

Lenfoid Lezyonlarda S-100 Protein ve Vimentin ile Retikülüm Hücrelerinin Değerlendirilmesi*

Dr. Funda Demirağ¹, Dr. Bedri Kandemir¹, Dr. Filiz Karagöz¹,
Dr. Şükrü Özdamar¹, Dr. Sancar Barış¹

ÖZET

Lenf bezi lezyonlarında fibroblastik retikülüm hücreleri (FRC) ve folliküler dendritik retikülüm hücrelerinin (DRC) dağılımlarını ve anlamlarını gösterebilmek amacıyla 1987-1993 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gelen 75 adet lenf bezi seçildi ve bunlar vimentin ve S-100 protein ile boyandı.

Hodgkin lenfomalarında vimentin ile Reed Stenberg hücrelerinde yoğun bir boyanma elde edilirken non-Hodgkin lenfoma, reaktif lenf bezleri, lenfadenitler ve metastatik lenf nodlarında vimentin ile boyanmış dendritik hücrelerin gevşek alveoler bir çatı oluşturduğunu gördük. Bütün gruplarda S-100 protein ile boyanmış, morfolojisi Interdigitating Retikülüm hücrelerine (IRC) benzeyen az sayıda, tek tek dağılmış hücreler tespit edildi.

Çalışmamızda vimentinin FRC'lerin yanısıra Reed Stenberg hücreleri, epitelioid histiositler ve Langhans tipi dev hücreler için iyi bir belirleyici olduğu, S-100 protein ile boyanmış, IRC'lerin aynı lezyonlarda daha az sayıda olduğunu bulduk.

Anahtar Kelimeler : Lenfoid Lezyon, S-100 Protein, Vimentin

GİRİŞ

Lenf doku kompleksi içinde yer alan hücresel elemanların benign ve malign lezyonlarındaki dağılımları ve taşıdıkları anlamlar geniş kapsamlı araştırmalarda incelenmiş ve oldukça ileri seviyelerde bilgi edinilebilmiştir.

Buna rağmen lenfoid dokuların klasik retikülüm hücreleri olan fibroblastik retikülüm hücreleri (FRC) ve folliküler dendritik retikülüm hücreleri (DRC)'nin benign ve malign lezyonlardaki davranışları hakkında henüz yeterli bilgiye sahip değiliz.

Biz bu çalışmamızda, FRC'ler için vimentini, DRC'ler için de S-100 proteini belirleyici (marker) olarak kullanarak, bu iki hücrenin hem benign hem de malign lenfoid lezyonlardaki pozisyonlarını ve anlamlarını araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

1987-1993 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gelen lenf nodu biyopsilerinden 75 vakanın Hematoxylin-Eozin kesitleri yeniden değerlendirilerek nonneoplastik hastalıklar, lenfomalar ve metastatik lenf nodları, olmak üzere 25'er vakadan oluşan 3 grup oluşturuldu.

SUMMARY

We analysed the distribution of fibroblastic reticulum cells (FRCs), as visualized by the anti-vimentin (V9) monoclonal antibody and anti S-100 protein in human reactive and neoplastic lymphoid follicles.

Reed Stenberg cells in Hodgkin Lymphoma were strongly vimentin-positive. Dendritic cells in non-Hodgkin Lymphoma, reactive lymph nodes, lymphadenitis and metastatic lymph nodes were vimentin-positive and were distributed rarely. In all groups Interdigitating Reticulum like cells (IRCs) were immunostained for S-100 protein and were scattered.

Based on these results, vimentin is a marker for FRC, Reed Stenberg cells, epithelioid histiocytes and Langhans scanty like cells; in these lesions S-100 protein positive IRCs were scanty.

Key Words : Lymphoid Lesion, S-100 Protein, Vimentin

İlk grupta 4 tüberküloz lenfadenit, 2 granülomatöz lenfadenit, 1 fibrotik lenf bezi, 11 reaktif lenf bezi, 1 Toxoplazma lenfadeniti, ve 6 kronik lenfadenit mevcuttu.

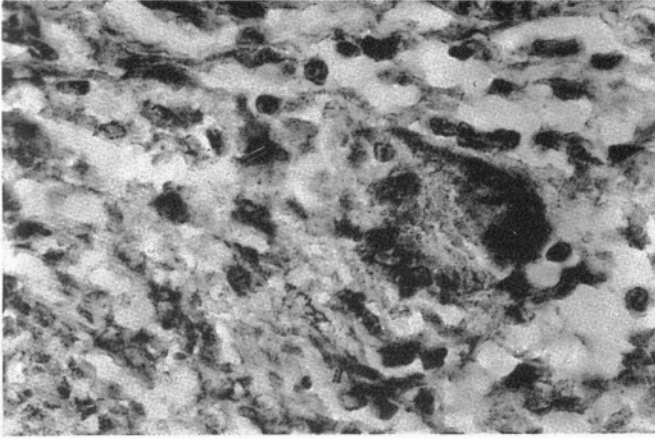
İkinci grubu Hodgkin ve NonHodgkin Lenfomaları (NHL) oluşturmakta olup, Hodgkin lenfomalar "Rye klasifikasyonu" NHL'ar ise "Workisng Formulation" kullanılarak sınıflandırıldı. Hodgkin lenfoma vakaları 5'i Mixed Cellularity (MS), 3'ü Lymphocyte Predominance (LP), 2'si Lymphocyte Depletion (LD) ve 2 tanesi de Nodular Sclerosis (NS) tip olmak üzere 12 vaka, NHL'lar ise 3 adet Small Lymphocytic Lymphoma (SLL) 3 adet Lenfoblastik, 3 adet İmmünoblastik, 3 adet Diffüz Large Cell ve 1 adet Small and Large Cell (SLC) olmak üzere 13 vakadan oluşmaktadır.

Üçüncü grupta ise 6 adenokarsinom, 4 epidermoid karsinom ve 4 adet infiltratif duktal karsinom, 2 nöroblastom ve 2 adet infiltratif lobüler karsinom ile 1 adet tiroidin medüller karsinomu, 1 adet malign melanom, 1 adet Wilm's tümörü, 1 adet transiyonel hücreli karsinom, 1 adet malign mikst tümör ve 1 adet memenin medüller karsinomunun lenf nodu metastazlarından oluşan 25 vaka yer almaktaydı.

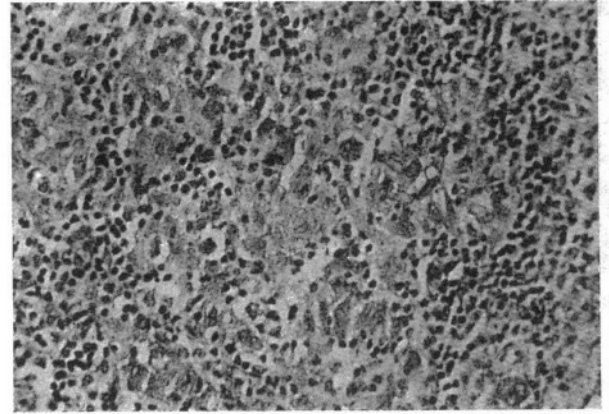
Vakaların parafin bloklarından 6 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Seri kesitlerin bir bölümüne Harris Hematoxylin Eozin boyandı. Diğer bölümüne ise anti-S-100 protein (ImmuSta-

* Bu makale XI. Ulusal Patoloji Kongre'sinde Sözel Bildiri olarak sunulmuştur.

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD



Resim 1 : Langhans tipi dev hücreler ve epitelioid histiositlerde 3 şiddetinde vimentin immün reaksiyonu (Vimentinx1000).



Resim 2 : Toxoplazma lenfadenitinde, TBM'lar ve epitelioid hücreler (Vimentinx400).

in, DPC, LA- California, C:15E2E2) ve antivimentin (ImmuStain DPC, LA- California C: V9) antikoları kullanılarak, immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Çalışmada Strept Avidin Biotin boyama metodu (ImmuStain Universal Kiti, DPC, LA- California) ile S-100 protein için pozitif kontrol olarak periferik sinir kesitleri, vimentin için ise meme dokusu kullanıldı. Her gruptan 2 vakaya negatif kontrol uygulandı.

BULGULAR

Hematoxylin -Eozin boyamalarında tip tayinleri yeniden belirlendikten sonra immünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde hem S-100 protein hem de vimentin için, yalnızca belirgin sitoplazmik ya da sitoplazma membranını çizer tarzdaki boyanma olan hücreler pozitif kabul edildi⁽¹⁾.

Kapsül, kan damarları, sinüsler, dendritik ve lenfoid hücrelerdeki boyanmalar ayrı ayrı değerlendirilip 0'dan 3 pozitif kadar skorlandı. Eğer boyanma yoksa 0, zayıfsa 1, orta derecede ise 2, yoğun boyanma varsa 3 olarak değerlendirildi⁽²⁾. Dendritik hücrelerin subtiplerini lokalizasyon ve histolojik özellikleri yardımı ile tanımladık. Tip veremediklerimizi "dendritik hücre" olarak ifade ettik.

Granülomatöz lenfadenit vakalarının hepsinde Langhans tipi dev hücreler ve epitelioid histiositler ile vasküler yapılarda yoğun vimentin pozitifliği izlendi. Çevrelerindeki lenfoid doku içinde de yoğun boyanma gösteren dendritik hücreler vardı. (Resim 1).

Reaktif lenf bezlerinde ve kronik lenfadenitlerde germinal merkez içinde Tingible Body Makrofaj (TBM)'lar, parakorteksde ise seyrek dağılmış dendritik hücreler ile sinüzoidler içindeki histiositlerin vimentin pozitif immünreaksiyon gösterdiği dikkati çekti.

Toxoplazma lenfadeniti tanısı almış bir vakada germinal merkezde TBM, korteksde dağılmış epitelioid hücre kümeleri ile bunların çevresinde yoğun bir şebeke oluşturmuş dendritik hücrelerin 3 pozitif şiddetinde vimentin immün reaksiyonu gösterdiği izlendi. (Resim 2)

12 adet Hodgkin lenfoma vakasında Klasik Reed Stenberg hücreleri vimentin ile yoğun boyanırken, mononükleer varyantları ve Lakuner hücreler daha zayıf pozitif reaksiyon gösteriyordu. Büyük büyütme altında stroma incelendiğinde dendritik morfolojiye sahip hücrelerin Reed Stenberg hücreleri ve vasküler yapılar çevresinde yoğunlaştığı dikkati çekti. LD tip Hodgkin vakalarından birinde dendritik hücrelerin az sayıda olduğu, diğer 2 LD tip ve LP tip Hodgkin vakasında ise homojen dağılım gösterdiği görüldü. (Resim 3).

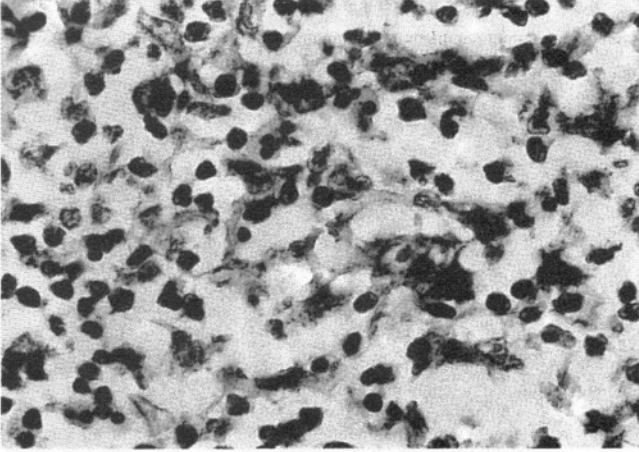
13 NHL vakası içinde, large cell lenfoma tanısı almış 1 vaka hariç, diğerlerinde vimentin ile değişik hücresel elemanlara ait boyanma elde edildi.

TBM'lerin ve histiositlerin 3 pozitif şiddetinde boyandığı dikkati çekti. Büyük büyütme altında dendritik morfolojili hücreler incelendiğinde SLL'da gevşek alveoler bir çatı oluştururken, Lenfoblastik, Immünoblastik ve Mixt Small and Large Cell'de tek tek çatı oluşturmaksızın dağıldığı görüldü. (Resim 4).

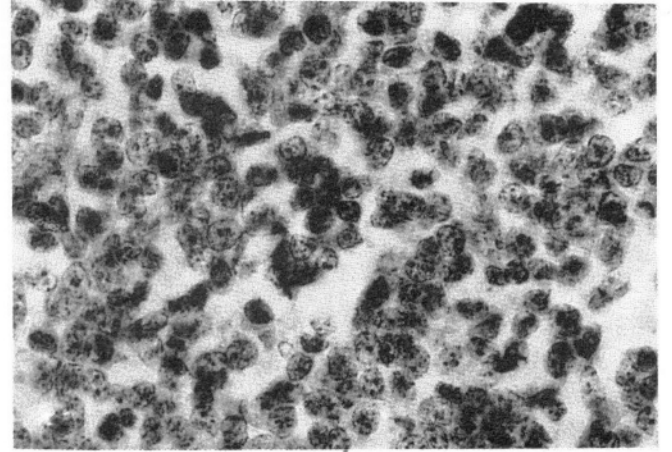
Lenfomalarda dendritik morfolojiye sahip olan hücrelerde çekirdeği örtecek kadar yoğun 3 pozitif S-100 protein boyanması mevcuttu. MS tip Hodgkin vakalarında bu hücrelerin az sayıda, tek tek dağılarak, şebeke oluşturmadığı dikkati çekti. Boyanma tespit edilen NS Tip Hodgkinli bir vakada bu hücrelerin lakuner hücreleri çevreler tarzda yerleştiği görüldü. (Resim 5).

Metastatik lenf bezlerinde 3 pozitif S-100 protein pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin parakortikal saha içinde tek tek dağıldığı, 1 vakada ise tümör adaları çevresinde ve içinde S-100 protein pozitif hücrelerin bulunduğu gözlemlendi.

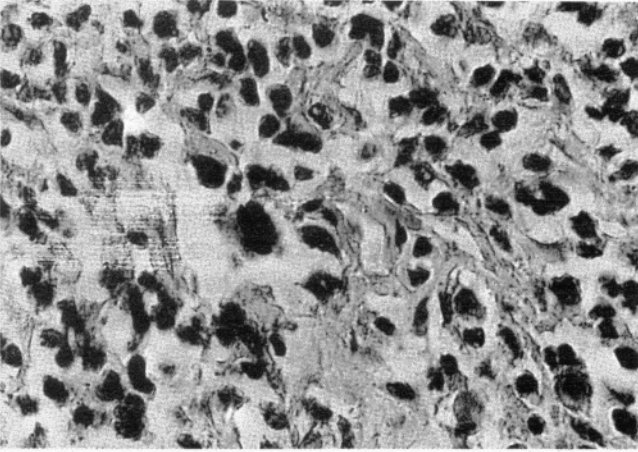
Vimentin ve S-100 proteine ait boyanma bulguları karşılaştırıldığında epitelioid histiositler Langhans tipi dev hücreler ve Reed Stenberg hücreleri vimentin ile 3 pozitif yoğun immün reaksiyon gösterdiği halde S-100 proteininin bu hücrelerde bulunmadığı gözlemlendi. Dendritik hücrelerin ise vimentin ile daha yaygın ve 3 pozitif immün reaksiyon gösterdiği S-100 protein ile de yine 3 pozitif şiddetinde ancak daha az sayıda hücrenin boyandığı dikkati çekti.



Resim 3 :Klasik Reed Stenberg hücreleri 3 şiddetinde vimentin immünreaksiyonu (Vimentinx1000).



Resim 4 : Small and Large Cell Lenfomada dendritik hücreler (Vimentinx1000).



Resim 5 :NS tip Hodgkin'de dendritik hücreler (S-100 proteinx1000).

TARTIŞMA

Lenfoid dokunun stromasını oluşturan 4 tip hücre tanımlanmıştır. Bunlar histiositler, Interdigitating retikülüm hücreleri (IRC), folliküler dendritik retikülüm hücreler (DRC), ve fibroblastik retikülüm (FRC) hücrelerdir. Enzim ve elektron mikroskopik çalışmalar sonucunda DRC'nin FRC'den köken aldıkları ortaya konmuştur^(3,4). FRC'ler retikülüm liflerini oluşturup ona paralel dizilirken, DRC'ler humoral immün cevapta aksesuar hücre olarak görev almaktadır^(4,5,6). Yapılan çalışmalarda lenfoid dokunun bütün dendritik retikülüm hücrelerinin vimentin ile immün reaksiyon gösterdiği ortaya konmuştur⁽⁷⁾.

Çalışmamızda vimentin immünreaksiyonun granülomatöz yapıları bu kadar iyi ortaya koyması, yapısını oluşturan epitelooid histiosit ve Langhans tipi dev hücrelerin kökeninin vimentin pozitif boyanan makrofajlar olmasından kaynaklanmaktadır^(3,8). Şüpheli vakalarda bu boyanma özelliği kullanılarak granülomatöz yapılar ortaya çıkarılabilir.

Hodgkin lenfomalarında yapılan immünohistokimyasal çalış-

malarda Reed Stenberg hücreleri ve onun mononükleer varyantlarının antiijenik fenotiplerinin normal lenf nodundaki herhangi bir hematopoetik hücreden çok dendritik hücrelere benzediği ortaya konmuştur^(9,11) 1990 yılında Sarker ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile Reed Stenberg hücrelerinin vimentin ile boyandığı, bunlar için bir belirleyici olarak kullanılabileceği kabul edilmiştir⁽¹¹⁾. Bizim çalışmamızda bütün Hodgkin vakalarında Reed Stenberg hücrelerinde yoğun boyanma tespit ettik. Bu, Reed Stenberg hücrelerinin, dendritik hücre kökenli olduğunu destekler bir bulgudur.

Hodgkin ve NonHodgkin lenfomalarda fibröz doku miktarındaki artış hastalığın yayılmasına karşı konağın verdiği reaksiyon olup iyi prognozun işaretidir. Lenfoma hücrelerinin retikülüm yapılıması için dendritik hücreler üzerine indükleyici etkisi olduğu ileri sürülmektedir⁽²⁾. Çalışmamızdaki LD tipi Hodgkin vakasında dendritik hücrelerin az sayıda oluşu bu tümörün agresiv seyri ile uyumludur.

Nodüler NonHodgkin lenfomalarda, neoplastik nodüllerin çevresinde vimentin pozitif FRC'ler dizilim göstermektedir⁽³⁾. Bizim NHL vakalarımızın hepsi diffüz yapıya sahip olup Hodgkin lenfomadan daha az sayıda dendritik retikülüm hücresi içermektedir. Bu özellik şüpheli vakalarda nodüler ve diffüz lenfomaların ayrıcı tanısında kullanılabilir.

Tsujitani ve arkadaşları tümör çevresinde T lenfositler ve dendritik hücrelerin antitümör sitotoksitesinde önemli rol oynamaları nedeni ile gastrik malign lezyonlarda dendritik hücre infiltrasyonu ile lenf nodu metastazı arasında ilişki olup olmadığını araştırmışlardır. Tümör çevresindeki dendritik hücre infiltrasyonunun tümör infiltrasyonunu engellemediğini, ancak nodal tutulumu önlediğini ortaya koymuşlardır⁽¹²⁾. Vimentin ile kapsül ve vasküler yapıların yoğun bir şekilde boyandığı, tümör adaları çevresinde ve parakortikal saha içinde dendritik hücrelerin gevşek bir ağ oluşturduğunu izledik. Bu metastaz oluşan lenf nodularında immün süpresyonun bir göstergesidir.

S- 100 protein; formalinle fikse, parafin kesitlerde DRC ve

IRC hücreleri için immünohistokimyasal bir belirleyicidir⁽¹³⁾. Biz çalışmamızda S-100 protein pozitif hücrelerin reaktif lenf nodları ve kronik lenofadenitlerde NHL'dakine benzer şekilde dağıldığını bulduk. Yalnızca granüloamatöz lenfadenitlerde, granüloamatöz yapıları çevreleyen IRC morfolojili S-100 protein pozitif hücreler vardır. Bizce de bu yoğunlaşma IRC'nin hücresele immün cevapta rol oynayan dendritik hücre olmasından kaynaklanmaktadır^(3,5).

Hodgkin lenfoma vakalarında IRC hücrelerine benzer morfolojideki S-100 protein pozitif hücrelerin az sayıda olduğu ve tek tek dağıldığı görüldü. Takeshita Hodgkin lenfoma tarafından tutulmuş bir dalakta, beyaz pulpadaki erken Hodgkin lenfoma odaklarının çevresindeki DRC şebekesinin kesildiğini gözlemiştir. İlerlemiş lezyonlarda DRC şebekesi neoplastik hücreler ve T lenfositleri tarafından tümüyle ortadan kaldırılmaktadır⁽¹⁴⁾. Bu gözlem bir dendritik hücre tipi olan IRC'nin Hodgkin lenfomalar-

da az sayıda oluşunu açıklamaktadır.

Lenf nodlarının stromasını oluşturan FRC'ler retikülüma tutularak lenf nodu volümü ile lenfosit migrasyon ve lokalizasyonu kontrol etmektedirler. FRC'lerin antijen transportunda önemli rol oynadığı ve immün kompleks yakalama yeteneği olduğu bilinmektedir⁽⁶⁾. Diğer yandan bu fonksiyonların çoğu folliküler DRC'lerde de tanımlanmış olup DRC'ler immünkompleks bağlama yeteneğindedir. Literatürde FRC ve DRC arasındaki histogeneze ait ilişki DRC için poliklonal S-100 protein ve FRC için monoklonal antivimentin antikoları kullanılarak "Double immunostaining" yöntemi ile gösterilmiştir⁽⁴⁾. Mantle zon ve germinal merkez içinde vimentin pozitif FRC'lerin ve S-100 protein pozitif DRC'lerin morfolojik bir ilişki olmaksızın immünohistokimyasal fonksiyonlarda rol oynadığı dikkati çekmiştir. Biz de çalışmamızda antivimentin pozitif ve S-100 protein pozitif boyanan hücrelerin dağılımlarının farklı olduğunu ve bu farkında tanı güçlüğü olan va-

KAYNAKLAR

1. Giorno R., Sciotto CG., Use of monoclonal antibodies for analyzing the distribution of the intermediate filament protein vimentin in human non-hodgkin's lymphomas. *Am J Pathol* 1985; 120: 35 1-355.
2. Karttunen M., Sakkinen MA., Alavaikko A., Blonco G., Aine R., Jürvinen M., Harmannan A. Characterization of extracellular matrix in Non-Hodgkin's lymphomas. *Path Res Pract* 1988; 183: 735-746.
3. Gloghini A., Volpe R., Carbone A. Vimentin immunostaining in Fibroblastik Reticulum cells within human reactive and neoplastic lymphoid follicles. *Hum Pathol* 1990; 21: 792-798.
4. Heusemann U., Zurbouru K.H, Schroeder L., Stutte H., The origin of the dendritic reticulum cells. *Cell Tissue Res* 1980; 209: 279-294.
5. Wacker H.H., Radzun H.J., Parwaresch M.R. Accessory cells in normal human and rodent lymph nodes: morphology, phenotype and functional implications. *Current Topics Pathology* 1990; 84: 193-218.
6. Tykocinski Mark, Schinella AR., Greco AM., Fibroblastic Reticulum Cells in human lymph nodes. *Arch Pathol Lab Med* 1983; 107: 418-422.
7. Azumi N., Battifora H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. *Am J Clin Pathol* 1987; 88: 286-296.
8. Cotran R.S., Kumar V., Robbins S.L. Robbins Pathologic Basis of Disease 4 th ed. Philadelphia: Saunders. 1989.
9. Kennedy CS., Hart DN., Colls BM., Nimmo JC., Willis DA., Angus HB., Nodular sclerosing, mixed cellularity and lymphocyte-depleted variants of Hodgkin's disease are probable dendritic cell malignancies. *Clin Exp Immunol* 1989; 76: 324 - 331.
10. Söderström KO., Rinne R., Hopsu-Havu VK., Järvinen M., Rinne A., et al. Hodgkin's disease: a malignancy of follicular dendritic cells *Lancet* 1994, 343; 422-3
11. Sarker AS., Akag T., Yoshino T., Hoshida Y., Takahassih K., Hone Y. Expression of vimentin and epithelial membran antigen in human malignant lymphomas. *Acta Pathol Jpn* 1990; 40: 581-587.
12. Tsujitani S., Kakeji Y., Watanabe A., Kohnoe S., Maehara Y., Sugimachi K. Infiltration of dendritic cells in relation to tumor invasion and lymph node metastasis in human gastric cancer. *Cancer*, 1990, 66: 2012-2016.
13. Carbone A., Poletti A., Manconi R., Volpe R., Santi L. Demonstration of S-100 protein distribution in human lymphoid tissues by the avidin - biotin complex immunostaining method. *Human Pathol* 1985; 16: 1157-1164.
14. Alavaikko M., Hansmann ML., Nebendahl C., Parwaresch MR., Lennert K., Follicular dendritic cells in Hodgkin's disease. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 194-200.