

HODGKIN HASTALIĞINDA HİSTOPATOLOJİK ALT TIPLERDE DNA PLOİDİ İLİŞKİSİ

Dr. Gülay ÖZBİLİM, Dr. Elif PEŞTERELİ, Dr. Resmiye KAYA,
Dr. Özlem ELPEK, Dr. Gülten KARPUZOĞLU, Haşim İMAK

ÖZET: Hodgkin hastalığı, klinikopatolojik olarak iyi tanımlanmakla birlikte, bu hastalıkta malign hücre popülasyonunu oluşturan Hodgkin ve Reed-Sternberg (RS) hücrelerinin kökeni ve davranışları henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada Hodgkin hastalığı olgularında alt tipler ile DNA ploidi bulguları ve S fazları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hodgkin hastalığında literatürde bu konuda yapılan çalışmalarda genellikle diploid pattern bulunduğu belirtilmekte olup çalışmamızın bulguları literatür bulguları ışığında tartışılmıştır.

ANAHTAR KELİMELE: Hodgkin Hastalığı, DNA ploidi, S fazı, histopatolojik alt tipler.

SUMMARY: THE RELATIONSHIP BETWEEN HISTOPATHOLOGIC SUBTYPES AND DNA PLOIDY IN HODGKIN DISEASE: Though Hodgkin Disease is a well defined clinicopathologic entity, origin and behavior of Hodgkin and Reed-Sternberg (RS) cells have not been determined yet. We have studied the relationship between the DNA ploidy pattern and S-phase fraction of different subtypes of Hodgkin disease. Diploid DNA pattern has been observed generally and the results are discussed with the literature.

KEY WORDS: Hodgkin Disease, histopathologic subtypes, DNA ploidy, S-phase.

GİRİŞ

İnsan tümörlerinde, parafin bloklardan hazırlanan doku örneklerinde akım sitometrik DNA analizi ile ploidi ve sentez fazı oranının saptanması son zamanlarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle lenfoid ve hematopoetik proliferasyonla karakterli lezyonlarda aneuploidi ve yüksek sentez fazı fraksiyonunun (% SPF) prognostik olarak değerli olduğuna ilişkin çok sayıda çalışmalar bulunmaktadır (1,2).

Hodgkin hastalığı, klinikopatolojik olarak oldukça iyi tanımlanmış olmakla birlikte, bu hastalığın etyolojisi ve asıl tümör hücreleri olan Hodgkin ve Reed Sternberg hücrelerinin kökeni kesin olarak aydınlatılmamıştır (3). Ayrıca son zamanlarda Rye sınıflaması ile tanımlanan 4 histopatolojik alt tip arasında prognostik değerlendirmeye yönelik çok sayıda moleküler biyolojik ve sitogenetik çalışmalar yapılmaktadır (3,4,5,6).

Bu çalışmada Hodgkin hastalığı tanısı alan olgularda histopatolojik alt tipler arasında akım sitometrik olarak DNA ploidi ve sentez fazı oranı arasında farklılık olup olmadığı araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 1990-1997 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında "Hodgkin hastalığı" tanısı alan 30 adet olgu üzerinde yapıldı. Olguların Anabilim Dalımız arşivinde bulunan Hematoksilen-Eozin (HE) boyalı preparatları yeniden değerlendirilerek yaş, cins, tümör yeri ve Rye sınıflamasına göre tipleri belirlendi. DNA akım sitometrisi için seçilen uygun parafin bloklardan 100 mikron kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemlerinden sonra hücre süspansiyonları hazırlandı. Hücre süspansiyonları Epics Profile II (Coulter, Hialeh, FL) cihazı kullanılarak, 488 nm-argon-iyon lazer eksitasyonu ile incelendi. Alet standardizasyonu için "DNA-Check", diploid kontrol için insan lenfositleri kullanıldı. Olgularda ortalama

15 000 hücre sayıldı. Elde edilen histogramlar Multicycle software programı ile değerlendirildi.

BULGULAR

Hodgkin hastalığı tanısı alan 30 olgunun HE boyalı preparatları yeniden değerlendirildi. Olguların 18'i (%60) mikst sellüler, 7'si (%23) lenfositten zengin tip, 4'ü (%13) lenfositten yoksun tip, 1'i (%3) nodüler sklerozan tip olarak saptandı.

Mikst sellüler tip olguların bulguları, Tablo 1 de sunulmuştur. Bu olguların 12'si erkek, 6'sı kadın olup, bu olgularda yaş ortalaması 38.8 olarak bulundu. Olguların 15'i servikal bölgede, 1'i aksiller, 1'i supraklaviküler, 1'i mezenter lenf nodülü yerleşimli idi. 18 olgunun 4'ünde (%22) aneuploidi bulunmuş olup, bu olguların ortalama % SPF'u 15.75 dir (Şekil 1). Diploid olan 14 olgunun ise ortalama % SPF'u 8.7 dir (Şekil 2). Lenfositten zengin tip olgulardaki bulgular Tablo 2 de sunulmuştur. Bu olguların 4'ü erkek, 3'ü kadın olup, bu olgularda yaş ortalaması 35.8 dir. Bu olguların 4'ü servikal bölgede, 2'si aksiller bölgeden, 1'i supraklaviküler bölgeden çıkarılmış lenf nodülüydü. 7 olgunun 1 tanesinde (%14.2) aneuploidi saptanmıştır. Bu olgunun % SPF'u 28.3 olup diploid olgularda (6 olgu) ise ortalama % SPF'u 7.21 dir. Lenfositten yoksun tip olgulardaki bulgular Tablo 3 de sunulmuştur. 4 olgunun 2'si kadın, 2'si erkek olup, bu olgulardaki yaş ortalaması 21.2 dir. Olguların 3'ü servikal, 1'i submandibüler lenf nodülüydü. Bu gruptaki olguların 2'si aneuploid (% 50), 2'si diploid olup, aneuploid olgularda ortalama % SPF'u 7.05 idi.

Bir adet nodüler sklerozan tip olgusu 46 yaşında erkek olup, supraklaviküler bölgeden çıkarılmış bir lenf nodülüydü. Bu olguda aneuploidi saptandı ve % SPF'u 2.1 di (Tablo 4).

TARTIŞMA

Hodgkin hastalığı Avrupa'da tüm lenfoid malignitelerin % 40-45'ini oluşturur. Sıklıkla 3. dekatta erişkin dönemde pik yapmakla birlikte, 7 dekatta da minor bir pik göstermektedir. Nodüler sklerozan tipte kadınlarda hafif bir insidans artışı görülmekte olup, çoğu histopatolojik tipler erkeklerde daha sık

TABLO 1. MİKST SELLÜLER TİP OLGULARDA BULGULAR

OLGULAR	YAŞ	CİNS	LOKALİZASYON	HİSTOPATOLOJİK TİP	DNA PLOİDİ	% SPF
1	56	K	servikal	mikst sellüler	diploid	13.8
2	58	K	sağ servikal lenf nodüllü	mikst sellüler	diploid	14.6
3	50	K	sol supraklaviküler	mikst sellüler	diploid	3.6
4	34	K	sol servikal lenf nodüllü	mikst sellüler	diploid	7.4
5	60	E	sol servikal	mikst sellüler	diploid	15.7
6	38	E	mezenter lenf nodüllü	mikst sellüler	diploid	8.4
7	40	E	sol servikal	mikst sellüler	% 67.8 aneuploid % 32.2 diploid	13.9
8	45	E	sol servikal	mikst sellüler	% 79.4 aneuploid % 20.6 diploid	21.6
9	41	K	sağ aksiller	mikst sellüler	diploid	8.6
10	35	E	sağ servikal	mikst sellüler	% 43.4 aneuploid % 56.6 diploid	17.1
11	55	K	sağ servikal	mikst sellüler	diploid	7.4
12	42	E	servikal	mikst sellüler	% 83.9 aneuploid % 16.1 diploid	10.4
13	22	E	servikal	mikst sellüler	diploid	7.2
14	36	E	servikal	mikst sellüler	diploid	3.7
15	56	E	servikal	mikst sellüler	diploid	8.3
16	41	E	sol servikal	mikst sellüler	diploid	7.9
17	38	E	sol servikal	mikst sellüler	diploid	8
18	7	E	sol servikal	mikst sellüler	diploid	4.9

saptanmaktadır. Ağrısız lenf nodülü büyümesi en sık semptomdur. Genellikle servikal lenf nodüllerinde saptanır, aksiller ve inguinal lenf nodülleri daha az etkilendir (7).

Çalışmamıza aldığımız olguların Erkek / Kadın oranı=1,7 olup ortalama yaş 35.9 olarak saptanmıştır. Lokalizasyonlarına bakıldığında % 73 servikal bölgedeki lenf nodülleri, % 27 diğer bölgelerde (aksiller, supraklaviküler, submandibüler, mezenter) bulunan lenf nodülleri olduğu dikkati çekmiştir.

Hodgkin hastalığının tanımlanmasının üzerinden 150 yıldan daha uzun bir süre geçmiş olmasına rağmen, bu hastalıkta asıl tümöral hücreler olan RS hücrelerinin kökeni henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Yapılan çok sayıda çalışmada makrofaj histiyosit, dendritik retikulum hücreleri, granülosit veya T ya da B lenfosit orijinli olduğuna ilişkin sonuçlar bildirilmektedir (3,4,7). Fakat bu neoplastik hücreler sıklıkta total popülasyondaki hücrelerin % 0.5'inden daha az olduğu için, yapılan sitogenetik çalışmalarda kültürde yer alan hücrelerin çoğu reaktif hücreler olmaktadır (8).

Bu çalışmada Hodgkin hastalığı tanısı alan olguların, histopatolojik gruplarına göre akım sitometri cihazı ile DNA ploidi ve % SPF'leri araştırılmıştır. Literatürde bu konuda yapılmış çok az çalışmaya rastlanmıştır. Histopatolojik tiplerine ayrılmadan yapılan az sayıda çalışma sonuçlarında, sıklıkla diploidi ve % SPF'nun düşük olduğu bildirilmiştir (9).

Çalışmamızda histopatolojik grupların sayısı az ve orantılı bir dağılımda olmadığı için istatistiksel çalışma yapılmamıştır. Nodüler sklerozan tipteki olgu sayısı tek olduğu için yorumlama mümkün olmamakla birlikte, diğer gruplar gözönüne alındığında lenfositten fakir tip olguların % 50'si aneuploid ve bu olguların % SPF'unun % 40.2 olması dikkat çekicidir. Olgu sayısının en fazla olduğu mikst sellüler tipte % 22 aneuploidi, lenfositten zengin tipteki grupta ise % 14.2 aneuploidi saptanmıştır. Literatürde yapılan çalışmalarda Hodgkin hastalığında asıl tümör hücreleri olan RS hücrelerinin aneuploidi gösterdiği ve dokuda sayılarının azlığı nedeniyle gerçek sonucu yansıtmadığı görüşü de bildirilmektedir. En düşük oranda aneuploidi izlediğimiz lenfositten zengin tipte, histopatolojik olarak RS hücrelerinin az görülmesi, buna karşılık RS hücrelerinin en fazla görüldüğü tip olan lenfositten yoksun tip olgularda, en yüksek oranda aneuploidi saptanması literatür bulguları ile uyumludur.

Literatürde sentez fazları ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanılmadığından, sonuçlarımızın yorumlanması için bu konuda daha

geniş serilerde çalışmalar yapılmasının uygun olacağı kanısındayız. Ayrıca bu hastaların uzun süreli takiplerinin yapılarak, sonuçlarla prognoz arasındaki ilişkinin ortaya konulmasının anlamlı olacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Grace J, Hall B: Comparison of flow cytometric data obtained using fresh and paraffin embedded lymphoid tissue. *Anal Quant Cytol Histol* 1989; 11: 67-71.
2. Pelstring RJ, Hurtubise PE, Swerdlow SH: Flow Cytometric DNA analysis of hematopoietic and lymphoid proliferations: A comparison of fresh, formalin fixed and B5-fixed tissue. *Hum Pathol* 1990; 21: 551-558.
3. Pinkus GS, Pinkus JL, Langhoff E, et al.: Fascin, a sensitive new marker for Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. Evidence for a dendritic or B cell derivation. *Am J Pathol* 1997; 150: 543-562.
4. Schlaifer D, Marc M, Krajewski S, et al.: High expression of the bcl-x gene in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *Blood* 1995; 85 (15): 2671-2674.
5. Daus H, Trümper L, Roth J, et al.: Hodgkin and Reed-Sternberg cells do

TABLO 2: LENFOSİTTEN ZENGİN TİP OLGULARDA BULGULAR

OLGULAR	YAŞ	CİNSİYET	LOKALİZASYON	HİSTOPATOLOJİK TANI	DNA PLOİDİ	% SPF
1	9	K	sağ servikal lenf nodu	lenfositlen zengin tip	diploid	12.8
2	47	E	sağ servikal	lenfositlen zengin tip	diploid	3.9
3	25	E	sağ aksiller bölge	lenfositlen zengin tip	diploid	9
4	32	E	posterior servikal bölge	lenfositlen zengin tip	diploid	3.8
5	32	K	servikal bölge	lenfositlen zengin tip	% 48.3 aneuploid % 51.7 diploid	28.5 16.4
6	49	K	Sağ supraklaviküler bölge	lenfositlen zengin tip	diploid	8.6
7	54	E	sağ aksiller bölge	lenfositlen zengin tip	diploid	5.2

not carry T-cell receptor Gamma gene rearrangements: Evidence from single-cell polymerase chain reaction examination. Blood 1995; 85 (6): 1590-1595.

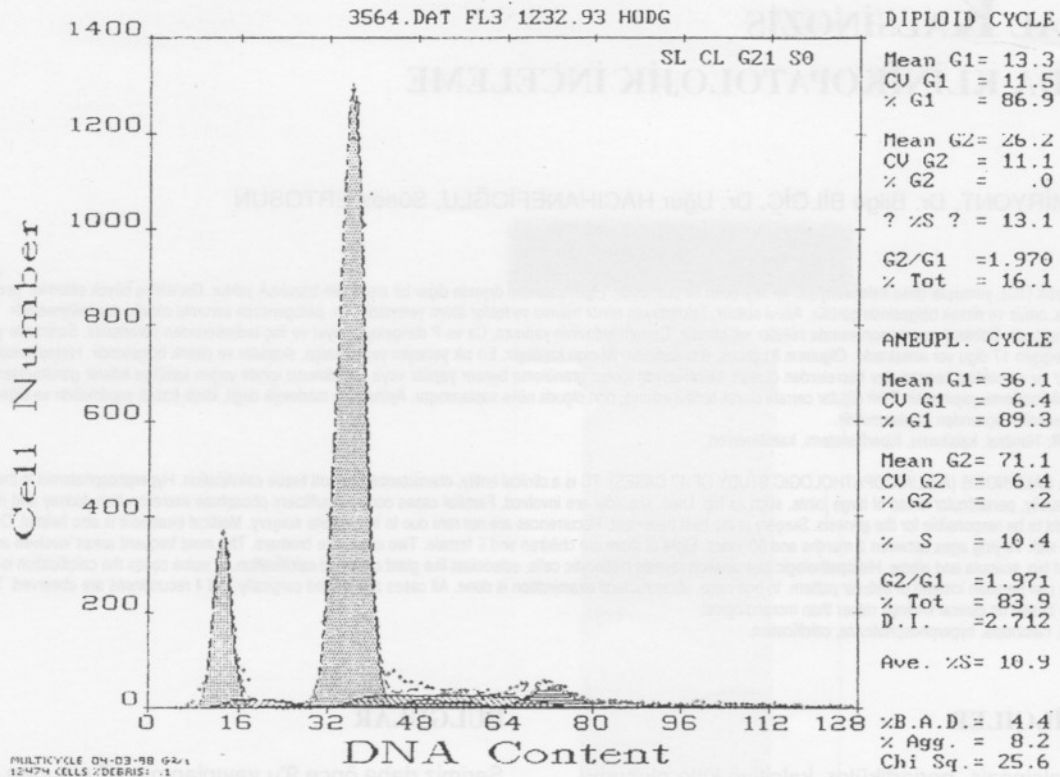
- Carbone A, Gloghini A, Gattei V, et al.: Expression of Functional CD-40 antigen on Reed-Sternberg cells and Hodgkin's Disease cell lines. Blood 1995; 85 (3): 780-789.
- Stansfeld AG, Ardenne AJD. Lymph Node Biopsy. Churchill Livingstone. Longman Group UK, 1992.
- Weiss LM, Lopatequi JR, Sun LP, et al.: Absence of the t(2;5) in Hodgkin's disease. Blood 1995; 85 (15): 2845-2847.
- Mc Intire TL, Goldey SH, Benson NA.: Flow cytometric analysis of DNA in cells obtained from deparaffinized formalin-fixed lymphoid tissue. Cytometry 1987; 8: 474-478.

TABLO 3: LENFOSİTTEN YOKSUN TİP OLGULARDA BULGULAR

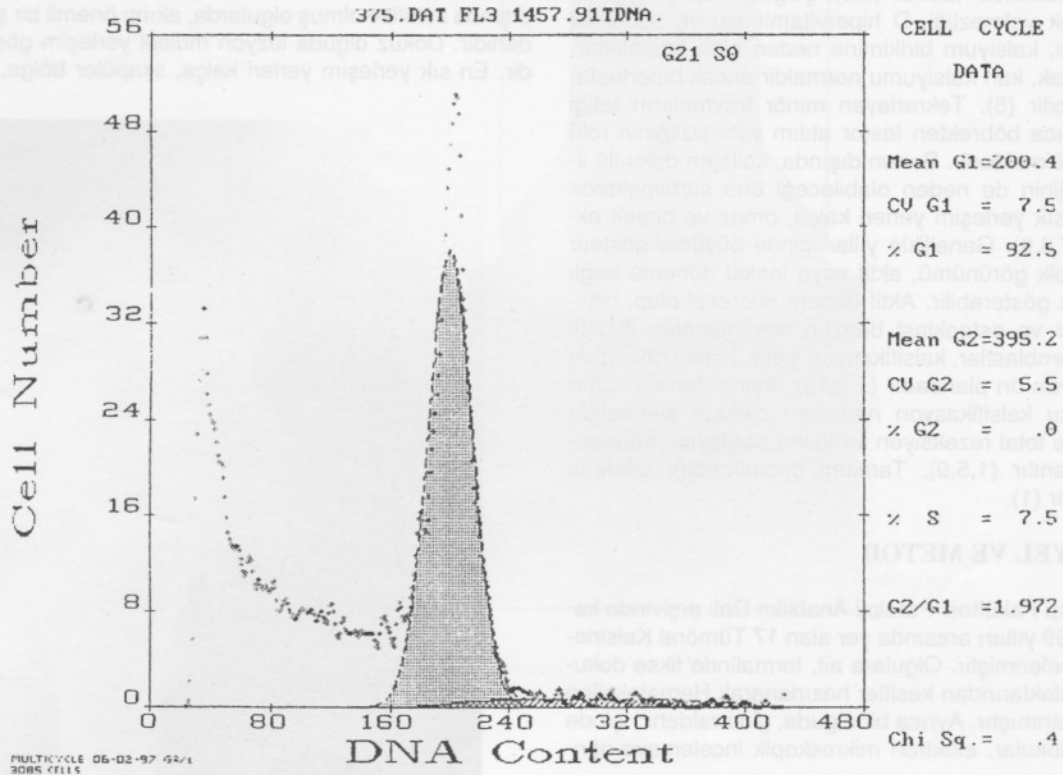
OLGULAR	YAŞ	CİNSİYET	LOKALİZASYON	HİSTOPATOLOJİK TANI	DNA PLOİDİ	% SPF
1	-	K	sol servikal	lenfositlen yoksun tip	% 42 aneuploid % 58 diploid	38.2
2	24	E	sol servikal	lenfositlen yoksun tip	% 35.8 aneuploid % 64.2 diploid	42.2
3	49	E	sol servikal	lenfositlen yoksun tip	diploid	5.1
4	12	K	submandibuler bölge	lenfositlen yoksun tip	diploid	9

TABLO 4: NODÜLER SKLEROZAN TİP OLGULARDA BULGULAR

OLGULAR	YAŞ	CİNSİYET	LOKALİZASYON	HİSTOPATOLOJİK TANI	DNA PLOİDİ	% SPF
1	46	E	supraklaviküler bölge	nodüler sklerozan	% 80.2 aneuploid % 19.8 diploid	2.1 28.4



Şekil 1: Mikst sellüler tip olgulardan birinde aneuploidi gösteren histogram.



Şekil 2: Mikst sellüler tip olgulardan birinde diploid siklus izlenen histogram.