

Gastrointestinal kanal lenfomalarında Bcl-6 immün belirleyicisi ile diffüz büyük B-hücreli lenfomalarda sentroblastik-immünoblastik varyantların ayırımı*

Differentiation of centroblastic and immunoblastic types of diffuse large B cell lymphomas with Bcl-6 in the lymphomas of the gastrointestinal tract.

Cem ÇOMUNOĞLU¹, Kemal TÜRKÖZ¹, Deniz ÖZCAN¹, Atilla MAYDA²

¹ SSK Okmeydanı Eğitim Hastanesi, Patoloji Bölümü, İSTANBUL²

² Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı, DÜZCE

* 29-31 Mayıs 2003 tarihleri arasında Konya'da düzenlenen XVI. Ulusal Patoloji Kongresi'nde Poster olarak sunulmuştur.

Bu çalışmada, gastrointestinal kanal lenfomaları histopatolojik ve immünohistokimyasal özellikleri açısından değerlendirilerek bu konudaki yeni gelişmeler ışığında bu vakalar yeniden gözden geçirilmiş; ayrıca bcl-6 immünbelirleyicisi yardımıyla diffüz büyük B-hücreli lenfomaların sentroblastik-immünoblastik varyantlarının ayırımı araştırılmıştır.

SSK Okmeydanı Hastanesi Patoloji Laboratuvarına 1.1.1997-30.4.2002 tarihleri arasında gönderilen 45 gastrointestinal kanal lenfomasının H-E kesitleri geriye dönük olarak değerlendirilmiş, diffüz büyük B-hücreli lenfomalarda sentroblastik-immünoblastik varyantların ayırımı için 23 sentroblastik, 3 immünoblastik varyant diffüz büyük B-hücreli lenfomalara immünohistokimyasal olarak bcl-6 belirleyicisi uygulanmıştır.

Bcl-6 immün boyanma özelliklerine göre diffüz büyük B-hücreli lenfomaların immünoblastik varyantında boyanma saptanmazken sentroblastik varyantta %83 oranında immünpozitiflik saptanmıştır.

Bu çalışmada bcl-6 immün belirleyicisinin diffüz büyük B-hücreli lenfomaların sentroblastik ve immünoblastik varyantlarının ayırımında kullanılabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: lenfoma, bcl-6, diffüz büyük B-hücreli lenfoma.

We evaluated histopathological and immunohistochemical features of gastrointestinal tract lymphomas within the perspective of new scientific findings, and tried to differentiate the centroblastic and immunoblastic variants of diffuse large B-cell lymphomas by using bcl-6 immunomarker.

Forty-five gastrointestinal tract lymphomas sent to the pathology department of Okmeydanı SSK Hospital between 1.1.1997-30.4.2002 reevaluated, and bcl-6 immunomarker applied for 23 centroblastic and 3 immunoblastic variants of large B-cell lymphomas in order to differentiate these variants.

None of immunoblastic variant cases showed immune reactivity for bcl-6 whereas centroblastic variant cases showed immunopositivity in 19 of 23 (83%).

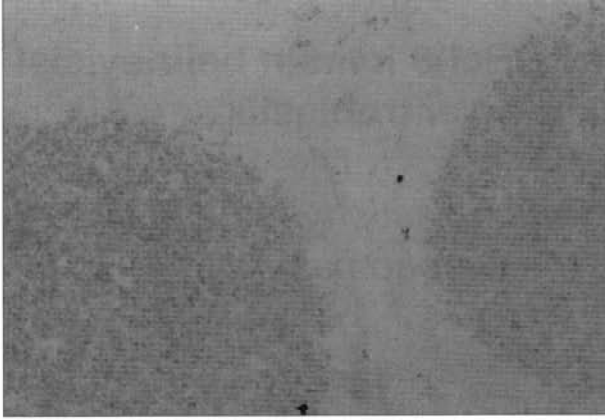
It can be claimed that centroblastic and immunoblastic variants of diffuse large B-cell lymphomas can be differentiated by using bcl-6 immunomarker.

Key words: lymphoma, bcl-6, diffuse large B-cell lymphoma

Primer gastrointestinal sistem lenfomaları tüm Non-hodgkin lenfomalar arasında %4-20 arasında bir yüzde ile karşımıza çıkan; tanımı, sınıflamaları ve prognozları konusundaki tartışmaların halen devam ettiği bir malignite grubudur. Lenfomalar konusundaki bilgilerimiz artıkça yeni sınıflamalara olan gereksinimimiz de artıyor ancak öğrenme süreci devam ettiğinden bu sınıflamalar da bize yetmiyor. Örneğin çok mixt bir popülasyon olan diffüz büyük B hücreli lenfoma (DLBCL) grubunun heterojen bir grup olduğu bilinmesine rağmen gerek prognostik gerekse histopatolojik ayırım net olarak yapılamıyordu. Moleküler biyoloji alanındaki araştırmalar bazı lenfomalarda sık görülen mutasyonları açığa çıkarıyor. BCL-6 onkogeninde görülen mutasyonların da büyük oranda DLBCL'lara özgü olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, primer gastrointestinal sistem lenfomalarında, immünohistokimyasal yöntemlerle mutasyonlu genin ürünü olan proteini işaretleyerek bcl-6 mutasyonunun sıklığı saptanmaya çalışıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

A. Olgu Seçimi: SSK Okmeydanı Eğitim Hastanesi Patoloji bölümünde 1. 1. 1997-30.4. 2002 tarihleri arasında gastrointestinal sistem lenfoması olarak değerlendirilen 45 vaka arasından DLBCL tanısı alan 33 vaka



Resim 1 : Tonsil kesitlerinde germinal merkezlerde sentrosit ve sentroblastlarda nükleer bcl-6 immüno pozitifliği (Bcl-6 x100).

çalışma için seçildi. Yaş, cinsiyet, yerleşim yeri, histopatolojik ve immünohistokimyasal özellikleri biyopsi raporlarından öğrenildi. Ulaşılabilen hastaların klinik gidişleri saptanmaya çalışıldı.

B. Rutin İncelemeler:

1. Boyalar: Tüm olgular, parafin bloklara yapılan 4 µ kalınlığındaki Hematoksilen- Eozin kesitleri incelenerek retrospektif olarak morfolojik özelliklerine göre değerlendirildi. BCL-6 translokasyonunun sıklığını saptamak amacıyla hastalıklı gen ürünü proteinin saptanmasına yönelik bcl-6 immünohistokimyasal çalışması, uygun kesit alınabilen bloklara uygulandı:

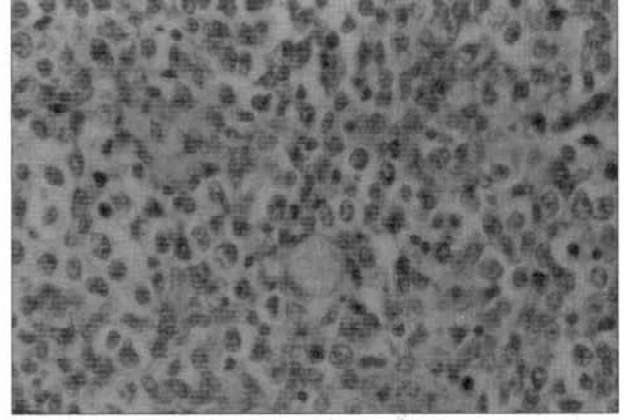
2. Histolojik Kriterler: International Working Formulation'a göre daha önceden tanı konulmuş vakalar 1988'de Isaacson tarafından ortaya atılan sınıflama ⁽¹⁾, şu an için geniş kabul gören REAL ⁽²⁾ ve 2000 WHO ^(3,4) sınıflama kriterlerine göre histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilerek kategorize edildi.

BCL-6 immüno pozitivitesinin değerlendirilmesinde kontrol olarak reaktif tonsilla palatina kesitleri kullanıldı. Boyanmayı pozitif olarak kabul etmek için tümör hücrelerinin en az %10'unda nükleer boyanma koşulu arandı (Resim 1).

BULGULAR

Serimizde toplam 45 gastrointestinal kanal lenfomasından 30'u DLBCL-sentroblastik varyant, 3'ü DLBCL-immüno blastik varyant tanısı almıştır. 30 sentroblastik varyant vakasının 23'üne ve 3 immüno blastik varyant vakasının tamamına immünohistokimyasal olarak bcl-6 belirleyicisi çalışılmıştır.

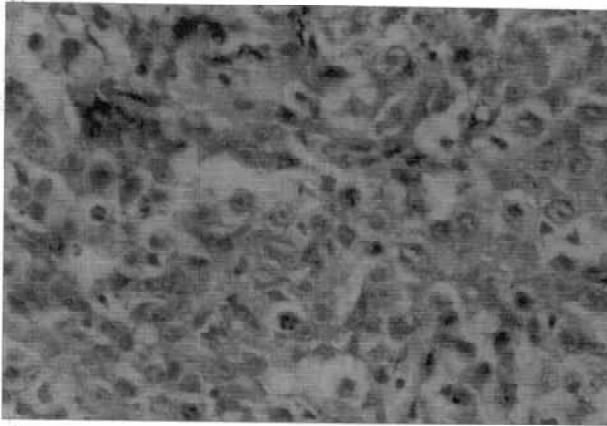
DLBCL'ların sentroblastik ve immüno blastik varyantları arasındaki bcl-6 immüno boyanma oranları karşılaştırılmıştır. Immüno blastik varyantta bcl-6 ile immüno boyanma görülmezken (0/3), sentroblastik varyantta %83 oranında (19/23) immüno pozitiflik saptanmıştır.



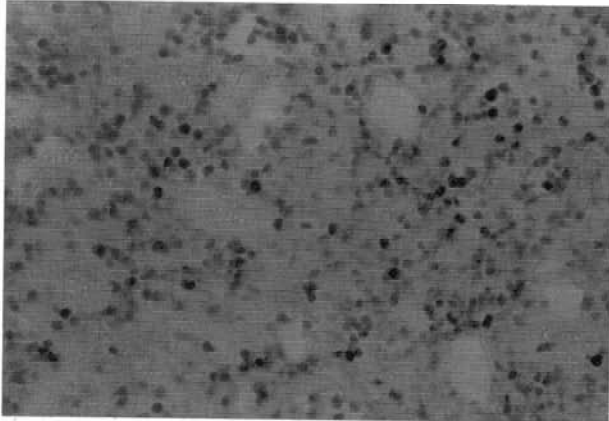
Resim 2 : Diffüz büyük B-hücreli lenfoma sentroblastik varyantta sentroblast popülasyonu. (H-E x200).

TARTIŞMA

Diffüz büyük hücreli lenfomalar genel anlamda çoğunluğunu iri nükleuslu hücrelerin oluşturduğu lenfoma grubudur. Bu iri hücreleri morfolojik olarak ayırma girişimi ilk lenfoma sınıflamalarıyla başlar. Özellikle sentroblastik ve immüno blastik varyantların ayırımı, immüno blastik olarak tanımlanan lenfomaların kötü klinik gidişinin gözlemlenmesi nedeniyle önem verilen bir konu olmuştur. Gerek WF'da ⁽¹⁾ gerekse Kiel sınıflamasında ⁽⁵⁾ bu varyantlar farklı prognostik gruplara ayrılmıştır. Sentroblastlar şöyle tanımlanmıştır ⁽¹⁾: orta-büyük hücre boyutunda; büyük yuvarlak veya oval nükleusları ve çok sayıda orta büyüklükte, nükleer membrana yakın nükleoli bulunan hücreler. Immüno blastlar ise şöyle tanımlanmıştır ⁽²⁾: Yoğun bazofilik geniş sitoplazma, monoton nükleusları olan büyük boyutta hücreler. Tipik olarak soliter ve büyük veya çok sayıda, çoğunlukla merkezi nükleol içerirler. Bu tanımlar objektif görünmekle birlikte oldukça subjektiftir. Kesitlerin kalınlığı, oryantasyonu bu değerlendirmeyi etkileyecektir. Diffüz büyük hücreli lenfomaların ayırımı konusuna en fazla Kiel grubu önem vermiştir. Ancak ayırımın güçlüğüne fark edip çalışmalarında optimal sonuçların ince kesitlere uygulanacak kaliteli Giemsa boyalarıyla elde edilebileceğini de belirtmişlerdir ⁽⁶⁾. Bir diğer tartışma konusu da sentroblastik lenfoma- immüno blastik lenfoma tanımları ile ilgilidir. Literatüre baktığımızda bu konuda tek bir kriter olmadığı, var olan tanımların belirsiz olduğu görülmektedir ^(6,7). Bcl-6 gen değişiklikleri ile ilgili çalışmalar bu gen bozukluğunun DLBCL'larda sık gözlemlendiğini saptamıştır ^(8,9). Bu gen bozukluğunun ve gen ürünü immünohistokimyasal olarak saptanan ekspresyonunun prognostik önemi olduğuna dair farklı sonuçlar ileri süren birçok çalışma yayınlanmıştır ^(10,11). Bcl-6'nın önemi sentroblastik- immüno blastik varyantları immüno boyanma farklılığına göre ayırdettiği gösterilince artmıştır. Immüno blastik varyantın sentroblastik varyanta göre hastaliksız ve genel sağkalım açısından daha kötü gidişli olduğunu gösteren çalışmaların varlığında ⁽⁶⁾ değerli bir



Resim 3 : Diffüz büyük B-hücreli lenfoma immünoblastik varyantta immünoblast popülasyonu (H-E x200).



Resim 4 : Diffüz büyük B-hücreli lenfoma sentroblastik varyantta nükleer bcl-6 immünopozitifliği (Bcl-6 x200)

belirleyici olabileceği düşünülmüştür. 2000 WHO sınıflamasında ⁽⁴⁾ DLBCL'nın varyantları prognostik gruplar olarak değil ama araştırmaya açık varyantlar olarak yer almışlar ve şöyle tariflenmişlerdir: Sentroblastik: Hücrelerin %10'undan fazlası sentroblastlara benzer; tümör hücreleri multilobe olabilir veya %90'a kadar immünoblastlarla karışık olabilir (Resim 2). İmmünoblastik: Hücrelerin %90'dan fazlası immünoblastlara benzer (Resim 3). Yukardaki tanımlardan da anlaşılacağı üzere DLBCL'larda değişik oranlarda immünoblastlar bulunabilir. Serimizde sentroblastik olarak gruplandırdığımız birçok vakada immünoblast gözlemledik. İmmünoblastik varyant diyebilmek için yukardaki WHO kriterlerini kullandık ve 3 vakayı immünoblastik varyant olarak değerlendirdik. Bu üç vakada bcl-6 immünopozitifliği saptayamadık. Sentroblastik varyant olarak değerlendirdiğimiz 23 vakanın 19'unun bcl-6 ile immün pozitif boyandığını saptadık (Resim 4). Boyanma oranı %83'tür. Serimizde immünoblastik varyant grubundaki hücre sayısı az olduğu için istatistiksel analiz yapılamamıştır

ancak iki grup arasındaki boyanma farklılığı dikkate değerdir. Skinnider ve ark.larının çalışmalarında ⁽⁷⁾ sentroblastik varyantın bcl-6 ile boyanma oranı %82, immünoblastik varyantın boyanma oranı %27 olarak belirtilmiş ve bu boyanma farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna göre, çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde DLBCL'larda sentroblastik-immünoblastik varyantların ayırımında Bcl-6 immün belirleyicisi yardımcı olabilir görüşü desteklenmektedir. Bu ayırımın klinik öneminin netleşebilmesi için ise klinik takibi yapılmış daha geniş vaka sayısı içeren gruplardan oluşan kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Böylelikle ileride ortaya atılacak yeni lenfoma sınıflamalarında DLBCL'ların kendi içinde prognostik kategorizasyonu mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

- 1- Isaacson PG, Spencer J, Wright DH. Classifying Primary Gut Lymphomas. *Lancet* 1988; 2: 1148-1149
- 2- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JKC, Cleary ML, et al. A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms: A Proposal From the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-92
- 3- Jaffe ES, Berard CW, Harris NL, Chan JKC, Stein H, Vardiman JW. Proposed World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Am J Surg Pathol* 1997; 21:114-21
- 4- Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman K, et al. The World Health Organization Classification Of Hematological Malignancies Report Of The Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. *Mod Pathol* 2000; 13: 193-207
- 5- Stansfeld AG, Diebold J, Noel H, et al. Updated Kiel Classification For Lymphomas. *Lancet* 1988; 1: 292-3
- 6- Engelhard M, Brittinger G, Huhn D, Gerhartz HH, Meusers P, Siegert W, et al. Subclassification of Diffuse Large B-Cell Lymphomas According to the Kiel Classification: Distinction of Centroblastic and Immunoblastic Lymphomas Is a Significant Prognostic Risk Factor. *Blood* 1997; 89: 2291-7
- 7- Skinnider BF, Horsman DE, Dupuis B, Gascoyne RD. Bcl-6 and Bcl-2 Protein Expression in Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Follicular Lymphoma: Correlation With 3q27 and 18q21 Chromosomal Abnormalities. *Hum Pathol* 1999; 30: 803-8
- 8- Ye BH, Lista F, Lo Coco F, Knowles DM, Offit K, Chaganti RSK et al. Alterations of a Zinc Finger-Encoding Gene, BCL-6, in Diffuse Large Cell Lymphoma. *Science* 1993; 262: 747-50
- 9- Lo Coco F, Ye BH, Lista F, Corradini P, Offit K, Knowles DM et al. Rearrangements of the BCL6 Gene in Diffuse Large Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 1994; 83: 1757-59
- 10- Offit K, Lo Coco F, Louie DC, Parsa NZ, Leung D, Portlock C, et al. Rearrangement of the bcl-6 Gene as a Prognostic Marker in Diffuse Large- Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 1994; 331: 74-80
- 11- Bastard C, Deweindt C, Kerckaert JP, Lenormand B, Rossi A, Pezzella F, et al. LAZ3 Rearrangements in Non-Hodgkin's Lymphoma: Correlation With Histology, Immunophenotype, Karyotype, and Clinical Outcome in 217 Patients. *Blood* 1994; 9: 2423-7