

# Enteropati-tipi T-hücreli lenfoma olgularında EBER in situ hibridizasyon yöntemiyle Epstein-Barr virüs ilişkisinin araştırılması

## Evaluation of the relationship of Epstein-Barr virus by Eber in-situ hybridization in cases of Enteropathy-type T-cell lymphoma

Başak DOĞANVAŞARGİL<sup>1</sup>, Serap KARAARSLAN<sup>1</sup>, Banu SARSIK<sup>1</sup>, Fatih TEKİN<sup>2</sup>, Meltem SEZİŞ<sup>3</sup>, SALİHA SOYDAN<sup>1</sup>, Mine HEKİMGİL<sup>1</sup>

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı<sup>1</sup>, Gastroenteroloji Bilim Dalı<sup>2</sup>, Nefroloji Bilim Dalı<sup>3</sup>, İZMİR

### ÖZET

“Enteropati-tipi T-hücreli lenfoma (ETTHL)”, intraepitelyal T-lenfositleri kökenli bir “matür ektranodal T ve NK hücreli lenfoma” türüdür. Tüm non-Hodgkin lenfomalar içerisindeki oranı %1’in altındadır. Gelişiminde gliadin hipersensitivitesi (Çöliak hastalığı) rol oynar. Ancak Güney ve Orta Amerika’dan bildirilen bazı vakaların Epstein-Barr virüsü (EBV) ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir.

Çalışmamızda, Anabilim Dalı’mızda ETTHL tanısı alan beş olgudaki EBV varlığı, EBV erken RNA (EBER) probu kullanılarak kromojenik in situ hibridizasyon yöntemiyle araştırılmıştır. Olgular, 1997-2007 yılları arasında, lösemik ve kutanöz tipler dışında ektranodal ve nodal T ve NK hücreli lenfoma tanısı alan 94 hasta arasından derlenmiştir ve bu grubun %5,3’ünü oluşturmaktadır. Yaş ortalamaları 47.2±13.6 (dağılım: 27-63) olup ikisi kadın, üçü erkektir. Diyare, karın ağrısı ve kilo kaybı en sık rastlanan başvuru yakınmalarıdır. Tümörlerin hepsi ince barsakta yerleşmiştir, yüzeyleri ülserlidir. Neoplastik hücreler, iki olguda büyük, diğerlerinde küçük/orta büyüklükte atipik lenfoid hücre görünümündedir. CD3+, CD4-, CD8± immünofenotip ve sitotoksik granüller göstermektedirler. Tüm olgularda komşu mukozada enteropati bulguları mevcuttur. Modifiye Marsh evresi, bir olguda Tip IIIA, üç olguda Tip IIIB, bir olguda da Tip IV olarak değerlendirilmiştir. EBER pozitifliği, yalnızca böbrek transplantasyonu öyküsü olan bir olguda ve az sayıda (<%5), izole reaktif lenfoid hücre ve immünoblast olabileceği düşünülen, hücrede izlenmiştir.

Araştırmamızda ETTHL ile EBV’nin ilişkili olduğunu düşündürecek güçlü bir veri elde edilmemiştir. Serimizdeki ETTHL’ların, tüm T ve NK hücreli neoplaziler içerisindeki oranının, özellikle Uzakdoğu serilerinden yüksek olması, Çöliak hastalığı prevalansının yüksek olduğu ülkelerden biri olmamızla ilişkilendirilmiştir. Ancak epidemiyolojik düzeyde daha güvenilir veri oluşturabilmek için kombine immünohistokimyasal ve moleküler yöntemlerle desteklenmiş, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar sözcükler:** Enteropati-tipi T-hücreli lenfoma, Gluten sensitif enteropati, intraepitelyal lenfositler, ince barsak

### SUMMARY

Enteropathy-type T-cell lymphoma (ETTCL), is a type of “mature extranodal T- and NK-cell lymphoma”, derived from intraepithelial T-lymphocytes, representing <%1 of all non-Hodgkin lymphomas. It is pathogenetically related to gluten hypersensitivity (Coeliac disease), however some cases, reported from South and Central America have been associated with Epstein-Barr virus (EBV).

We searched the relationship of EBV and ETTCL in five cases by chromogenic in situ hybridization method using early RNA probe of EBV (EBER). The cases were retrieved from a series of 94 patients diagnosed as T- and NK-cell lymphoma, excluding the leukemic and cutaneous subtypes between 1997-2007 in our department. They accounted for 5.3% of all cases. Three of the cases were male, two were female, with a mean age of 47.2±13.6 years (range: 27-63). The most common presentation symptoms were diarrhoea, abdominal pain and weight loss. All tumors were located in small bowel and ulcerated. Neoplastic cells were atypical and large in two cases, small to medium-sized in the rest. They expressed CD3+, CD4-, CD8± immunophenotype and showed cytotoxic granules. All cases had enteropathy related morphology. Modified Marsh classification was Type IIIA in one case, Type IIIB in three cases and Type IV in the remaining case. EBER in situ hybridization was positive in minority of cells (<%5) of one case having a history of renal transplantation and were thought to represent isolated reactive lymphoid cells and immunoblasts.

In our study, no reliable evidence was found relating ETTCL to EBV. The higher proportion of ETTCL cases within the T- and NK-cell lymphoma group in our series, compared especially with Far-East series, was attributed to the higher prevalence of Coeliac disease in our country. Further multicenter studies combining immunohistochemistry and molecular methods are needed to achieve reliable epidemiological data.

**Key words:** Enteropathy-type T-cell lymphoma, gluten sensitive enteropathy, intra-epithelial lymphocytes, small intestine

Alındığı Tarih: 12.02.2008

Kabul Tarihi: 21.02.2008

Yazışma adresi: Dr. Başak Doğanavşargil, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir

## GİRİŞ

Enteropati-tipi T-hücreli lenfoma (ETTHL), barsağın intraepitelyal T-lenfositlerinden köken alır. REAL sınıflamasında “intestinal T-hücreli lenfoma (enteropati ile ilişkili ya da ilişkisiz)” olarak yer alırken, son Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasında, matür, ektranodal, T ve NK hücreli lenfomalar içerisinde sınıflandırılmıştır (1). Matür T ve NK hücreli lenfomalar, tüm non-Hodgkin lenfomaların (NHL) % 12-15’ini oluştururlar (2,3). ETTHL’nin tüm NHL’ler içerisindeki oranı ise %1’in altındadır. En sık jejunum ve ileum tutulur. Daha nadir olarak duodenum, mide, kalın barsak tutulumu yanısıra, gastrointestinal sistem dışı tutulum bildirilmiştir (1). Tümör sıklıkla ileri yaşta, (6-7. dekad) görülür (4). Başvuru yakınmaları genellikle, karın ağrısı, kilo kaybı ve diaredir. Barsak duvarını da infiltre edebilen, egzofitik, ülser mukozal kitleler ya da birden çok odakta ülser yol açan mukozal lezyonlar şeklinde karşımıza çıkarlar. Morfolojisi değişken olmakla birlikte mikroskopik olarak genellikle monomorfik, orta veya büyük çaplı hücrelerden oluşurlar. Nükleuslar veziküler, yuvarlak veya köşeli, nükleoluslar belirgin, sitoplazma geniş ve soluk görünümündedir. Nadiren pleomorfizm ve dev hücrelerle karakterli, “anaplastik büyük hücreli lenfoma”yı andıran bir görünüm izlenir. Bazı vakalarda ise baskın olan hücre tipi, monomorfik, koyu nükleuslu ve dar sitoplazmalı küçük hücrelerdir. Neoplastik hücrelerde “aktive sitotoksik” T hücre immünofenotipi söz konusudur. İmmünohistokimyasal olarak, CD2, CD3, CD7, CD103 ve sitotoksik granül proteinleri (TIA-1, granzim B ve perforin) ile sıklıkla, CD30 ile değişken oranlarda pozitiflik bulunur. CD4 ve CD5 negatiftir. CD8 genellikle negatiftir, ancak CD8 ve CD56 ile özellikle küçük ve orta boy hücrelerden oluşan tümörlerde pozitiflik saptanabilir.

Hastalığın gluten sensitif enteropati/Çölyak hastalığıyla (ÇH) belirgin bir ilişkisi vardır ve ÇH prevalansının yüksek olduğu bölgelerde daha sık görülür (1). Özellikle tümöre komşu

alanlarda villüs atrofi, kript hiperplazisi, lamina propria’da lenfosit ve plazma hücre artışı ve intraepitelyal lenfositoz gibi enteropati ile uyumlu değişiklikler dikkat çeker. Prognoz genellikle kötüdür. Ölüm malabsorbsiyon zemininde gelişen abdominal komplikasyonlara bağlı olarak gerçekleşir. Uzun yaşam süresine sahip nadir olgular bildirilmiştir. Rekürrensler sıklıkla ve genellikle ince barsakta görülür.

ÇH ile bilinen ilişkisi dışında, özellikle Güney ve Orta Amerika’dan bildirilen bazı vakaların Epstein-Barr virüsü (EBV) ile de ilişkili olduğu öne sürülmüştür (5). Tümörün EBV ile ilişkisinin gösterilebilmesi, karsinogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacağı gibi, bu tümör grubunu, EBV’ye karşı geliştirilen “hedefe yönelik” tedavilere de aday hale getirecektir. Çalışmamızda Anabilim Dalı’mızda ETTHL tanısı alan olgularda tümör hücrelerinde latent EBV enfeksiyonu varlığı, in situ hibridizasyon (ISH) yöntemi ile araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Olgu grubu ve histolojik değerlendirme

Olgular Anabilim Dalı’mızda 1997-2007 yılları arasında T ve NK hücreli lenfoma tanısı alan toplam 94 olgu arasından derlendi. ETTHL tanısı almış olan beş olgu mevcut olup, 10 yıllık dönemde izlenen tüm T ve NK hücreli tümörlerin %5.3’ünü oluşturmaktaydı. Olgular tanı aldıkları yıllara göre kronolojik olarak numaralandırıldı. Yaş, cinsiyet, başvuru yakınmaları, tümörün yerleşim yeri, çapı, büyüme şekli, makroskopik bulguları ve mikroskopik bulguları kaydedildi (Tablo 1). Histolojik olarak, infiltrasyon gösteren baskın hücre tipi (küçük, orta ve büyük hücreli) yanısıra enteropati bulguları araştırıldı (6). Enteropati değerlendirmesi rezeksiyon materyallerindeki, tümörsüz mukoza alanlarında yapıldı ve varsa önceki biyopsi materyalleri ile karşılaştırıldı. Rezeksiyon materyali bulunmayan 2 no.’lu olgudaki değerlendirme, olgunun jejunal biyopsi materyali ve önceki mide-duodenum biyopsi materyalinde yapıldı. En-

teropati evrelemesinde, 100 enterosit başına düşen intraepitelyal lenfosit sayısını, kript hiperplazisini ve villöz atrofiyi kriter olarak alan yedi dereceli “modifiye” Marsh sınıflandırması kullanıldı (6).

### İmmünohistokimyasal inceleme

İmmünohistokimyasal inceleme için, formalin tesbitli, parafine gömülü dokulardan hazırlanan 5 µm kalınlıktaki kesitler kullanıldı. Doku kesitleri, elektrostatik yüklü lamalara (X-traTM, Surgipath Medical Industries, Richmond, Illinois, USA) alındı ve 60°C’da en az 2 saat kurutuldu. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm immünohistokimyasal boyama süreci tam otomatik immünohistokimya boyama cihazında (Ventana BenchMark XT, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) gerçekleştirildi. İşlem için cihaza uygun, biyotinsiz, HRP multimer bazlı, hidrojen peroksit substrat ve 3,3’-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni içeren hazır kit (ultraView™ Universal DAB Detection Kit, Catalog number 760-500, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) kullanıldı. Olgulara göre farklılık göstermekle birlikte tanı ve ayırıcı tanı için uygulanan immünohistokimyasal antikor paneli (klon, üretici firma ve dilüsyon oranlarıyla); CD2 (AB75, Novacastra, UK, 1:40), CD3 (PS1, Novacastra, UK, 1:100), CD4 (1F6, Novacastra, UK, predilüe), CD8 (1A5, Novacastra, UK, predilüe), CD15 (C3D-1, Dako, Denmark, 1:20), CD20 (L26, Neomarkers, USA, 1:400), CD30 (BerH2, Neomarkers, USA, 1:30), CD43 (DF-T1, Dako, Denmark, 1:100), CD45RO (UCHL-1, Dako, Denmark, 1:150), CD56 (123C3.D5, Neomarkers, USA, 1:50), CD79a (JCB117, Dako, Denmark, 1:40), Granzim B (G2B01, Neomarkers, 1:25), ALK1 (ALK1, Dako, Denmark, 1:25), EMA (E29, Dako, Denmark, 1:50), TdT (DT01, Neomarkers, USA, 1:50) ve sitokeratini (AE1/AE3, Neomarkers, USA, 1:750) içermektedir. Zıt boyaması boyama cihazında, hematoksilen ve mavileştirici solüsyon ile tamamlanan kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaf-

landırılması ve lamel ile kapatılması aşamaları elde yapılarak işlem sonlandırıldı.

### İn situ hibridizasyon işlemi

Çalışmanın sonraki aşamasında olgulara ait formalin tesbitli parafine gömülü doku örneklerinden 4-µm kalınlığında kesitler alındı ve kromojenik ISH yöntemiyle EBV erken RNAsı (EBER) araştırıldı. Bu amaçla, floresanla konjuge edilmiş oligonukleotid EBV erken RNA (EBER) probu (INFORM EBER Probe, Ventana Medical Systems, Tucson, USA) ve proba uygun üretilmiş kullanıma hazır ISH kiti (ISH iVIEW Blue Detection Kit, Ventana Medical Systems, Tucson, USA) kullanıldı. Boyama tam otomatik immünohistokimya ve in situ hibridizasyon boyama cihazında (Benchmark XT, Ventana Medical Systems, Tucson, USA) üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı.

Seçilen kesitler, tanımlanan cihazda deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemine tabi tutuldu. Proteinaz K uygulaması ardından, flöresan işaretli EBER probu ile inkübe edildi. Daha sonra anti-flöresan primer fare antikoruna inkübe edilerek antikorun proba bağlanması sağlandı. Spesifik flöresan işaretli problemleri göstermek için, indirekt biotin streptavidin sistemi kullanılan kit ile in situ hibridizasyon yapıldı. Bu sistemde, önce at anti-fare IgG içeren biyotinli sekonder antikor, primer fare antikoruna bağlanmakta, daha sonra streptavidin enzim kompleksi, sekonder antikordaki biotine bağlanmaktadır. Enzim aracılığıyla presipite olan bu ürün yoluyla, ışık mikroskopta değerlendirilebilecek bir boyanma reaksiyonu elde edilmektedir. Bu işlemler sırasında, her inkübasyon basamağının ardından, reaksiyon durduruldu ve dokuya bağlanmayarak sonraki basamaklardaki reaksiyonu örtme riski oluşturan materyali uzaklaştıracak ara yıkamalar yapıldı. Tam otomatik boyama cihazındaki işlemler tamamlandıktan sonra, preparatlar elde yıkandı. Alizarin kırmızısı ile zıt boyama yapıldı ve gliserinli jel ile kapatıldı.

Pozitif kontrol olarak daha önce immünohistokimyasal yöntemlerle EBV latent membran

proteini (EBV LMP-1) pozitifliği bilinen bir Hodgkin lenfoma olgusu ile bir enfeksiyöz mononükleoz olgusunun lenf nodülüne ait seri kesitler kullanıldı ve çalışma olgularıyla paralel olarak boyandı. Boyama reaksiyonun sonuçları kurşuni mavimsi füme tonda bir presipitasyon verdi. Değerlendirme ışık mikroskopunda yapıldı.

## BULGULAR

Olguların, klinikopatolojik bulguları (yaş, cinsiyet dağılımı, başvuru yakınmaları, tümör yerleşim yeri, tümör çapı, büyüme şekli, makroskopik bulguları, infiltrasyon paterni, infiltrasyon içerisindeki baskın hücre tipi ve enteropati ile ilişkili bulguları) Tablo 1'de verilmiştir. Olguların yaş ortalaması 47.2±13.6 (dağılım: 27-63) olup ikisi kadın, üçü erkektir. En sık rastlanan başvuru yakınmaları diare (4/5), karın ağrısı (3/5) ve kilo kaybı (3/5) dir (Tablo 1). Olgu-

larda laboratuvar bulguları ile kanıtlanmış steatore kaydına rastlanmamıştır. 2 no.'lu olguda klinik ve radyolojik olarak ileus bulguları mevcuttur, ancak opere edildiğine dair hastanemiz arşivlerinde bir kayda rastlanmamıştır. 5 no.'lu olgu, Crohn hastalığı ön tanısı ile takip edilmektedir. Bu olgunun 9 yıldır intermittan diarezi mevcuttur. Son dönemde halsizlik, hematokezya gibi yakınmalarında artış yanısıra kilo kaybı ve hipoproteinemi gelişmiştir. 3 no.'lu olguda operasyon öncesi barsak perforasyonu kuşkuğu mevcuttur. Bu olguda, reflü nefropatisine bağlı son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle 9 yıl önce yapılmış böbrek transplantasyonu öyküsü vardır. Diyare atakları nakil sonrasında başlamış, kilo kaybı ve hipoproteinemi son dönemde gelişmiştir. Olgu, peritonit ve sepsis nedeniyle operasyondan 15 gün sonra kaybedilmiştir, 1 no.'lu olguda ise operasyondan 2 yıl sonra yine ince barsakta lenfoma nüksü görülmüş olgu bu 2. operasyondan 2 yıl sonra kaybedilmiştir. Bu

Tablo 1. Olguların klinikopatolojik bulguları.

	Olgu 1	Olgu 2	Olgu 3	Olgu 4	Olgu 5
Cinsiyet	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Erkek
Yaş	63	27	46	44	56
Başvuru yakınması	KA, Ks, KK, Kb, İ	D, İ*	D, KA, KK, HP	D, İ	D, KA, KK, H, HP, İ
Tanı materyali	rezeksiyon	jejunum biyopsisi	rezeksiyon	rezeksiyon	rezeksiyon
Tümör yerleşim yeri	incebarsak	incebarsak	incebarsak	incebarsak	incebarsak
Çapı (cm)	5	***	7	5	3 odak (14,5+2,5+6)
Büyüme şekli	ülserovejetan	**	ülseroinfiltratif	ülseroinfiltratif	Ülseroinfiltratif+plak tarzı nodül
Hakim hücre tipi	büyük hücre	küçük/orta	büyük hücre	küçük/orta	küçük/orta
Lenf nodu	reaktif	infiltrate*	***	infiltrate	reaktif
Enteropati bulguları					
İEL (n/100 enterosit)	≥40	<40	≥40	≥40	≥40
Villöz arşitektür	belirgin atrofi	villus yok	hafif atrofi	belirgin atrofi	belirgin atrofi
Kriptik tabaka	hipertrofik	normal	hipertrofik	hipertrofik	hipertrofik
Modifiye Marsh Evresi	IIIB	IV	IIIA	IIIB	IIIB
İmmunhistokimyasal bulgular					
CD3	+	+	+	+	+
CD4	yok	-	-	-	-
CD8	+	+	+	-	-
CD30	-	-	-	***	+
CD56	-	-	+	-	-
Sitotoksik granüller	granzim B	-	granzim B	granzim B ve perforin	granzim B ve nadir perforin
EBER İSH	-	-	nadir +	-	-
Kemik iliği tutulumu	***	yok	***	yok	yok

D: Diare, H: Hematoçezya, HP: Hipoproteinemi, KA: Karın ağrısı, Ks:Kusma, KK:Kilo kaybı, Kb: Kabızlık, İ:İleus, İEL:İntraepitelyal lenfosit, İSH: İn situ hibridizasyon

\*:Radyolojik olarak tespit edilen bulgu

\*\* : Radyolojik olarak tespit edilemeyen bulgu

\*\*\*: Eksik veri



olgunun ilk rezeksiyon materyalinde serozada ve mukozal cerrahi sınırlarda tümörün devam ettiği dikkati çekmiştir.

İkinci olgu dışında tüm olgular rezeksiyon materyalleri ile değerlendirilmiştir. İki numaralı olguda histolojik değerlendirme ve EBV araştırması, ÇH kuşkusu ile yapılan mide-duodenum biyopsisi ve ETTHL tanısı aldığı jejunal kontrol biyopsisinde yapılmıştır. Bu olgunun batın BT'sinde, preaortik, prekaval ve mezenterik yerleşimli en büyüğü yaklaşık 2 cm çapa ulaşan lenfoma ile uyumlu çok sayıda, patolojik lenf düğümü ve ileum düzeyinde ileus bulguları mevcuttur. Ancak radyolojik olarak bir kitle şekillenmemektedir. Tümörler makroskopik olarak değişik infiltrasyon paternleri göstermektedir (Tablo 1). 5 no.'lu olguda tümörün birden fazla odakta, segmenter tutulum yaptığı ve mukozadan hafif kabarıklık tarzı kitleler oluşturduğu görülmüştür. 1 ve 3 no.'lu olgularda tümör, atipik büyük lenfoid hücrelerden oluşmaktadır. Diğerlerinde infiltrasyon gösteren hücreler baskın olarak monomorfik, küçük ya da orta büyüklükte olup nükleusları yuvarlak ya da hafif angüler niteliktedir ve nükleolleri belirgindir. 4 no.'lu olguda eşlik eden histiyositik bir infiltrasyon da vardır.

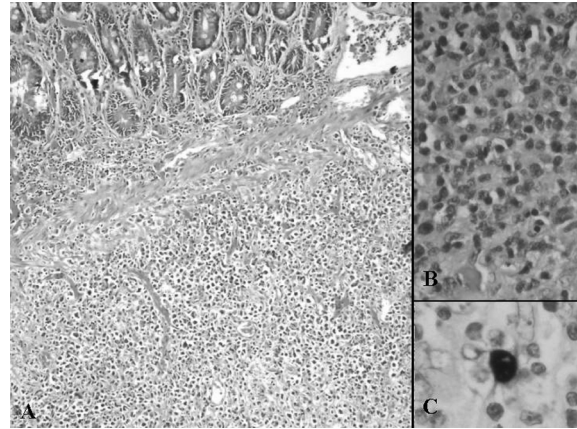
Olgulardaki tümöral dokunun histopatolojik özellikleri yanısıra komşu mukoza bulguları, Modifiye Marsh skorları, lenf nodülü ve kemik iliği bulguları Tablo 1'de verilmiştir.

### İmmünofenotip

Tanı ve ayırıcı tanı için uygulanan immünohistokimyasal panel sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Tüm olgularda, tümör hücrelerinde CD3 pozitif, CD4 negatiftir. CD8, üç olguda pozitif; iki olguda negatiftir. 2 no.'lu olgu dışında tüm olgularda tümör hücrelerinde sitotoksik granül varlığı izlenmiştir. Bu olguların tümünde Granzim B varken buna ek olarak, 4 no.'lu olguda yaygın, 5 no.'lu olguda seyrek perforin varlığı dikkati çekmektedir.

### Kromojenik in situ hibridizasyon sonuçları

EBER probu ile yapılan kromojenik ISH çalışmasında 3 no.'lu olguda az sayıda (<%5) EBER pozitif, atipik hücre izlenmiştir (Resim 1) ve bu hücrelerin tümör hücresinden ziyade, izole reaktif aktive lenfoid hücreler ve immünoblastlar olduğu düşünülmüştür. Diğer olgularda EBER probu ile reaksiyon mevcut değildir (Tablo 1).



Resim 1. Enteropati tipi T hücreli lenfoma. A: Submukozal infiltrasyon gösteren tümör hücreleri (HE x10). B: Orta ve büyük boyutlu şeffaf sitoplazmalı neoplastik hücreler. Nükleuslardaki veziküler görünüm dikkat çekici (HE x40). C: EBER pozitifliği (in situ hibridizasyon, NBT x40).

### TARTIŞMA

T ve NK hücreli lenfomalarda sitolojik ve immünofenotipik bulgular oldukça geniş bir spektrum çizer ve B hücreli lenfomalardaki gibi özgün olmadığı için, sınıflandırmada kullanılmaz. Ayrıca klinik özelliklerin göstergesi olabilecek, üzerinde uzlaşmış bir morfolojik parametre yoktur. T ve NK hücreli lenfomaların tanısında ve ayırıcı tanısında belki de en değerli özellik klinik bulgulardır. Bazıları özgün klinik sendromlar ile karşımıza çıkar ve bu durum çoğu kez tanıda hücre kökeninden daha önemli olur (7). Bu grup lenfoma olgularında tanı, anatomik lokalizasyon, klinik özellikler, EBV pozitifliği, immünofenotipik ve genotipik özellikler gibi bulguların bir araya getirilmesi ve değerlendirilmesi

dirilmesiyle konulmaya çalışılır. Bu yaklaşım, özellikle ETTHL ve nazal tip ektranodal NK/T hücreli lenfomanın tanı ve ayırıcı tanısında önem kazanmaktadır (8,9).

Bugün için ETTHL'nin ÇH ile ilişkisi kesin olarak saptanmıştır ve patogenezinde gliadin hipersensitivitesinin rol oynadığı düşünülmektedir (1). Hastaların çoğunda ÇH'nin karakteristik özelliği olan HLA DQA1\*0501, DQB1\*0201 genotipi bulunur (10,11). Az sayıdaki olguda çocukluk çağında başlayan ÇH öyküsü mevcuttur (1). Çoğu olguda ise hastalık erişkin yaşlarda başlar ya da ÇH tanısı lenfoma tanısıyla birlikte konur (12). ÇH'nda ve özellikle "refrakter sprue" olgularında izlenen intraepitelyal T lenfositlerin doğası ve önemi, reaktif mi neoplastik mi oldukları uzun süredir tartışılmaktadır. Ancak bu olgularda izlenen T hücrelerin, ETTHL'lerin erken belirtisi ya da habercisi olabileceğini düşündüren ve gelişen lenfoma ile aynı klonal düzenlenime sahip olduğunu gösteren yayınlarda artış mevcuttur (13). ÇH ve "refrakter sprue" olgularında bu "yatkinliğin" gösterilebilmesi için kombine immünohistokimyasal ve moleküler yöntemlerle T hücresi ile ilgili antijenlerin, CD8 ve/veya TCR-beta kaybının ya da TCR-gamma klonalitesinin tespit edilmesi gerekir (13).

Bizim olgularımızın hepsinde komşu mukozada değişken derecelerde enteropati bulgusu saptanmıştır. 2 no.'lu olguda İEL yoğunluğu 100 hücrede 40'ın altındadır ve ilk bakışta sağlıklı bir epitel izlenimi vermektedir. Ancak mevcut örnekte villusların tamamen ortadan kalktığı, mukozanın adeta "kolon mukozası" benzeri bir görünüm aldığı görülmektedir bu nedenle Marsh Tip IV olarak değerlendirilmiştir (14). Diğer olgulara ve literatüre göre (1,15) daha genç yaşta olan bu olgunun, enteropati evresinin bu kadar ileri olması şaşırtıcıdır ve çocukluk çağında başlamış bir ÇH bulunma olasılığını akla getirmektedir. Ancak bu olgunun ameliyat materyali incelenemediği ve detaylı klinik öyküsüne ulaşılamadığı için daha ileri bir yorum yapmak mümkün olmamıştır. 5 no.'lu olgu ise,

operasyon öncesi klinik bulguları nedeniyle Crohn hastalığı ön tanısı ile takip edilmiştir. Crohn hastalığı ve ETTHL arasında bir ilişki tanımlanmamıştır. Dokuz yıllık öyküsü olan ve farklı merkezlerde takip edilen bu olgunun tanısının histolojik olarak doğrulanıp doğrulanmadığı bilinmemektedir. Tersine olgunun ameliyattan 1-1,5 ay önce yapılan ve merkezimizde değerlendirilen duodenum biyopsisinde, villuslarda küntleşme ve intraepitelyal CD3+ T lenfositlerde artış gibi enteropati ile uyumlu bulgular izlenmiştir. Ancak Crohn hastalığında da görülebilecek bir bulgu olması nedeniyle İEL varlığını yorumlarken dikkatli olunmalı, İEL yoğunluğunda enteropati düzeyinde bir artış olup olmadığı ve eşlik eden diğer bulgular titizlikle değerlendirilmelidir (16).

İyi bilinen onkojenik virüslerden biri olan EBV'nin, insan tümörlerinin sanıldığından daha geniş bir grubunun karsinogenezinde önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar son yıllarda artmaktadır. ÇH'den bağımsız olan ETTHL'lerin de EBV ile ilişkili olabileceğini öne süren araştırmalar mevcuttur (5). Bilindiği gibi EBV, lenfoproliferatif hastalıklar içerisinde Afrika tipi endemik Burkitt lenfoma, agresif B hücreli lenfoma, immün yetmezliklilerde görülen B hücreli lenfoproliferatif hastalık ve Hodgkin lenfomanın gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (17). Spontan oluşan matür T ve NK hücreli lenfomalar içerisinde ise özellikle nazal tip ektranodal NK/T hücreli lenfomanın EBV ile yakın ilişkisi bilinmektedir (1). ETTHL olgu grubundaki en geniş seri Japonya'dan Ohshima ve ark.'larına ait olup, 13 olgunun beşinde (%38) pozitiflik bildirilmiştir (18). Hong Kong'dan bildirilen iki ayrı seride değerlendirilen toplam dokuz olgunun ise üçü (%30) pozitifdir (19,20). Ancak patogenezi gliadin hipersensitivitesi ile ilişkilendirilen ETTHL'nin gelişiminde, EBV enfeksiyonunun promotor bir faktör olarak rol oynadığı konusunda kesin bir bulgu yoktur.

Çalışmamızda ETTHL tanısı alan olgularımızda kromojenik ISH yöntemi ile latent EBV enfeksiyonunun varlığı araştırılmıştır. Doku ya

da hücredeki spesifik nükleik asitleri tespit ve lokalize eden ISH yöntemi, EBV tespit yöntemleri arasında etkinliği en yüksek olduğu bildirilen yöntemdir. Duyarlılığı, immünohistokimya ve PCR'dan daha yüksektir (21). Ancak olguların bazılarında az sayıda hücrenin boyanabileceği akılda tutulmalı ve özellikle küçük biyopsi örneklerinde yanlış negatif değerlendirmeyi önlemek için dikkatli tarama yapılmalıdır. EBER probu ile yaptığımız çalışmada, olgulardan biri dışında latent EBV enfeksiyonunu gösterecek bulgu saptanmamıştır. EBER pozitif hücrelerin izlendiği 3 no.'lu olgu, posttransplant bir olgu olup, tümör hücrelerinde CD56 ekspresyonu da göstermektedir. Bu bulgu, olguda bir nazal tip ektranodal NK/T hücreli lenfoma olasılığının da akla getirilmesini gerektirmektedir. Nazal tip ektranodal NK/T hücreli lenfomalar, klasik olarak CD56+ (NK hücreli) fenotipe sahip, hemen tüm tümör hücrelerinde latent EBV enfeksiyonunun bulgularının görüldüğü tümörlerdir. Gastrointestinal kanalı tutabildikleri ve immün yetmezlikli olgularda da ortaya çıkabildikleri bilinmektedir (1). Ancak olguda nazal tip ektranodal NK/T hücreli lenfomada izlenen, anjiyosentrik, anjiodestrüktif paternin, koagülatif nekroz ve apopitoz gibi bazı histolojik bulguların izlenmemesi, buna karşılık enteropati bulgularının olması yanısıra immünohistokimyasal olarak EBV-LMP-1'in negatif olması (gösterilmeyen veri) ve EBER pozitifliğinin az sayıda (<5) hücrede izlenmesi nedeniyle bu olasılıktan uzaklaşmıştır. EBER pozitifliği izlenen atipik görünüşlü hücrelerin, morfolojilerinin iyi korunmamış olması nedeniyle, nonneoplastik hücreler (izole reaktif aktive lenfoid hücreler veya immünoblastlar) olma olasılığı kesin bir şekilde dışlanamamıştır. Transplantasyon geçirmiş bu olguda reaktif lenfositlerdeki bir latent enfeksiyonun bu reaksiyon paternine yol açmış olabileceği düşünülmüştür (22).

Araştırmamızda ETTHL ile EBV'nin ilişkili olduğunu düşündürecek güçlü bir veri elde edilmemiştir. Serimizdeki ETTHL'ların, geriye dönük olarak 10 yıllık tarama sonucunda erişti-

ğimiz T ve NK hücreli lenfoma olgularımızın %5.3'ünü (5/94) oluşturduğu görülmüştür. Bu oran Güney Tayvan'dan bildirilen 72 olguluk bir seride, %2.8 olarak bildirilmektedir (23). Bizdeki oranın yüksekliği, Çöliak hastalığının prevalansının yüksek olduğu ülkelerden biri olmamızla açıklanabilir. Ancak epidemiyolojik düzeyde daha güvenilir veri oluşturabilmek için farklı coğrafi bölgeleri temsil edecek, premorbid geçmişleri ve o dönemdeki histomorfolojik bulguları daha sağlıklı olarak belgelenmiş olgulara, bu olguların uzun dönem takip sonuçlarına ve immünohistokimyasal ve moleküler yöntemlerle desteklenmiş çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Wright D, Isaacson P, Ralfkiaer E, Jaffe ES. Entero-pathy-type T-cell lymphoma. In Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds). World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, IARC Press; 2001.pp.191-235.
2. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. Blood 1997;89:3909-3918.
3. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. Lymphoma classification proposal: clarification. Blood 1995;85:857-860.
4. Nakamura S, Matsumoto T, Iida M, Yao T, Tsuneyoshi M. Primary gastrointestinal lymphoma in Japan. Cancer 2003;97:2462-2473.
5. Quintanilla-Martinez L, Lome-Maldonado C, Ott G, Gschwendtner A, Gredler E, Angeles-Angeles A, et al. Primary intestinal non-Hodgkin's lymphoma and Epstein-Barr virus: high frequency of EBV-infection in T-cell lymphomas of Mexican origin. Leuk Lymphoma 1998;30:111-121.
6. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999;11:1185-1194.
7. Jaffe ES, Krenacs L, Raffeld M. Classification of cytotoxic T-cell and natural killer cell lymphomas. Semin Hematol 2003;40:175-184.
8. Chan JK, Sin VC, Wong KF, Ng CS, Tsang WY, Chan CH, et al. Nonnasal lymphoma expressing the natural killer cell marker CD56: a clinicopathologic study of 49 cases of an uncommon aggressive neoplasm. Blood 1997;89:4501-4513.
9. Nakamura S, Suchi T, Koshikawa T, Kitoh K, Koike K, Komatsu H, et al. Clinicopathologic study of CD56 (NCAM)-positive angiocentric lymphoma occurring in sites other than the upper and lower respiratory tract.

- Am J Surg Pathol 1995;19:284-296.
10. Howell WM, Leung ST, Jones DB, Nakshabendi I, Hall MA, Lanchbury JS, et al. HLA-DRB, -DQA, and -DQB polymorphism in celiac disease and enteropathy-associated T-cell lymphoma. Common features and additional risk factors for malignancy. *Hum Immunol* 1995;43:29-37.
  11. Jaffe ES. Mature T-cell and NK-cell lymphomas in the pediatric age group. *Am J Clin Pathol* 2004;122:110-121.
  12. Yasuoka H, Masuo T, Hashimoto K, Sato K, Okada S, Kusano M, et al. Enteropathy-type T-cell lymphoma that was pathologically diagnosed as celiac disease. *Intern Med* 2007;46:1219-1224.
  13. Daum S, Weiss D, Hummel M, Ullrich R, Heise W, Stein H, et al. Intestinal Lymphoma Study Group. Frequency of clonal intraepithelial T lymphocyte proliferations in enteropathy-type intestinal T cell lymphoma, coeliac disease, and refractory sprue. *Gut* 2001;49:804-812.
  14. Mino-Kenudson M, Brown I, Lauwers GY. Histopathological diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. *Curr Diagn Pathol* 2005;11:274-283.
  15. Nakamura S, Matsumoto T, Iida M, Yao T, Tsuneyoshi M. Primary gastrointestinal lymphoma in Japan. *Cancer* 2003;97:2462-2473.
  16. Kakar S, Nehra V, Murray JA, Dayharsh GA, Burgart LJ. Significance of intraepithelial lymphocytosis in small bowel biopsy samples with normal mucosal architecture. *Am J Gastroenterol* 2003;98:2027-2033.
  17. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964;1:702-703.
  18. Ohshima K, Liu Q, Koga T, Suzumiya J, Kikuchi M. Classification of cell lineage and anatomical site, and prognosis of extranodal T-cell lymphoma - natural killer cell, cytotoxic T lymphocyte, and non-NK/CTL types. *Virchows Arch* 2002;440:425-435.
  19. Au WY, Ma SY, Chim CS, Choy C, Loong F, Lie AK, et al. Clinicopathologic features and treatment outcome of mature T-cell and natural killer-cell lymphomas diagnosed according to the World Health Organization classification scheme: a single center experience of 10 years. *Ann Oncol* 2005;16:206-214.
  20. Chan ACL, Ho JW, Chiang AK, Srivastava G. Phenotypic and cytotoxic characteristics of peripheral T-cell and NK-cell lymphomas in relation to Epstein-Barr virus association. *Histopathology* 1999;34:16-24.
  21. Suh N, Liapis H, Misdraji J, Brunt EM, Wang HL. Epstein-Barr virus hepatitis: diagnostic value of in situ hybridization, polymerase chain reaction, and immunohistochemistry on liver biopsy from immunocompetent patients. *Am J Surg Pathol* 2007;31:1403-1409.
  22. Thompson MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:803-821.
  23. Lu D, Lin CN, Chuang SS, Hwang WS, Huang WT. T-cell and NK/T-cell lymphomas in southern Taiwan: a study of 72 cases in a single institute. *Leuk Lymphoma* 2004;45:923-928.