geninde somatik mutasyona uğrayan, diferansiyasyonun farklı aşamalarındaki B hücrelerden gelişir ve farklı onkogenik yollar kullanırlar (52).

DBBHL'de eksprese edilen bir başka gen BCL-6'dır ve bu genin yeniden düzenlenmesi DBBHL için spesifik olabilir (53). BCL-6, plazmasitik diferansiyasyonda gerekli olan Blimp-1, c-myc ve diğer proliferasyon ilişkili genleri baskılayarak terminal plazmasitik diferansiyasyonu artıran bir transkripsiyonel baskılayıcıdır. p53 ve diğer DNA hasar sinyal moleküllerini baskılar. Ayrıca ABC alt grubunda apoptozu baskılayan nükleer faktör-kB yolağında aktivasyona neden olur.

DBBHL'de sık görülen genetik aberasyonlardan biri BCL-2 geni ile ilgili olan t(14;18) translokasyonudur. GCB alt grubunun %50'sinde saptanırken ABC'de hiçbir zaman bulunmaz. BCL-2 gen yeniden düzenlenmesi folliküler lenfomadan transformasyonda oluşmaktadır. Ayrıca p53 mutasyonunun BCL-2 ile kombinasyonunda folliküler lenfomadan histolojik transformasyonun geliştiğini göstermektedir. ABC'lerin %25'inde ise GBC'lerde bulunmayan trizomi 3 veya 3q kolunda amplifikasyon saptanır.

2.8.3. DBBHL Klinik Bulgular

DBBHL hastaları genellikle boyun veya karında, PMBBHL hastaları ise mediastende hızlı büyüyen semptomatik lenf nodu veya vücudun herhangi bir

yerinde ortaya çıkan kitle ile başvururlar. Hastalık de novo olarak ortaya çıkabileceği gibi %50 hastada küçük lenfositik lenfoma veya folliküler lenfoma gibi düşük dereceli lenfomalardan transforme olabilir. Bu diferansiyasyon başlangıç tedavi seçimini etkilemese de prognoz ve hastalığın seyri üzerinde etkilidir ve tanı anında tanımlanmalıdır (49). Hastaların %30'unda ilk prezentasyonda sistemik B semptomları (ateş, kilo kaybı, gece terlemesi) vardır. Hastaların %40'ı sınırlı evre (evre I veya II), %60'ı ileri evrede başvururlar. Başvuru anında vakaların %30'unda kemik iliği tutulumu vardır ancak bunların yaklaşık yarısında folliküler lenfoma gibi uyumsuz bir histolojik tip saptanabilir (54). Kemik iliğinde düşük dereceli lenfoma infiltrasyonu saptanması kötü prognozla ilişkili değildir ancak geç relaps riskini artırmaktadır (55).

%40 vakada ektranodal ekstrapredüller hastalık vardır. En sık tutulan ektranodal bölge gastrointestinal sistemdir ancak testis, kemik, tiroid, tükürük bezi, tonsil, cilt, meme, adrenal, böbrek, nazal kavite, paranasal sinus tutulumları da görülebilir (56).

DBBHL damarlara (Vena Cava Superior Sendromu) veya hava yoluna (trakeobronşial kompresyon) bası yaparak, periferik sinir tutulumu ve kemik yıkımına neden olarak acil müdahale gerektirebilecek şekilde de ortaya çıkabilir (55).

Kemik iliği tutulumu olan hastaların %30'unda periferik yaymada lenfoma hücreleri saptanır. Akım sitometri gibi daha hassas bir yöntem kullanıldığında bu oran artmaktadır. Yine kemik iliği tulumuna bağlı olarak anemi, lökopeni ve trombositopeni saptanabilir (55). Serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi yüksek saptanabilir. Akım sitometri ile pan-B hücre işaretleyicileri olan CD19, CD20, CD22, PAX5, CD79a pozitif saptanır. CD5 (+) DBBHL'ler daha agresif seyrlidir ve prognozları kötüdür.

2.8.4. DBBHL Prognostik Gruplama

International Prognostic Index (IPI) lenfomalar için 1993 yılında geliştirilmiştir ve son iki dekatta agresif lenfomalarda kullanılan en önemli klinik prognostik skorlamadır. Bu skorlama hastaların öngörülen sonuçları için Ann Arbor evrelemesinden daha sağlıklıdır (Tablo 2.11.).

Tablo 2.11. International Prognostic Index (IPI) Skorlama Sistemi (57)

Risk faktörleri		
Yaş	>60	
ECOG performans statüsü	>1	
LDH	>normal	
Tutulan ektranodal bölge sayısı	>1	
Evre	>II	
Risk Grupları	IPI Skoru	5 yıllık ortalama sağkalım
Düşük	0-1	%73
Düşük-orta	2	%51
Orta-yüksek	3	%43
Yüksek	4-5	%26

2.8.5. DBBHL'de Tedavi

DBBHL kombinasyon kemoterapisi ile kür sağlanabilen bir hastalıktır. Tedavi başlamadan, hastanın yaşı, klinik evresi, semptomları, komorbid hastalıkları, IPI skoru değerlendirilmelidir. Gelecekte tedaviler ve çalışmalar gen ekspresyon paternine bağlı olarak DBBHL alt tiplerine göre bireyselleştirilebilir.

Erken Evre DBBHL (Evre I-II) Tedavisi

1980'lerde standart tedavi şekli RT iken, zamanla kombinasyon KT'sinin RT'ye eklenmesiyle sağkalım oranlarında iyileşme sağlanmıştır. Günümüzde bulky hastalığı olmayan evre I ve evre II hastalarda tercih edilen tedavi şekli 3 kür R-CHOP tedavisinin ardından tutulu alan radyoterapisi (TART) uygulamasıdır. Bir başka uygun yaklaşım ise RT verilmeksizin 6-8 kür R-CHOP uygulamasıdır.

İleri Evre DBBHL Tedavisi (Evre I ve II Bulky, Evre III ve IV Tedavisi)

Günümüzde agresif DBBHL'de en iyi birinci basamak tedavi rejiminin 6-8 kür R-CHOP (rituksimab, siklofosamid, vinkristin, prednizolon) olduğu kabul edilmektedir. 3-4 kür sonrası yapılan değerlendirmede tam veya kısmi yanıt sağlanan hastalarda tedavi 6-8 küre tamamlanırken dirençli veya ilerleyici hastalığı olanlarda ikinci basamak tedaviye geçilir. Ayrıca bulky hastalık ile başvuranlarda adjuvan RT de önerilmektedir (51).

Primer Refrakter Hastalık Tedavisi

Primer refrakter hastalarda prognoz kötüdür ve nadiren kurtarma tedavilerinden fayda görürler. Yüksek doz KT'ye uygun hastalarda 2-4 kür DHAP (sisplatin, ARA-C, deksametazon), ESHAP (etoposid, sisplatin, ARA-C, metil prednizolon), ICE (etoposid, karboplatin, ifosfamid, MESNA) veya MINE (etoposid, ifosfamid, MESNA, mitoksantron) rejimlerinden biri verilebilir. Rituximab tedavilere dahil edilebilir. Bu tedaviler sonrası tam veya kısmi yanıt sağlanan hastalar otolog hematopoetik kök hücre nakline (OHKHN) yönlendirilir. Yanıt alınamayan hastalarda ise palyatif RT ve destek tedavisi uygulanabildiği gibi klinik çalışmalara da yönlendirilebilir. Bazı olgularda allogenik hematopoetik kök hücre nakli (AHKHN) denenebilir (58).

Relaps Hastalık Tedavisi

Relaps hastalıkta OHKHN'nin rolü Philip ve ark. tarafından, OHKHN ile transplantasyonsuz kurtarma tedavisinin karşılaştırıldığı çok merkezli, prospektif, randomize bir çalışmada tanımlanmıştır. Sonuçlar OHKHN uygulanan hastalarda EFS ve OS'de belirgin iyileşme olduğunu göstermiştir (39). Bu çalışmaya dayalı olarak OHKHN < 60 yaş, kemoterapi sensitif relaps veya refrakter agresif NHL hastalarında standart tedavi olarak belirlenmiştir. Daha sonra Center of International Bone Marrow Transplantation Research (CIBMTR) tarafından yapılan 3 kohort ve 1 çok merkezli çalışmada diğer uygunluk kriterleri karşılandıktan sonra yaşın bir kontrendikasyon oluşturmadığı gösterilmiştir (59). Ancak yaşlı hastaların sonuçları gençlerle karşılaştırıldığında OS oranları daha düşük, transplant ilişkili mortalite ve relaps oranları ise daha yüksek bulunmuştur.

Otolog Hematopoetik Kök Hücre Nakli

Yüksek riskli hastalıkta başlangıç tedavisi olarak yüksek doz tedavi progresyonsuz sağkalım (PFS) oranlarında yüksek risk grubunda daha fazla bir farkla, orta-yüksek ve yüksek IPI skoruna sahip, tedaviye cevap veren hastalarda iyileşme sağlamaktadır (60). Bu veri orta ve yüksek riskli hastalarda OHKHN destekli yüksek doz tedavinin ilk basamak tedavinin bir parçası olması gerektiğini güçlü bir şekilde desteklemektedir (61).

Allogenetik Hematopoetik Kök Hücre Nakli

OHKHN'nin aksine DBBHL'de AHKHN yapılan hasta sayısı ve bu konuyla ilgili çalışmaların az olması kesin bir karara varılmasına engel olur. Günümüzde AHKHN genellikle yüksek riskli relaps veya refrakter hastalar ile OHKHN sonrası relaps saptanan hastalara uygulanmaktadır.

2.9. Düzenleyici T Hücreler

2.9.1. Tanım ve Tarihçe

Düzenleyici T hücreler ilk kez 1970 yılında süpresör hücreler olarak tanımlanmıştır.1980'lerde ise izolasyon ve tanımlanmasının zorluğundan dolayı çalışmalar bırakılmıştır. 1995 yılında Sakaguchi'nin interlekin-2 (IL-2) reseptörü α zincirinin CD4+ Treg hücreler için fenotipik bir belirteç olduğunu bulmasıyla birlikte Treg hücreleri üzerine olan çalışmalar hız kazanmıştır. Treg hücreler esas olarak FOXP3 ("forkhead box protein 3") + CD25+ CD4+ fenotipi sergileyen bir T hücre alt grubudur. Güncel veriler, bu hücrelerin bireyin kendisine ait olan öz antijenlerine immun cevap oluşturmaması ve immun homeostazisin sağlanarak idame edilmesinde rol aldıklarını göstermektedir (62).

2.9.2. Treg Hücreleri Alt Grupları ve Fonksiyonları

Treg hücreleri esas olarak CD4+ T hücrelerin bir alt grubudur ve bu popülasyonunun %5-10'unu oluşturur. Bununla birlikte FOXP3 ekspresyonu yapan CD8+ ve doğal öldürücü(NK) Treg fonksiyonu yürüten hücrelerin varlığından söz edilmektedir (63).

Treg hücreleri bir transkripsiyon faktörü olan FOXP3 ekspresyonu sergileyen heterojen bir grup hücre popülasyonudur (64). Treg hücreleri fenotipik özellikleri esas alınarak iki temel alt gruba ayrılmıştır:

1-Doğal düzenleyici T hücreler (nTreg): Doğal olarak T hücre olgunlaşması sırasında timusta belirli miktarda oluşturulan IL-2R α (CD25) ekspresyon eden CD4+ CD25+ FOXP3+ T hücrelerdir (65,66).

2-İndüklenebilen (adaptif) düzenleyici T hücreler (iTreg): Periferik lenfoid organlarda CD25 öncüllerinden ortamdaki uyarım sonrası CD4+ CD25+ FOXP3+ fenotipi kazanan naif T hücreleridir (67). IL-2 ve TGF- β ile indüklenen iTreg hücreleri, nTreg hücrelerinden farklı olarak, naif CD4+ T hücrelerden oluşurlar ve bellek

belirteçlerini geliştirebilme için ek uyarılara gereksinim duyarlar. iTreg hücreleri bir kez uyarılınca FOXP3, CTLA-4, TGF- β ve IL-10 eksprese ederler (63). Kalıtsal TGF β -1, CTLA-4 ve FOXP3 eksikliği olan farelerin tamamında “Fatal Otoimmün Lenfoproliferatif Sendrom” geliştiği gözlenmiştir. IL-2 eksikliği olan farelerde de çoklu organ otoimmün hastalığının olduğu bilinmektedir. IL-2 ve TGF- β iTreg hücrelerinin indüklenmesi için ortamda mutlak bulunmalıdır. Bu sitokinlerin her ikisi de nTreg ile iTreg hücrelerinin ve bu hücrelerce eksprese edilen FOXP3’ün idame edilmesi için gereklidir (68). IL-2, Treg hücrelerinin FOXP3 ekspresyonlarını sürdürürebilmeleri için gerekli olan TGF- β ’yi üretmesini veya aktive etmesini sağlar (68). TGF- β ’nin FOXP3+ iTreg’leri indükleyebilmesi için CTLA-4 gereklidir (69). nTreg ve iTreg hücrelerinin antijenik özgüllükleri, gelişimleri için ihtiyaç duydukları faktörler (T hücre reseptörü uyarımı ve ko-stimulasyon gereksinimleri gibi) ve immün baskılayıcı aktiviteleri açısından önemli farklılıkları vardır (Tablo 2.12.). Bu farklar adaptif immün cevapta iki hücre grubunun ayrı fonksiyonları yürütmekte olduğu olasılığını kuvvetlendirmektedir (68). nTreg hücreleri asıl olarak timusta eksprese edilen öz antijenlere cevap olarak gelişirler. iTreg hücreleri ise esas olarak periferik lenfoid organlarda dendritik hücreler (DH) tarafından sunulan periferik antijenlere cevap olarak gelişirler (68). nTreg hücreleri oluşumları için güçlü T hücre reseptörü (THR) uyarımının yanı sıra timusta CD28 eş-uyarımına (ko-stimulasyonuna) gereksinim duyarlar (70). CD28 eksikliği olan farelerde nTreg hücrelerinin belirgin derecede azaldığı görülmüştür (71). CD4+,CD25- T hücrelerin periferde FOXP3+ CD25+ iTreg hücrelerine dönüşümleri sırasında gereksinim duyulan THR uyarımı optimal düzeyin altında daha zayıftır ve gelişen hücre topluluğu az sayıda hücre bölünmesi gerçekleştirir (72). Buna karşın iTreg hücreleri oluşumları için, antijen sunan hücreler (ASH’ler) tarafından eksprese edilen B7 molekülü aracılı eş-uyarana gereksinim gösterirler (72). Optimal düzeyin altındaki CD28 eş-uyarımı iTreg hücre oluşumunu kolaylaştırmada yeterli etki sağlarken, inhibitör CTLA-4 eş-uyarımı iTreg hücre oluşumu için mutlak bir gereksinimdir (69). CTLA-4 eksikliği olan farelerde iTreg hücre oluşumunun gerçekleşmediği gösterilmiştir (73).

IL-6, nTreg hücrelerini Th17 hücrelerine dönüştürebilirse de iTreg hücreleri bu sitokine dirençlidir. Böylece iTreg hücreleri inflamasyon alanlarında baskılayıcı fonksiyonunu yerine getirmeye devam edebilir . nTreg ile iTreg hücreleri arasındaki bu farkın iTreg hücrelerinin nTreg hücrelerine oranla belirgin derecede azalmış IL-6 reseptörü (CD126) ekspresyonu göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir

(62). IL-6 hemen tüm multinükleer hücreler tarafından üretilen bir sitokindir ve birçok otoimmün ve kronik inflamatuvar hastalığın patogeneğinde suçlanmıştır (74). Sistemik lupus eritematozus gibi otoimmün hastalıklarda DH'ler tarafından üretilen IL-6'nın Treg aktivitesini bloke ettiği bildirilmiştir (75). Tümör nekroz faktörü (TNF)-reseptörü (TNFR) süper ailesinin bir üyesi olan OX40 hem nTreg hem de iTreg hücrelerinin gelişimi ve fonksiyonu üzerinde negatif olarak düzenleme yapmaktadır (68).

Tablo 2.12. Doğal ve İndüklenmiş CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg Hücrelerin Temel Özellikleri (68).

	Doğal düzenleyici T hücreler	İndüklenmiş düzenleyici T hücreler
Temel antijenik özgüllük	Öz antijenler	Yabancı antijenler
Oluşum IL-2 ve TGF- β ile indüklenme gereksinimi CD'28 e bağımlılık CTLA-4'e bağımlılık	Yoktur Vardır Yoktur	Vardır Yoktur Vardır
İdame IL-2 ve TGF- β gereksinimi	Vardır	Vardır
Stabilite IL-6 etkisiyle IL-17 oluşturan hücrelere dönüşüm Diğer hücrelerin IL-17 oluşturmalarını engelleme	Vardır Yoktur	Yoktur Vardır
Baskılama IL-6'nın baskılayıcı aktivite üzerine blokajı	Vardır	Yoktur

Antijen sunan DH'ler nTreg'lerin ve olasılıkla iTreg'lerin ana hedefleridir (76,77). Olgunlaşmamış DH'ler immünojenik ve tolerojenik alt setlere dönüşebilme potansiyeline sahiptir. Tolerojenik DH'ler FOXP3+ CD4+ CD25+ düzenleyici T hücrelerini (iTreg) uyarırlar. Bu iTreg hücrelerinin oluşturduğu TGF- β ve IL-10 başka olgunlaşmamış DH'leri tolerojenik olmak üzere indükler. DH'lerin ürettiği retinoik asitin TGF- β tarafından CD4+ CD25- hücrelerin indüklenmesini sağladığı da gösterilmiştir (62). Böylelikle Treg hücreleri DH'lerin immünojenik potansiyellerini azaltmaktadır (77,78).

Tolerojenik DH'ler ise konvansiyonel CD4+CD25- hücrelerini FOXP3+ antijene spesifik Treg hücresi haline gelmek üzere indükler ve pozitif geri besleme döngüsünü tamamlar. Bu sürekli geri besleme döngüsü otoimmüniteyi önler (68). Mikrobiyal enfeksiyonlar gibi çevresel tetikleyicilerin varlığında ise patojenin ortadan kalkmasına kadar DH dengesi tolerojenikten immünojenik yöne kayar. Enfeksiyonun adjuvan benzeri etkisi sonucu potansiyel öz antijenlere reaktif patojenik efektör T hücrelerinin (Teff) aktifleşmesine izin verilir. Enfeksiyon ortadan kalktığında ve TGF- β ile IL-2 yeniden üretildiğinde homeostatik dengenin bu öz-antijenlere reaktif patojenik Teff hücrelerinin aktivitelerinin sonlandırılması için tolerojenik yöne geri dönmesi gerekmektedir. Ancak genetik yatkınlığı olan bireylerde ve çevresel tetikleyiciler bulunduğu immünolojik döngü hem immünojenik DH'leri hem de zararlı öz-antijenlere reaktif Teff hücrelerin dominansını devam ettirir. Bu patolojik kısır döngü ve kronik otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasından kontrolsüz T hücresi reaktivitesi sorumludur. Tolerojenik DH'ler mevcut nTreg hücreleri ve iTreg hücrelerinin genişlemesine de yol açabilir. Buna karşın Teff hücre-DH etkileşimleri, daha fazla Teff hücresi indükleyebilen immünojenik DH'lerin oluşmasını sağlar. Kararlı durumda tolerojenik döngü baskındır ama mikrobik enfeksiyonlarda veya otoimmün hastalıklarda immünojenik olgun DH'ler ve proinflamatuvar Teff hücreler bu koruyucu döngüye baskın çıkar (68). FOXP3 sadece Treg fenotipini yansıtan bir belirteç olmakla kalmaz, birçok genin ekspresyonunun belirleyicisidir ve FOXP3 mutasyonları ciddi otoimmün hastalıklara neden olabilir (79,80). FOXP3 mutasyonunun önce kepekli ("scurfy") mutant farede X'e bağlı resesif otoinflamatuvar hastalığa daha sonra da insanda "İmmün disregülasyon-poliendokrinopati-enteropati-X'e bağlı sendrom" kısaca IPEX olarak isimlendirilen fatal otoimmün/inflamatuvar bir hastalığa neden olduğu ortaya konmuştur. IPEX sendromunun; çoklu endokrin organ otoimmün hastalığı (tip I Diyabetes mellitus, tirodit vb.), inflamatuvar barsak hastalığı,

şiddetli allerjik dermatit, besin alerjisi ve fatal enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir (81).

T hücrelerinden fakir doku ortamı gibi belirli şartların varlığında FOXP3 ekspresyonu sergileyen nTreg hücrelerinin FOXP3 ekspresyonlarını kayb ettikleri gösterilmiştir. Böylelikle dokuda belli oranda FOXP3 (-) T hücreleri (Ex-Treg: FOXP3 ekspresyonunu kaybetmiş T hücreleri) ortaya çıkar. FOXP3'ün Treg hücrelerinden düşük yoğunlukta ekspresyonu Treg hücrelerinin immüno supresif aktivitesini zayıflatmakla kalmaz aynı zamanda potansiyel efektör aktivitelerin açığa çıkmasını sağlar. Ex-Treg hücreleri ortama IL-2 sunma özelliği taşır. IL-2, FOXP3 ekspresyonunun idamesinde rol oynayan bir faktör olduğundan diğer Treg hücrelerinin FOXP3 ve dolayısıyla düzenleyici fonksiyonunu korumasını da sağlar (80). FOXP3 ekspresyonunu yitirmiş ex-Treg hücreleri otoimmüneye katkı sağlıyor olabilir. Bununla birlikte fizyolojik şartlar altında FOXP3 ekspresyon kaybı ve Treg hücre fonksiyon kaybının tüm FOXP3+ Treg hücreleri içinde büyük ölçüde gerçekleştiğine dair ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

CD4+ CD25+ Treg hücrelerinin delesyonunun otoimmün hastalıkla sonuçlandığı farelerde de gözlenmiştir. Üç günlük farelerde timektomi ile Treg delesyonu sağlanmış ve Treg hücrelerinin adaptif transferi ile çoklu organ otoimmün hastalıkların engellendiği görülmüştür (82, 83).

Treg hücrelerinin nasıl fonksiyon gösterdiği henüz tam olarak anlaşılmamıştır. *In vitro* testlerle yürütülen çalışmalarda, Treg hücrelerinin patolojik T hücrelerinin (Teff) aktivasyonunu engelleyebildikleri bildirilmiştir. Bu tür testler kullanıldığında birkaç otoimmün hastalık bulunan kişilerden izole edilen Treg hücrelerinin sağlıklı bireylerden izole edilenlere kıyasla Teff hücrelerini engelleme fonksiyonunun düşük kapasiteli olduğu gösterilmiştir (84). Treg aracılı baskılamada birden çok mekanizmanın rol aldığı belirlenmesine rağmen bu mekanizmaların her birinin *in vivo* şartlarda göreceli katkısının ne olduğu belirsizliğini korumaktadır (85).

FOXP3+ Treg hücrelerinin nasıl supresyon yaptığı birkaç teori ile açıklanmıştır (80).

2.9.3.Treg Hücrelerinin İmmün Sistem Üzerindeki Düzenleyici Etkileri

1- *Antijen sunan DH ile reaktif T hücreleri arasındaki temasın inhibisyonu:* DH'leri antijen sunduğunda; ortamda Treg hücreleri bulunuyor ise bu hücreler, antijen

spesifik naif T hücrelerine göre daha baskın olarak DH'lere bağlanma gösterir. Böylelikle DH ile ancak uzun süreli bağlanma gerçekleştirdiğinde bellek fonksiyonu gösterebilen reaktif T hücrelerinin immün fonksiyonu engellenmiş olur (81, 83).

2- *CTLA-4 bağımlı mekanizma*: CTLA-4 bir T hücre yüzey molekülüdür ve hücrenin apoptozundan sorumludur. T hücre aktivasyonunu negatif olarak düzenler ve CTLA-4 mutasyonları T hücre aracılı otoimmün hastalıkların gelişimine katkıda bulunur (86). FOXP3+ CD25+ CD4+ doğal Treg hücreleri yüksek düzeyde CTLA-4 ekspresyonu yaparlar (80). CTLA-4'ün monoklonal antikorlarca bloke edilmesi sağlıklı farelerde organ spesifik otoimmün hastalıklar ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (87, 88). Hepsinden önemlisi Treg hücrelerinde CTLA-4 ekspresyonundan yoksun olan farelerin bir çeşit otoimmün hastalık kabul edilebilecek lenfoproliferasyon gösterdikleri ve FOXP3'den yoksun farede olduğu gibi aşırı immünoglobulin (Ig) E üretimi bildirilmiştir (89). Bu verilerin ışığı altında CTLA-4 aracılı supresyonun antijen sunucu hücre (ASH) fonksiyonları üzerinde baskılayıcı, düzenleyici etkisinin olduğu düşünülmekte ve bu supresyonun temel mekanizma olabileceği savunulmaktadır (80).

3- *IL-2 bağımlı mekanizma*: Treg hücreleri çoğalması ve yaşaması için ekzojen IL-2'ye yüksek derecede bağımlıdır. IL-2 veya IL-2 reseptörünün eksikliği Treg sayısında azalmaya ve FOXP3 eksikliğinde görülene benzer şekilde ciddi sistemik lenfoproliferasyon ve otoimmüniteye neden olmaktadır (81).

4- *Ekstrasellüler ATP yıkımı*: ATP, hasarlı veya aktive hücrelerden salınabilir ve immün reaksiyonları artırır. Treg hücrelerinin, ekstrasellüler ATP'nin lokal konsantrasyonlarını azaltan ekstrasellüler enzimleri ürettiği üzerinde durulmaktadır (81, 78).

5- *Sitokinler*: TGF- β , IL-10, IL-35 ve galektin-1 gibi immünsüpresif sitokinler Treg hücrelerinin baskılayıcı fonksiyonlarına katkı sağlar (80). Treg hücreleri, inhibitör sitokinlerin tek kaynağı olmamalarına rağmen Treg hücrelerinden salınan sitokinlerin *in vivo* Treg inhibitör fonksiyonuna çok büyük katkıları olduğu düşünülmektedir (90).

Bununla birlikte Treg kaynaklı sitokinlerin otoimmün hastalık üzerinde *in vivo* düzenleyici etkisi kesin olarak bilinmemektedir (91, 92). *In vivo* gözlemlere dayanarak; TGF- β , IL-10 ve IL-35 gibi inhibitör sitokinlerin Treg fonksiyonuna birincil derecede katkıda buldukları ortaya konmuştur (93).

6- *Sitotoksik moleküller*: Granzim ve perforin aracılı mekanizma ile ASH ve bunlara yanıt veren T hücrelerinin apoptotik ölümü yolu ile de Treg hücreleri

baskılayıcı fonksiyonlarını yerine getirebilirler (80). Treg hücre fonksiyonunda etkili olan tüm bu faktörlere rağmen FOXP3+ Treg hücrelerce oluşturulan supresyon mekanizmasının temel parçasını neyin oluşturduğu cevaplanmayı beklemektedir.

İnterlökin-10 (IL-10): İlk kez 1988 yılında tanımlanmış, 260 aminoasitten oluşan bir sitokindir (94). T yardımcı tip 2 (Th2) hücrelerinden salgılanarak Th1 hücrelerinin ürettiği sitokinleri inhibe eder. IL-10 Th2 hücrelerine ek olarak makrofajlar, dendritik hücreler, B lenfositler, keratinositler, mast hücreleri ve Treg hücreleri ve T yardımcı (Th) 17 hücrelerinden de salınır. IL-10, T hücrelerini ve ASH'yi hedef alarak immunoregülasyona aracılık eder (95). Düzenleyici aktivitesini önemli ölçüde ASH üzerinden gerçekleştirmektedirler (96). Makrofaj ve DH inhibisyonu yapan IL-10, proinflamatuvar sitokinleri ve ASH'den kemokin ekspresyonunu sınırlayarak doğal ve hücre aracılı immunitiyi kontrol eder (95). Ayrıca CD4+ T hücrelerinin aktivasyonunu, proliferasyonunu ve sitokin üretimini sınırlar (95).

Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β): Homodimerik yapıda, 112 aminoasitten oluşan embriyogenez, hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozis, adezyon ve invazyonda anahtar rol oynayan bir sitokindir (89). TGF- β 'nın başlıca kaynakları; Treg hücreleri dahil T hücreleri ve makrofajlardır (61). TGF- β 'nın; TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere 3 izoformu tanımlanmıştır (97). İmmün sistem hücreleri başlıca TGF- β 1 sentezler. İmmün sistemdeki temel etkisi; lenfositlerin ve diğer lökositlerin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe etmektir. TGF- β , nötrofiller ve endotel hücrelerini de etkileyerek proinflamatuvar sitokinlerin etkilerine büyük ölçüde karşı koyar. IL-2 üretimini baskılayarak CD4 hücreleri üzerinde proliferasyonu önleyici etki gösterir ve hücre siklus inhibitörlerini arttırma yönünde düzenler. Th1 ve Th2 hücrelerinin farklılaşmasını direkt olarak inhibe edebilir. Makrofajların aktivasyonunu ve onların proinflamatuvar sitokin üretme yeteneğini inhibe eder. DH'lerin maturasyonunu önler ve DH tarafından MHC sınıf II ekspresyonunu azaltarak T hücrelerine antijen sunumunu engeller (98). TGF- β 'nın T hücrelerinin *in vitro* antijen uyarımı ile FOXP3 ekspresyonu ve Treg hücre farklılaşmasını indüklediği gösterilmiştir (99).

İnterlökin-35 (IL-35): Yeni keşfedilmiş heterodimerik sitokin olup FOXP3+ hücreler tarafından üretilir ve Treg fonksiyonuna yardımcı olur (100). Yeni tanımlanan bir sitokin olduğundan IL-35 in hangi aşamalarda etkili olduğu tam olarak bilinmemektedir (90).

Treg ve Th17 hücreleri arasındaki ilişki: Naif CD4+ hücrelerin Th1, Th2, Th17 ve Treg hücrelerine dönüştükleri bilinmektedir. Th1 hücreleri IFN- γ ve tümör nekroz faktörü (TNF)- β üretirken, Th2 ler IL-4, IL-5 ve IL-13, Th17 hücreleri IL-17 ve IL-6 sentezlerler (101, 102). Yeni geliştirilen bir hipoteze göre Treg ve Th2 lerden Th17 veya Th1 e doğru gelen yanıtların çarpıklaşması neticesinde otoimmün hastalıklarının gelişimi ve ilerleyişi görülür (103). IL-17'nin romatoid artrit, sistemik lupus eritamatozus, psöriazis, multipl skleroz, sistemik skleroz, kronik inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi kronik otoimmün inflamatuvar hastalıklarda fazla üretimi söz konusudur (101, 102).

2.9.4. Treg Hücreleri ve Kanser İlişkisi

Treg hücreleri, konakçıyı kendi antijenlerine karşı reaktif hücreleri baskılayarak otoimmün hastalıklara karşı korur. Buradan yola çıkarak güncel araştırma konuları çoğunlukla otoimmün hastalıklarda Treg hücre defektlerinin karakterizasyonu ile Treg hücrelerinin bulaşıcı hastalıklar ve allojenik kemik iliği transplantasyonu sonrası toleranstaki rolü üzerinedir. Treg hücre biyolojisi üzerine çalışmalar yoğunlaşıyor olsa da, insan tümörlerinde Treg hücrelerin özellikle timustan mı ilk olarak ortaya çıktığı yoksa antijen spesifik bir stimulasyon nedeniyle periferde mi oluştuğu hala belirsizdir. Treg hücrelerinin, immun sistemin kendi hücrelerine karşı tepki vermemesi için var olan dengenin gerçekleşmesinde merkezi bir fonksiyonu olmasına rağmen bu negatif yöndeki düzenleyici aktivite ters etkili gerçekleşerek tümörlere ve viral enfeksiyonlara karşı normalde olması gereken immun cevabı baskılayabilir. Yani Treg hücreleri kanser hastalarında anti-tümör immun cevabı bozmaktadır (104, 105).

Hematopoetik Olmayan Tümörler ve Treg Hücreleri

Over, prostat, kolon ve meme kanserleri gibi birçok malignenside morfolojik olarak selim özellik gösteren komşu dokulara kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda Treg hücreleri gösterilmiştir (106-109). Ayrıca önemli miktarda kanıt solid tümörlerin inflamatuvar bölgelerindeki yüksek sayılardaki tümör infiltre eden Treg hücrelerin immünosüpresif mikroçevre ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermektedir (109, 110). Yüksek sayılarda tümör infiltre eden T reg hücrelerinin bulunması; olumsuz klinik davranışlarda bulunan meme (109,110), over (106), mide (111), hepatosellüler (112) ve kolon kanserleri (108) ile ilişkilidir. Tümör immün durumunun potansiyel olarak daha bilgilendirici bir değerlendirmesi, klinik olarak

rezeke edilmiş örnekler üzerinde Treg hücreleri/sitotoksik T hücreleri(CTC)'nin oranını bularak yapılabilir. Yüksek Treg hücreleri/CTC oranı (genel baskılanma durumu), hepatosellüler (113), over (114) ve kolon kanserlerinde (115) daha kötü prognoz ile ilişkilidir. Treg hücrelerinin genel olarak kabul gören tümör mikroçevresindeki etkileri modeline dayanarak, malign hücreler Treg hücrelerin üretimini arttırarak veya normal T hücrelerini regülatuar T hücrelerine çevirerek bölgesel Treg hücrelerinin sayısını arttırabilirler. Tümör ortamında bir kere bulunduktan sonra, Treg hücreleri immün baskılayıcı durumun korunmasına yardım ederler ve bunun karşılığında anti-tümör immün cevabı da baskırlar. Bu durum tümör hücre çoğalması, proliferasyonu ve belki yayılmasına yol açabilir (116). Buna göre konağın anti-tümör immün aktivitesini arttırabilmek amaçlı tümör içi Treg hücrelerinin yükünü azaltmaya yönelik tedavi stratejileri geliştirilebilir (117).

Lenfomada Treg Hücreleri

Hodgkin Lenfoma ve Treg Hücreleri

Klasik hodgkin lenfomada (cHL) çoklu araştırma grupları intratümöral Treg hücrelerinin sayıca fazlalığının veya görece yüksek bir Treg/CTC oranının daha olumlu bir progresyonsuz sağkalım ile uyumlu olduğunu ortaya koymuştur (118-120). Alvaro ve ark. (120) 257 yeni cHL tanısı alan hasta üzerinde çalışmış ve daha düşük FOXP3(+) hücreyle birlikte yüksek miktarda TIA-1(+) CTC'nin bağımsız bir negatif prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir. Kelley ve ark.'ın (119) 98 yeni cHL tanılı hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, düşük intratümöral FOXP3(+) hücre sayısı ile progresyonsuz sağkalım (PFS) arasında sınırda bir ilişki tespit edilmiştir. Öte yandan, FOXP3(+) hücrelerin granzim B(+) CTC'lere oranında artış gözleendiğinde daha güçlü bir ilişki bulunmuştur. Tümör mikro çevresinde düşük FOXP3/granzim B oranı (sitotoksik tümör hali) bağımsız olarak PFS ve genel sağkalım (OS) ile ilişkilendirilmiştir. İntratümöral CTC'lerin tek başına değerlendirilmesinde, kendiliğinden granzim B ifade eden artmış CD8(+) CTC'ler cHL hastalarında olumsuz yanıtla ilişkilidir (121). Tzankov ve ark. (118) 280 cHL hastası üzerinde yaptığı çalışmada yüksek miktarlarda FOXP3(+) hücrenin tümörde tespit edilmesini daha iyi PFS ve daha iyi OS ile ilişkili bulmuşlardır. Muenst ve ark. (122) yüksek miktarda granzim B (+) hücre ve düşük miktarda FOXP3(+) hücre infiltrasyonunun kötü sağkalımla ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Öte yandan Schreck ve ark. (123) 87

cHL hastası üzerinde yaptıkları çalışmada FOXP3(+) hücrelerle sonuç arasında ilişki bulamamıştır.

Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma ve Treg Hücreleri

Diffüz büyük B hücreli lenfoma gen ekspresyon profili ya da immünohistokimyasal boyanma paterni temelli bir algoritma baz alınarak germinal merkez (GC) ve germinal merkez dışı (non-GC) olarak iki alt tipe ayrılabilir (124, 125). Rituksimab ile immünmodülatör tedavi imkanından önce bu yöntemle alt tiplendirme GC-tipi DBBHL'nin daha iyi yanıtı olduğunu ortaya koymuştur. Öte yandan, artık rituksimab standart tedavi yöntemi haline geldiği için, bu alt tiplendirmedeki prognostik etki kaybolmaktadır (126). İmmün mikroçevre temelli yeni belirteçler geliştirilmiştir. Bununla birlikte DBBHL hastalarında intratümoral Treg hücrelerle ilgili çalışmalar az sayıda olsa da umut vaat etmektedir. Hasselblom ve ark.'ın (127) yaptığı Treg hücrelerinin FOXP3, CTC'lerin TIA-1 immün boyama ile sayıldığı 195 hastadan tümör örneklemeyle yapılan bir çalışma, Treg hücrelerin sayısının sağkalımla ilişkili olmadığını, daha az sayıda CTC infiltrasyonunun daha iyi yanıtla ilişkili olduğunu göstermiştir. Lee ve ark.'ın (128) yaptığı başka bir çalışma tanı esnasında tümörde yüksek miktarda Treg hücresi olan vakalarda daha iyi sağkalım olduğunu gösterirken; bir diğerinde FOXP3(+) hücreler ile hastalığa özgü sağkalım arasında GC-tipi lenfomada pozitif korelasyon, non-GC tipte negatif korelasyon gösterilmiştir (118). Saez ve ark.'ın (129) yaptığı çalışma tanı sırasında tümörde artmış Treg hücresi varlığının 50 "yüksek klinik riskli" DBBHL hastasında olumsuz yanıtla bağımsız ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalar genel olarak yüksek sayıda tümör içi Treg hücresi varlığının daha olumlu yanıtlar ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir. Artmış CTC varlığı ile ilgili veriler cHL'deki gözlemlere benzerdir.

Lenfomadaki Bulguların Özeti

Lenfomadaki kanıtların çoğu solid tümörlerdekiyle zıttır ve Treg hücrelerinin genellikle olumlu prognostik faktör olduğunu göstermektedir. Lenfoma hastalarında olumlu sonuçlarla Treg hücreleri arasındaki en çarpıcı korelasyon GC tipi B hücreli lenfomalı hastalarda görülmektedir. Bu alt küme cHL, FL ve GC tipi DBBHL'yi içermektedir. Bulgular ele alındığında, solid tümörlerde etkili olabilecek tedavilerin bu hastalıklarda uygulanabilirliğine yönelik çıkarımların dikkatli yapılması gerektiği anlaşılmaktadır. Treg hücrelerinin infiltrasyonu nasıl daha olumlu bir sonuca yol

açmaktadır? Treg hücreleri lenfoma hücrelerinde tıpkı normal ve T hücrelerinin regülasyonunda olduğu gibi doğrudan baskılayıcı etki oluşturabilmektedir. Treg hücreleri ayrıca dolaylı yoldan başka bir immün hücre alt grubunu, ihtimalle tümörün gelişim ve hayatta kalışını sağlayan dendritik hücreleri ya da tümör infiltre eden makrofajları baskılamaktadır. Alternatif olarak, Treg hücreleri henüz daha iyi sonuçla ilişkisi tanımlanmamış bir karakteristiğın yerine vekil bir belirteç olabilir. Bu konuda net bir değerlendirme yapabilmek için fonksiyonel çalışmaların da gerekli olduğu anlaşılmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul ve Proje Destek Onayı Bilgileri

Bu tez çalışması 06.05.2014 tarihinde 80558721/133 numarası ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (ESOGÜTF) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından değerlendirmeye alınarak yazılı olarak onaylanmış, 1.11.2013 tarihinde 201411002 Proje numarası ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenmesi uygun bulunmuştur. Çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak tamamlanmıştır.

3.2. Hasta Seçimi ve Hasta Grubu Materyalleri

Bu araştırma, Ekim 2013-Kasım 2014 tarihleri arasında ESOGÜTF Hematoji Bilim Dalı'nda yürütülmüştür.

Çalışmaya ESOGÜTF Hematoji Bilim Dalı polikliniğine başvurarak diffüz büyük B hücreli ve Hodgkin lenfoma tanısı alan hastalar dahil edilmiştir. Hastalar; çalışma hakkında bilgilendirildikten ve onam formu imzaladıktan sonra hasta grubuna dahil edilmişlerdir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri: (i) Erişkin yaş grubunda olmak (18 yaş üzeri), (ii) Çalışma öncesi yeni tanı almış lenfoma hastası olmak, (iii) Çalışma bilgilendirilmiş onam formunu imzalayarak çalışmaya katılmaya rıza göstermiş olmak şeklinde seçilmiştir.

Çalışma dışı bırakılma kriterleri olarak: (i) Çalışmaya katılmaya rıza göstermemiş olmak ii) Lenfoma ve/veya herhangi diğer bir malignite nedeniyle daha önceden tedavi almış olmak iii) DBBHL dışı NHL histolojik alt tipine sahip olmak alınmıştır.

Çalışmaya; yaşları 18-84 yıl arasında değişen 26 kadın, 35 erkek olmak üzere toplam 61 hasta ve yaş ve cins uyumlu 30 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Hastaların yaş, cinsiyet, tanı, histolojik tip, evre, IPI/IPS, tedavi, eşlik eden hastalık, ilaç kullanımı, appendektomi öyküsü, tonsillektomi öyküsü, sigara ve alkol kullanımı sorgulanmıştır.

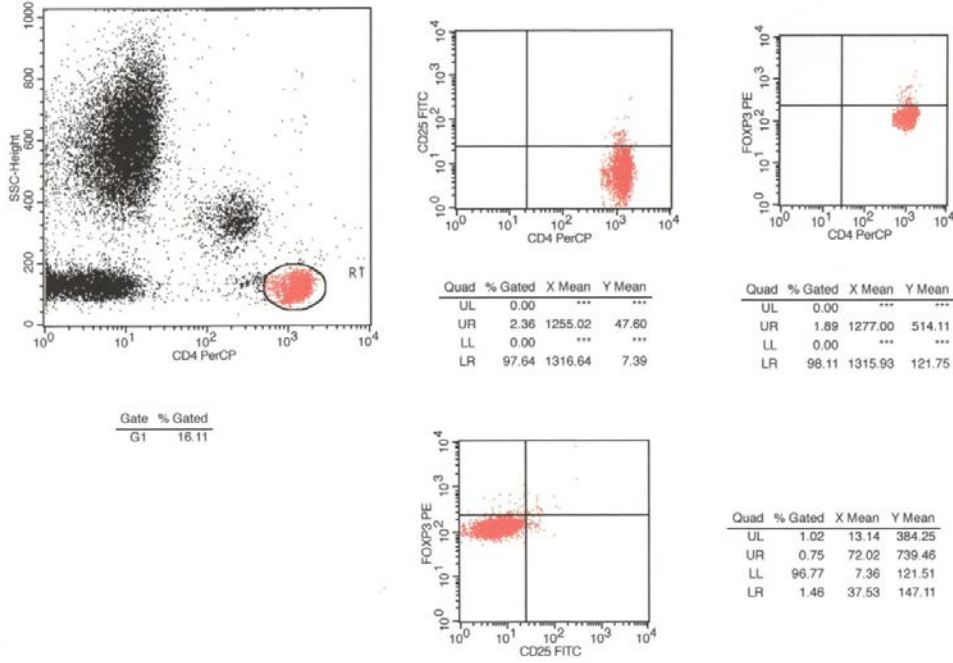
Hasta ve kontrol grubu çalışma materyali olarak periferik kan örnekleri kullanılmıştır.

Çalışma grubuna ait periferik kan örnekleri; hemogram, eritrosit sedimentasyon hızı, C-reaktif protein (CRP), Beta 2 (β 2) mikroglobulin, lenfosit alt grupları, immunglobulin (Ig) G, Ig A ve Ig M düzeylerini araştırmak üzere ESOGÜTF

Hematoji Laboratuvarında ilgili parametre ile ilgili kitler kullanılarak standart yöntemle çalışılmıştır. Düzenleyici T hücre düzeyleri hastaların remisyon durumunu değerlendirmek için yapılacak olan PET BT ile eş zamanlı tekrarlanmıştır. ESOGÜTF Biyokimya Laboratuvarında sodyum (Na), potasyum (K), klor (Cl), glukoz (Glu), kan üre azotu (Bun), kreatinin (Cr), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), bilirubin (Bil), kalsiyum (Ca), fosfor (P), albumin (Alb) düzeyleri çalışılmıştır. Hepatit markerları ESOGÜTF Mikrobiyoloji Laboratuvarında değerlendirilmiştir.

3.3. Akım Sitometri ile CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg Hücrelerin Seviyelerinin Tespiti

Treg analizi için K3EDTA'lı tüpe kan alındı. CD4PerCp, CD25FITC yüzey antijenleri kondu. Üzerine 100 µl 1×10^6 hücreye ayarlanmış kan kondu. 15-20 dk oda ısısında inkübe edildi. 2 cc eritrosit lysing solusyonu ile 10 dk oda ısısında bekletildi. 5 dk 1800 RPM de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Soğuk phosphate buffer saline (PBS) ilave edilerek yıkandı. Pellet vortekslendi ve 1ml taze hazırlanmış fiksasyon/permeabilizasyon solusyonu konup vortekslendi. 4°C'de 30-60 dk karanlıkta bekletildi. 2 ml 1X permeabilizasyon solusyonu ile 2 defa yıkandı ve süpernatant alındı. Dipteki pelletin üzerine 20 µl FOXP3-PE kondu. 4°C'de en az 30 dk karanlıkta bekletildi. 2 ml permeabilizasyon solusyonu ile 2 defa yıkayıp süpernatant atıldı. PBS ile resuspanse edilerek akım sitometri cihazında 25000-30000 hücre saydırıldı. Analizler yalnızca CD4+ helper T hücreler kapı alınarak ve kan alınmasını takip eden 24 saat içinde yapıldı (Şekil 3.1.).



3.1. Treg hücre analizi

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm veri analizleri SPSS 21.0 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n, ortanca değer ve 25'inci ve 75'inci yüzdelik değerler olarak ifade edilmiştir. Bağımsız gruplardan oluşan ve normal dağılım göstermeyen değişkenlere *Kruskal Wallis Test* uygulanmış olup, bağımlı değişkenlerden oluşan ve normal dağılım göstermeyen veri setlerine ise *Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks* testi uygulanmıştır. Normal dağılım göstermeyen değişkenler arasındaki ilişkiyi göstermek için *Spearman Correlations* testinden yararlanılmıştır. Kategorik yapıdaki veri setlerine ise *Ki-kare* testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ olasılık değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Sonuçlar

HL'li hastaların yaş ortalaması 42.76 ± 4.33 yıldır. Yirmibir hastanın 9'u (%42.9) kadın, 12'si (%57.1) erkek cinsiyetteydi . HL'li 21 hastadan 6'sı (%28.6) nodüler sklerozan, 2'si (%9.5) mikst sellüler, 1'i (%4.8) lenfositten zengin, 1'i (%4.8) lenfositten fakir, 5'i (%23.8) nodüler lenfosit predominant histolojik tipine sahipti. Altı (%28.6) hastanın patoloji raporu yalnızca klasik HL olarak rapor edilmişti.

İki (%9.5) hasta evre 1, 7 (%33.3) hasta evre 2, 6 (%28.6) hasta evre 3 ve 6 (%28.6) hasta evre 4'tü. Hastaların yalnızca 9'unda (%42.9) ektranodal tutulum mevcuttu. Dalak tutulumu 4 (%19) hastada saptandı. On bir (%52.4) hasta B tipi semptom tarifledi.

Tüm hastalara birinci basamak tedavi olarak ABVD protokolü (Doksorubisin 25mg/m²/gün/iv 1 ve 15. gün, Bleomisin 10mg/m²/gün/iv (max. 15 mg/gün) 1 ve 15. gün, Vinblastin 6mg/m²/gün/iv 1 ve 15.gün, Dakarbazin 375 mg/m²/gün/iv 1 ve 15. gün) uygulandı. Erken evre olan 3 (%14.3) hastaya 3 kür ABVD sonrası RT de verildi.

Yalnızca 4 hastada ek hastalık mevcuttu. Ek hastalıklar 3 hastada diabetes mellitus (DM), 1 hastada hipertansiyon (HT) + DM idi. Üç (%14.3) hastada appendektomi öyküsü mevcuttu. Hastaların 7'si (%33.3) sigara kullanıyordu. Hastaların hiçbiri alkol kullanımı tariflemeydi. HBV, HCV ve HIV'e yönelik tetkiklerde pozitiflik saptanan hasta yoktu.

Verilen 2-3 kür ABVD sonrası ara dönemde yanıt değerlendirme amaçlı çekilen PET BT'de 11 (%68.8) hastada tam, 3 (%18.8) hastada kısmi remisyon gözlemlendi. İki hasta takip dışı kaldığından ve iki hasta ex olduğundan ara değerlendirme yapılamadı. Tedavi sonrası yapılan değerlendirmede ise 15 (%88.2) hastada tam, 1 (%5.9) hastada kısmi remisyon mevcuttu. Bir (%5.9) hastada progresyon saptandı.

Hastaların hematolojik laboratuvar parametreleri Tablo 4.1.'de özetlendi.

Tablo 4.1. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Hematolojik Laboratuvar Parametreleri

	Mean± S.D	Median (Q1-Q3)
Hemoglobin (gr/dl)	11.3 ± 1.85	
Ortalama eritrosit hacmi (fl)	78.3 ± 7.3	
Lökosit (× 10 ³ / µl)		7.8 (6-11)
Absolu nötrofil sayısı (× 10 ³ / µl)		5.4 (4.5-8.2)
Absolu lenfosit sayısı (× 10 ³ / µl)	1.29 ± 0.59	
Absolu monosit sayısı (× 10 ³ / µl)		0.5 (0.4-0.7)
Absolu eozinofil sayısı (× 10 ³ / µl)		0.1 (0-0.2)
Trombosit (× 10 ³ / µl)		287 (221-391)
Eritrosit sedimentasyon hızı (mm/h)		34 (17-78)
C-reaktif protein (mg/dl)		3.9 (0.47-9.15)
β2 mikroglobulin (mg/dl)		0,29 (0.15-0.4)
Immunglobulin G (mg/dl)	1273 ± 354.3	
Immunglobulin A (mg/dl)	215.75 ± 120.78	
Immunglobulin M (mg/dl)		72.7 (42.75-154.5)

Hastaların tedavi öncesi, ara değerlendirme ve tedavi sonrası dönemlerde çalışılan lenfosit alt grupları Tablo 4.2.'de verildi.

Tablo 4.2. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Lenfosit Alt Grupları

	Tedavi öncesi (%) (Q1-Q3)	Ara değerlendirme (%) (Q1-Q3)	Tedavi sonrası (%) (Q1-Q3)	p	Çoklu karşılaştırmalar p < 0,05
CD19 +	4.95 (1.7-7.2)	2.7 (1.7-48)	5.25 (3.3-6)	p=0.168	ns
CD3 + CD8 +	31 (24-38.7)	29.4 (21.1-32.8)	31.1 (23.6-34.7)	p=0.257	ns
CD3+ CD4 +	41.55 (29.5-53)	39.7 (33-55.7)	44.1 (25.2-53.9)	p=0.31	ns
CD16 + CD56 +	11.05 (7.3-14.3)	14.55 (10.6-17.5)	12.4 (9.5-19.4)	p=0.223	ns
T helper / T supressör	1.5 (0.7-2.2)	1.25 (0.8-2.5)	1.2 (0.7-1.7)	p=0.154	ns

Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks

Hastalara ait biyokimyasal test sonuçları Tablo 4.3.'te gösterildi.

Tablo 4.3. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Biyokimyasal Test Sonuçları

	Mean ± S.D	Median (Q1-Q3)
Sodyum (mEq/L)		141 (138-142)
Potasyum (mEq/L)	4.61 ± 0.47	
Klor (mEq/L)		102 (97.5-103)
Glukoz (mg/dl)		92 (78.75-101)
Kan üre azotu (mg/dl)		12 (9.55-16)
Kreatinin (mg/dl)		0.7 (0.58-0.8)
Aspartat amino transferaz (U/L)		21 (17-32.75)
Alanin amino transferaz (U/L)		22 (14-44.5)
Alkale fosfataz (U/L)		242 (192.25–430.75)
Gama glutamil transpeptidaz (U/L)		31.6 (18.27-79.25)
Laktat dehidrogenaz (U/L)		415 (366.25-636.75)
Total bilirubin (mg/dl)		0.4 (0.3-0.5)
Direkt bilirubin (mg/dl)		0.13 (0.1-0.17)
Kalsiyum (mg/dl)	9.16 ± 0.54	
Fosfor (mg/dl)	3.53 ± 0.67	
Total protein (g/dl)	6.96 ± 0.68	
Albumin (g/dl)	3.77 ± 0.73	

Hastalara ait tedavi öncesi, ara değerlendirme dönemi ve tedavi sonrası düzenleyici T hücre düzeyleri Tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.4. Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Düzenleyici T Hücre Düzeyleri

	Tedavi öncesi (%) (Q1-Q3)	Ara değerlendirme (%) (Q1-Q3)	Tedavi sonrası (%) (Q1-Q3)	p	Çoklu karşılaştırmalar p<0,05
CD4+ CD25 +	1.84 (0.49-2.33)	1.34 (1.01-2.16)	2 (1.11-2.85)	p= 0.047	Tedavi öncesi- Tedavi sonrası
CD4+ FOXP3 +	5.66 (1.23-11.03)	3.24 (2.63-5.24)	4.41 (3.5-6.69)	p=0.829	ns
CD4+ CD25+ FOXP3 +	3,72 (1.88-5.38)	3.08 (2.58-4.63)	4.49 (2.69-5.79)	p=0.09	ns

Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks

HL'li hastalar için kötü prognostik etkisi olduğu bildirilen parametrelerden yaş, evre, cinsiyet, IPS, β 2 mikroglobulin, ESR, CRP, Hb, ALS, LDH, ektranodal tutulum varlığı, dalak tutulumu, B tipi semptomların varlığı ve sigara kullanımı ile tedavi öncesi T hücre düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde:

- IPS ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.492$, $p= 0.024$, $n=21$)
- CRP ile CD4+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.527$, $p=0.014$, $n=21$)
- CRP ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.449$, $p=0.041$, $n=21$)
- CRP ile CD4+ CD25+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.449$, $p=0.041$, $n=21$)
- ALS ile CD4+ FOXP3+ hücreler arasında negatif korelasyon ($r= -0.448$, $p= 0.042$, $n=21$)
- ALS ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında negatif korelasyon ($r= -0.615$ $p= 0.003$, $n=21$)

- ALS ile CD4+ CD25+ hücreler arasında negatif korelasyon (r= -0.464, p=0.034, n=21)
- LDH ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler ile pozitif korelasyon (r=0.436, p=0.048, n=21)
- Albumin ile yalnızca CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında negatif korelasyon (r= -0.456, p= 0.038, n =21)
- Hastaların sağkalım değerlendirilmesinde yalnızca CD4+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon (r=0.494 p=0.032 n=19) saptandı.

Cinsiyete göre yapılan değerlendirmede HL'li erkek hastalarda CD4+ CD25+ FOXP3+ hücrelerin kadınlara göre daha yüksek olduğu saptandı (p=0.035).

Ekstranodal tutulumu olan HL hastalarında düzenleyici T hücre düzeyleri açısından fark gözlenmezken CD19 lenfositler ekstranodal tutulum olan hastalarda daha düşük bulundu (p<0.001).

Dalak tutulumu olan hastalarda CD19+ lenfositler daha yüksekti (p<0.001, n=4). B tipi semptom tarifleyen hastalarda düzenleyici T hücre düzeyleri semptomu olmayanlara göre daha yüksekti. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Sigara içen hastalarda CD4+ CD25+ FOXP3+ hücre düzeyleri daha yüksek saptandı (p=0.044). Kadın ve erkek hastalar arasında sigara içimi açısından fark yoktu (p=0.159).

Düzenleyici T hücre düzeylerinin ara değerlendirme ve tedavi sonrası değerlerinin remisyon durumu ile ilişkisi hasta sayısı yetersizliğinden dolayı değerlendirilemedi.

4.2. Non Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Sonuçlar

NHL'li hastaların yaş ortalaması 54.7±17.68 yılıdır. Kırk hastanın 17'si (%42.5) kadın, 23'ü (%57.5) erkek cinsiyetteydi. NHL'li tüm hastalar DBBHL histolojik alt tipine sahipti.

Beş (%12.5) hasta evre 1, 11 (%27.5) hasta evre 2, 9 (%22.5) hasta evre 3, 15 (%37.5) hasta evre 4'tü. Hastaların 21'inde (%52.5) ekstranodal tutulum vardı. Dalak tutulumu 7 (%17.5) hastada saptandı. On yedi (%42.5) hasta B tipi semptom tarifledi.

Hastaların 34'ü (%85) R-CHOP (Rituksimab 375 mg/m²/gün/iv 0. gün, Siklofosfamid 750 mg/m²/gün/iv 1. gün, Doksorubisin 50mg/m²/gün/iv 1. Gün, Vinkristin 1.4 mg/m²/gün/iv (max 2 mg/gün/iv) 1. gün, Metil prednizolon 100 mg/gün/iv

1-5. gün), 6'sı (%15) R-COP (Ritüksimab 375 mg/m²/gün/iv 0.gün, Siklofosamid 400 mg/m²/gün/iv 1-5. gün, Vinkristin 1.4 mg/m²/gün/iv (max 2 mg/gün/iv) 1. gün, Metil prednizolon 100 mg/gün/iv 1-5. gün) kemoterapisi aldı. Erken evre 2 (%5) hastaya 3 kür R-CHOP sonrası radyoterapi de verildi.

On üç (%32.5) hastada ek hastalık mevcuttu. Ek hastalıklar 2 (%5) hastada DM, 1 (%2.5) hastada hipotiroidi, 4 (%10) hastada HT idi. Hastaların 2'sinde (%5) DM+ HT, 2'sinde (%5) HT+hipotiroidi, 1'inde (%2.5) DM + HT + hipotiroidi, 1'inde (%2.5) koroner arter hastalığı (KAH) + hipotiroidi mevcuttu. İki (%5) hastada appendektomi, 3 (%7.5) hastada tonsillektomi öyküsü mevcuttu. Hastaların 15'i (%37.5) sigara, 7'si (%17.5) alkol kullanıyordu. Üç (%7.5) hastada HBV, 2 (%5) hastada HCV pozitifliği vardı. HIV' e yönelik yapılan incelemede pozitiflik saptanmadı.

Verilen 2-3 kür R-CHOP ya da R-COP sonrası ara dönemde yanıt değerlendirme amaçlı çekilen PET BT'de 21 (%65.6) hastada tam remisyon, 6 (%18,8) hastada kısmi remisyon, 4 (%12.5) hastada tedavi yanıtı zıllığı gözlemlendi. Bir hasta takip dışı kaldığından ve 8 (%35.9) hasta ex olduğundan ara değerlendirme yapılamadı. Tedavi sonrası yapılan değerlendirmede ise 23 (%85.2) hastada tam remisyon, 4 (%14.8) hastada progresyon saptandı.

Hastaların hematolojik laboratuvar parametreleri Tablo 4.5.'de özetlendi.

Tablo 4.5. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Hematolojik Laboratuvar Parametreleri

	Mean± S.D	Median (Q1-Q3)
Hemoglobin (gr/dl)	11.8 ± 2.192	
Ortalama eritrosit hacmi (fl)	81.4 ± 6.32	
Lökosit (× 10 ³ / μl)		7.75 (6.5-10.55)
Absolu nötrofil sayısı (× 10 ³ / μl)		5.4 (4.2-7.9)
Absolu lenfosit sayısı (× 10 ³ / μl)	1.56 ± 0.74	
Absolu monosit sayısı (× 10 ³ / μl)		0.5 (0.4-0.8)
Absolu eozinofil sayısı (× 10 ³ / μl)		0.1 (0-0.15)
Trombosit (× 10 ³ / μl)		272 (223.5-397.5)
Eritrosit sedimentasyon hızı (mm/h)		32,5 (12.5-63.5)
C-reaktif protein (mg/dl)		1.51 (0.33-4.7)
β2 mikroglobulin (mg/dl)		0.3 (0.2-0.48)
Immunglobulin G (mg/dl)	1025.25 ± 340.43	
Immunglobulin A (mg/dl)	211.39 ± 90.45	
Immunglobulin M (mg/dl)		76.6 (48.1-142.5)

Hastaların tedavi öncesi, ara değerlendirme ve tedavi sonrası dönemlerde çalışılan lenfosit alt grupları Tablo 4.6'da verildi.

Tablo 4.6. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Lenfosit Alt Grupları

	Tedavi öncesi (%) (Q1-Q3)	Ara değerlendirme (%) (Q1-Q3)	Tedavi sonrası (%) (Q1-Q3)	p	Çoklu karşılaştırmalar p < 0,05
CD19 +	6.1 (0.58-7.28)	0 (0-0.3)	0 (0-0.38)	p<0.001	Tedavi öncesi-Ara değerlendirme, Tedavi öncesi-Tedavi sonrası
CD3 + CD8 +	26 (23.48-34.6)	34.5 (28.5-43.2)	39 (30.48-48.2)	p<0.001	Tedavi öncesi-Tedavi sonrası
CD3+ CD4 +	38 (30.65-46.65)	35.7 (25.58-47.25)	35 (21.85-41.25)	p=0.318	ns
CD16 + CD56 +	11.7 (6,63-23)	17.6 (10.43-20.23)	17.5 (11.38-21.38)	p=0.50	ns
T hepler / T supressör	1.3 (1.03-1.95)	1 (0.48-1.38)	0.7 (0.4-1.3)	p<0.001	Tedavi öncesi-Ara değerlendirme, Tedavi öncesi-Tedavi sonrası

Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks

NHL'li hastalara ait biyokimyasal test sonuçları Tablo 4.7.'de gösterildi.

Tablo 4.7. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Biyokimyasal Değerlendirme

	Mean ± S.D	Median (Q1-Q3)
Sodyum (mEq/L)		140 (137-142)
Potasyum(mEq/L)	4.64 ± 0.52	
Klor (mEq/L)		102 (99-103.5)
Glukoz (mg/dl)		92 (79.5-110.5)
Kan üre azotu (mg/dl)		15 (12-19)
Kreatinin (mg/dl)		0.8 (0.67-0.96)
Aspartat amino transferaz (U/L)		24 (18.5-38)
Alanin amino transferaz (U/L)		18 (12.5-29)
Alkale fosfataz (U/L)		215 (169.5-268)
Gama glutamil transpeptidaz (U/L)		26.5 (15.9-80)
Laktat dehidrogenaz (U/L)		645 (424-1033.5)
Total bilirubin (mg/dl)		0.4 (0.3-0.8)
Direkt bilirubin (mg/dl)		0.1 (0.08-0.2)
Kalsiyum (mg/dl)	9.14 ± 0.62	
Fosfor (mg/dl)	3.49 ± 0.74	
Total protein (g/dl)	6.5 ± 0.89	
Albumin (g/dl)	3.69 ± 0.75	

NHL'li hastalara ait tedavi öncesi, ara değerlendirme dönemi ve tedavi sonrası düzenleyici T hücre düzeyleri Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalara Ait Düzenleyici T hücre düzeyleri

	Tedavi öncesi (%) (Q1-Q3)	Ara değerlendirme (%) (Q1-Q3)	Tedavi sonrası (%) (Q1-Q3)	P	Çoklu karşılaştırmalar P<0,05
CD4+ CD25 +	1.8 (0.92-2.52)	1.77 (0.84-2.8)	1.48 (1.04-3.04)	p=0.56	ns
CD4+ FOXP3 +	5.0 (2.6-9.23)	4.12 (3.1-6.98)	5.01 (2.62-6.87)	p=0.96	ns
CD4 + CD25 + FOXP3 +	3.67 (2.15-6.77)	4.1 (2.75-6.49)	3.83 (2.64-6.95)	p=0.73	ns

Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks

NHL'li hastalar için kötü prognostik etkisi olduğu bildirilen parametrelerden yaş, evre, IPI, β 2 mikroglobulin, ESR, CRP, Hb, ALS, LDH, ektranodal tutulum varlığı, dalak tutulumu, B tipi semptomların varlığı ve sigara kullanımı ile tedavi öncesi T hücre düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde;

- Evre ile CD4+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.661$, $p=0.001$, $n=40$)
- Evre ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.437$, $p=0.005$, $n=40$)
- Evre ile CD4+ CD25+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.446$, $p=0.04$, $n=40$)
- IPI ile CD4+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.55$ $p=0.001$ $n=40$)
- IPI ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.33$ $p=0.036$, $n=40$)
- IPI ile CD4+ CD25 + hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.325$, $p=0.04$, $n=40$)

- $\beta 2$ mikroglobulin düzeyleri ile CD4+ CD25+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.450$, $p=0.004$, $n=40$)
- CRP düzeyleri ile CD4+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.418$, $p=0.007$, $n=40$)
- CRP düzeyleri ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.318$, $p=0.046$, $n=40$)
- CRP düzeyleri ile CD4+ CD25+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.381$, $p=0.015$, $n=40$)
- ALS ile CD4+ FOXP3+ hücreler arasında negatif korelasyon ($r=-0.344$, $p=0.03$, $n=40$)
- ALS ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında negatif korelasyon ($r= -0.418$, $p=0.007$, $n=40$)
- LDH ile CD4+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.378$, $p=0.016$, $n=40$)
- LDH ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.476$, $p=0.002$, $n=40$)
- LDH ile CD4+ CD25+ hücreler arasında pozitif korelasyon ($r=0.526$, $p=0.001$, $n=40$)
- Albumin ile yalnızca CD4+ FOXP3+ hücreler arasında negatif korelasyon ($r=-0.364$, $p=0.021$, $n=40$)
- Hastaların sağkalım değerlendirilmesinde yalnızca CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında negatif korelasyon ($r=-0.35$ $p=0.029$ $n=39$) saptandı.

Cinsiyet ile B tipi semptom ve dalak tutulumu varlığı açısından yapılan değerlendirmede düzenleyici T hücre düzeyleri arasında fark saptanmadı.

Ekstranodal tutulumu olan NHL hastalarında düzenleyici T hücre düzeyleri daha düşüktü ($p<0.005$).

CD19+ lenfositler ekstranodal tutulum olan hastalarda daha düşük bulundu ($p<0.001$).

Sigara içen hastalarda CD3+ CD4+ hücre düzeyleri daha düşük saptandı ($p=0.023$).

Düzenleyici T hücre düzeylerinin ara değerlendirme ve tedavi sonrası değerlerinin remisyon durumu ile ilişkisi hasta sayısı yetersizliğinden dolayı değerlendirilemedi.

4.3. Hodgkin ve Non Hodgkin Lenfomalı Hastaların Karşılaştırma Sonuçları

HL ve NHL grupları için yapılan karşılaştırmada HL grubundaki hastalar NHL grubuna göre daha gençti ($p=0.019$). Cinsiyet, evre, ektranodal tutulum, dalak tutulumu, B tipi semptom varlığı bakımından yapılan değerlendirmede 2 grup arasında fark saptanmadı. NHL grubunda ek hastalığı olan hasta sayısı daha fazla idi ($p=0.01$). Sigara kullanımı için iki grup arasında fark gözlenmezken alkol kullanan hastalar sadece NHL grubuna yer alıyordu.

HL ve NHL grubuna ait tedavi öncesi T hücre düzeyleri ve kontrol grubuna ait T hücre düzeyleri Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Lenfomalı Hastalar ve Kontrol Grubuna Ait T Hücre Düzeyleri

	HL (%) (Q1-Q3)	NHL (%) (Q1-Q3)	Kontrol (%) (Q1-Q3)	p	Çoklu karşılaştırmalar p<0,05
CD4+ CD25 +	1.71 (0.53-2.33)	2.05 (1-3.16)	1.74 (0.98-2.60)	p=0.245	ns
CD4+ FOXP3 +	5.38 (1.23-10.19)	5.33 (3.09-10.79)	5.28 (3.42-6.61)	p=0.42	ns
CD4 + CD25 + FOXP3 +	3.79 (2.31-5.29)	4.61 (2.5-8.28)	3.57 (2.47-4.35)	p=0.09	ns

Kruskal Wallis Test

5.TARTIŞMA

Lenfoma lenf nodları ve/veya ektranodal lenfoid dokudan kaynaklanan malign bir tümördür. Lenfomanın immun hücre, doku ve organlardan kaynaklanması ayrıca immun yetmezlikli hastalarda lenfoma riskinin artması nedeniyle lenfomanın otoimmun durumla ilişkili olduğu düşünülmektedir (130,131). 1995 yılında Japon bilim adamlarının CD4+ CD25+ T hücreleri immunsupresyona neden olduğunu göstermesinin ardından düzenleyici T hücrelerin otoimmun hastalıklar, tümörler, transplantasyon ve gebelikteki rolleriyle ilgili çalışmalar artmıştır (132).

Lenfomanın hem bölgesel hem sistemik Treg üretimini artırdığı gösterilmiştir (133). Ancak Treg ve lenfoma arasındaki ilişki tartışmalıdır. Çalışmamızda periferik kanda bulunan CD4+ CD25+ FOXP3+ düzenleyici T hücrelerin DBBHL ve HL'li hastalarda klinik özelliklerle ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık. Aynı zamanda düzenleyici T hücrelerin sağlıklı kontrollerden farklı olup olmadığını, tedavinin Treg hücre düzeylerine etkisini ve Treg hücrelerin prognoz üzerine etkisini araştırdık.

Yaptığımız literatür incelemesi sonucu HL'de Treg düzeyleri ile hastalara ait klinik özelliklerin ilişkisini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Bizim çalışmamızda Treg düzeyleri ile ilişkisini araştırdığımız faktörler yaş, evre, cinsiyet, IPS, β 2 mikroglobulin, ESR, CRP, Hb, ALS, LDH, ektranodal tutulum varlığı, dalak tutulumu varlığı, eşlik eden B tipi semptomların varlığı, sigara ve alkol kullanımı idi. Bu faktörlerden IPS, CRP, ve LDH HL'li hastalardaki Treg düzeyleri ile pozitif ilişkili bulundu. Albumin ve ALS ise Treg düzeyleri ile negatif ilişkili idi. Cinsiyete göre yapılan değerlendirmede Treg hücreler erkeklerde daha yüksekti. Evre, ektranodal tutulum ve dalak tutulumu Treg düzeyleri ile ilişkili bulunmadı. B tipi semptom varlığı daha yüksek Treg düzeyleri ile ilişkili idi ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kadın ve erkek hastalar arasında sigara içimi açısından fark olmadığı halde Treg düzeyleri sigara içen hastalarda daha yüksekti. HL grubunda alkol kullanan hasta olmadığı için değerlendirme yapılamadı. Sonuç olarak Treg düzeyleri HL'de kötü prognostik olduğu belirtilen faktörlerle ilişkili idi. Bu bulgular bize HL'li hastalarda tanı döneminde bakılan artmış periferik kan Treg düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olabileceğini düşündürdü.

NHL'de Treg düzeyleri ile klinik özellikleri araştıran çalışmaları incelediğimizde Lin ve ark.'larının (134) 99 NHL'li hastayı inceledikleri bir çalışma mevcut olduğunu gördük. Bu çalışmada hastaların histolojik alt tipleri 50 hastada DBBHL, 35 hastada T hücreli lenfoma, 13 hastada B hücreli lenfoma idi. Bir hastanın hücre tipi bilinmiyordu.

Araştırmacılar Treg düzeylerini bizim çalışmamızda olduğu gibi akım sitometri ile periferik kandan değerlendirmiş olmakla birlikte Treg hücreleri bizim çalışmamızdan farklı olarak CD4+ CD25high CD127low olarak tanımlamışlardı. Bu çalışmada erkek cinsiyet, sigara ve/veya alkol kullanımı daha yüksek periferik kan Treg düzeyleri ile ilişkili iken yaş, evre, IPI, B semptom varlığı, bulky hastalık, LDH düzeyi, patolojik alt tip, kısa dönem yanıt ve HBV enfeksiyonu ile ilişki saptanmamıştı. Bizim çalışmamızda NHL'li hastalarda Treg düzeyleri ile ilişkisini araştırdığımız faktörler yaş, evre, cinsiyet, IPI, β 2 mikroglobulin, ESR, CRP, Hb, ALS, LDH, ektranodal tutulum varlığı, dalak tutulumu varlığı, eşlik eden B tipi semptomların varlığı, sigara ve alkol kullanımı idi. Bu faktörlerden evre, IPI, CRP, ve LDH NHL'li hastalardaki Treg düzeyleri ile pozitif ilişkili bulundu. Albumin ve ALS ise Treg düzeyleri ile negatif ilişkili idi. Cinsiyet, B tipi semptom, sigara içimi ve dalak tutulumu açısından yapılan değerlendirmede düzenleyici T hücre düzeyleri arasında fark saptanmadı. Ekstranodal tutulumu olan hastaların ise Treg düzeyleri daha düşüktü. Bunun iki çalışmada Treg düzeylerini saptamak için kullanılan örneğin (heparinli tam kan vs EDTA'lı örnek), yüzey belirteçlerinin ve hasta sayılarının farklı olmasına bağlı olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca bizim çalışmamızda tüm NHL grubu DBBHL hastalarından oluşmakta iken Lin ve ark.'ın (134) çalışması B ve T hücreli NHL olgularını içeren karma bir gruptu. Bununla birlikte araştırmacılar DBBHL'li 50 hastayı ayırarak yaptıkları analizde de tüm grup için olan ilişkiler ile benzer sonuçlar bulduğundan bu farkın sadece histolojik alt tip ile açıklanamayacağı düşünülebilir. Sonuç olarak Treg düzeyleri tıpkı HL hastalarında olduğu gibi NHL hastalarında da kötü prognostik olduğu belirtilen faktörlerle ilişkili idi. Bu bulgular bize NHL'li hastalarda da tanı döneminde bakılan artmış periferik kan Treg düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olabileceğini düşündürdü.

Treg düzeyleri ile lenfoma arasındaki ilişki henüz netleşmemiş olup bu sonuçta Treg düzeylerinin saptanması için kullanılan metodun standardize olmaması da rol oynayabilir. Daha önce yapılan çalışmaların çoğu Treg'i tanımlamak için CD4 ve CD25'i kullanmıştır. Fakat CD25 fonksiyonel T hücreler tarafından da ifade edilir (132). Ayrıca CD25 in düşük ya da yüksek ifadesine ilişkin standart tanımlar henüz mevcut değildir. Bu nedenle Treg düzeyini belirlemek için CD4 ve CD25 ile işaretlemenin doğruluğu yeterli değildir. Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda hücre yüzeyinde CD127 ifadesinin FOXP3 ile negatif ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (135) ve FOXP3 Treg için en güvenilir ve spesifik belirteç olarak kabul edilmiştir (136, 137). Bu

nedenle çalışmamızda düzenleyici T hücreleri belirlemek için CD4+ CD25+' liği, CD4+ FOXP3+'liği ve CD4+ CD25+ FOXP3+'liği ayrı ayrı değerlendirildi. Ancak gerçek düzenleyici hücreler CD4+ CD25+ FOXP3+ olarak seçildi.

HL grubu için baktığımızda CD4+ CD25+ ve CD4+ FOXP3 + hücreler ile korelasyon gösteren farklı bir parametre mevcut değildi ve CD4+ CD25+ FOXP3+ hücrelere göre daha az parametre ile korelasyon saptandı. NHL grubu için ise β 2 mikroglobulin düzeyleri ile CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler arasında ilişki saptanmazken CD4+ CD25+ hücreler pozitif ilişkili bulundu. Farklılık gösteren bir diğer parametre albumin idi. CD4+ CD25+ FOXP3+ hücrelerle ilişkisi saptanmayan albuminin CD4+ FOXP3+ hücreler ile negatif ilişkisi mevcuttu. Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde Treg hücrelerin CD4+ CD25+ FOXP3+'liği ile birlikte değerlendirilmesinin daha uygun olduğu kanaatindeyiz.

Yaptığımız literatür incelemesinde HL'de periferik kan Treg düzeylerini değerlendiren 1 adet çalışmaya rastladık. Marshall ve ark. (138) bu çalışmada 24 HL'li hastanın periferik kan ve lenf nodu örneklerinde CD4+ CD25+ Treg düzeylerini değerlendirmişlerdi. HL'li hastaların 18'i nodüler sklerozan, 4'ü mikst sellüler, 1'i lenfositten zengin histolojik tipteydi. 1 hastadaki tip mikst sellüler ve nodüler sklerozan özellikler göstermekle birlikte tam sınıflandırılmamıştı. Bu çalışmada CD4+ CD25+ Treg düzeyleri HL'li hastaların periferik kanında $13,5 \pm 4,2$ iken sağlıklı donör periferik kanında $12,5 \pm 3,9$ idi ($p=0,71$). Bizim çalışmamızda henüz tedavi almamış yeni tanı HL hastalarında periferik kan CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg düzeyleri sağlıklı kontrollerden farklı bulunmadı ($p>0,05$). Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmasa da HL grubundaki miktar sağlıklı kontrollerden yüksekti ($3,79$ vs $3,57$). Her ne kadar sonucumuz mevcut çalışma ile benzer görünse de Treg düzeylerini tanımlamak için kullanılan belirteçler farklılık göstermekteydi.

NHL'de periferik kan Treg düzeylerini değerlendiren 4 çalışma mevcuttu. Lin ve ark'ın (134) Treg hücreleri heparinle antikoagüle edilmiş periferik tam kanda CD4+ CD25high CD127low olarak tanımladıkları çalışmada periferik kan Treg düzeyi henüz tedavi almamış yeni tanı NHL'li hastalarda sağlıklı kontrollerden daha yüksekti ($11,20 \pm 4,4$ vs. $8,07 \pm 1,9$) ($p< 0,001$). Bizim çalışmamızda NHL grubunda periferik kan CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg hücre düzeyleri sağlıklı kontrollerden farklı bulunmadı ($p>0,05$). Ancak HL grubunda olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı olmasada NHL grubundaki miktar sağlıklı kontrollerden yüksekti ($4,61$ vs $3,57$). Çalışmamızda saptanan periferik kan Treg hücre düzeyleri Lin ve ark.'ın (134)

çalışmasına kıyasla daha düşüktü. Bunun iki çalışmada Treg düzeylerini saptamak için kullanılan örneğin (heparinli tam kan vs EDTA'lı örnek), yüzey belirteçlerinin ve hasta sayılarının farklı olmasına bağlı olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca bizim çalışmamızda tüm NHL grubu DBBHL hastalarından oluşmakta iken Lin ve ark.'ın (134) çalışması B ve T hücreli NHL olgularını içeren karma bir gruptu.

Mittal ve ark. (133) yaptıkları çalışmada ise 30 yeni tanı B hücreli NHL'li hasta ile 13 sağlıklı kontrolden elde edilen lenf nodu, dalak, ve/veya periferik kan örneklerinde CD4+ CD25+ FOXP3+ CD127low düzenleyici T hücreler hem periferik kan (%20.4 vs %3.2, $p < 0.001$) hem de dokuda (%38.8 vs %11.6, $p = 0.02$) sağlıklı kontrollerden daha yüksek bulunmuştu. Histolojik tanı olarak oldukça heterojen olan bu çalışmada de novo ya da tranforme DBBHL, marjinal zon lenfoma, folliküler lenfoma, mantle hücreli lenfoma, küçük hücreli lenfositik lenfoma, KML nedeniyle yapılan akraba dışı nakil sonrası gelişen lenfoproliferatif hastalık yanı sıra daha önce tedavi alan hastalar da mevcuttu. Dolayısıyla bizim çalışmamıza göre oldukça heterojen bir hasta grubu idi. Ayrıca Treg hücreleri tanımlamak için kullanılan yüzey belirteçleri de farklıydı. Çalışmamıza göre Treg düzeyleri açısından saptanan farklı sonuçların iki çalışma arasındaki bu farklar nedeniyle olabileceği düşünüldü.

Aynı çalışmayı klinik özelliklerle olan ilişki açısından değerlendirdiğimizde Mittal ve ark.'ın (133) da periferik kan yüksek Treg düzeyleri ile tümör yükü, evresi ve LDH düzeyleri arasında pozitif ilişki saptadığını gördük. Biz çalışmamızda tümör yükü ile ilişki açısından bir değerlendirme yapmamış olmakla birlikte evre ve LDH ile mevcut çalışmaya benzer pozitif bir ilişki saptadık. Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde LDH ve evre ile ilişkinin histolojik alt tipten, örneğin doku ya da periferik kan olmasından ya da kullanılan yüzey belirteçlerinden önemli ölçüde etkilenemeyeceği sonucuna varıldı.

Han ve ark. (139) B hücreli NHL tanısı alan 32 yeni hasta ile 18 sağlıklı kontrolü kıyasladıkları çalışmada hem lenfatik dokulardan hem periferik kandan hem de kemik iliğinden Treg düzeylerini incelediler. Çalışmada Treg düzeylerini tutulan lenfatik dokularda periferik kan ve kemik iliğindeki daha yüksek buldular. Ayrıca tüm örneklerde Treg düzeyleri sağlıklı kontrollerden yüksekti. Bu oran periferik kan örnekleri için hastalarda 17.9 ± 7.3 , sağlıklı kontroller için 5.3 ± 1.5 idi. Bu çalışmada değerlendirilen B hücreli NHL'den 19'u DBBHL, 6'sı mantle hücreli, 3'ü marjinal zon, 3'ü küçük lenfositik, 1'i folliküler tipteydi. Treg hücreler CD4+ CD25+ FOXP3+ CD127low olarak tanımlanmıştı. Araştırmacılar yaptıkları in vitro

değerlendirmeleri de göz önünde bulundurarak bu artışın CD4+ CD25- T hücrelerin malign hücreler tarafından düzenleyici T hücrelere dönüşümünün indüklenmesi ile olduğu sonucuna varmışlardı. Mevcut bulgularla çalışmamızın sonuçları NHL'li hastalarda periferik kanda Treg düzeylerini değerlendiren diğer çalışmalardan farklı bulunmuştur. Diğer tüm çalışmalarda periferik kan Treg düzeyleri sağlıklı kontrollerden yüksekken bizim çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir yükseklik mevcut değildir. Ancak yine de literatür ile uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı olmasada bir yükseklik mevcuttur. Hasta sayısının artması ve/veya NHL grubuna farklı histolojik alt tipte NHL hastalarının dahil edilmesinin sonuçları değiştirebileceği düşüncesindeyiz.

Bu üç çalışma ile birlikte kendi çalışmamızı değerlendirdiğimizde dikkatimizi çeken bulgulardan bir tanesi de sağlıklı kontrollerde bakılan Treg düzeylerinin bizim kontrol grubumuzda diğer çalışmalardan daha düşük olmasıydı. Bu fark Treg düzeylerini çalışma yöntemi yanısıra yaş, cins ve etnik köken ile ilişkili olabilir.

Çalışmamızda lenfomalı hastalarda uygulanan tedavilerin Treg düzeyleri üzerine etkisi de değerlendirildi. Yaptığımız literatür taramasında çalışmamıza benzer klinik bir araştırmaya rastlamadık. Bizim çalışmamızda HL grubunda ABVD ± RT alan hastalarda tedavi sonrası Treg düzeyleri, hem tedavi yanıtını değerlendirmek için çekilen ara dönem PET BT hem de tedavi tamamlandıktan sonra çekilen tedavi sonrası PET BT ile eş zamanlı değerlendirildi. CD4+ FOXP3+ ve CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler için yaptığımız değerlendirmede hem ara dönem hem de tedavi sonrası Treg düzeylerinin tedavi öncesi düzeylerden farklı olmadığını gördük. CD4+ CD25+ hücreler için yapılan değerlendirmede ise ara dönemdeki düzeyler tedavi öncesi ile aynı iken tedavi sonrasında düzeylerin bir miktar arttığı saptandı (p=0.047). Mevcut bir klinik çalışma olmadığından verilerimizi literatürle kıyaslayamadık ancak Treg hücrelerin CD4+ CD25+ FOXP3+ olarak tanımlanması daha değerli kabul edildiğinden bu sonucu anlamlı kabul etmedik.

NHL'li hastalarda da tedavinin Treg düzeylerine etkisi ile ilgili klinik çalışmaya rastlamamakla birlikte yalnızca siklofosfamidin etkisinden bahseden bir deneysel çalışma olduğunu gördük. Rico ve ark. (140) yaptıkları çalışmada 10-12 haftalık kötü differansiye B hücreli lenfomalı farelere 10 ya da 20 mg/kg siklofosfamid steril distile suda çözünerek enjekte edilmişti. Kontrol grubu salin enjekte edilen farelerden oluşmaktaydı. Sıfırdan 21. güne kadar alınan kan örneklerinde akım sitometri yöntemi ile Treg ve NKT I hücreleri yüzdesi değerlendirilmişti. Tümör büyümesi

sırasındaki periferik kan doğal ve indüklenebilir Treg hücrelerdeki artış siklofosfamid ile önemli miktarda azalırken NKT I hücrelerin tedaviden etkilenmediği görülmüştü. Araştırmacılar tek bir düşük doz siklofosfamidin antimetastatik etkisini doğal ve indüklenebilir Treg hücrelerin azalmasına bağlamıştı. Bu çalışmada da Treg hücreler CD4+ CD25+ FOXP3+ olarak tanımlanmıştı.

Bizim çalışmamızda NHL grubunda R-CHOP veya R-COP ± RT alan hastalarda tedavi sonrası Treg düzeyleri, hem tedavi yanıtını değerlendirmek için çekilen ara dönem PET BT hem de tedavi tamamlandıktan sonra çekilen tedavi sonrası PET BT ile eş zamanlı değerlendirildi. CD4+ CD25+, CD4+ FOXP3+ ve CD4+ CD25+ FOXP3+ hücreler için yaptığımız değerlendirmede hem ara dönem hem tedavi sonrası Treg düzeylerinin tedavi öncesi düzeylerden farklı olmadığını gördük. Mevcut bir klinik çalışma olmadığından verilerimizi literatürle kıyaslayamadık.

Alvaro ve ark. (120) 257 yeni tanı HL'li hastayı inceledikleri çalışmada düşük intratümöral FOXP3+ hücre sayısı ile birlikte artmış TIA1+ sitotoksik T hücre sayısının negatif prognostik faktör olduğunu buldular. Kelley ve ark. (119) 98 yeni tanı cHL'li hastada düşük intratümöral FOXP3 sayısı ile daha kötü hastalıksız sağkalım arasında sınırda bir ilişki buldular. FOXP3+ hücrelerin granzim B+ sitotoksik T hücrelere oranı değerlendirildiğinde daha güçlü bir ilişki mevcuttu. Tümör mikroçevresinde FOXP3/granzim B oranının düşük olması kötü hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım ile bağımsız olarak ilişkili idi. Tzankov ve ark. (118) 280 cHL'li hastada intratümöral FOXP3+ hücre sayısının yüksek olmasının daha iyi hastalıksız sağkalım ile bağımsız olarak ilişkili ve daha iyi genel sağkalım ile sınırda ilişkili buldular. Muenst ve ark. (122) intratümöral daha yüksek sayıda granzim B+ hücrelerle daha düşük sayıda FOXP3+ hücre varlığının daha kötü sağkalımla ilişkili olduğunu buldular. Schreck ve ark.'ın (123) çalışmasında incelenen 87 cHL'li hastada FOXP3+ hücrelerle sonuçlar arasında ilişki mevcut değildi. Koreishi ve ark. (141) relaps refrakter 63 cHL'li hastanın doku örneklerini immunohistokimyasal olarak değerlendirdikleri çalışmada düşük FOXP3 ekspresyonunu kötü prognozla ilişkili buldular.

Tüm bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde artmış intratümöral Treg hücre sayısının iyi prognozla ilişkili olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda Treg hücrelerin prognoz üzerine etkisini de değerlendirmeyi amaçladık. HL'de Treg hücrelerin prognoz üzerine etkisinden bahseden çalışmaların tümü intratümöral Treg düzeylerini araştırmış olmakla birlikte biz çalışmamızda daha

kolay elde edilen ve tekrarlanabilir bir örnek olması nedeniyle ayrıca sistemik immun yanıtın da lenfomada rol oynadığı bilindiğinden periferik kan örneklerini kullandık. Ancak periferik kan Treg düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasında farklılık göstermemesi ve tedavi yanıtlarının hastaların hemen tümünde tam remisyon şeklinde olması nedeniyle prognoz üzerine etki değerlendirmesi yapılamadı.

NHL'li hastalarda Treg düzeylerinin prognozla ilişkisini değerlendiren çalışmalar farklı histolojik alt tiplere göre değerlendirilmiştir. Folliküler lenfomalı hastalarda tümör mikroçevresinde bulunan yüksek Treg hücre sayıları iyi prognozla ilişkili bulunmuştur (118,142-144). Treg sayıları ile klinik parameterlerin ilişkisini değerlendiren folliküler lenfoma çalışmalarından Carreras ve ark. (143) çalışmasında tümörü infiltre eden Treg sayısının düşük olması hastalığın daha refrakter olmasıyla ilişkili idi. Alvaro ve ark. (145) B semptomu olmayan ve FLIPI skoru düşük olan folliküler lenfomalı hastalarda intratümöral Treg hücrelerin arttığını gösterdiler. Ayrıca bazı çalışmalarda Treg ve tümör ilişkili makrofajların yapısal paterni de prognozla yakından ilişkiliydi ve bu durum özellikle bazı tedavi protokolleri uygulandığında söz konusuydu. (143-146). Lee ve ark. (145) FOXP3+ hücrelerin interfolliküler dağılım gösterdiği folliküler lenfomalı hastaların daha uzun yaşadığını gösterdiler. de Jong ve ark.'ın (147) çalışmasında ise interfolliküler dağılım tedaviden bağımsız olarak daha iyi sonuçlarla ilişkili idi. Kelley ve ark. (146) folliküler dağılımın baskın olduğu yüksek riskli bir grup folliküler lenfoma hastasında genel sağkalımın daha kısa olduğunu buldular. Tüm bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde folliküler lenfomada intratümöral Treg hücrelerin interfolliküler paternde olmalarının iyi prognozla, folliküler paternde olmasının ise kötü prognozla ilişkili olduğu görülmektedir.

Biz çalışmamızda daha sık görülmesi nedeniyle DBBHL'li hastaları değerlendirmeye aldık. Grubun daha homojen olmasını sağlayabilmek için diğer NHL alt tiplerini çalışma dışı bıraktık. DBBHL'de gen ekspresyon analizi ya da immunhistokimyasal boyanma paternine göre yapılan germinal merkez ve non germinal merkez alt tiplemesinin rituksimablı tedavilerin standart hale gelmesinden sonra prognostik önemi tartışmalı görülmektedir (148). Bu nedenle intratümöral Treg hücrelerin prognostik öneminden daha fazla bahsedilir olmuştur. Hasselblom ve ark. (127) 195 hastaya ait tümör örneklerinde Treg hücreleri FOXP3 immunohistokimyası ve sitotoksik T hücreleri TIA-1 immün boyası ile değerlendirdiler. Bu çalışmada daha az sitotoksik T hücre varlığı daha iyi prognozla ilişkili iken Treg hücre sayısı ile sağkalım arasında ilişki saptanmadı. Lee ve ark. (128) tanıda yüksek tümör Treg

sayısını daha iyi sağkalım ile ilişkili buldular. Tzankov ve ark. (118) ise germinal merkez alt tipindeki DBBHL'de intratümöral FOXP3+ hücrelerle hastalısız sağkalım arasında pozitif ilişki bulurken germinal merkez dışı hastalarda negatif prognostik ilişki saptamıştı. Saez ve ark. (129) yüksek klinik risk taşıyan 50 DBBHL hastasında tanıda artmış tümör Treg hücrelerin bağımsız bir kötü prognostik faktör olduğunu gösterdi. Tüm bu çalışmalara baktığımızda daha yüksek tümör Treg hücre sayısının belli DBBHL alt tipleri için iyi prognostik olduğundan bahsedilebilir. Biz çalışmamızda DBBHL alt tiplerine yönelik herhangi bir analiz yapmadık.

Çalışmamızda Treg hücrelerin NHL'li hastalarda da prognoz üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık. NHL'de Treg hücrelerin prognoz üzerine etkisinden bahseden çalışmaların tümü intratümöral Treg düzeylerini araştırmış olmakla birlikte biz çalışmamızda daha kolay elde edilen ve tekrarlanabilir bir örnek olması nedeniyle ayrıca sistemik immün yanıtın da lenfomada rol oynadığı bilindiğinden periferik kan örneklerini kullandık. Ancak periferik kan Treg düzeylerinin hasta ve kontrol grupları arasında farklılık göstermemesi ve tedavi yanıtlarının hastaların hemen tümünde tam remisyon şeklinde olması nedeniyle prognoz üzerine etki değerlendirmesi yapılamadı.

Çalışmamızda hem HL hem de NHL'li hastalarda periferik kan CD4+ CD25+ FOXP3+ Treg hücreleri değerlendirirken yeni tedavi hedefleri konusunda da bir sonuca ulaşabilmeyi planlamıştık. Ancak hastalarımız ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptayamadığımızdan bu konuda herhangi bir yorum yapılamadı.

Treg hücrelerin lenfomada nasıl daha iyi bir sonuca neden olduğu halen bilinmemektedir. Treg hücreler normal B ve T hücre aktivasyonunun düzenlenmesinde yaptıkları gibi lenfoma hücreleri üzerine doğrudan baskılayıcı etki gösterebilirler. Treg hücreler aynı zamanda dolaylı yoldan ve başka bir immün hücre alt grubunu baskılayarak da bu etkiyi oluşturuyor olabilirler. Baskılanan immün hücre alt grubu lenfomada tümör hücrelerinin büyümesi ve sağkalımını arttıran dendritik hücreler ya da tümörü infiltre eden makrofajlar olabilir. Alternatif bir düşünce de, Treg hücrelerin malign hücrelerin ya da tümör mikroçevresinin henüz tanımlanmamış ancak daha iyi sonuçlara neden olan bir özelliğinin işareti olabileceğidir. Lenfoma mikroçevresindeki Treg hücrelerin rolünü değerlendirmek için fonksiyonel ve mekanik çalışmalara ihtiyaç vardır (149).

Sonuç olarak lenfomalı hastalarda periferik kan Treg düzeylerini sağlıklı kontrollerden farklı bulmadık. Prognoz zerine etki ise hastaların çoğunluğunda iyi yanıtlar elde edildiğinden değerlendirilemedi. Ancak hem HL hem NHL grubunda asıl olarak yapmayı planladığımız Şekilde Treg düzeyleri ile bazı klinik parametreler arasında önemli ilişkiler saptadık. Bu klinik parametreler hem HL hem NHL'de kötü prognostik olduğu daha önceden bildirilmiŐ parametrelerdi. Bu nedenle çalışmamızın literatüre farklı yönde bir katkı yapabileceği düşüncesindeyiz. Hasta sayısının arttırılması, farklı lenfoma alt tiplerinin çalışmaya dahil edilmesi hatta Treg düzeylerinin lenf nodlarından da eş zamanlı değerlendirilmesi ile Treg hücrelerin prognoza olan etkisi daha net anlaŐılabilir.

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

1. HL grubunda IPS ile Treg düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu ($p=0.024$).
2. HL grubunda CRP ile Treg düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu ($p=0.041$).
3. HL grubunda LDH ile Treg düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu ($p=0.048$).
4. HL grubunda ALS ile Treg düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($p=0.003$).
5. HL grubunda albumin ile Treg düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($p=0.038$).
6. HL grubunda erkek hastalarda Treg düzeyleri kadınlardan daha yüksek olduğu görüldü ($p=0.035$).
7. HL grubunda ektranodal tutulum, dalak tutulumu ve B tipi semptomlarla Treg düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı.
8. NHL grubunda evre ile Treg düzeyleri arasında pozitif ilişki saptandı ($p=0.005$).
9. NHL grubunda IPI ile Treg düzeyleri arasında pozitif ilişki bulundu ($p=0.036$).
10. NHL grubunda CRP ile Treg düzeyleri arasında pozitif ilişki saptandı ($p=0.046$).
11. NHL grubunda LDH ile Treg düzeyleri arasında pozitif ilişki saptandı ($p=0.002$).
12. NHL grubunda ALS ile Treg düzeyleri arasında negatif ilişki saptandı ($p=0.007$).
13. NHL grubunda hastaların sağkalım değerlendirmesinde Treg düzeyleri ile sağkalım arasında negatif ilişki olduğu izlendi ($p=0.029$).
14. NHL grubunda ektranodal tutulumu olan hastalarda düzenleyici T hücre düzeyleri daha düşüktü ($p<0.001$).
15. NHL grubunda cinsiyet, B tipi semptom ve dalak tutulumu varlığı açısından yapılan değerlendirmede Treg düzeyleri arasında fark saptanmadı.
16. HL ve NHL grubuna ait tedavi öncesi Treg düzeyleri ile kontrol grubu Treg düzeylerine göre daha yüksek saptansa da istatistiksel anlamlı fark gözlenmedi.

17. HL grubunda CD4+ CD25+ hücre düzeyleri %1.71, CD4+ FOXP3+ hücre düzeyleri %5.38, CD4+ CD25+ FOXP3+ hücre düzeyleri %3.79 bulundu.
18. NHL grubunda CD4+ CD25+ hücre düzeyleri %2.05, CD4+ FOXP3+ hücre düzeyleri %5.33, CD4+ CD25+ FOXP3+ hücre düzeyleri %4.61 bulundu.
19. Sağlıklı kontrollerde CD4+ CD25+ hücre düzeyleri %1.74, CD4+ FOXP3+ hücre düzeyleri %5.28, CD4+ CD25+ FOXP3+ hücre düzeyleri % 3.57 bulundu.

KAYNAKLAR

1. Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, et. All. Wintrobe's Clinical Hematology, 12th Edition, Lippincot Williams and Wilkins: Philadelphia, 2009.p.2145.
2. <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@nho/documents/document/acspc-024113.pdf>
3. Cartwright R, Brincker H, Carli PM, et al. The rise in incidence of lymphomas in Europe 1985-1992. Eur J Cancer 1999; 35: 627-33.
4. Ferlay J et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. Int J Cancer 2001; 94: 153-6.
5. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2010.
<http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/saglikistatistikleriyilligi2010.pdf>
6. Roman E, Smith AG. Epidemiology of lymphomas. Histopatology 2011; 58: 4-14.
7. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/nhl.html> (erişim:10.08.2013)
8. Rosen PJ, Lavey RS, Haskell CM. Hodgkins Disease. Cancer treatment 1995; 951-79.
9. Alexander FE, Ricketts TJ, McKinney PA, et al. Community lifestyle characteristics and incidence of Hodgkin's disease in young people. Int J Cancer 1991; 148: 10-4.
10. Glaser SL, Lin RJ, Steawart SL, et al. EBV associated Hodgkin's disease: epidemiologic characteristics in international data. Int J Cancer 1999; 70: 375-82.
11. Thomas RK, Re D, Zander T, Wolf J, Diehl V. Epidemiology and etiology of Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol 2002; 13: 147-52.
12. Coiffier B, Gisselbrecht C, Vose JM, et al. Prognostic factors in aggressive malignant lymphomas: description and validation of a prognostic index that could identify patients requiring a more intensive therapy. The Groued'Etudes des Lymphomas Agressifs. J Clin Oncol 1991; 9: 211-9.

13. Rappaport H, Berard CW, Butler JJ, Dorfman RF, Lukes RJ, Thomas LB. Report of the committee on histopathological criteria contributing to staging of Hodgkin's disease. *Cancer Res* 1971; 31: 1864–5.
14. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds.) WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, 4th edition; International Agency for Research on Cancer (IARC). France: Lyon Cedex; 2008.
15. De Wit M, Bohuslavizki KH, Buchert R, Bumann D, Clausen M, Hossfeld DK. 18-FDG-PET following treatment as valid predictor for disease-free survival in Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2001; 12: 29–37.
16. Jagannath S, Velasquez WS, Tucker SL, Fuller LM, McLaughlin PW, Manning JT, North LB, Cabanillas FC. Tumor burden assessment and its implication for a prognostic model in advanced diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1986; 4: 859–65.
17. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the committee on Hodgkin's disease staging classification. *Cancer Res* 1971; 31: 1860–1.
18. Rosenberg SA, Boiron M, DeVita VT Jr, Johnson RE, Lee BJ, Ultmann JE, Viamonte M Jr. Report of the committee on Hodgkin's disease staging procedures. *Cancer Res* 1971; 31: 1862–3.
19. Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med* 1998; 339: 1506–14.
20. Shipp MA, Harrington DP, Anderson JR, et al. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med* 1993; 329: 987–94.
21. Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ, Wagman LD (eds). *Cancer Management: A Multidisciplinary Approach (Medical, Surgical, & Radiation Oncology)*. 10th edition. Jersey City (NJ): CMPMedica; 2007.
22. Cartron G, Watier H, Golay J, Solal-Celigny P. From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. *Blood* 2004; 104: 2635–42.

23. Kaminski MS, Tuck M, Estes J, Kolstad A, Ross CW, Zasadny K, Regan D, Kison P, Fisher S, Kroll S, Wahl RL. 131I-tositumomab therapy as initial treatment for follicular lymphoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 441–9.
24. Fermé C, Mounier N, Diviné M, Brice P, Stamatoullas A, Reman O, Voillat L, Jaubert J, Lederlin P, Colin P, Berger F, Salles G. Intensive salvage therapy with high-dose chemotherapy for patients with advanced Hodgkin's disease in relapse or failure after initial chemotherapy: results of the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte H89 Trial. *J Clin Oncol* 2002; 20: 467–75.
25. Hodgkin T. On some Morbid Appearances of the Absorbent Glands and Spleen. *Med Chir Trans* 1832; 17: 68-114.
26. Schnitzer B. Hodgkin lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009; 23(4): 747-68.
27. Shenoy P, Maggioncalda A, Malik N, Flowers CR. Incidence patterns and outcomes for Hodgkin lymphoma patients in the United States. *Adv Hemtol* 2011: 725213 epub 2010 Dec 16.
28. Harty LC, Lin AY, Goldstein AM, Juffe ES, et al. HLA DR, HLA DQ and TAP genes in familial Hodgkin's disease. *Blood* 2002; 99: 690-3.
29. Saarinen S, Pukkala E, Vahteristo P, et al. High Familial Risk in Nodular Lymphocyte Predominant Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol* 2013; 31: 938-43.
30. Cozen W, Yu G, Gail MH, Ridaura VK, et al. Fecal microbiota diversity in survivors of adolescent/young adult Hodgkin Lymphoma: a study of twins. *Br J Cancer* 2013; 108: 1163-7.
31. Martin N, Mounier N. Hodgkin lymphoma in patients with HIV infection: a review. *Curr Hematol Malig Rep.* 2012; 7: 228-34.
32. Castillo J, Samir Dalia S, Shum H. Meta-Analysis of the Association Between Cigarette Smoking and incidence oh Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3900-6.
33. Tramacere I, Pelucchi C, Bonifazi M, Bagnardi V, et al. A meta analysis on alcohol drinking and the risk of Hodgkin lymphoma. *Eur J Cancer Prev.* 2012; 21: 268-73.

34. Said JW. Immunodeficiency-related Hodgkin lymphoma and its mimics. *Adv Anat Pathol* 2007; 14: 189-94.
35. Re D, Küppers R, Diehl V. Molecular Pathogenesis of Hodgkin's lymphoma *J Clin Oncol* 2005; 23: 6379-86.
36. MacMahon B. Epidemiology of Hodgkin's disease. *Cancer Res* 1966; 26(6):1189-201.
37. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC, et al. 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.
38. Gobbi PG, Cavalli C, Gendarini A, Crema A, Ricevuti G, Federico M, Di Prisco U, Ascari E. Reevaluation of prognostic significance of symptoms in Hodgkin's disease. *Cancer*. 1985; 56: 2874-80.
39. Loeffler M, Pfreundschuh M, Hasenclever D, et al. Prognostic risk factors in advanced Hodgkin's disease. Report of the German Hodgkin Study Group. *Blut* 1988;56: 273-81.
40. Connors JM. Evolving approaches to primary treatment of Hodgkin Lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005:239-44.
41. Armitage JO. Early-stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2010; 363(7):653-62.
42. Diehl V, Franklin J, Pfreundschuh M, Lathan B, Paulus U, Hasenclever D, et al; German Hodgkin's Lymphoma Study Group. Standard and increased dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2003; 348(24): 2386-95.
43. Rathore B, Kadin ME. Hodgkin's lymphoma therapy: past,present and future. *Expert Opin Pharmacother* 2010; 11(17): 2891-906.
44. Quddus F, Armitage JO. Salvage therapy for Hodgkin's Lymphoma. *Cancer J* 2009;15(2):161-3.
45. Mendler JH, Friedberg JW. Salvage therapy in Hodgkin's lymphoma. *Oncologist* 2009;14(4):425-32.

46. Barlett NL. Modern treatment of Hodgkin lymphoma. *Curr Opin Hematol* 2008;15(4):408-14.
47. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissue (IARC WHO Classification of Tumours). 4. Ed. World Health Organisation; 2008.
48. Jaffe ES, Pittaluga S. The Pathologic Basis for the Classification of Non Hodgkin Lymphomas. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Silberstein LE, McGlave P, et al. *Hematology: basic principles and practice*. 5. Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2009.p.1265-92.
49. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood* 2006;107(1):265-76.
50. Ferhanoğlu B. Diffuz büyük B hücreli lenfomalar - klinik ve tedavi. *Türk Hematoloji Derneği Klinisyen-Patolog Ortak Lenfoma Kursu* 2004; 54-62.
51. Armitage JO. How I treat patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2007; 110(1): 29-36.
52. Lenz G, Staudt LM. Pathobiology of Non-Hodgkin Lymphoma. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Silberstein LE, McGlave P, et al. *Hematology: basic principles and practice*. 5. ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2009. p.1207-20.
53. Ye BH, Lista F, LoCoco F, Knowles DM, Offit K, Changanti RS, et al. Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large cell lymphoma. *Science* 1993; 262(5134): 747-50.
54. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M, Berry B, Ruscova A, Berkahn L, et al. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Oncol* 2011;29(11):1452-7.
55. Boyiadzis M, Foon KA. Diffuse Large B cell Lymphoma. In: Kashansky K, Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal J, eds. *Williams Hematology* 8th. ed. United States: McGraw-Hill;2010. p.1547-63.

56. Aviles A, Neri N, Huerta-Guzman J. Large bowel lymphoma: an analysis of prognostic factors and therapy in 53 patients. *J Surg Oncol* 2002; 80(2): 111-5.
57. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's Lymphoma. The international Non Hodgkin Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med* 1993; 329(14): 987-94.
58. Yaygın Büyük B hücreli Hodgkin Dışı Lenfoma, Türk Hematoloji Derneği. Lenfoma Ulusal Tanı ve Tedavi Klavuzu 2012; 49-64.
59. Ayala E, Tomblyn M. Hematopoietic Cell Transplantation for Lymphomas. *Cancer Control* 2011; 18(4): 246-57.
60. Stiff PJ, Unger JM, Cook J, Constine LS, Couban S, Shea TC, et al. Randomised phase III U.S./Canadian intergroup trial (SWOG S9704) comparing \pm R for six cycles followed by autotransplant for patients with high intermediate (H-Int) or high IPI grade diffuse aggressive non-Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 8001.
61. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Van der Lelie H, Bron D, et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy sensitive non Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995; 333(23): 1540-5.
62. Miyara M, Sakaguchi S. Regulatory T cells and the Control of Auto-Immunity: From day 3 Thymectomy to FoxP3+ Regulatory T Cells. In: Jiang S, ed. *Regulatory T Cells and Clinical Application*. New York: Springer-Verlag, 2008; 3-7.
63. David A, Horwitz, Zheng SG, Gray JD. Natural and TGF-beta-induced Foxp3(+) CD4(+) CD25(+) regulatory T cells are not mirror images of each other. *Immunol* 2008; 29: 429-35.
64. Kim, JM. Rasmussen JP, Rudensky AY. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. *Nat Immunol* 2007; 8: 91-7.
65. Sakaguchi, S. Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic selftolerance and negative control of immune responses. *Ann Rev Immunol* 2004; 22: 531-62.

66. Shevach EM, DiPaolo RA, Andersson J, Zhao DM, Stephens GL, Thornton AM. The lifestyle of naturally occurring CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells. *Immunol Rev* 2006; 212: 60-73.
67. Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 253–7.
68. David A, Horwitz, Zheng SG, Gray JD. Natural and TGF-beta–induced Foxp3(+) CD4(+) CD25(+) regulatory T cells are not mirror images of each other. *Immunol* 2008; 29: 429-35.
69. Zheng SG, Wang JH, Stohl W, Kim KS, Gray JD, Horwitz DA. TGF-beta requires CTLA-4 early after T cell activation to induce FoxP3 and generate adaptive CD4⁺CD25⁺ regulatory cells. *J Immunol* 2006; 176: 3321-9.
70. Tai X, Cowan M, Feigenbaum L, Singer A. CD28 costimulation of developing thymocytes induces Foxp3 expression and regulatory T cell differentiation independently of interleukin 2. *Nat Immunol* 2005; 6: 152-62.
71. Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, Ashourian N, Singh B, Sharpe A, Bluestone JA. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity* 2000; 12: 431-40.
72. Kretschmer K, Apostolou I, Hawiger D, Khazaie K, Nussenzweig MC, von Boehmer H. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. *Nat Immunol* 2005; 6: 1219-27.
73. Tang Q, Boden EK, Henriksen KJ, Bour-Jordan H, Bi M, Bluestone JA. Distinct roles of CTLA-4 and TGF-beta in CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell function. *Eur J Immunol*. 2004; 34(11): 2996-3005.
74. Kishimoto T. Interleukin-6 and its receptor in autoimmunity. *J Autoimmun* 1992; 5: 123–32.
75. Horwitz DA, Gray JD. The interaction of T cells with cells of the innate immune system and B cells in the pathogenesis of SLE. In: Wallace DJ and Hahn BH. Eds. *Dubois' Lupus Erythematosus*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007; 133–60.

76. Tadokoro CE, Shakhar G, Shen S, Ding Y, Lino AC, Maraver A, Lafaille JJ, Dustin ML. Regulatory T cells inhibit stable contacts between CD4⁺ T cells and dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 2006; 203: 505-11.
77. Cederbom L, Hall H, Ivars F. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells down-regulate co-stimulatory molecules on antigen-presenting cells. *Eur J Immunol* 2000; 30: 1538-43.
78. Mahnke K, Ring S, Johnson TS, Schallenberg S, Schönfeld K, Storn V, Bedke T, Enk AH. Induction of immunosuppressive functions of dendritic cells in vivo by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells: role of B7-H3 expression and antigen presentation. *Eur J Immunol* 2007; 37: 2117-26.
79. Zheng Y, Josefowicz SZ, Kas A, Chu TT, Gavin MA, Rudensky AY. Genomewide analysis of Foxp3 target genes in developing and mature regulatory T cells. *Nature* 2007; 445: 936-40.
80. Wing K, Sakaguchi S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat Immunol* 2010; 11: 7-13.
81. Yamaguchi T, Wing JB, Sakaguchi S. Two modes of immunosuppression by Foxp3(+) regulatory T cells under inflammatory or non-inflammatory conditions. *Semin Immunol* 2011; 23: 424-305.
82. Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med* 1996; 184: 387-96.
83. Laurie KL, Van Driel IR, Gleeson PA. The role of CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells in the induction of autoimmune gastritis. *Immunol Cell Biol* 2002; 80: 567-73.
84. Baecher-Allan C, Hafler DA. Human regulatory T cells and their role in autoimmune disease. *Immunol Rev* 2006; 212: 203-16.
85. Vignali DAA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 523-32.
86. Kemp EH, Waterman EA, Weetman AP. Immunological pathomechanisms in vitiligo. *Expert Rev Mol Med* 2001; 3: 1-22.

87. Read S, Malmstrom V, Powrie F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25+CD4+ regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med* 2000; 192: 295–302.
88. Takahashi T, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 2000; 192: 303–10.
89. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, Nomura T, Sakaguchi S. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008; 317: 221–5.
90. Betini M, Vignali DAA. Regulatory T cells and inhibitory cytokines in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2009; 21: 612–8.
91. Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, Allen R, Sidman C, Proetzel G, Calvin D et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 1992; 359: 693-9.
92. Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC, Roberts AB, Sporn MB, Ward JM, Karlsson S: Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 770-4.
93. Agarwal S, Ramam M, Sharma VK, Khandpur S, Pal H, Pandey RM. A randomized placebo-controlled double-blind study of levamisole in the treatment of limited and slowly spreading vitiligo. *Br J Dermatol* 2005; 153: 163–6.
94. Burmester GR, Pezzutto A. *Color Atlas Of Immunology*. Stuttgart ThiemeMedical Publishers, 2003; 271-84.
95. Wilke CM, Wei S, Wang L, Kryczek I, Kao J, Zou W. Dual biological effects of the cytokines interleukin-10 and interferon- γ . *Cancer Immunother* 2011; 60: 1529-41.
96. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A: Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Ann Rev Immunol* 2001; 19: 683-765.

97. Zu X, Zhang Q, Cao R, Liu J, Zhong J, Wen G, Cao D. Transforming growth factor- β signaling in tumor initiation, progression and therapy in breast cancer: an update. *Cell Tissue Res* 2011, Aug 16 (e-baskı). Erişim Tarihi: 14.09.2011.
98. Zheng SG. The Critical Role of TGF-beta1 in the Development of Induced Foxp3+ Regulatory T Cells. *Int J Clin Exp Med* 2008; 1: 192-202.
99. Li MO, Wan YY, Flavell RA. T cell-produced transforming growth factorbeta1 controls T cell tolerance and regulates Th1- and Th17-cell differentiation. *Immunity* 2007; 26: 579-91.
100. Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, Boyd K, Wang Y, Vignali KM, Cross R, Sehy D, Blumberg RS, Vignali DA: The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature* 2007; 450: 566-9.
101. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2007; 148: 32-46.
102. Furuzawa-Carballeda J, Vargas-Rojas MI, Cabral AR. Autoimmune inflammation from the Th17 perspective. *Autoimmun Rev* 2007; 6(3): 169-75.
103. Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM. Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity* 2006; 24: 677-88.
104. Lehner T. Special regulatory T cell review: The resurgence of the concept of contrasuppression in immunoregulation. *Immunology* 2008; 123: 40-4
105. Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VF, Berneman ZN. Regulatory Tcells and human disease. *Clin Dev Immunol* 2007; 2007: Article ID:89195.
106. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Natura Med* 2004; 10: 942-9.
107. Ebel K, Babaryka G, Frankenberger B, Stief CG, Eisenmenger W, Kirchner T, et al. Prostate cancer lesions are surrounded by FOXP3+, PD-1+ and B7-H1+ lymphocyte clusters. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1664-72.

108. Salama P, Phillips M, Grieu F, Morris M, Zeps N, et al. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 186-92.
109. Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, Bachelot N, et al. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome. *Cancer Res* 2009; 69: 2000-9.
110. Bohling SD, Allison KH. Immunosuppressive regulatory T cells are associated with aggressive breast cancer phenotypes: a potential therapeutic target. *Mod Pathol* 2008; 21: 1527-32.
111. Perrone G, Ruffini PA, Catalano V, Spino C, Santini D, Muretto P, et al. Intratumoural FOXP3-positive regulatory T cells are associated with adverse prognosis in radically resected gastric cancer. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1875-82.
112. Zhou J, Ding T, Pan W, Zhu LY, Li L, Zheng L. Increased intratumoral regulatory T cells are related to intratumoral macrophages and poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients. *Int J Cancer* 2009; 125: 1640-8.
113. Gao Q, Qiu SJ, Fan J, Zhou J, Wang XY, Xiao YS, et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2586-93.
114. Sato E, Olson SH, Ahn J, Bundy B, Nishikawa H, Qian F, et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 18538-43.
115. Sinicrope FA, Rego RL, Ansell SM, Knutson KL, Foster NR, Sargent DJ. A Low Intraepithelial Effector (CD3(+))/Regulatory (FoxP3(+)) T-Cell Ratio Predicts Adverse Outcome of Human Colon Carcinoma. *Gastroenterology*. 2009; 137: 1270-9.
116. Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood* 2006; 108: 804-11.

117. Dannull J, Su Z, Rizzieri D, Yang BK, Coleman D, Yancey D, Zhang A, et al. Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells. *J Clin Invest* 2005; 115: 3623-33.
118. Tzankov A, Meier C, Hirschmann P, Went P, Pileri SA, Dirnhofer S. Correlation of high numbers of intratumoral FOXP3+ regulatory T cells with improved survival in germinal center-like diffuse large B-cell lymphoma, follicular lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2008; 93: 193-200.
119. 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. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 958-65.
120. Alvaro T, Lejeune M, Salvado MT, Bosch R, Garcia JF, Jaen J, et al. Outcome in Hodgkin's lymphoma can be predicted from the presence of accompanying cytotoxic and regulatory T cells. *Clin Cancer Res*, 2005; 11: 1467-73.
121. Oudejans JJ, Jiwa NM, Kummer JA, Ossenkoppele GJ, van Heerde P, Baars JW, et al. Activated cytotoxic T cells as prognostic marker in Hodgkin's disease. *Blood* 1997; 89: 1376-82.
122. Muenst S, Hoeller S, Dirnhofer S, Tzankov A. Increased programmed death-1+ tumor-infiltrating lymphocytes in classical Hodgkin lymphoma substantiate reduced overall survival. *Hum Pathol* 2009; 40: 1715-22.
123. Schreck S, Friebel D, Buettner M, Distel L, Grabenbauer G, Young LS, Niedobitek G. Prognostic impact of tumour-infiltrating Th2 and regulatory T cells in classical Hodgkin lymphoma. *Hematol Oncol* 2009; 27: 31-9.
124. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403: 503-11.
125. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, Muller-Hermelink HK, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; 103: 275-82.

126. Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML, Taskinen M, Berglund M, Amini RM, et al. Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood* 2007; 109: 4930-5.
127. Hasselblom S, Sigurdadottir M, Hansson U, Nilsson-Ehle H, Ridell B, Andersson PO. The number of tumour-infiltrating TIA-1+ cytotoxic T cells but not FOXP3+ regulatory T cells predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2007; 137: 364-73.
128. Lee NR, Song EK, Jang KY, Choi HN, Moon WS, Kwon K, et al. Prognostic impact of tumor infiltrating FOXP3 positive regulatory T cells in diffuse large B-cell lymphoma at diagnosis. *Leuk Lymphoma* 2008; 49: 247-56.
129. Saez AI, Garcia-Cosio M, Saez AJ, Hernandez JM, Sanchez-Verde L, Alvarez D, et al. Identification of biological markers of sensitivity to high-clinical-risk-adapted therapy for patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2009; 50: 571-81.
130. Shen ZX, Zhu XZ. *Malignant lymphoma*. Beijing: People Health Publishing Company, 2003: 43.
131. Gatti RA, Good RA. Occurrence of malignancy in immunodeficiency diseases. A literature review. *Cancer* 1971; 28(1): 89-98.
132. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155 (3): 1151-64.
133. Mittal S, Marshall NA, Duncan L, et al. Local and systemic induction of CD4+ CD25+ regulatory T cell population by non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2008; 111(11): 5359-70.
134. Lin H, Sun XF, Zhen ZJ, Xia Y, Ling JY, Huang HQ, Xia ZJ, Lin TY. Correlation between peripheral blood CD4+CD25high CD127low regulatory T cell and clinical characteristics of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Ai Zheng* 2009 Nov; 28(11): 1186-92.

135. Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, et al. CD127 expression inversely correlates with FOXP3 and suppressive function of human CD4⁺ Treg cells. *J Exp Med* 2006; 203 (7): 1701-11.
136. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor FOXP3. *Science* 2003; 299 (5609): 1057-61.
137. Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor FOXP3. *Nat Immunol* 2005; 6(4): 331-7.
138. Marshall NA, Christie LE, Munro LR, et al. Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004 Mar 1; 103(5): 1755-62.
139. Han Y, Wu J, Bi L, Xiong S, Gao S, et al. Malignant B cells induce the conversion of CD4⁺CD25⁻ T Cells to regulatory T cells in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *PLoS ONE* 2011; 6(12): e28649.
140. Rico MJ, Rozados VR, Mainetti LE, Zacarias Fluck MF, Matar P, Scharovsky OG. Regulatory T cells but not NKT I cells are modulated by a single low-dose cyclophosphamide in a B cell lymphoma tumor-model. *Exp Oncol* 2012; 34(1): 38-42.
141. Koreishi A, Saenz A, Persky D, et al. The role of cytotoxic and regulatory T-cells in relapsed/refractory Hodgkin lymphoma. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM/official publication of the Society for Applied Immunohistochemistry* 2010; 18(3): 206-11.
142. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Roncador G, Villamor N, Colomo L, Martinez A, et al. High numbers of tumor-infiltrating programmed cell death 1-positive regulatory lymphocytes are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1470-6.
143. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, Colomo L, Martinez A, Roncador G, et al. High numbers of tumor infiltrating FOXP3-positive regulatory T-cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood* 2006; 108(9): 2957-64.

144. Lee AM, Clear AJ, Calaminici M, Davies AJ, Jordan S, MacDougall F, et al. Number of CD4+ cells and location of forkhead box protein P3-positive cells in diagnostic follicular lymphoma tissue microarrays correlates with outcome. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5052-9.
145. Alvaro T, Lejeune M, Salvado MT, Lopez C, Jaen J, Bosch R, Pons LE. Immunohistochemical patterns of reactive microenvironment are associated with clinicobiologic behavior in follicular lymphoma patients. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5350-7.
146. Kelley T, Beck R, Absi A, Jin T, Pohlman B, Hsi E. Biologic predictors in follicular lymphoma: importance of markers of immune response. *Leuk Lymphoma* 2007; 48: 2403-11.
147. de Jong D, Koster A, Hagenbeek A, Raemaekers J, Veldhuizen D, Heisterkamp S, et al. Impact of the tumor microenvironment on prognosis in follicular lymphoma is dependent on specific treatment protocols. *Haematologica* 2009; 94: 70-7.
148. Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML, Taskinen M, Berglund M, Amini RM, et al. Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood* 2007; 109: 4930-5.
149. Kelley TW, Parker CJ. CD4 (+) CD25 (+) Foxp3 (+) regulatory T cells and hematologic malignancies. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2010 Jun 1; 2: 980-92.

