

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**T/NK HÜCRELİ LENFOMALARDA
ÇOKLU İLAÇ DİRENCİ PROTEİNLERİNİN
EKSPRESYONU**

Dr. Arzu SAĞLAM

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.**

ANKARA

2005

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**T/NK HÜCRELİ LENFOMALARDA
ÇOKLU İLAÇ DİRENCİ PROTEİNLERİNİN
EKSPRESYONU**

Dr. Arzu SAĞLAM

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ayşegül Hasegeli ÜNER**

ANKARA

2005

TEŐEKKÖRLER

Asistanları olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum, uzmanlığım süresince benden yardımlarını esirgemeyen tüm hocalarıma, pozitif enerji kaynağım ağabey ve ablalarım, bana sürekli destek olan ve yol gösteren tez danışmanım Doç. Dr. Ayşegöl Üner'e, istatistiksel analizlerimin yapılmasında büyük katkısı olan Mutlu Hayran'a , başta Ziya Birinci olmak üzere bu çalışmayı gerçekleştirmemde emeği geçen tüm laboratuvar ekibimize, maddi desteği için Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu'na ve her koşulda sabırla yanımda olan aileme çok çok teşekkür ederim.



ÖZET

Sağlam, A. T/NK hücreli lenfomalarda çoklu ilaç direnci proteinlerinin ekspresyonu. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Tezi. Ankara, 2005. Çoklu İlaç Direnci (multidrug resistance - MDR) tümör hücrelerinde geniş bir kemoterapötik ajan spektrumuna direnç olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda tümör hücrelerinde ilaca dirence neden olan mekanizmalar üzerinde yoğun çalışmalar başlamıştır. Her geçen gün listeye yenileri eklenmekle beraber bu proteinlerin kemoterapiye dirençle ilişkili olduğu gösterilen başlıcaları P-glikoprotein (P-gp),” multidrug resistance associated protein 1-9” (MRP), “lung resistance protein” (LRP), “breast cancer resistance protein” (BCRP) 'dir. T/NK hücreli lenfomalar klinik olarak hematopoetik ve lenfoid neoplazilerin en agresif davranışlı olanıdır. Bu agresif klinik davranışa hastaların çoğunun ileri evre hastalıkla başvurmasının yanısıra tedaviye direncin de katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ancak T/NK hücreli lenfomalarda ÇİD'nin rolünü ele alan çalışma sayısı sınırlıdır ve sonuçlar tartışmalıdır. Bu nedenle T lenfomalarda ÇİD proteinlerinin rolünü saptayabilmek ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesine ışık tutabilmek amacıyla hastanemizde 1997-2004 yılları arasında tanı almış olan matür T/NK hücreli lenfoma vakalarında immünohistokimyasal olarak ÇİD'inde rol oynayan P-gp, MRP-1, BCRP ve LRP ekspresyonunu varlığı araştırdık. Vakaların %87,5'inin incelenen ÇİD proteinlerinden en az birini, %12,5'inin ise dördünü de eksprese ettiği görülmüştür. BCRP ekspresyonun sağkalım ile negatif ilişki gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular T/NK hücreli lenfoma grubumuzunda yüksek oranda ÇİD proteinleri ekspresyonun olduğunu göstermektedir, bu ÇİD proteinlerinin ekspresyonunun bir kısım vakalarda gözlenen ilaç direncinden sorumlu olması ve ileride tedaviyi yönlendirmede etkili olabilmesi mümkündür.

Anahtar Kelimeler: T/NK lenfoma, ALCL, MDR, BCRP, MDR-1, P-glycoprotein, LRP, MRP-1

Destek Kuruluş : Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu

Proje no : 03-D11-101-001

ABSTRACT

Sağlam, A. Expression of Multidrug resistance proteins in T/NK cell lymphomas. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Medical Pathology, Ankara, 2005. Multidrug resistance (MDR) is defined as resistance of tumor cells to a wide spectrum of structurally and functionally unrelated drugs. One of the most important and probably the most extensively studied mechanisms are those involving "cellular drug efflux" transporters. Of these proteins P-glycoprotein, multidrug resistance associated proteins (MRP1-9), lung resistance protein (LRP) and breast cancer resistance protein (BCRP) are those primarily thought to be involved in mediating MDR. Drug resistance is a common and formidable obstacle to therapy in mature T/NK cell lymphomas and the MDR phenotype is thought to be one of the contributing mechanisms. However to date studies concerning the expression of MDR proteins in mature T/NK cell lymphomas are limited and the results of these studies are controversial. Therefore in order to determine the role of MDR in mature T/NK cell lymphomas and to be able to aid the development of novel therapeutic agents we planned to study the immunohistochemical expression of P-gp, MRP-1, LRP and BCRP in 45 cases of T/NK cell lymphoma diagnosed at our hospital between the years 1997 and 2004. 87,5% of the studied cases were seen to express at least one of the MDR proteins while 12,5% expressed all four proteins. Furthermore of these proteins BCRP expression was seen to be negatively associated with survival. These findings show that our T/NK lymphoma cases display high frequency of MDR protein expression, which may in part contribute to chemoresistance observed in some cases and help guide therapy in the future.

Keywords: T/NK lymphoma, ALCL, MDR, BCRP, MDR-1, P-glycoprotein, LRP, MRP-1

Support : Hacettepe University Research Fund

Project no : 03-D11-101-001

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER	viii
TABLolar	x
GİRİŞ	1
1.1. Amaç	1
1.2. Kapsam ve Yöntem	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. Transmembran ilaç taşıyıcıları	3
2.2. ABC-taşıyıcıları	5
2.2.1. P-glycoprotein	8
2.2.2. Multidrug resistance associated protein-1	8
2.2.3. Breast cancer related protein	10
2.3. Major vault proteinleri	11
2.3.1. Lung resistance protein/Major Vault Protein (LRP/MVP)	13
2.4. T/NK hücreli lenfomalar	13
2.4.1. NK hücreli neoplaziler	15
2.4.2. Anaplastik büyük hücreli lenfoma	16
GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Hasta Popülasyonu ve histolojik inceleme	17
3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme	17
3.3. Kantifikasyon	18
3.4. İstatiksel Analiz	18
BULGULAR	19
4.1. Hastaların Özellikleri	19
4.2. Genel Bakış	19
4.3. P-gp ekspresyonu durumu	21
4.4. MRP-1 ekspresyonu durumu	21
4.5. BCRP ekspresyonu durumu	22
4.6. LRP ekspresyonu durumu	23
4.7. Sağkalım analizi	24
TARTIŞMA	33
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	42
EKLER	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABC	<u>A</u> TP- <u>b</u> inding- <u>c</u> assette
ALCL	Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma
BCRP	Breast Cancer Related Protein
CTCL	Kütanöz T hücreli lenfoma
ÇİD	Çoklu İlaç Direnci
EBV	Epstein-Bar virusu
ER	Östrojen reseptörü
HTLV-1	İnsan T hücreli lenfoma virüsü
LRP	Lung Resistance Protein
MDR-1	Multidrug Resistance 1 geni
MF	Mikozis fungoides
MRP-1	Multidrug related protein 1
MVP	Major Vault Protein
NHL	Non-Hodgkin lenfoma
p	Probability
PBS	Phosphate buffer saline
PTCL, nos	Periferik T hücreli lenfoma, daha ileri tanımlanmamış
RT-PCR	Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TCR	T hücresi reseptörü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER VE RESİMLER

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1 : Transmembran ilaç taşıyıcılarının sınıflandırılması	5
Şekil 2.2 : Transmembran ilaç taşıyıcılarının 5 karakteristik ailesi	5
Şekil 2.3: “Full-transporter”larının ve “half-transporterları”nın membran topolojileri	6
Şekil 2.4: ABC-taşıyıcı proteinlerinin öngörülen domain dizilimleri	9
Şekil 2.5: Vault proteinlerinin elektron mikroskopik ve şematik görünümü	15
Şekil 4.1: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda MDR-1 proteini ekspresyonu	25
Şekil 4.2: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda MRP-1 proteini ekspresyonu	27
Şekil 4.3: Evre ile sağkalım ilişkisi	29
Şekil 4.4: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda sağkalım	30
Şekil 4.5: BCRP ekspresyonuna göre sağkalım	31
Resim	
Resim 4.1: P-gp ekspresyonu gösteren bir PTCL, nos vakası	32
Resim 4.2: P-gp ile negatif bir PTCL, nos vakası	32
Resim 4.3: LRP ile kuvvetli reaksiyon veren bir ALCL vakası	32
Resim 4.4: LRP ile negatif reaksiyon veren bir PTCL, nos vakası	32
Resim 4.5: BCRP ile reaksiyon vermeyen PTCL, nos lenfomalı bir vaka	33
Resim 4.6: BCRP ile 1+ reaksiyon veren ALCL’lı bir vaka	33
Resim 4.7: BCRP ile 2+ reaksiyon veren ALCL’lı bir vaka	33
Resim 4.8: BCRP ile 3+ reaksiyon veren ALCL’lı bir vaka	33
Resim 4.9: MRP-1 ile reaksiyon vermeyen PTCL, nos lenfomalı bir vaka	34
Resim 4.10: MRP-1 ile 1+ veren PTCL, nos lenfomalı bir vaka	34
Resim 4.11: MRP-1 ile 2+ reaksiyon veren PTCL, nos lenfomalı bir vaka	34
Resim 4.12: MRP-1 ile 3+ reaksiyon veren PTCL, nos lenfomalı bir vaka	34
Resim 4.13: Laringeal mukozada P-gp ekspresyonu	35

Resim 4.14: Endotelde BCRP ekspresyonu	35
Resim 4.15: Stromal hücrelerde ve endotelde BCRP ekspresyonu	35
Resim 4.16: Dilde yüzey epitelde LRP ekspresyonu	35
Resim 4.17: Laringeal mukozada MRP-1 ekspresyonu	36
Resim 4.18: Deride MRP-1 ekspresyonu	36
Resim 4.19: Stromal hücreler ve endotelde MRP-1 ekspresyonu	36
Resim 4.20: Safra kesesi epitelinde MRP-1 ekspresyonu	36



TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1: ABC-taşıyıcıları ve ilişkili olduğu hastalıklar	8
Tablo 3.1: İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikorların özellikleri	21
Tablo 4.2: Eksprese edilen çoklu ilaç direnci proteini sayısı	23
Tablo 4.1: Hasta popülasyonunun demografik özellikleri ve patolojik alt tipi	24
Tablo 4.3 : BCRP ekspresyonunun dağılımı	26
Tablo 4.4 : MRP-1 ekspresyonunun dağılımı	26
Tablo 4.5: Lenfoma alt tiplerine göre LRP ekspresyonu durumu	28
Tablo 4.6: Evrenin sağkalım ile ilişkisi	28
Tablo 4.7: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalı hastaların sağkalımları	29
Tablo 4.8: BCRP ekspresyonuna göre sağkalım	31

GİRİŞ

1.1 Amaç

Kemoterapi gerek solid gerek hematopoetik kanserlerin tedavisinde umut verici olmakla birlikte, günümüzde birçok tümörde başlangıçtan itibaren veya rekürens sırasında (edinsel) izlenen ilaç direnci, kemoterapinin etkisini sınırlamakta ve kür şansını ortadan kaldırmaktadır. Bu nedenledir ki son yıllarda tümör hücrelerinde ilaca dirence neden olan mekanizmalar üzerinde yoğun çalışmalar başlamıştır.

Araştırmalar ilaca dirençte rol oynayan mekanizmaların normal fizyolojik savunma mekanizmalarıyla ilişkili olduklarını ve normalde barsaktan birçok ilaç ve gıda maddesinin içinde yer aldığı bazı toksik ajanların vücuda alınmasının önlenmesi ve kan-beyin, kan-testis ve maternal-fetal barrierin sağlanması gibi rollerinin olduğunu göstermiştir. Fizyolojik olarak Çoklu İlaç Direnci (ÇİD) fenotipi gösteren hücreler listesinde lenfositler de yer almaktadır.

Bu mekanizmaların aydınlatılması ve hangi kanser türlerinde hangilerinin ön planda olduklarının belirlenmesi ile daha etkili kanser tedavisine olanak sağlayacak yeni ilaçların geliştirilmesi için özgül moleküler hedeflerin ortaya çıkacağı umulmaktadır.

T/NK hücreli lenfomalar da tedaviye yanıtın kötü olduğu bir neoplazm grubunu temsil etmekte olup bunun nedenleri arasında intrensik ilaç direncinin olabileceği düşünülmektedir . Ancak bu konuda yapılan çalışma sayısı sınırlıdır.

Bu çalışmada T/NK hücreli lenfomalarda ilaç direncinde rol oynayan “P-glycoprotein” (P-gp), “Multidrug related protein-1” (MRP-1), “Breast cancer related protein” (BCRP) ve “Lung related protein” (LRP)’in ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır. Bu proteinlerin ekspresyonunun T/NK hücreli lenfomalarda ilaç direncinde rolü olup olmadığının belirlenmesi ve bu proteinlerin ekspresyonunun prognoz ve tedaviyi yönlendirmeye katkısı olup olmayacağını öngörülmesi amaçlanmıştır.

1.2 Kapsam ve Yöntem

1997-2003 tarihleri arasında HÜTF Patoloji ABD’da tanı verilmiş olan 45 adet matür T/NK hücreli lenfoma vakası immünohistokimyasal olarak ÇİD protein

ekspresyonu açısından incelenmiştir. Bu inceleme için MDR'de önemli rolü olan başlıca dört proteini oluşturan P-glycoprotein, MRP-1, BCRP ve LRP proteinleri ile immünohistokimyasal boyamalar yapılmıştır. Boyanma paterni ve miktarı iki ayrı patoloğ tarafından değerlendirilmiştir.



GENEL BİLGİLER

Kemoterapinin kanser tedavisinde çok önemli yeri vardır ve yeni ilaçların geliştirilmesiyle başarısı günden güne artmaktadır. Ancak normal doku ve hücrelere olan yan etkileri yanısıra kemoterapinin tedavi etkinliğini sınırlayıcı en önemli faktörlerden biri de kemoterapötiklere dirençli kanser hücre varyantlarının varlığıdır. Bu varyant hücreler spesifik tek bir ilaca direnç gösterebilecekleri gibi değişik kimyasal yapılardaki ve değişik etki mekanizmalarına sahip birbirinden farklı birçok ilaca birden de direnç gösterebilmektedir. İlk defa 1970’de Biedler ve arkadaşları (1970) tarafından ortaya atılan bu tip ilaç direnci “çoklu ilaç direnci” (ÇİD-multidrug resistance, MDR) olarak bilinmektedir (Coon, 1991). Kanserlerin çoğunun tedavisinde farklı sınıflardan birçok ilaç kombine olarak kullanıldığından ÇİD kanser tedavisinde kemoterapi başarısızlığının önde gelen nedenlerindedir. Esasta tümörlerin birçoğu kanser tedavisinde kullanılan potent sitotoksik ajanlardan çoğuna edinsel olarak dirençlidir ki bu ilaç direncinde rol oynayan mekanizmaların normal fizyolojide de yeri olmasından ileri gelmektedir. Başta ilaca duyarlı olan tümörler ise rekürens sırasında gerek tedavide kullanılmış olan gerekse tedavi sırasında kullanılmamış olan bir çok ilaca direnç geliştirmiş olarak karşımıza çıkmaktadır.

İlaç direnci ciddi bir klinik problem olduğundan son yıllarda ilaç direnci ve mekanizmaları üzerine çok sayıda çalışma mevcuttur. Buna rağmen söz konusu direnç mekanizmaları halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu mekanizmaların aslında mikroorganizma ve hücrelerin kendilerini ksenobiyotiklerden veya konakçı tarafından oluşturulan defensin gibi lizozomal antimikrobialardan koruma çabası sonucu zamanla evrimselleştiği düşünülmektedir.

Mevcut çalışmalar sayesinde ÇİD’den sorumlu farklı bir çok mekanizma ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında:

- Hücre siklusu kontrol noktalarındaki değişiklikler (p27) (St. Croix B, 1996)
- Apoptotik mekanizmalardaki bozukluklar (Goldie, 1983; Takahashi, 1999; Sonneveld, 2000; Chauncey, 2001))
- ER-rezistan stress proteinlerinin (GRP78 ve GRP94) indüksiyonu ile karakterize stres ilişkili direnç (Willman, 1997; Motoloji, 2000)
- Tümör mikroçevresi ve hücre adhezyonu (Cheng, 1993; Covelli, 1999; Damiano, 2000; Tan, 2000; van der Kolk, 2000; Marie, 2001; Shain, 2001)

- Hücresel onarım enzimleri ve DNA onarım sistemleri (Pileri, 1991; Rodriguez, 1993; Lage, 1999)
- Glutasyon-S-transferaz gibi ksenobiyotik detoksifiye edici sistemlerin aktivasyonu (Dan, 1991)
- Hasar gören hedef hücre mekanizmalarının onarımı ve
- İlaç birikiminin azaltılması yer almaktadır (Gascoyne, 1993; Jaffe, 2001).

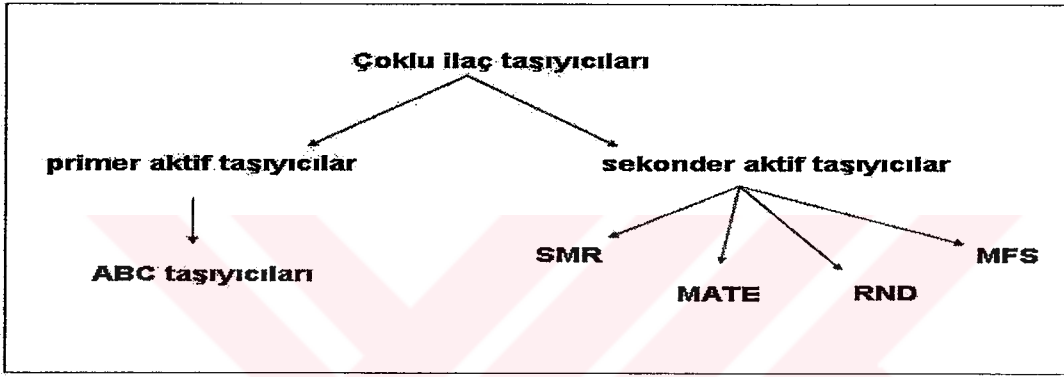
Bu mekanizmalar arasında ilaç birikiminin azaltılması ile giden mekanizmalar en detaylı araştırılmış olanı olup aynı zamanda bugün çoklu ilaç direncinde en sıklıkla rol oynadığı düşünülen mekanizmayı oluşturmaktadır.

Hücre içi ilaç birikiminin azaltılmasının yollarından biri ilaçları hücre içine taşıyan taşıyıcılardaki mutasyonlardır ve hidrofilik ilaçlar için geçerlidir. Bu mekanizma ile ancak tek bir ilaca direnç geliştirilmesi mümkün olmaktadır. Bu mekanizma ile ÇİD ancak taşıyıcıların hücre yüzeyine lokalizasyonunda olabilecek jeneralize bir bozukluk sonucu oluşabilir ve bu mekanizma hücre membranından diffüze olabilen hidrofobik ilaçlara direnç sağlamaz (Dréneu, 1997). Hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlara karşı dirençte rol oynayan ve hücre içi ilaç birikimini azaltan diğer mekanizma ise “transmembran ilaç taşıyıcıları”dır.

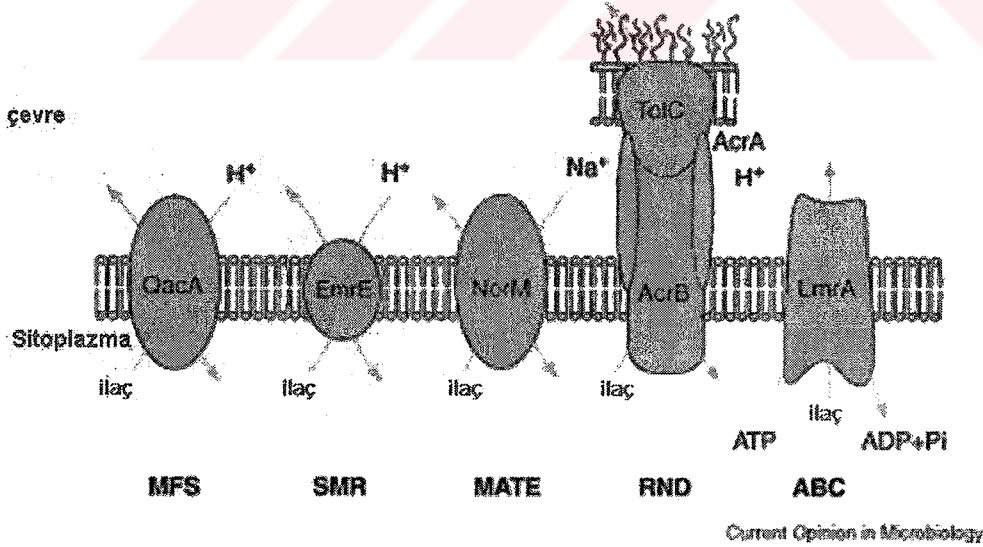
2.1 Transmembran İlaç Taşıyıcıları

En önemli ÇİD mekanizmalarından bir tanesi antitümoral ve antimikrobiyal ajanları hücre dışına atan transmembran ilaç taşıyıcılarıdır. Bu ilaç taşıyıcıların bir kısmı belli tek bir ilaca veya belli bir sınıfa ait ilaçlara özgül iken, bunların “çoklu ilaç taşıyıcıları” olarak adlandırılan bir grubu geniş bir ilaç spektrumunu taşıyabilmektedir. Bu taşıyıcılar hem patojenik mikroorganizmalarda (Yamaguchi, 1995; Jillella, 2000; Jung, 2001), hem de kanser hücrelerinde (Schlaifer, 1990) ilaçları dışarı atıp bunların hücre içi konsantrasyonlarını azaltarak ÇİD fenotipinden sorumludur. Bu taşıyıcılar, sayıları sınırlı birkaç protein ailesinin üyesidir ve bugüne kadar araştırılmış olan her tür canlıda mevcuttur (Miller, 1991). Bu taşıyıcılar, enerji kaynaklarına göre ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2.1). Bunlardan biri “ikincil aktif taşıyıcılar” (secondary active transporters) olarak adlandırılmaktadır. Bu sınıfta, ilaç dışı atımı proton veya sodyum iyonları eşliğinde belli bir konsantrasyon gradienti varlığında simport veya antiport şeklinde gerçekleşmektedir (Poje, 1991) ve esas

olarak prokaryotik organizmalarda ilaç atımında rol oynamaktadır (Jung, 2001). Bu sınıfın 4 tane üyesi vardır: “The Small MDR” superailisi (SMR), “The Multidrug and Toxic Compound Extrusion” ailesi (MATE), “The Resistance-modulation-cell division” ailesi (RND) ve “The Major Facilitator” superailisi (MFS) (Goldstein, 1989) (Şekil 2.1 ve 2.2). Diğer sınıf, enerji sağlamak için ATP hidrolizinin kullanıldığı “primer aktif taşıyıcılar”dır ve ağırlıklı olarak ökaryotik hücrelerde ilaç atımından sorumludur (Jung, 2001). ÇİD’de en çok üzerinde durulan “ATP-binding-cassette (ABC) taşıyıcıları” ailesi bu ikinci sınıfa dahildir (Moscow, 1989).



Şekil 2.1 : Transmembran ilaç taşıyıcılarının sınıflandırılması



Şekil 2.2: Transmembran ilaç taşıyıcılarının 5 karakteristik ailesi- Paulsen ve Lewis (2001)'den alınmıştır.

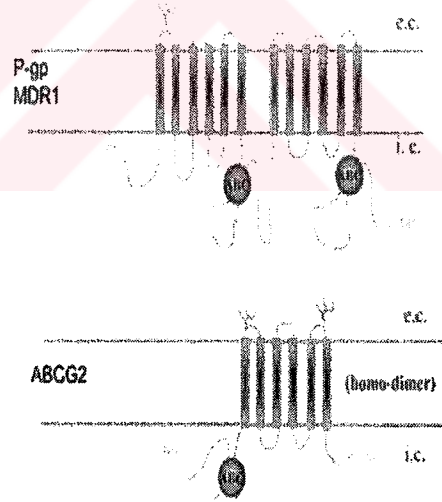
2.2 ABC-taşıyıcıları

ABC-taşıyıcıları adı 1992’de Chris Higgins tarafından ortaya atılmıştır (Moscow, 1989). ABC adı tüm süperaileda korunmuş olan “ATP-binding-cassette” alt biriminin baş harflerinden gelmektedir. ABC-taşıyıcıları esasta membran glikoproteinleridir ve fizyolojik olarak biyolojik membranlardan değişik moleküllerin taşınması ile görevlidirler (Niehans, 1992). Bu taşıyıcıların aktiviteleri canlı hücrelerin sitotoksik ksenobiyotiklere karşı korunmasında temel bir biyolojik stratejiyi temsil etmektedir. Bu taşıyıcılar tüm canlı alemlerinde mevcuttur ve yaklaşık 3 milyar yıllık bir evrimsel geçmişe sahiptir (Kang, 1995). Normal fizyolojik görevleri yanısıra bakterilerden insan kanser hücrelerine kadar hemen hemen tüm canlılarda ilaç direnci fenomeninden sorumludurlar (Niehans, 1992).

ABC taşıyıcıları primer aktif taşıyıcıların temsilcisidir. ABC proteinleri, “ABC”, “ABC domaini”, “ABC-ATPase domaini” veya “nükleotid bağlayıcı domain (NBD-nucleotide binding domain)” adı verilen yaklaşık 215 aminoasitlik ve gruba adını veren bir sekansla karakterizedir.

Bu domain tüm nükleotid bağlayıcı proteinlerde mevcuttur ve ATP’nin bağlanmasında rol almaktadır (Glisinden zengin Walker A ve hidrofobik nitelikteki Walker B adı verilen iki kısa peptid motifinden oluşmaktadır) (Lage, 2003). Bu proteinler fosfat bağının enerjisini ATP hidrolizi ile bağlayarak taşıyıcılık yapmaktadırlar ve bir çok hücrel fonksiyonda rol alırlar. ABC proteinleri, genellikle en az 6 alpha-helixten oluşan hidrofobik bir trans-

membran domaini ile bağlandıklarında ABC-taşıyıcıları oluşmaktadır. Transmembran domainlerinin ABC taşıyıcılarının substrat spesifitesini belirlediği düşünülmektedir. Biyolojik olarak aktif bir taşıyıcı çoğunlukla iki transmembran, iki



Şekil 2.3: “Full-transporter”larını ve “half-transporter”larının membran topolojileri- Sarkadi ve ark. (2004)’den alınmıştır.

de ABC domaininden [TMD-NBD]₂ oluşan tek polipeptid zinciri halinde “tam taşıyıcı” (full transporter) olarak , bazen de birer transmembran ve ABC domaini içeren “yarım taşıyıcı” (half-transporter) olarak bulunur. “Yarım taşıyıcılar”lar dimerize olarak fonksiyon görürler (Lage, 2003; Sarkadi, 2004) (Bkz. şekil 2.3).

Bugüne kadar 48 değişik ABC taşıyıcısı tanımlanmıştır (Ikeda, 1999). Bunlar filogenetik karakterlerine göre 7 alttipe (subfamily) ayrılmıştır: ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABDF ve ABCG (Ikeda, 1999). Bunlardan 24 tanesinin fonksiyonu veya hastalıkla ilişkisi bilinmektedir (Gascoyne, 1993). ABC transporterlerinin tanımlanmış fonksiyonları arasında (Gascoyne, 1993):

- Toksik ajankların (ilaç, besin maddeleri) bağırsaktan emilimini önlemek
- Kan-beyin-BOS, kan-testis ve maternal-fetal bariyerlerin sağlanması, bunlardan toksik madde transportunun önlenmesi
- Detoksifikasyon sırasında glutatyon, glukronat veya sülfatla konjüge edilerek hücre membranlarından diffüzyonu engellenen maddelerin (ilaç, toksik maddeler..) dışarı atımı.
- Endojen metabolitlerin taşınması, örneğin karaciğerde safra tuzlarının (ABCB₁₁: BSEP-bile salt export pump), fosfatidilkolinin (MDR3 P-glycoprotein, ABCB₄) , billurubin glukronidlerin (MRP2, ABCC₂) dışarı taşınması.
- Antijen presentasyonu için peptidlerin taşınması: “TAP- transporter associated with antigen presentation” (Kuwazuru, 1990)
- Peptidlerin mitokondriden taşınması (Lau, 1998)

yer almaktadır. Ayrıca bu taşıyıcıların insanlarda Tangier hastalığı, Stargardt hastalığı, retinitis pigmentosa, maküler distrofi, hamilelik kolestazı, ataksili anemi, Dubin-Johnson sendromu, Psödoksantoma elastikum, adrenolökodistrofi ve sitosterolemi gibi özellikle konjenital olan çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu ortaya çıkarılmıştır (Tablo 2.1)(Gascoyne, 1993; van Haselen, 1999).

Tanımlanan ABC taşıyıcılarından ilaç direncinde en çok rol oynayan ve ilaç direnci fenotipiyle ilişkilendirilen en önemli 3 tanesi P-gp (P-glycoprotein, MDR-1, ABCB₁), MRP-1 (multidrug resistance associated protein-1, ABCC₁) ve BCRP (breast cancer resistance protein, ABCP- plasenta-specific ABC transporter, MXR-

Tablo 2.1: ABC-transporterleri ve ilişkili olduğu hastalıklar.

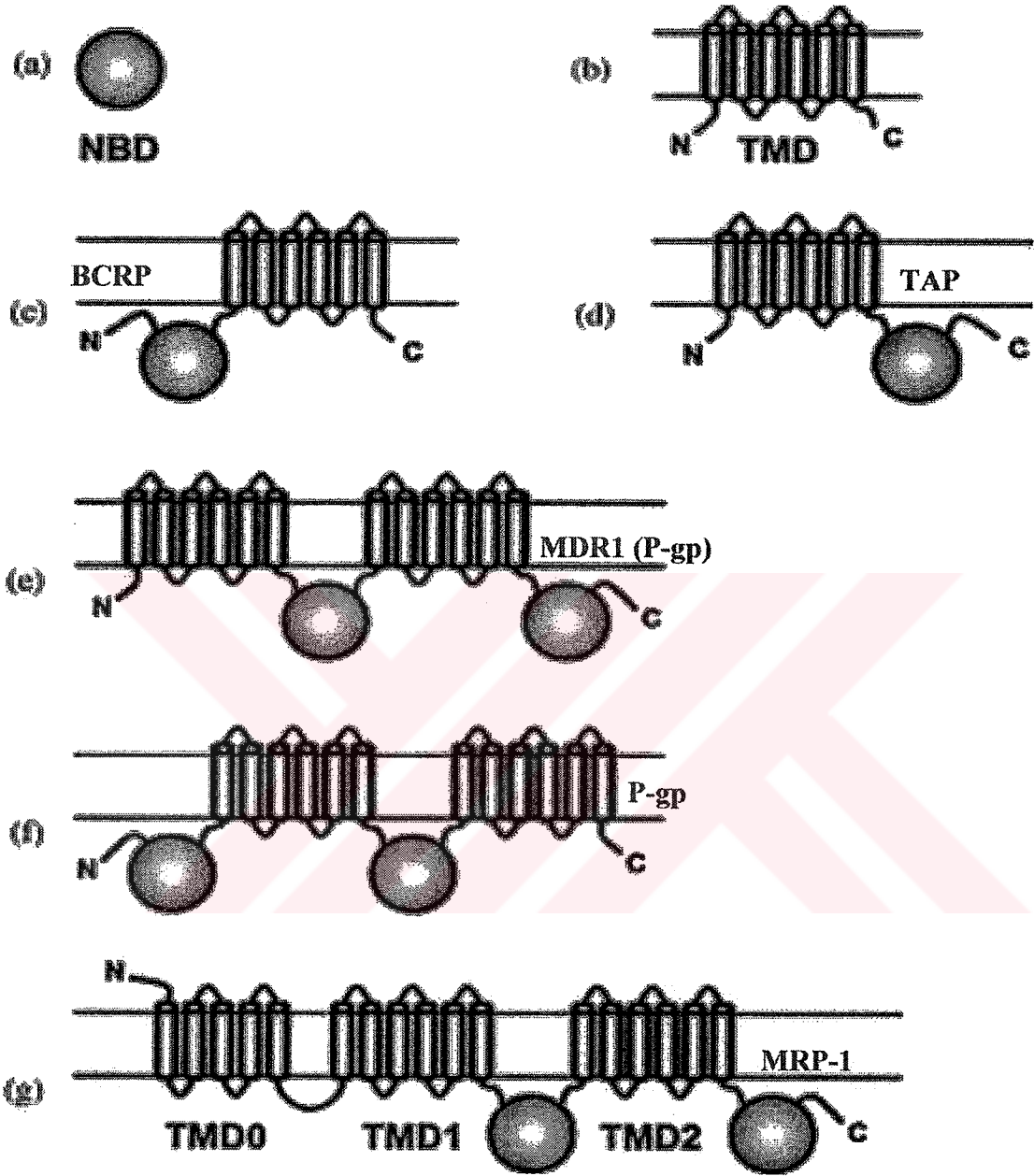
PROTEİN ADI	SEMBOLÜ	İLİŞKİLİ OLDUĞU HASTALIK
ABC1	ABCA1	Tangier hastalığı
ABCR	ABCA4	Stargardt hastalığı retinitis pigmentosa maküler distorfi
PGY3	ABCB4	PFIC-3 Gebelik kolestazi
ABC7	ABCB7	Ataksili anemi
BSEP	ABCB11	PFIC-2
MRP-2	ABCC2	Dubin-Johnson sendromu
MRP6	ABCC6	Psödoksantoma-elastikum
ALD	ABCD1	Adrenolökodistrofi
ABCG5	ABCG5	Kolesterol ?
ABCG8	ABCG8	Kolesterol ?

mitoxantrone resistance protein)'dir. İlaç taşıyıcılığında rol oynadığı düşünülen ancak bugüne kadar yapılan çalışmalarda ilaca dirençli fenotiple zayıf korelasyon gösteren diğer bazı ABC-taşıyıcıları arasında ise

- ABCA₂ (östradiolün östrojen mustard türevi olan estramustin'e dirençle ilişkili) (Laing, 1998; Vulevic, 2001)
- ABCB₁₁ (paklitaksel'e dirençle ilişkili) (Childs, 1998)
- TAP1 ve TAP2 (mitoxantrone veya etoposide dirençle ilişkili) (Izquierdo , 1996a; Lage , 2001) yer almaktadır.

2.2.1 P-glycoprotein

ABC taşıyıcıları ailesinin bir üyesi olan P-glycoprotein (P-gp) aynı zamanda tanımlanan ilk ATP bağımlı dışa atım (efflux) pompasıdır (Chen , 1986). Kromozom 7q21'de lokalize MDR1 geninin ürünüdür (Ambudkar, 2003). P-gp moleküler ağırlıkları 3000-200000 arası değişen nötral ve hidrofobik bileşikler taşıyır (Ford, 1990; Ambudkar, 2003). P-gp her biri 6 tane transmembran domaini ve bir ATP-bağlayıcı domain içeren iki yarıdan (homodimer) oluşmaktadır (Şekil 2.4) (Ambudkar, 2003). Ancak bu iki yarı tek bir taşıyıcı olarak görev görür ve birbirlerine esnek bir bağlayıcı bölge ile bağlıdır, bu bölge olmadan fonksiyon



Şekil 2.4: ABC-taşıyıcı proteinlerinin öngörülen domain dizilimleri . NBD-nükleotid bağlanma domaini, TMD-transmembran domaini- Lage ve ark. (2003)'dan alınmıştır.

göremez (Hrycyna, 2001; Loo, 2001a). Esas ilaç bağlayıcı bölge transmembran domaininde bulunur (Loo, 2001b). Normalde esas olarak ince ve kalın barsak mukozası, hepatositler, adrenal bez, böbrek proksimal tübülleri ve, beyin, over ve testis kapiller endotelial hücrelerinde eksprese olurlar (Fojo, 1987; Schinkel, 1997; Borst, 2002).

“ÇİD-knockout” farelerde yapılan deneyler, P-gp'nin ilaç absorpsiyonunda, detoksifikasyonunda ve atılımında rolü olduğunu göstermektedir (Schinkel, 1997). İlaç substratları arasında antrasiklinler- doxorubicin, daunorubicin; vinca alkaloidleri- vinkristine, vinblastin, vindesin; antibiyotikler- actinomisin-D, daktinomisin, mitomisin; taksanlar- paklitaksel, docetaksel; epipodofilotoksinler - etoposide, tenoposide; ve diğerleri- kolşisin, topotekan, STI571, valinomisin, puromisin, emetin vardır (Ambudkar, 2003).

P-gp'nin hangi insan kanserlerinde ilaç direncinden sorumlu olduğunun ortaya konması için yapılmış çalışmaların çoğu hematopoitik kanserler üzerinde yoğunlaşmıştır. P-gp normalde lokalize olduğu böbrek , karaciğer ve kolon gibi dokulardan gelişen kanserlerde içsel olarak yüksek seviyelerde bulunur (Fojo, 1987; Ambudkar, 2003). Lösemi, lenfoma ve multiple myelom da ise başta düşük ekspresyon göstermekle birlikte özellikle kemoterapi sonrası ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Ambudkar, 2003). P-gp ile AML hastalarında çok sayıda çalışma yapılmış olup AML hastalarının 1/3'ünde tanı anında , %50'sinde ise ilk relapsta yüksek seviyelerde P-gp ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Leith ve arkadaşları (1999) AML hastalarında P-gp ekspresyon seviyesinin relaps ihtimali ile korele olduğunu bildirmiştir. KML'nin blast krizinde ve nöroblastomda ise P-gp tümör progresyonu sırasında espres olmaya başlamaktadır (Goldstein, 1989). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda MDR1 geninde 50 adet tek nükleotid polimorfizmi, 3 tane de “insertion/deletion” polimorfizmi tanımlanmıştır (Ambudkar, 2003).

2.2.2 Multidrug Resistance-Associated Protein-1

“Glutathione ve glukronat rezistans pompası ve antrasiklinler, epipodofilotoksinler, vinca alkaloidleri and kamptotekinlere rezistans faktörü” olarak da adlandırılan, Multidrug Resistance-Associated Protein-1 (MRP-1) , 9 üyeye sahip Multidrug Resistance-Associated Protein (MRP) ailesinini ilk tanımlanan üyesidir.

MRP ailesi lipofilik anyonların taşınmasında rol alır. MRP-1 190 kilodalton ağırlığında 1531 aminoasitlik bir transmembran proteindir. 3 adet transmembran domaini, ekstrasellüler N-terminusu, 2 adet nükleotid bağlayıcı domaini ve iki adet intrasellüler linker/bağlayıcı domaini vardır (Bkz. şekil 2.4) (Bakos, 1996). Bazolateral bir taşıyıcı olduğundan bileşiklerin lüminal yüzeyden bazal membran altındaki dokulara taşınmasını sağlar. Glutasyon henüz netleşmemiş aşağıda sıralanan bazı mekanizmalarla MRP-1 bağımlı dışa atımda rol oynar (Kruh, 2003):

- Glutasyonla ko-transport (vinka alkaloidleri ve antrasiklinler)
- Glutasyona enzimatik olarak konjuge edilmiş hidrofobik bileşiklerin (faz II sellüler detoksifikasyon ürünleri) taşınması
- Glutasyonun pozitif allosterik etkisi
- Oksitlenmiş glutasyonun (oksidatif stress sonucu oluşur) taşınması

Sitoplazmik glutasyonun hücreiçi domainlerle, hidrofobik ilaçların ise transmembran domainlerle etkileştiği ettiği düşünülmektedir.

MRP-1 fizyolojik olarak meme, akciğer, kalp, böbrek, kas , kolon, testis, kemik iliği hücreleri, mononükleer lökositler ve eritrositlerde eksprese olur. İn vivo fonksiyonları arasında :

- Glutasyon homeostazının sağlanması
- Redox dengesinin sağlanması (oksidlenmiş glutasyonun hücre içinden atılması ile)
- Hücresel folat homeostazı (folik asit ve lökoverin gibi indirgenmiş folatların taşınması) (Assaraf , 2003)
- LTC₄ ile ilişkili inflamatuvar süreçler ve yine LTC₄ ile ilişkili olarak dendritik hücre fonksiyonu (Leier, 1994; Robbani, 2000)
- Kemik iliği ve mukozal yüzeyler, testis ve koroid pleksusta barier görevi yer alır (Kruh, 2003).

Fizyolojik substratları arasında glutasyon, glukronat ve sulfat konjugatları vardır (Jedlitschky, 1996; Loe, 1996). Direnç profili ise P-gp'inkine benzer niteliktedir. İlaç substratları arasında antrasiklinler, vinka alkaloidleri, epipodofilotoksinler, kamptotekinler ve metotreksat yer alır (Kruh, 2003). Farelerde bunlara ek olarak MRP-1 ekspresyon artışının taksanlar ve mitoksantrona dirence de yol açtığı gösterilmiştir. İnsanlarda bu konuda deneyim yoktur (Lin, 2002). Yukarda

bahsedilen ilaçlarla tedavi edilen lösemi, meme kanseri, kolorektal kanserler ve germ hücreli neoplazilerde artmış ekspresyonu gösterilmiştir (Kruh, 2003).

2.2.3 Breast Cancer Related Protein

Mitoksantron'a rezistan bazı hücre dizilerinde MDR-1 veya P-gp'in ekspresyonunda artış saptanamamıştır. Bu gözleme yönelik yapılan çalışmalarda 3 ayrı grup tarafından hemen hemen aynı dönemlerde mitoksantron direncinden sorumlu olabilecek ABC ailesine ait yeni bir protein izole edilmiştir. Bu proteine Doyle ve arkadaşları (1998) mitoksantron dirençli meme kanseri hücre dizilerinde izole ettiklerinden "meme kanseri rezistans proteini" (Breast Cancer Related Protein, BCRP) adını, Allikmets (1998) ve arkadaşları plasentada çok miktarda eksprese olduğunu gözleyerek ABC plasenta'nın kısaltımı olan ABCP adını, mitoksantrona dirençli kolorektal kanser hücre dizileri ile çalışan bir başka grup ise MXR (mitoksantrone resistance) adını vermişlerdir (Miyake, 1999).

ABC taşıyıcılarından G alt-ailesinin 2. üyesi olan ve bu yüzden resmi olarak ABCG₂ olarak bilinen BCRP proteini bir yarım-ABC proteindir (half-transporter), yani bir tane 6'lı transmembran domaini ve bir tane ABC domaini vardır (P-gp veya MRP-1'in yarısına benzer) (Bkz. şekil 2.4). Bu taşıyıcı MRP'lerin aksine ilaç konjugatlarıyla değil, direkt olarak ilaçların kendisiyle etkileşerek fonksiyon görür (Doyle, 2003). Çalışmalar BCRP'nin, bir birine disülfid bağı ile bağlı homodimerler olarak fonksiyon gördüğünü göstermektedir (Kage, 2002). BCRP'yi kodlayan gen 4q22'de lokalizedir ve BCRP ekspresyonun artmış olduğu hücre dizilerinde bu gende amplifikasyon ve translokasyonlar gösterilmiştir (Knutsen, 2000).

BCRP'nin fizyolojik fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. Plasentada, barsak yüzey epitelinde, küçük kan damarlarının endotelinde, beyinde, prostat, over, kalp kası, karaciğer kanalikülleri, endokrin pankreas, adrenal korteks , meme, tiroid ve paratiroidde ekspresyonu gösterilmiştir (Doyle, 1998; Maliepaard 2001). Plasentada koryon villuslarını döşeyen sinsityotrofoblastların apikalinde yer aldıklarından fetüse ulaşan ilaçların maternal dolaşıma geri döndürülmesinde rol aldıkları düşünülmektedir (Jonker, 2000; Maliepaard, 2001). Yine plasentada östron ve 17 β estradiolün taşınmasında rol oynadıklarına dair bulgular elde edilmiştir (Imai,

2002). Beyin mikrodolaşımının endotelinde yer aldıklarından kan-beyin barierinin sağlanmasında rolleri vardır (Jonker, 2002).

Yakın dönemde yapılan çalışmalarda BCRP'nin bir çok dokudan elde edilen pluripotent kök hücrelerde oldukça anlamlı miktarlarda eksprese olduğu görülmüştür, dolayısıyla kök hücre biyolojisinde görev alabilecekleri düşünülmektedir ve bunların kök hücre belirleyicisi olarak kullanılıp kullanılmayacağı konusu gündeme gelmiştir. Süre gelen çalışmalarda, BCRP'nin kök hücrelerde diferansiyasyona neden olan bileşiklerin hücre içinde birikimini engelledikleri öne sürülmektedir (Zhou, 2001; Zhou, 2002; Doyle, 2003). Yapılan çalışmalar ayrıca BCRP'nin protoporfirin metabolizmasında da rol oynadığını düşündürmektedir, çünkü BCRP "knock-out" farelerin ışık sensitivitesi ve protoporfiri geliştirdikleri gözlemlenmiştir (Jonker, 2002) .

Mitoksantrone'a direnç yanısıra BCRP daunorubisin, doksorubisin, topoizomera I inhibitörleri (topotekan ve indotekan), antrasiklinler, bisantrene, prazosin, lisotraker, rodamine ve flavopiridole dirençten sorumludur (Doyle, 2003).

Orijinal olarak meme kanseri hücrelerinde ilaç direnci ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen meme kanseri hastalarında mRNA protein düzeyinde yapılan çalışmalarda düşük seviyelerde eksprese olmaktadır. Bugün BCRP'nin en çok AML hastalarında ilaca dirençten sorumlu olduğu gösterilmiştir. AML blastlarda normal kemik iliği blastlarına göre daha yüksek seviyelerde eksprese olduğu ve AML'li hastalarda tedaviye yanısızlıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yine bazı kolon kanseri, ösefagus kanseri, endometrial kanser, akciğer kanseri ve melanomlarda da ekspresyonu görülmüştür (Doyle, 2003).

2.3 Major Vault Proteinleri

ÇİD'den sorumlu ve birçok insan tümöründe artmış ekspresyon gösteren bir diğer mekanizmayı da "vault" proteinleri oluşturur. Vault'lar ökaryotik hücrelerde bulunan büyük ribonükleoprotein partikülleridir. Yaklaşık 13 megadalton ağırlığa sahip olup bugüne kadar tanımlanan en büyük ribonükleoprotein partiküllerini oluşturmaktadırlar. Bir major vault proteini (MVP, M_r 100,000), iki minör vault proteini (M_r 193,000 ve M_r 240,000) ve vault RNAsı (transkribe olmayan bir RNA partikülü) vault proteinlerinin komponentlerini oluşturur ve vault proteinleri bu

komponentlerin değişen sayıdaki değişik kombinasyonlarından oluşur. Bu komponentler üç boyutlu konfigürasyonda kapalı olduğunda içi boş bir fiçiyi, açıldığında ise merkezi bir halkayı çevreleyen 8 yapraklı çiçeği andıran bir yapı oluştururlar (Şekil 2.5) (Scheffer, 2000; van Zon, 2003).

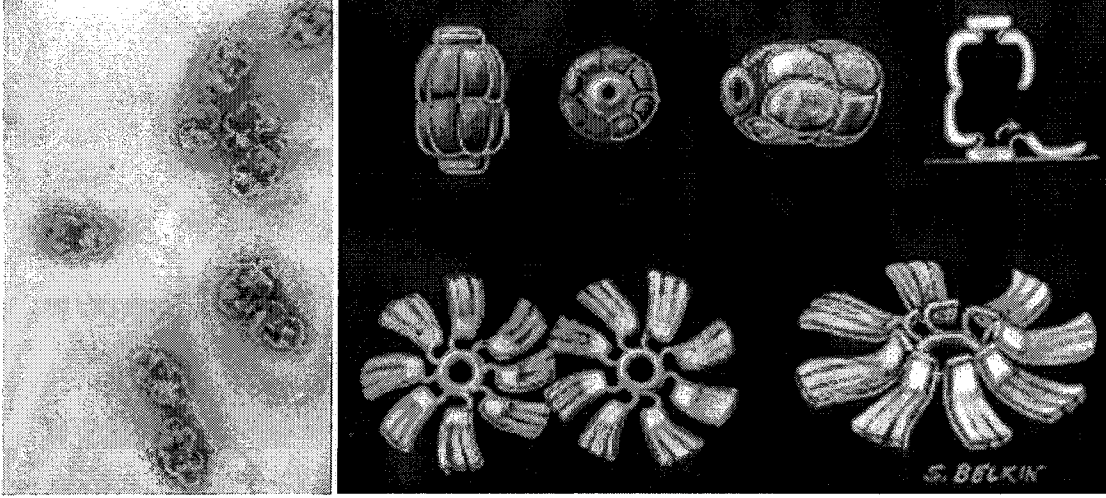
Vault proteinlerinin büyük çoğunluğu sitoplazmada yer alır . Hücresel fonksiyonları henüz tanımlanmamış olmakla beraber sitoplazmik lokalizasyonu ve fiçi benzeri şekli nedeniyle hücre-içi (intraseküler) taşımadan sorumlu oldukları düşünülmektedir. Mikrotübüller ve aktin filamanları ile kolokalize oldukları gösterilmiştir (Kedersha, 1990) ki bu da hücre iskeleti vasıtasıyla taşındıklarını ve böylelikle de kargolarını bir subseküler lokalizasyondan diğerine taşıyarak fonksiyon gördüklerini düşünülmektedir. Hücre iskeletinin korunmasında rol alabilecekleri öne sürülmektedir. Ayrıca ksenobiyotiklere yüksek seviyelerde maruz kalan bronş epiteli, kolon mukoza epiteli ve makrofaj gibi hücrelerde ve adrenal korteks gibi metabolik olarak aktive dokularda yüksek seviyelerde eksprese oldukları gösterilmiştir ve bundan dolayı da fizyolojik defans mekanizmaları arasında yer aldıkları öne sürülmektedir (Scheffer, 2000; van Zon, 2003).

Bazı araştırmacılar hücre iskeleti ile ilişkisi yanısıra vaultların bir kısmının nükleer membran ve nükleer “pore” kompleksi ile de ilişkisinin olduğunu ve nükleositoplazmik transporta rol aldıklarını göstermişlerdir (Chugani, 1993). Muhtemel kargolardan biri ribozomlardır. Abbondanza ve arkadaşları (1998) ise vault proteinlerinin kargolarından birinin östrojen reseptörü (ER) olduğunu ve vault proteinlerinin ER'nün nükleusa taşınmasında rol oynadığını bildirmişlerdir.

Vault proteinlerinin ilaç direncinde de bu mekanizmalarla, yani ilaçların fonksiyon görecekları hücresel lokalizasyondan uzaklaştırılması ile görev aldıkları düşünülmektedir. Özellikle de nükleositoplazmik transportun ilaç direncinden sorumlu olabileceğini gösteren sonuçlar ortaya çıkmaktadır.

2.3.1 Lung Resistance Protein/Major Vault Protein

“Lung resistance Protein” (LRP) ilk defa 1993'de Scheper ve arkadaşları (1993) tarafından küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücre dizisinde doksorubisin direnci ile ilişkili olarak tanımlandı. Daha sonradan da LRP'nin vault'ların ana



Şekil 2.5: Vault proteinlerinin elektron mikroskopik ve şematik görünümü-van Zon ve ark (2003)'den alınmıştır.

komponenti olan “majör vault proteini” (MVP) olduğu gösterildi (Scheffer, 1995). Geni kromozom 16p13.1-p11.2’de yer almaktadır. Karboksi ucundaki α -helix, sarmallardan oluşan domaini MVP’ler arası ilişki ve vault partiküllerinin oluşumundan sorumludur. N-terminalinde ise kalsiyum bağlanmasından sorumlu 45-50 aminoasit tekrar bölgesi bulunur ki çalışmalar kalsiyumun da MVP’nin çeşitli şekillerde katlanıp bir araya gelerek kompleks vault partiküllerinin oluşturulmasında rolü olduğunu göstermektedir (Scheffer, 2000; van Zon, 2003).

MVP’lerinin fizyolojik görevleri henüz net olarak bilinmemektedir. Ancak dokularda değişken ekspresyon gösterdikleri, akciğer, karaciğer ve bağırsaklarda ekspresyonu belirgin iken, çizgili kas ve beyin dokusunda düşük seviyelerde eksprese oldukları ve insan dendritik hücrelerinde hücre gelişimi sırasında ekspresyonlarının attığı görülmüştür (Izquierdo, 1996b; Scheffer, 2000; Schroeijers, 2002; van Zon, 2003).

LRP/MVP’nin antrasiklinlerin nükleusdan atılımını sağladığı gösterilmiştir. (Kitazono, 1999). Ayrıca LRP/MVP’nin osteosarkomlarda, melanomlarda, akciğer kanserlerinde, AML, multipl myelom ve nöroblastomda kemoterapiye yanıtıtlık ve kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. MVP’lerin direkt olarak ilaç direncinden sorumlu olduğunu destekleyen çalışmalar yanısıra MVP’lerin ilaç direncinde tek başlarına yeterli olmadıklarını gösteren çalışmalar da vardır (Siva, 2001; Mossink, 2002). Bu nedenle günümüzde LRP’nin ilaç direnci

fenotipinin bir belirleyicisi mi olduğu yoksa direkt ilaç direncinden sorumlu mu olduğu henüz netleşmemiştir.

2.4 T/NK Hücreli Lenfomalar

T/NK hücreli lenfomalar T hücre fenotipi ve genotipine sahip lenfositlerden oluşan neoplazmlardır. NK (natural killer) hücreleri de gerek immünfenotipik, gerekse fonksiyonel olarak T hücrelerine benzerlik gösterdiğinden NK hücre kaynaklı lenfomalar da bu grup içersine dahildir. Bu grup lenfomalar, modern immünolojik ve moleküler tekniklerin geliştirilmesi ile ancak yakın geçmişte net olarak tanımlanmıştır. B lenfomalara oranla çok nadir görülmekte olup tüm Hodgkin dışı lenfomaların (Non-Hodgkin lymphoma-NHL) ancak %12'sini oluşturmaktadırlar (Jaffe, 2001). Tüm bu nedenlerden dolayı T lenfomalar üzerinde deneyim azdır. Moleküler patogenetik mekanizmaları henüz tanımlanmamıştır ve bunlara özgül tedavi protokollerine yönelik çalışmalar az sayıdadır.

Moleküler patogenezi henüz bilinmediğinden ve anaplastik büyük hücreli lenfoma (Anaplastic large cell lymphoma-ALCL) alttipi hariç bu grup lenfomalar için özgül genetik anomaliler tanımlanmamış olduğundan sınıflandırmalarında, B lenfomaların aksine, morfolojik ve moleküler özelliklerden çok klinik özellikler ön planda tutulmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2001 sınıflamasında klinik özelliklerine göre – lösemik/dissemine, ektranodal, nodal ve kütanöz olmak üzere aşağıdaki gibi dört ana gruba ayrılmışlardır:

- Lösemik veya dissemine
 - T-hücreli prolenfositik lösemi
 - T-hücreli granüler lenfositik lösemi
 - Agresif NK-hücreli lösemi
 - Erişkin T-hücreli lösemi/lenfoma
- Ektranodal
 - Ektranodal NK/T-hücreli lenfoma, nasal tip
 - Enteropatik tip T-hücreli lenfoma
 - Hepatosplenik T-hücreli lenfoma
 - Subkütanöz pannikülit benzeri T-hücreli lenfoma

- Kütanöz
 - Blastik NK-hücreli lenfoma
 - Mikozis fungoides (MF)/Sezary sendromu
 - Primer kütanöz Anaplastik büyük hücreli lenfoma
- Nodal
 - Periferik T-hücreli lenfoma, daha ileri tanımlanmamış (not otherwise specified, nos)
 - Anjioimmünoblastik T-hücreli lenfoma
 - Anaplastik büyük hücreli lenfoma

Klinik olarak vakaların 2/3'ü primer olarak nodal, 1/3'ünde primer olarak ekstranodal hastalıkla başvurur. Ekstranodal yayılım sıklıdır. Asya'lılarda insidansı daha yüksek olup en sık görülen alttıplerini "Periferik T-hücreli lenfoma, nos" ve "Anaplastik büyük hücreli lenfoma"lar oluşturur, ekstranodal bölgelerde ise "NK/T-hücreli lenfoma, nasal tip" en sık görülen alttıptir. Çok geniş bir histomorfolojik spektrum sergilerler. Apoptoz, nekroz ve anjioinvazyon, klinik olarak da hemofagositik sendrom sıklıdır. İmmüfenotipik olarak T hücre belirleyicilerinin aberan ekspresyonuyla karakterizedirler. Klonaliteyi gösterecek immüfenotipik bir belirleyici olmadığından, klonalite değerlendirilmesi için T hücre reseptörü (TCR) gen rearranjmanını gösteren moleküler çalışmalar gerekmektedir. Karyotipik olarak henüz sadece ALCL alttipinde (t(2:5) özgül anomali tanımlanabilmiştir.

Etyolojileri de henüz netleşmemiştir ancak endemik bazı bölgelerde HTLV-1 ve EBV virusları ile ilişki gösterilmiştir.

Klinik olarak agresif seyir ile bilinirler. Tedaviye cevapları kötüdür. Bunun nedenlerinden birinin intrensik ilaç direnci olabileceği düşünülmektedir (Dréneu, 1997). Bir diğer nedenin de bu grup lenfomaların büyük çoğunluğunun B lenfomalar için geliştirilmiş tedavi protokolleri ile tedavi ediliyor olmaları ve bunlara özgül tedavi protokolleri ve tedavi protokollerine yönelik çalışmaların az olmasıdır. Bu hastaların sıklıkla ileri evre hastalıkla başvuruyor olmaları da kötü prognoza katkıda bulunan bir diğer faktördür (Lopez-Guillermo, 1998). Tüm bu nedenlerden dolayı bu grup lenfomalarda sağ kalım kötüdür, 5 yıllık sağkalım yaklaşık %30 olarak bildirilmektedir.

2.4.1 NK Hücreli Neoplaziler

Büyük granüllü lenfosit morfolojisi ile karakterize NK ve NK-benzeri sitotoksik T hücrelerden köken alan bu lenfoproliferatif hastalık grubu içersinde, ektranodal NK/T hücreli lenfomalar ve agresif NK hücreli lösemi yer alır. Çok nadir ve agresif bir lenfoma grubunu oluştururlar. Uzak doğu, Meksika ve Güney Amerika kökenli ırkta daha sık görülmekte olup büyük çoğunluğunda etiyolojide Epstein-Barr virüsünün rolü olduğu düşünülmektedir.

Ektranodal NK/T hücreli lenfomalar en sık olarak nazal ve paranazal sinüslerde görüldüğünden bu grup pratik olarak nazal ve ektranazal olarak ikiye ayrılır. Ektranazal olarak deri, gastrointestinal sistem, testis ve yumuşak dokuyu tutar ve nazal NK/T hücreli lenfomalara oranla daha agresif seyirlidirler. En agresif seyirli form ise daha genç bir hasta popülasyonunu ilgilendiren agresif NK hücreli lösemidir. Bu grup hasta dissemine hastalık ile başvurur ve kısa zamanda sistemik tutulum ve multiorgan yetmezliğinden kaybedilir.

Histolojik olarak büyük çoğunluğu hiperkromatik veziküle nükleuslu veya blastik görünümde büyük hücrelerden oluşmakla birlikte morfolojik spektrumu çok geniştir ve küçük, orta büyüklükte veya büyük lenfositlerin çeşitli kombinasyonlarını sergileyebilirler. Anjiosentrik büyüme paterni, anjioinvazyon, apoptoz ve zonal nekroz sıktır. Agresif NK hücreli lösemiler ise kemik iliği ve periferik kanda atipik büyük granüllü lenfositlerle karakterizedir.

İmmünohistokimyasal olarak büyük çoğunluğu CD2+, yüzeysel CD3-, sitoplazmik CD3epsilon+ ve CD56+'dır. T hücre gen rearanjmanı göstermezler. Sitogenetik olarak 6q,11q ve 13q'da kayıplar; 1p, 6p, 11q, 12q, 17q, 19p, 20q ve Xp'de kazanımlar ve 17p'de reküren aberasyonlar gösterilmiştir. Prognozu kötü bu grup lenfomanın tedavisinde günümüzde radyoterapi ve multiajan kemoterapi kullanılmaktadır ancak optimal tedavi modalitelerinin geliştirilmesi için çalışmalar sürmektedir.

2.4.2 Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma

Anaplastik büyük hücreli lenfomalar (ALCL) CD30 pozitif neoplastik lenfoid hücrelerle karakterize histomorfolojik ve sitogenetik olarak heterojen bir grup T

hücreli lenfoproliferatif hastalığı temsil etmektedir. ALCL'ler temelde kütanöz ve primer sistemik ALCL olmak üzere ikiye ayrılırlar. Kütanöz ALCL'ler genelde erişkin yaş grubunun hastalığı olup sistemik yayılım göstermezler, lokal tedaviye cevap verirler ve çok iyi prognozla karakterizedirler. Primer sistemik lenfomalar ise sıklıkla hem lenf nodu hem de ektranodal (deri, kemik, yumuşak doku, akciğer, karaciğer, nadiren de gastrointestinal sistem ve santral sinir sistemi) tutulumla karakterizedirler. Bu grup ALK ekspresyonuna göre kendi içinde ikiye ayrılır. ALK pozitif olanlar daha genç yaşta görülür ve daha iyi prognoza sahiptir. ALK negatif grupta klinik özellikler ve prognoz daha heterojendir, ektranodal tutulum ise daha az siktir.

Morfolojik olarak at-nalı şekilli nükleuslar, geniş sitoplazmalı, pleomorfik büyük lenfoid hücreler ve sinuzoidal büyüme paterni ile karakterize olmakla birlikte başta lenfhistiositik ve küçük hücreli varyantı olmak üzere diğer T/NK hücreli lenfoproliferatif hastalıklarda olduğu gibi çok çeşitli morfolojik görünüme sahip olabilirler.

İmmünohistokimyasal olarak sitoplazmik ve paranükleer (Golgi zon) CD30 ve büyük çoğunluğu aynı paternde EMA pozitifliği gösterir. Vakaların 2/3'ü T hücre fenotipine, %10-20 kadarı B hücre fenotipine sahiptir. Bir grup ise ne T, ne de B hücre belirleyicileri ile reaksiyon verir ki bu grup "null cell" olarak adlandırılmıştır, ancak moleküler çalışmalar bu grubun da T hücre kökenli olduğu yönündedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hasta Popülasyonu ve Histolojik İnceleme

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 1997-2004 yılları arasında T/NK hücreli lenfoma tanısı alan 45 hastaya ait 53 doku örneği incelenmiştir. %10'luk formalinde fikse edilmiş ve parafine gömülmüş dokulardan elde edilen 3-4µm kalınlıkta, hematoxilen-eosin boyalı kesitler gözden geçirilmiştir. Tümörler 2001 Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre sınıflandırılmıştır. Hastalara ait klinik bilgiler hastaların dosyalarından ve hastanemiz intranet servisinden elde edilmiştir.

3.2 İmmünohistokimyasal İnceleme

İmmünohistokimyasal inceleme için her vakadan temsili bloklar seçilmiştir ve 5µm kalınlıkta kesitler hazırlanmıştır. Avidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılmıştır.

Kesitler etüvde deparafinize edildikten sonra rehidrate edilmiş ve endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için 15 dakika boyunca %0.5'lik hidrojen peroksidaz içeren %80'lik metil alkol ile muamele edilmiştir. BCRP boyası için ayrılan kesitler ek olarak önceden ısıtılmış 10mmol/L tamponlanmış sitrat (pH 6.0) içersine sokularak 15 dakika boyunca mikrodalga fırında (700W) ısıtılmıştır. Ardından oda sıcaklığında 40 dakika soğutulmaya bırakılmıştır. Boyanma öncesi tüm kesitler 5 dk PBS (phosphate buffer saline) içinde bekletilmiştir. Ardından oda sıcaklığında LRP, MDR-1, MRP-1 ve BCRP'e karşı monoklonal antikorlarla (Tablo 3.1) 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tekrar PBS ile yıkayıp önce biotin bağlı ikinci bir antikor ile ardından tekrar PBS ile yıkandıktan sonra peroksidaz ile eşleştirilmiş streptavidin ile 10'ar dakika muamele edilmiştir. Substrat olarak 3,3' diaminobenzidine ile muameleyi takiben hemotoksilenle zemin boyaması yapılmıştır.

3.4 Kantifikasyon

Kesitler ışık mikroskopunda x 400'lük büyütmede incelenmiştir. LRP ile sadece sitoplazmik, P-gp, BCRP ve MRP-1 ile ise hem sitoplazmik hem membranöz

Tablo 3.1: İmmünohistokimyasal çalışmada kullanılan antikorların özellikleri.

Primer antikor	Klon	Dilüsyon	Firma
<i>LRP</i>	LMR5	1/40	Chemicon International
<i>MDR-1 (P-gp)</i>	JSB-1	1/60	Chemicon International
<i>BCRP</i>	BXP-34	1/80	Chemicon International
<i>MRP-1</i>	MRPm5	1/300	Chemicon International

boyanma izlenmiştir. P-gp ile vakalarda ancak zayıf boyanma saptanmış olduğundan P-gp ekspresyonu pozitif ve negatif olmak üzere ikiye ayrılarak skorlanmıştır ve hücrelerin %50'sinden fazlasında zayıf sitoplazmik ve buna eşlik eden fokal membranöz boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. BCRP ve MRP-1 ile daha belirgin boyanma elde edildiğinden bu iki protein ile reaksiyon 3 grupta skorlanmıştır:

0 : boyanma yok veya hücrelerin %50'sinden azında zayıf şiddette fokal boyanma var

1+: hücrelerin %50'sinden fazlasında sadece sitoplazmik boyanma var

2+: Sitoplazmik boyanma yanısıra fokal (<%50) membranöz boyanma

3+: Sitoplazmik boyanma yanısıra hücrelerin %50'sinden fazlasında belirgin membranöz boyanma.

İstatiksel analiz için 0 ve 1+ skorlanan vakalar negatif (ÇİD proteinini eksprese etmiyor), 2+ ve 3+ skorlanan vakalar pozitif (ÇİD proteinini ekspere ediyor) olarak kabul edilmiştir. LRP ile, beklenildiği üzere, sadece sitoplazmik reaksiyon izlenmiştir ve hücrelerin %30'undan fazlasında boyanma pozitif kabul edilmiştir.

T/NK hücreli lenfomalar morfolojik olarak genellikle küçük ve büyük hücreli lenfoid hücrelerin ve neoplastik ve nonneoplastik lenfoid hücrelerin birarada bulunduğu heterojen bir grubu oluşturduğundan immünohistokimyasal değerlendirme tümör içerisinde neoplastik olduğuna şüphe bırakmayan hücreler ön plana alınarak yapılmıştır. Bu durum ALCL'larda problem yaratmamıştır.

3.5 İstatiksel Analiz

İstatiksel analiz Windows için geliştirilmiş “Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 11.5” paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sağkalım analizi için “Kaplan-Meier metod”u ve “Log-rank” testi, Anaplastik büyük hücreli lenfomalar ile diğer T/NK hücreli lenfomaların arasında ÇİD proteinleri ekspresyonu açısından fark olup olmadığının saptanabilmesi için ise “Ki-kare” kullanılmıştır. 0.05’in altındaki “p” değerleri istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



BULGULAR

4.1 Hastaların Özellikleri

İncelenen 45 hastanın 27'si erkek (%60), 18'i (%40) kadındı. Hastaların yaşları 7 ile 81 arasında değişmekteydi ve yaş ortalaması 44'idi. İkiisi primer kütanöz olmak üzere (C-ALCL) vakaların toplam 21 tanesi ALCL'idi, bunlardan 7 tanesi ALK pozitif gruptaydı. Nazal tip ektranodal NK/T hücreli lenfomalı 2, angioimmunoblastik T hücreli lenfomalı 1 ve agresif NK/T hücreli lenfoma/lösemili 1 hasta vardı. Hastaların geri kalan 20'si Periferik T hücreli lenfoma, nos grubundaydı. Vakaların 28 tanesinde nodal, 11 tanesinde ektranodal tutulum, 6 tanesinde ise hem nodal, hem de ektranodal tutulum mevcuttu. Hasta popülasyonunun demografik özellikleri ve patolojik sınıflaması Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

4.2 Genel Bakış

Genel olarak her dört proteinin de incelenebildiği 40 vaka üzerinden değerlendirildiğinde vakaların %87,5'inin (35 vaka) ÇİD'den sorumlu dört proteinden en az birini eksprese ettiği, buna karşılık vakaların ancak %12,5'isinin (5 vaka) incelenen dört proteinden hiçbirini eksprese etmediği görülmüştür. Eksprese edilen çoklu ilaç direnci sayısına göre vakaların dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2: Eksprese edilen çoklu ilaç direnci proteini sayısı.

		Vaka Sayısı	Yüzde	Kümülatif yüzde
Eksprese edilen ÇİD proteini sayısı	0	5	12,5	12,5
	1	8	20,0	32,5
	2	11	27,5	60,0
	3	11	27,5	87,5
	4	5	12,5	100,0
	Total	40	100,0	100,0

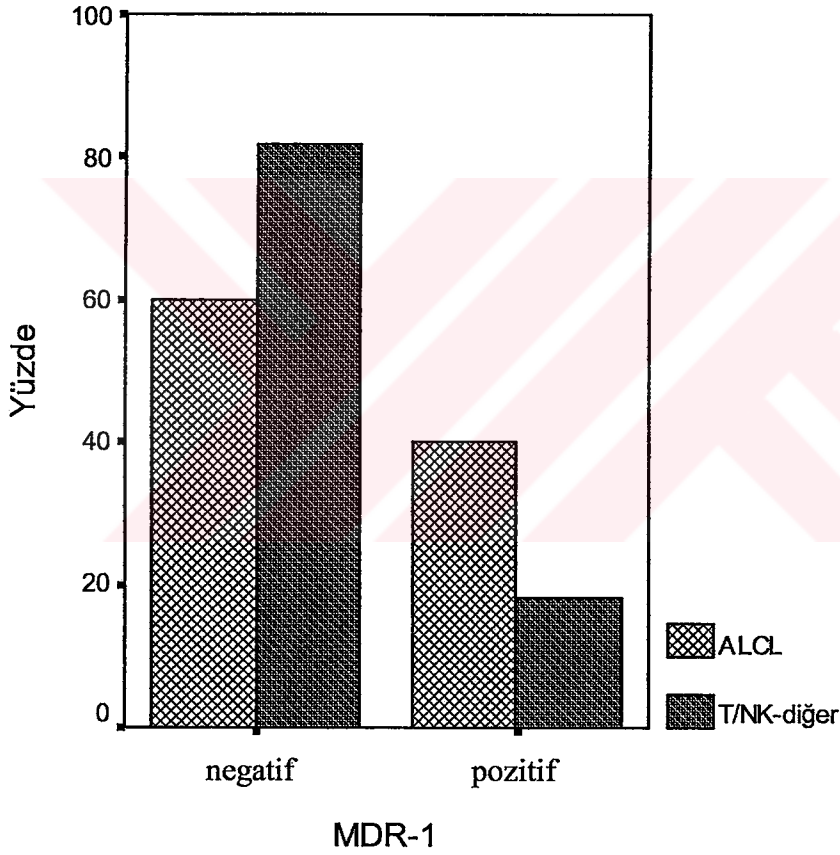
ÇİD proteinlerinin ekspresyonu neoplastik lenfoid hücreler dışında yaygın olarak plazma hücrelerinde , histiositlerde , stromal hücrelerde , endotelde ve yüzey epitelde (deri, çok katlı yassı epitel, respiratuar mukoza, safra epiteli) değişken şiddetlerde görülmüştür (Resim 4.13-20).

Tablo 4.1: Hasta popülasyonunun demografik özellikleri ve patolojik alt tipi.

Hasta no	Patolojik tip	Yaş/cinsiyet	Lokalizasyon
1	NK/T, nazal tip	44 / erkek	Testis
2	ALCL, T, ALK+	7 / erkek	Göğüs
3	PTCL, nos	11 / kadın	Lenf nodu
4	PTCL, nos	74 / erkek	Lenf nodu
5	PTCL, nos	21 / kadın	Lenf nodu + karaciğer + dalak
6	PTCL, nos	51 / erkek	Lenf nodu
7	ALCL, T, ALK-	63 / erkek	Lenf nodu
8	PTCL, nos	46 / erkek	Lenf nodu + tonsil
9	ALCL, T, ALK-	35 / erkek	Lenf nodu
10	PTCL, nos	40 / kadın	larinks
11	ALCL, null, ALK-	26 / kadın	Lenf nodu
12	PTCL, nos	43 / erkek	Lenf nodu
13	ALCL, null, ALK-	35 / erkek	Lenf nodu
14	ALCL, T, ALK-	54 / erkek	Lenf nodu
15	PTCL, nos	66 / kadın	Dil
16	ALCL, T, ALK-	21 / erkek	Lenf nodu + karaciğer + deri
17	ALCL, T, ALK-	51 / kadın	Lenf nodu
18	PTCL, nos	60 / kadın	Dil
19	NK/T, nazal tip	36 / kadın	Nazofarinks
20	ALCL, T, ALK+	19 / erkek	Lenf nodu + karaciğer + dalak
21	Anjiyoimmunoblastik lenfoma	53 / erkek	Lenf nodu + deri
22	PTCL, nos	70 / erkek	Lenf nodu
23	ALCL, T, ALK+	20 / kadın	Lenf nodu
24	PTCL, nos	63 / kadın	Lenf nodu
25	ALCL, T, ALK+	68 / erkek	Lenf nodu
26	PTCL, nos	55 / erkek	Lenf nodu
27	ALCL, T, ALK+	22 / erkek	Lenf nodu
28	PTCL, nos	64 / erkek	Lenf nodu
29	ALCL, T, ALK-	45 / erkek	Lenf nodu
30	PTCL, nos	48 / erkek	Lenf nodu
31	ALCL, null, ALK-	38 / erkek	Lenf nodu
32	ALCL, null, ALK-	29 / kadın	Lenf nodu + plevra
33	ALCL, T, ALK+	40 / kadın	Lenf nodu
34	Agresif NK/T lenfoma/lösemi	51 / erkek	Lenf nodu
35	PTCL, nos	81 / kadın	Lenf nodu
36	PTCL, nos	42 / kadın	Nazofarinks
37	PTCL, nos	35 / kadın	Lenf nodu
38	ALCL, T, ALK-	48 / erkek	Lenf nodu
39	PTCL, nos	53 / erkek	Maksiller sinüs
40	ALCL, T, ALK-	8 / erkek	Lenf nodu
41	ALCL, T, ALK+	23 / erkek	Akciğer
42	PTCL, nos	74 / kadın	Lenf nodu
43	C-ALCL	71 / erkek	Deri
44	C-ALCL	19 / kadın	Deri
45	PTCL, nos	57 / kadın	Lenf nodu

4.3 P-gp Ekspresyon Durumu

P-gp ekspresyonu vakaların 42'sinde incelenebilmiştir. Bunların ancak 12'sinde (%28,6) P-gp ekspresyonu saptanmıştır, vakaların 30'unun (%71,4) P-gp'yi eksprese etmediği görülmüştür (Resim 4.1 ve 4.2). P-gp ekspresyonu lenfoma alt tiplerine göre incelendiğinde ALCL'larda P-gp ekspresyonunun %40 (20 hastanın 12'si), diğer T/NK hücreli lenfomalarda ise %18,2 (22 hastanın 4'ü) olduğu görülmüştür. ALCL'larda P-gp ekspresyonu daha yüksek görünmekle beraber aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda MDR-1 proteini ekspresyonu.

4.4 BCRP Ekspresyon Durumu

BCRP ekspresyonu vakaların 41'inde incelenebilmiştir. Vakalarda dört gruba ayrılarak incelenen BCRP ekspresyon seviyesi Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3 : BCRP ekspresyonunun dağılımı.

		Vaka Sayısı	Yüzde
BCRP	0	7	17,1
	1+	11	26,8
	2+	11	26,8
	3+	12	29,3
Toplam		41	100,0

Bu proteinin fonksiyon gördüğü kompartman hücre membranı olduğundan sitoplazmik pozitiviteyi temsil eden 1+ boyanma da negatif kabul edildiğinde vakaların %43,9'unun (41 vakanın 18'i) BCRP eksprese etmediği, buna karşılık yarısından fazlasının (%56,1, 41 vakanın 23'ü) BCRP ile belirgin membranöz pozitivite gösterdiği saptanmıştır (Resim 4.5-8). Yine bu şekilde incelendiğinde ALCL ile diğer T/NK hücreli lenfomalar karşılaştırıldığında BCRP ekspresyon oranlarının benzer olduğu görülmüştür: ALCL'larda %52,6 (19 vakanın 10'u), diğer T/NK hücreli lenfomalarda %59,1 (22 vakanın 13'ü).

4.5 MRP-1 Ekspresyon Durumu

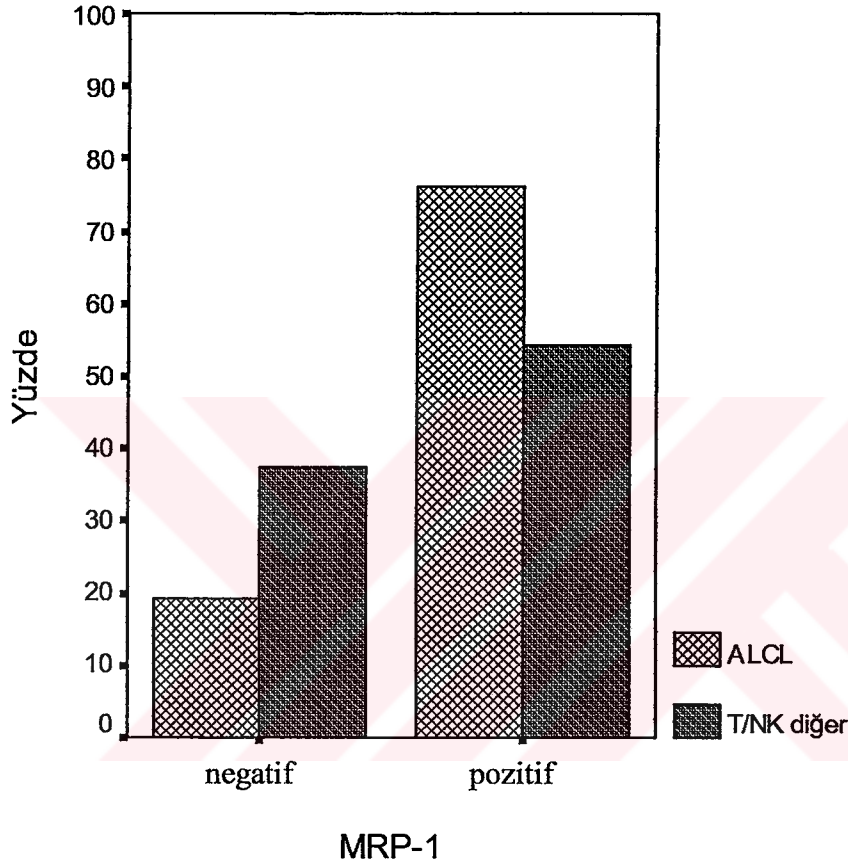
MRP-1 ekspresyonu vakaların 42'sinde incelenebilmiştir. Vakalarda dört gruba ayrılarak incelenen MRP-1 ekspresyon seviyesi Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4 : MRP-1 ekspresyonunun dağılımı.

		Vaka Sayısı	Yüzde
MRP-1	0	5	11,9
	1+	6	14,3
	2+	18	42,9
	3+	13	31,0
Toplam		42	100,0

Bu proteinin de fonksiyon gördüğü kompartman hücre membranı olduğundan BCRP'ye benzer şekilde sitoplazmik pozitiviteyi temsil eden 1+ boyanma negatif kabul edildiğinde vakaların % 73,8'inin (42 vakanın 31'i) MRP-1 ekspresyonu gösterdiği izlenmiştir (Resim 4.9-12). MRP-1 ekspresyonu lenfoma alt tiplerine göre incelendiğinde ALCL'lerde MRP-1 ekspresyon oranının P-gp'ye benzer şekilde

diğer T/NK hücreli lenfomalara oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. ALCL'lerde MRP-1 ekspresyon oranı %80 (20 vakanın 16'sında), diğer T/NK hücreli lenfomalarda ise %68,2 (22 vakanın 15'i) olarak saptanmıştır. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılık sınırına yakın bulunmuştur (Şekil 4.2).

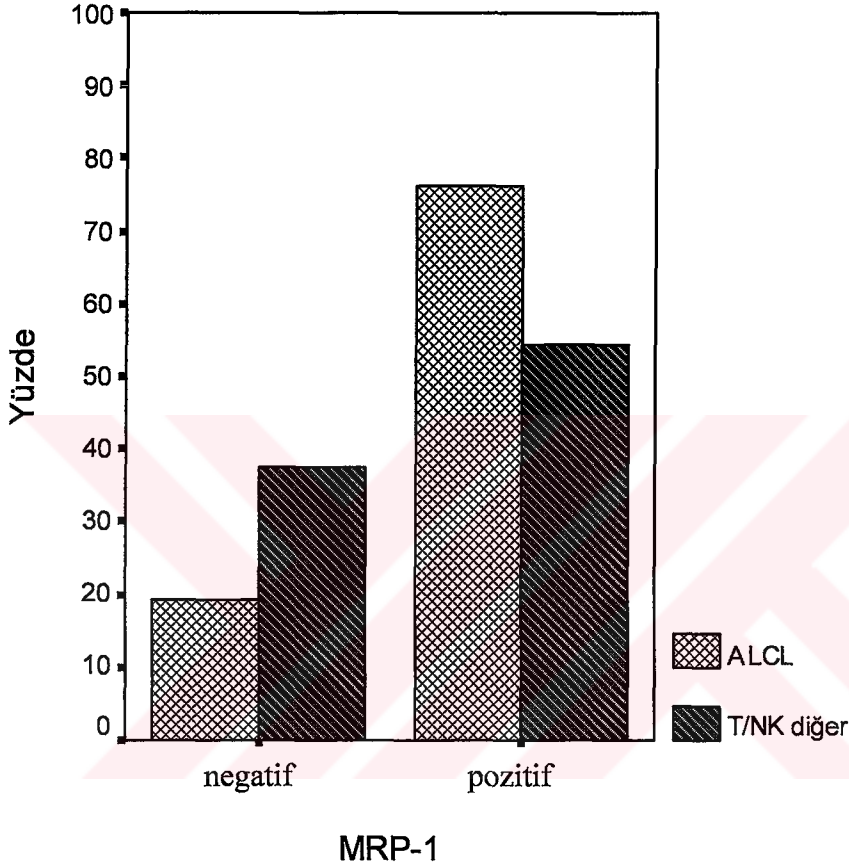


Şekil 4.2: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda MRP-1 proteini ekspresyonu.

4.6 LRP Ekspresyon Durumu

LRP ekspresyonu vakaların 44'ünde incelenebilmiştir. Bu proteinin diğer ÇİD proteinlerinden farklı olarak sitoplazma ve nükleer membranda görev aldığı düşünüldüğünden (Chugani 1993, Kedersha 1990) sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir, buna göre vakaların 23'ünün (%52,3) LRP ekspresyonu gösterdiği saptanmıştır (Resim 4.3 ve 4.4). Pozitif reaksiyon veren 7 vakada nükleer membran çevresi daha kuvvetli halkasal bir boyanma varlığı dikkati çekmiştir. Lenfoma alt tiplerine göre değerlendirildiğinde ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda LRP ekspresyon oranının benzer olduğu ve Tablo 4.5'de gösterildiği

diğer T/NK hücreli lenfomalara oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. ALCL'lerde MRP-1 ekspresyon oranı %80 (20 vakanın 16'sında), diğer T/NK hücreli lenfomalarda ise %68,2 (22 vakanın 15'i) olarak saptanmıştır. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılık sınırına yakın bulunmuştur ($p=0,13$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda MRP-1 proteini ekspresyonu.

4.6 LRP Ekspresyon Durumu

LRP ekspresyonu vakaların 44'ünde incelenebilmiştir. Bu proteinin diğer ÇİD proteinlerinden farklı olarak sitoplazma ve nükleer membranda görev aldığı düşünüldüğünden (Chugani 1993, Kedersha 1990) sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir, buna göre vakaların 23'ünün (%52,3) LRP ekspresyonu gösterdiği saptanmıştır (Resim 4.3 ve 4.4). Pozitif reaksiyon veren 7 vakada nükleer membran çevresi daha kuvvetli halkasal bir boyanma varlığı dikkati çekmiştir. Lenfoma alt tiplerine göre değerlendirildiğinde ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda LRP ekspresyon oranının benzer olduğu ve Tablo 4.5'de gösterildiği

gibi her iki grupta da vakaların yaklaşık %50 oranda LRP ekspresyonu gösterdiği görülmüştür.

Tablo 4.5: Lenfoma alt tiplerine göre LRP ekspresyonu durumu.

TİP	LRP				Toplam	
	negatif		pozitif		Sayı	Yüzde
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde		
ALCL	11	%52,4	10	%47,6	21	%100
T/NK (diğer)	10	%43,5	13	%56,5	23	%100
Toplam	21	%47,7	23	%52,3	44	%100,0

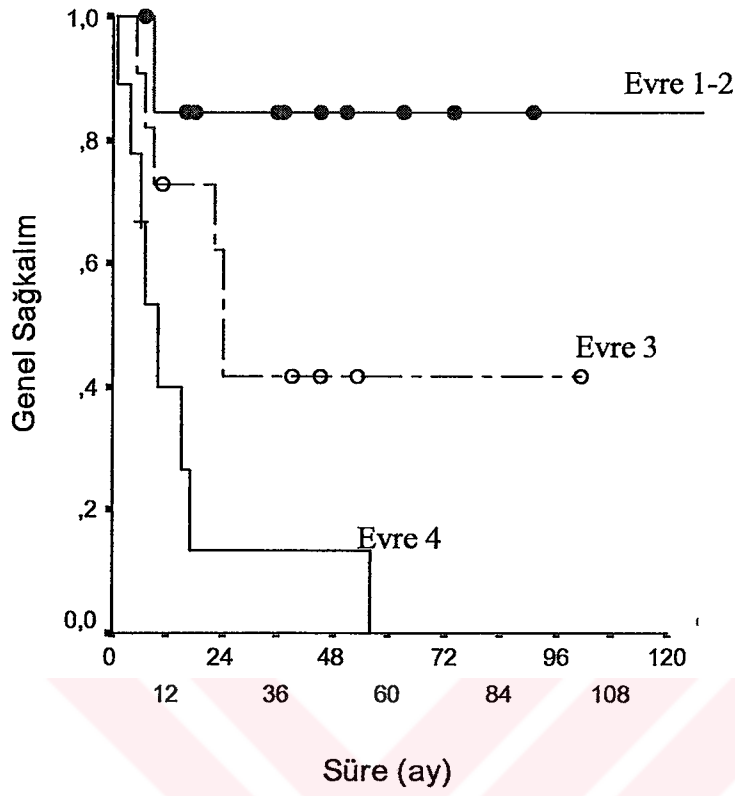
4.7 Sağkalım Analizi

Hastaların 37 tanesinin takip bilgisi mevcuttu. Çalışmanın sonlandığı anda bunlardan 16 tanesi (%43,2) ölmüş, 21'i (%56,8) halen yaşıyordu. Yaşayan hastalarda takip süresi 4 ay ile 168 ay arasında değişmektedir , ortalama takip süresi 46,7 ay (ortanca 40 ay)'dir.

Beklenildiği üzere sağkalım evre ile korele çıkmıştır, evre arttıkça sağkalımın istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü saptanmıştır ($p<0,001$) (Tablo 4.6 ve Şekil 4.3).

Tablo 4.6: Evrenin sağkalım ile ilişkisi.

	Sağkalım (Standart Hata)		
	Evre 1/2	Evre 3	Evre 4
1-yıllık	84,6 (10,0)	72,7 (13,4)	40,0 (17,3)
3-yıllık	84,6 (10,0)	41,6 (15,6)	13,3 (12,3)
Medyan Sağkalım	63 ay +	24 ay	10 ay



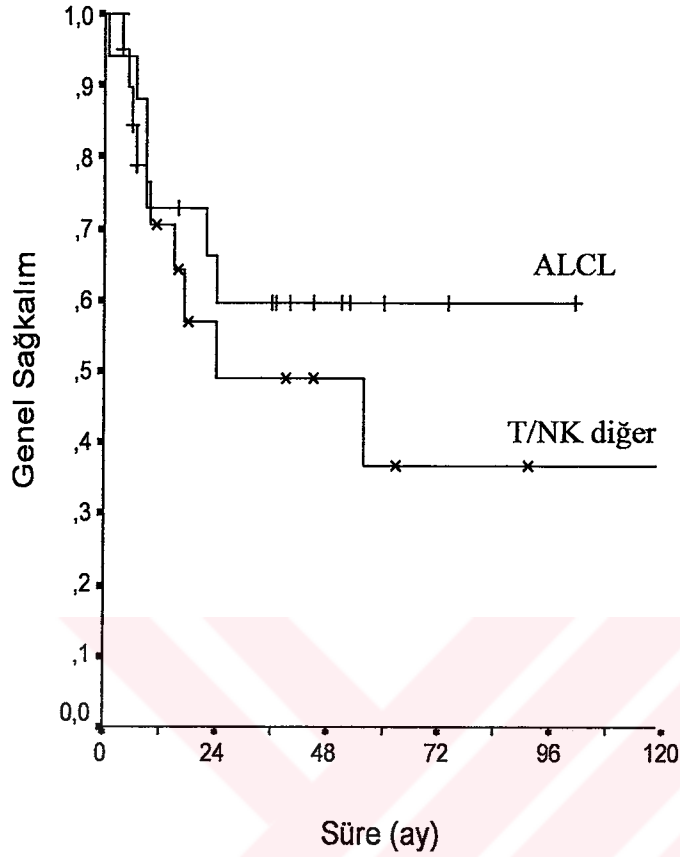
Şekil 4.3: Evre ile sağkalım ilişkisi.

ALCL'lar ile T/NK hücreli lenfomalar sağkalım açısından karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber ($p=0,25$) ALCL'larda sağkalımın (ortanca 53 ay) diğer T/NK hücreli lenfomalara (ortanca 24 ay) oranla daha iyi olduğu görülmüştür (Tablo 4.7 ve Şekil 4.4).

Tablo 4.7: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalı hastaların sağkalımları.

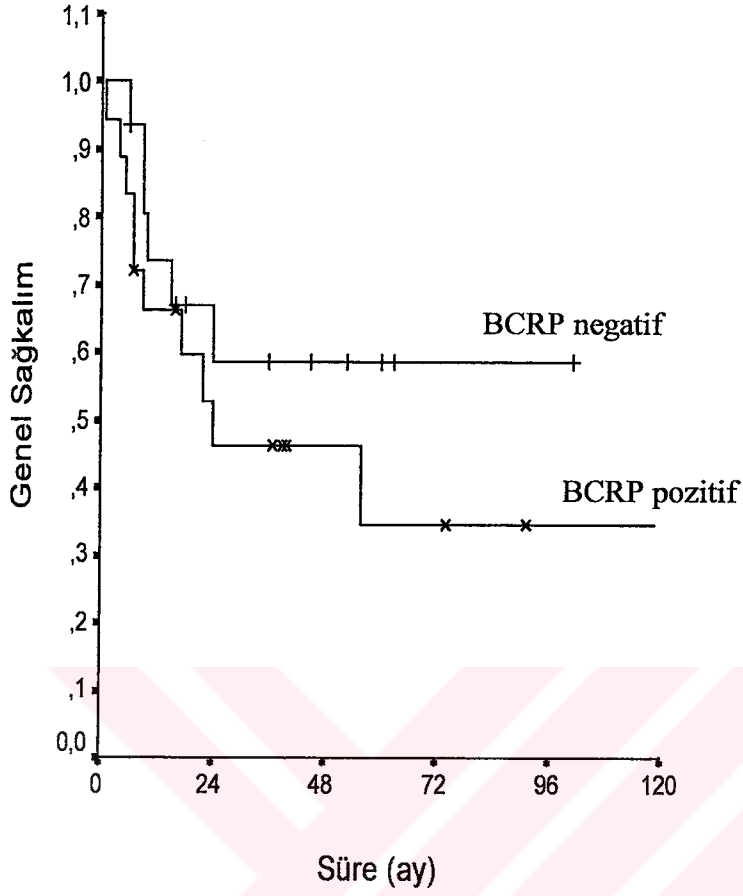
	Sağkalım (Standart Hata)	
	ALCL	T/NK diğer
1-yıllık	72,8 (10,5)	70,6 (11,1)
3-yıllık	59,5 (12,1)	48,9 (13,1)
Medyan Sağkalım	53ay +	24 ay

Benzer şekilde sağkalımın istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte yaş ile de (vakalar 35 yaş altı ve 35 yaş üstü olarak iki gruba ayrılarak incelendiğinde) ters orantılı bir ilişki gösterdiği görülmüştür.



Şekil 4.4: ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalarda sağkalım.

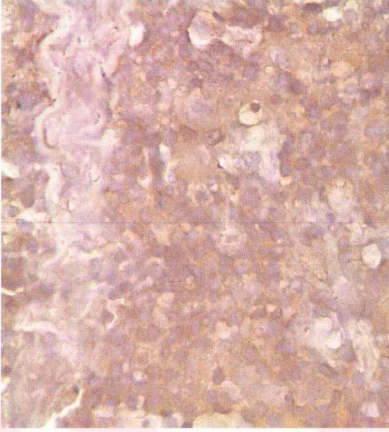
İncelenen ÇİD proteinlerinden P-gp, MRP-1 ve LRP'de bu proteinlerin ekspresyonları ile sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak bu proteinleri eksprese eden ve etmeyen gruplarda yaş ve evre dengeli dağılmadığından, bu faktörlerden kaynaklanan farklılıklarının protein ekspresyonu ve sağkalıma etkisi üzerinde karıştırıcı etkisi bulunması mümkündür. Yaş ve evrenin pozitif ve negatif gruplar arasında dengeli bir dağılım gösterdiği BCRP proteinin de ise protein ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı seviyeye ulaşmamış olmakla beraber ($p=0,32$) negatif bir ilişki olduğu izlenmiştir (Şekil 4.5 ve Tablo 4.8).



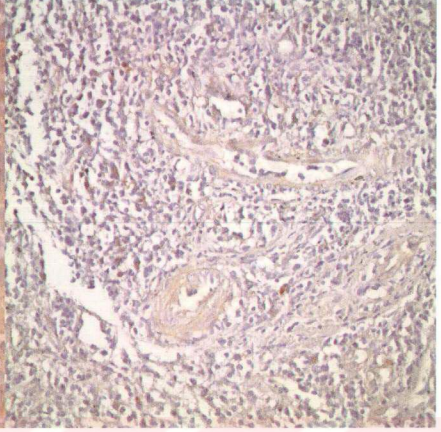
Şekil 4.5: BCRP ekspresyonuna göre sağkalım.

Tablo4.8: BCRP ekspresyonuna göre sağkalım.

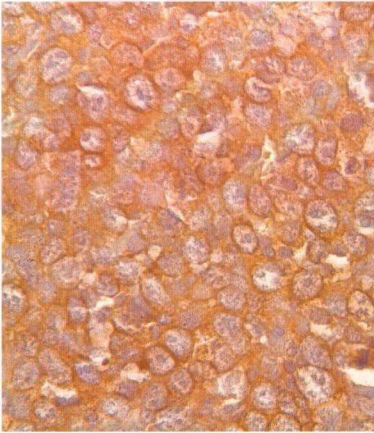
	Sağkalım (Standart Hata)	
	BCRP negatif	BCRP pozitif
1-yıllık	73,7 (11,3)	66,2 (11,3)
3-yıllık	67,0 (12,1)	53,0 (12,3)
Medyan Sağkalım	53 ay +	24 ay



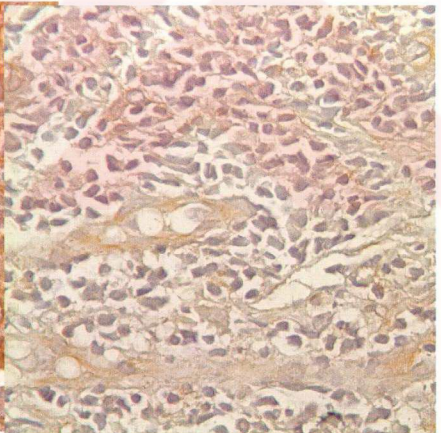
Resim 4.1: P-gp ekspresyonu gösteren bir PTCL, nos vakası (8 numaralı vaka).



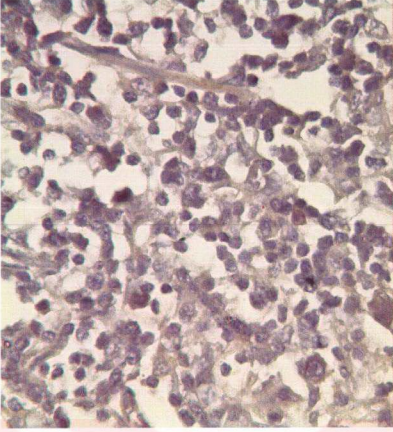
Resim 4.2: P-gp ile negatif bir PTCL, nos vakası (10 numaralı vaka).



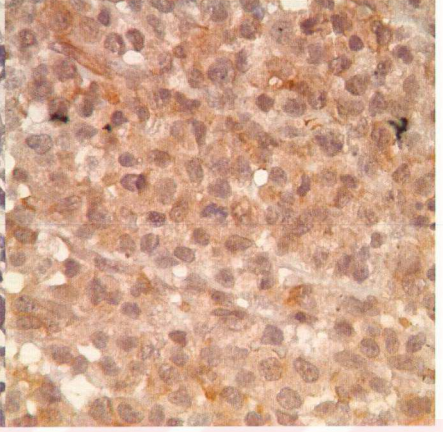
Resim 4.3 : LRP ile kuvvetli reaksiyon veren bir ALCL vakası (32 numaralı vaka).



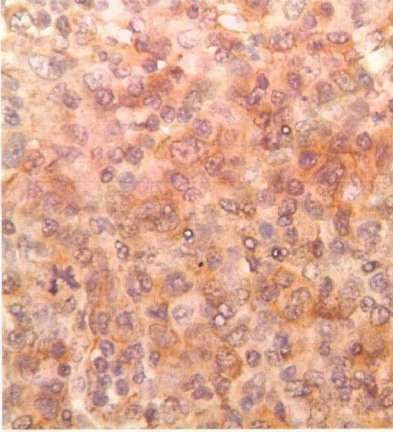
Resim 4.4: LRP ile negatif reaksiyon veren bir PTCL, nos vakası (18 numaralı vaka).



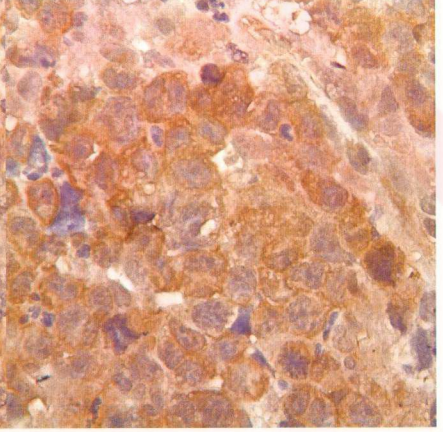
Resim 4.5: BCRP ile reaksiyon vermeyen PTCL, nos lenfomalı bir vaka (24 numaralı vaka).



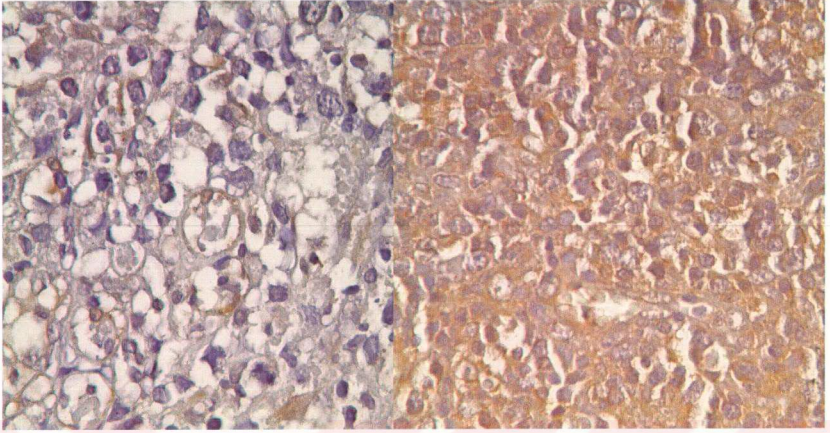
Resim 4.6: BCRP ile 1+ reaksiyon veren ALCL'lı bir vaka (40 numaralı vaka).



Resim 4.7: BCRP ile 2+ reaksiyon veren ALCL'lı bir vaka (32 numaralı vaka).

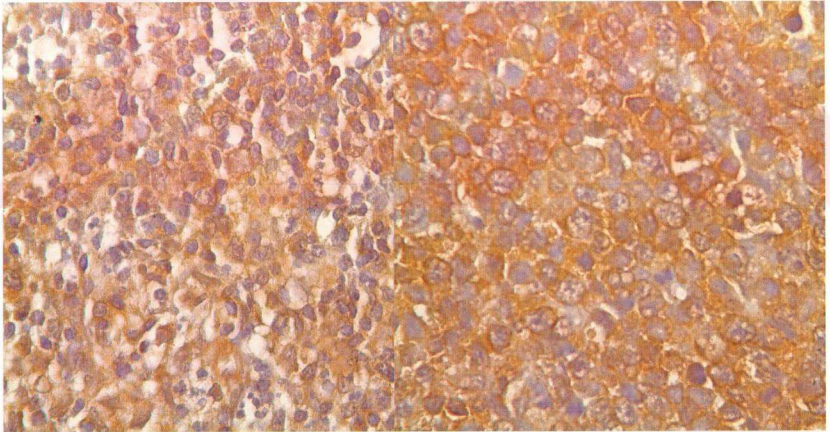


Resim 4.8: BCRP ile 3+ reaksiyon veren ALCL'lı bir vaka (31 numaralı vaka).



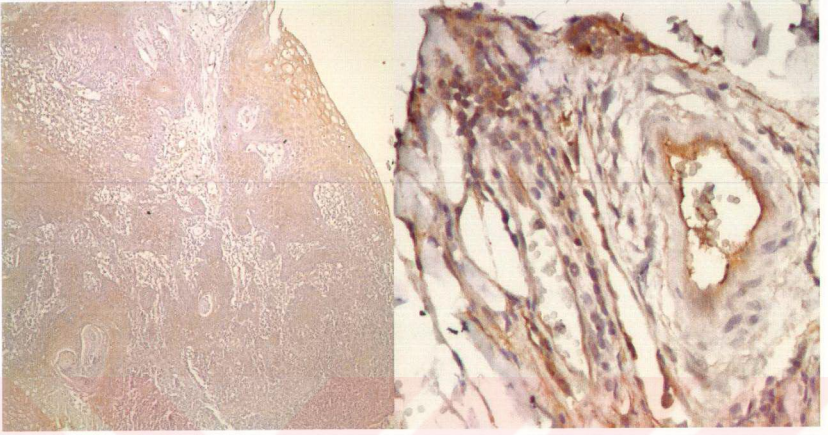
Resim 4.9 : MRP-1 ile reaksiyon vermeyen PTCL, nos lenfomalı bir vaka (39 numaralı vaka).

Resim 4.10 : MRP-1 ile 1+ veren PTCL, nos lenfomalı bir vaka (18 numaralı vaka).



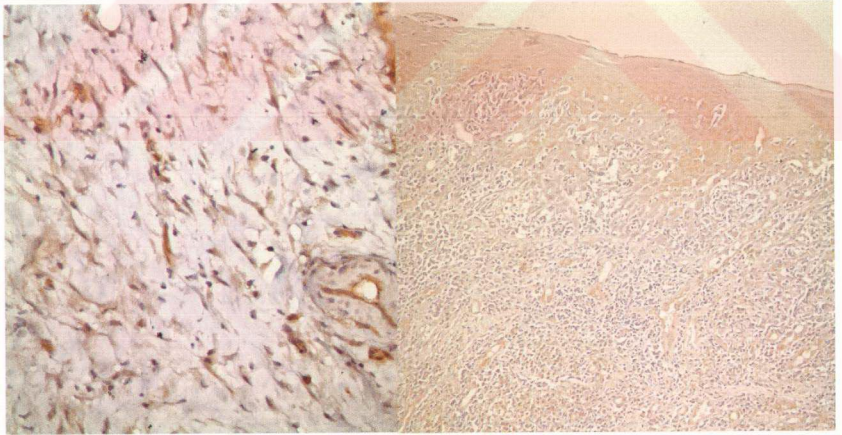
Resim 4.11: MRP-1 ile 2+ reaksiyon veren PTCL, nos lenfomalı bir vaka (10 numaralı vaka).

Resim 4.12 : MRP-1 ile 3+ reaksiyon veren PTCL, nos lenfomalı bir vaka (26 numaralı vaka).



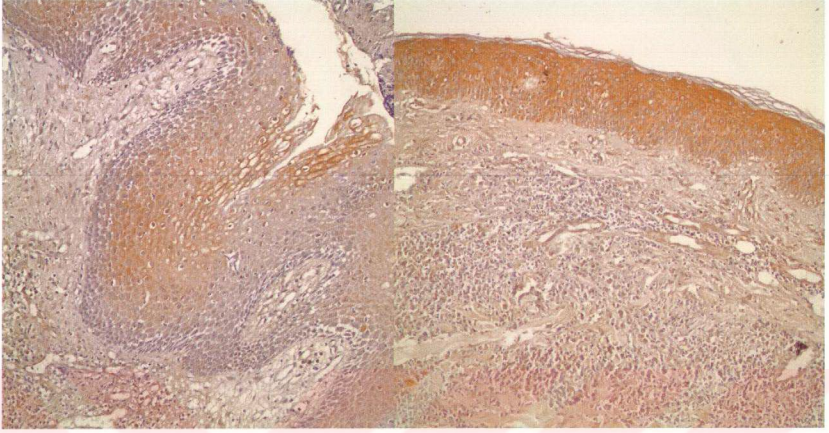
Resim 4.13 : Laringeal mukozada P-gp ekspresyonu (10 numaralı vaka).

Resim 4.14: Endotelde BCRP ekspresyonu.



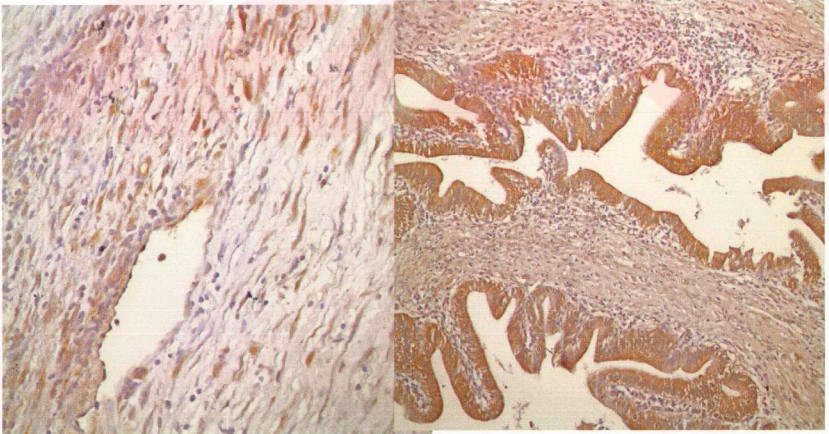
Resim 4.15: Stromal hücrelerde BCRP ve endotelde ekspresyonu.

Resim 4.16: Dilde yüzey epitelde LRP ekspresyonu (18 numaralı vaka.)



Resim 4.17 : Laringeal mukozada MRP-1 ekspresyonu (10 numaralı vaka).

Resim 4.18: Deride MRP-1 ekspresyonu (43 numaralı vaka).



Resim 4.19: Stromal hücreler ve endotelde MRP-1 ekspresyonu.

Resim 4.20: Safra kesesi epitelinde MRP-1 ekspresyonu (16 numaralı vaka).

TARTIŞMA

Çoklu İlaç Direnci tümör hücrelerinde geniş bir kemoterapötik ajan spektrumuna direnç olarak tanımlanmaktadır ve günümüzde birçok tümörde kemoterapinin etkisini sınırlayan önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenledir ki son yıllarda tümör hücrelerinde ilaca dirence neden olan mekanizmalar üzerinde yoğun çalışmalar başlamıştır ve bu mekanizmalar hızla aydınlatılmaya başlanmıştır. ÇİD mekanizmalarının aydınlatılması ile ÇİD'ini modüle eden ajanların geliştirilmesi de başlamıştır. Bu alandaki çalışmaların hızlı bir şekilde ilerlediği ve klinik denemelerin bugün dahi gündemde olduğu gözönüne alındığında bu gibi ilaçların/ajanların yakın gelecekte rutin/standart kemoterapi protokollerinin bir parçası olacağı beklenmektedir. Bu nedenle değişik kanserlerde ÇİD'den sorumlu mekanizmaların belirlenmesi ve sınıflandırılması önem taşımaktadır ve günümüzde önemli bir araştırma alanını oluşturmaktadır.

Hematolojik malignitelerin önemli bir kısmı başta kemoterapiye duyarlı olmakla beraber, hemen hemen tümünde relapsla birlikte ilaç direnci ortaya çıkar. Relaps sırasındaki bu ilaç direncinin hastalık başlangıcında intrensik olarak ilaca dirençli olan bir hücre popülasyonunun çoğalması veya tedavi sırasında oluşan mutasyonlar sonucu olduğu düşünülmektedir (Goldie, 1983).

Bugün lösemilerde (özellikle AML) ÇİD'inde rol alan birçok proteinle çok sayıda çalışma yapılmış, nihai veriler ortaya çıkmaya başlamış ve bunlardan yola çıkarak yeni tedavi yöntemleriyle klinik denemeler gündeme gelmiştir. AML, ilaç direnci mekanizmalarının ve bunların hasta prognozu ve tedaviye yanıt etkilerinin en kapsamlı olarak çalışıldığı hematolojik malignensi grubunu oluşturmaktadır (Willman, 1997; Motoloji, 2000; Sonneveld, 2000; Chauncey, 2001). P-gp ve MRP-1'in AML hastalarında tedaviye yanıtta belirleyici olduğu görülmüştür (Willman, 1997; van der Kolk, 2000). Daha da önemlisi bu hastalarda ÇİD'ni modüle eden ajanlarla klinik çalışmalar başlamış olup bunların sonuçları umut vericidir (Covelli, 1999; Sonneveld, 2000; Tan, 2000; Marie, 2001).

Bu çalışmadaki amaç hematopoetik ve lenfoid neoplazilerin en agresif davranışlı olan ve sıklıkla tedaviye dirençli olan T/NK hücreli lenfomalarda bugüne

kadar tanımlanmış mekanizmalardan P-gp, MRP-1, BCRP ve LRP'nin ekspresyonun olup olmadığının belirlenmesidir.

Fizyolojik olarak ÇİD aktivitesi gösteren hücreler listesinde lenfositler de yer almaktadır. Coon ve arkadaşları (1991) PCR amplifikasyonu ile normal insan lenfositlerinde P-gp varlığını ve lenfositlerde CD8, CD4 ve CD20 pozitif hücrelerde sırasıyla giderek azalan bir ÇİD aktivitesi olduğunu göstermiştir. Ayrıca P-gp'nin NK hücrelerinde lizozom pH'sının regülasyonunda ve NK hücre aracılı sitotoksitede rol oynayabileceği de bilinmektedir (Takahashi, 1999; Luciani, 2002). Dolayısıyla bu hücrelerden gelişen lenfomalarda da çeşitli ilaç direnci proteinlerinin ekspresyonu beklenmedik bir durum değildir.

Ancak AML'lerin aksine lenfomalarda ÇİD üzerine yapılan çalışma sayısı sınırlıdır ve bunların çoğu P-gp üzerine yoğunlaşmıştır. Günümüzde lenfomalarda ÇİD'inin rolü, tedaviye cevapta etkisi olup olmadığı ve prognozla ilişkisi henüz belirsizdir. Lenfomalarda yapılan çalışmaların çoğu genellikle kliniği ve tedavi protokolleri değişkenlik gösteren yüksek ve düşük dereceli NHL hatta Hodgkin lenfomaları da içine alan heterojen bir vaka grubunu içermektedir (Yuen, 1994). Bu durum sonuçların karşılaştırılmasını ve genellemelerin yapılmasını zorlaştırmaktadır. Sonuçların karşılaştırılması ve genellemelerin yapılmasını zorlaştıran bir diğer durum ise ÇİD proteinlerini belirlemede kullanılan yöntemlerdeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Özellikle immünohistokimyasal sonuçların yorumlanmasında sırf lenfomalar değil diğer solid tümörlerde de kriterler çok değişkenlik göstermektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı lenfoproliferatif hastalıklar grubu söz konusu olduğunda ÇİD hakkında net çıkarımların yapılması henüz mümkün değildir.

Bu çalışmada immünohistokimyasal değerlendirme, sitoplazmik ve nükleer membranda görev alan LRP dışında, fonksiyonunu hücre membranında gerçekleştirdiği bilinen diğer 3 ÇİD proteini için (P-gp, MRP-1 ve BCRP) membranöz boyanma esas alınarak yapılmıştır. İstatiksel olarak anlamlı olmamakla beraber sağkalım ile ilişkisi olduğu gösterilen BCRP'de sadece sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildiğinde aynı ilişkinin saptanamamış olması da bu seçimi desteklemektedir. İmmünohistokimyasal ekspresyonun fonksiyonel statüyü göstermediği bilinmektedir ve bu nedenle proteinlerin en azından fonksiyon gördükleri hücresel kompartmanda bulunmalarının önemli olduğu düşünülmüştür.

Aslında en azından üzerinde en çok çalışmanın yapıldığı P-gp için P-gp statüsünün belirlenmesinde esas analiz edilmesi gerekenin P-gp fonksiyonu olduğu belirtilmektedir (Marie, 2001). Çünkü protein seviyesini belirlemede daha hassas olan moleküler yöntemlerin de neoplastik hücreleri komşu non-neoplastik hücrelerden ayıramama gibi önemli sakıncaları vardır. Bu T/NK hücreli lenfomalarda büyük bir problem yaratmaktadır çünkü bu tip lenfomalarda genellikle neoplastik ve nonneoplastik lenfoid hücreler iç içe bulunmaktadır. Ayrıca diğer çalışmalarda belirtildiği ve bu çalışmada da görüldüğü üzere yüzey epiteli, plazma hücreleri, histiosit/makrofajlar, endotelial hücreler ve stromal hücrelerde de ÇİD proteinlerinin ekspresyonu mevcuttur ki moleküler çalışmalarda bu hücreleri hesaba katmamak mümkün olamamaktadır. İmmünohistokimya bu açıdan avantajlı olup komşu non-neoplastik hücrelerin ayırımına olanak vermektedir.

Lenfomalar söz konusu olduğunda üzerinde en çok yoğunlaşılacak P-gp proteininde immünohistokimyasal yöntemlerle ekspresyon oranının %2 ile %30 arasında değiştiği görülmektedir (Schlaifer, 1990; Miller, 1991; Pileri, 1991; Poje, 1991, Niehans, 1992; Gascoyne, 1993; Cheng, 1993). RNA bazlı moleküler analiz metodları kullanıldığında ise bu oranın %22 ile %50 arasında değiştiği görülmektedir (Goldstein, 1989; Moscow, 1989; Niehans, 1992; Rodriguez, 1993). Bu değişkenlikler değerlendirme yöntemleri, kullanılan antikör klonları ile değişebileceği gibi bu çalışmaların hep değişik heterojen lenfoma popülasyonlarını barındıran gruplar üzerinde olduğu göz önüne alındığında, değişkenliklerin bu heterojeniteden de kaynaklanıyor olabileceği akılda tutulmalıdır.

Genel olarak lenfomalarda P-gp üzerine yapılan çalışmalarda, P-gp ekspresyon oranı ne olursa olsun, eğilim tedavi almamış hastalarda P-gp seviyesinin tedavi almış olanlara oranla daha düşük olduğu ve P-gp eksprese eden hastaların daha kötü bir prognoza sahip olduğu yönündedir (Goldstein, 1989; Dan, 1991; Miller, 1991; Pileri, 1991; Cheng, 1993; Rodriguez, 1993; Gascoyne, 1993; Kang, 1995). Bu da P-gp'nin lenfomalarda klinik önemi olabileceğini düşündürmektedir. Cheng ve arkadaşları (1993) ve Pileri ve arkadaşları (1991) P-gp negatif vakalarda pozitif olanlara göre tedaviye cevapta istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Rodriguez ve arkadaşları (1993) ve Dan ve arkadaşları (1991) P-gp negatif vakalarda tedaviye daha yüksek oranda cevap olduğunu

gözlemlediklerini bildirmiş ancak vaka sayıları istatistiksel analiz için yetersiz kalmıştır. Bunların aksine Niehans ve arkadaşları (1992) diffüz büyük hücreli ve yüksek dereceli lenfomalardan oluşan nispeten homojen bir vaka grubunda yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde edememişlerdir. Gascoyne ve arkadaşları (1993) da orta ve yüksek dereceli ileri evre B hücreli lenfomalardan oluşan yine nispeten homojen bir grup vakayla yaptıkları çalışmada P-gp statüsü ile yaşam süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir.

Diğer lenfomalara benzer şekilde sadece T/NK hücreli lenfomaları ele alarak yapılan az sayıdaki ÇİD çalışmaları da hemen hemen tümüyle P-gp ekspresyonunun incelenmesi üzerinedir. Dréneu ve arkadaşları (1997), gen ve protein ekspresyonu seviyesine göre ve akım sitometri ile rhodamine dışı atımına dayanan fonksiyonel seviyede inceledikleri 3 adet CD3-, CD56+ NHL vakasında P-gp ekspresyonu ile agresif klinik ve kemoterapiye direnç arasında ilişki olduğunu gözlemişlerdir. Jillella ve arkadaşları (2000) inceledikleri ileri evre kütanöz T hücreli lenfomalı (CTCL) 25 vakada immünohistokimyasal olarak P-gp ekspresyonunun sık olduğunu (25 vakanın 18'i, %72) göstermişlerdir. Ancak gerek P-gp pozitif grubun gerekse negatif grubun tedaviye yanıtının kötü olması üzerine CTCL'larda P-gp ekspresyonunun sık olmakla birlikte ilaca dirençlilikte majör bir belirleyici olmadığı sonucuna varmışlardır. Yine Jung ve ark. (2001) Korean T ve NK hücreli lenfomalarda, 35 hastalık serilerinde yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada, %57,1 oranında P-gp ekspresyonu olduğunu ve P-gp ekspresyonu ile tedavi başarısızlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu, Yamaguchi ve ark. (1995) ise 10 vakadan oluşan nazal T hücreli lenfoma serilerinde hem immünohistokimyasal, hem de RNA seviyesinde yaptıkları çalışmada prognozunun kötü seyretmesinin P-gp ekspresyonu ile açıklanabileceğini belirtmektedirler.

Bu çalışmada nispeten homojen bir grup olan T/NK hücreli lenfomalarda, benzer vaka grubu ile çalışan Jung ve arkadaşlarının (2001) aksine, P-gp ekspresyonunun %28,6 ve zayıf şiddette olduğu görülmüştür. P-gp oranının daha düşük olmasının bir nedeni bu çalışmada pozitivite kriteri olarak membranöz boyanmanın şart koşulmuş olması olabilir ki Jung ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında bu konuda bilgi bulunamamıştır. Bu çalışmadaki hasta grubunda tüm diğer proteinlerin ekspresyonu P-gp'den daha kuvvetli olarak saptanmıştır. T/NK

hücreli lenfomalar kendi içlerinde ALCL'lar ve diğerleri diye incelendiğinde P-gp ekspresyon oranının ALCL'larda (%40) diğerlerine (%18,2) oranla istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber daha yüksek olduğu görülmüştür.

T/NK hücreli lenfomalarda diğer ÇİD proteinlerini de kapsayan ender çalışmalar arasında ise başta van Haselen ve arkadaşlarının (1999) primer kütanöz lenfomalarda yaptıkları çalışma ile Ohno ve arkadaşlarının (2001a ve 2001b) içlerinde lenfomatöz prezentasyonun da bulunduğu 48 erişkin T hücreli lösemili (adult T cell leukemia- ATL) hastalardan oluşan serileri ile yaptıkları çalışmalar yer almaktadır. van Haselen ve ark. (1999) 24'ü T/NK hücreli lenfomadan oluşan serilerinde immünohistokimyasal olarak P-gp yanısıra LRP ve MRP-1 ekspresyonunu da incelemiş ve MF ve CD30 negatif kütanöz büyük T hücreli lenfomalarda MRP-1 ekspresyonunun yüksek olduğunu ve özellikle MF hastalarında tedavi ile bu proteinin ekspresyonun arttığını; P-gp ekspresyonun ise daha düşük olduğunu ve tedavi ile değişmediğini gözlemlemişlerdir. Ohno ve arkadaşları ise protein ekspresyonu seviyesinde inceledikleri MRP-1 ekspresyonunun akut ve lenfomatöz tip ATL'lerde sağkalımda kısalma ile korele olduğunu, yine bu grupta LRP ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu ve nükleositoplazmik transportta görev aldığını göstermişlerdir. Bu grup P-gp ile sağkalım arasında ilişki gösteremediklerini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Ikeda ve arkadaşları (1999) da 28 vakalık ATL serilerinde RT-PCR yöntemi ile MDR-1 mRNA ekspresyonu saptayamamıştır. Bu çalışmaların aksine 20 ATL'lı hastasından oluşan bir başka seri ile yapılan çalışmada hastaların 8'inde başvuru anında, relaps sırasında ise relaps olan tüm vakalarda P-gp seviyesinde artış saptanmıştır (Kuwazuru, 1990). Yakın geçmişte yapılan bir başka çalışma ise T lenfomalarda ÇİD mekanizmalarına ışık tutmaktadır. HTLV-1 pozitif hastalardan elde edilen hücre kültürlerinde yapılan bu çalışmada MDR-1 ekspresyonunun CD3+ T hücreleri ile sınırlı olduğunu ve HTLV-1'in MDR-1 gen promotörünü aktive ederek ÇİD'ne yol açan mekanizmalar arasında yer alabileceği gösterilmiştir (Lau, 1998).

Bu çalışmada 45 vakalık T/NK hücreli lenfomalardan oluşan seride ÇİD'den sorumlu olarak en çok üzerinde durulan ve üçü daha önceki çalışmalarda da yer alan P-gp, MRP-1, LRP ve BCRP proteinlerinin ekspresyonu incelenmiştir. Bu çalışma, ucuz ve rutin kullanıma olanak sağlama gibi avantajları olan immünohistokimyasal

yöntemi kullanarak gerçekleştirilmiştir. Tüm vakalarda başvuru anındaki biyopsi örneklerinin değerlendirilmesi mümkün oldu. Sonuç olarak bu grup lenfomada P-gp ile %28.6, MRP-1 ile %73.8 , LRP ile %52.3 ve BCRP ile %56.1 oranında pozitivite saptandı. T/NK hücreli lenfomaların %87.5 oranında büyük bir kısmının başvuru anında ÇİD'den sorumlu bu dört proteinden en az birini, %12,5'ini ise dört proteinin dördünü de eksprese ettiği görüldü ki, bu da bu grupta ÇİD ekspresyonunun bu grup lenfomanın içsel bir özelliği olabileceği ve Lau ve arkadaşları (1998) tarafından HTLV-1 infekte hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar sonucunda da öne sürüldüğü gibi ÇİD'inin bu lenfomalarda patogenez sırasında ortaya çıkmış olabileceği olasılığını desteklemektedir.

ALCL'larda diğer T/NK hücreli lenfomalara oranla P-gp ve MRP-1 ekspresyonu daha yüksek olarak izlendi ve MRP-1 proteininde aradaki farkın istatistiksel anlamlılık sınırına yakın olduğu saptandı. ALCL vakalarımızın bir kısmında beklenenin aksine klinik olarak tedaviye direnç izlenmiş olduğu göz önüne alınırsa bu beklenen bir gözlem olarak yorumlanabilir.

LRP ile 7 vakada nükleer membran etrafında yoğunlaşan daha koyu boyanma izlendi. Bu gözlemin Ohno ve arkadaşları tarafından LRP için gösterilen nükleositoloplazmik transport görevi açısından anlamlı olabileceği düşünülmüştür, ancak immünohistokimya yöntemi böyle bir çıkarımın kesin olarak desteklenmesine olanak vermemektedir.

İzlenen yüksek ÇİD protein ekspresyonu oranlarına rağmen P-gp, MRP-1 ve LRP ile protein ekspresyonu ve sağkalım arasında bir ilişki saptanamamıştır. Daha önceden bu grup vakada bilindiği kadarıyla hiç çalışılmamış olan BCRP proteini ile ise sağkalım arasında, istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamakla birlikte, ters ilişki olduğu, protein ekspresyonu ile sağkalımın düşme eğilimi gösterdiği görülmüştür. Bu gözlemin, BCRP pozitif ve negatif vakaların sağkalımda önemli rolü olan evre ve yaş faktörleri açısından dengeli dağılımı nedeniyle ortaya çıkmış olması mümkündür. Yine bu nedenle diğer proteinlerle sağkalım arasında ilişki saptanamamış olması, bunlarda yaş ve evre gibi faktörler eşit dağılmamasına bağlı olabilir ve bu faktörlerin karıştırıcı faktör rolü oynuyor olabileceği düşünülmüştür.

Vakaların başvuru biyopsilerinin değerlendirildiği ve çok büyük bir kısmının ÇİD proteinlerinden birinden birini eksprese ettiği ve dolayısıyla ÇİD proteinlerinin

ekspresyonu bu grup lenfomada intrensik bir faktör olarak düşünülürse, bu proteinlerin ekspresyonun hasta sağkalımını belirlemede bağımsız bir faktör olması beklenemez. Böyle bir durumda hasta sağkalımını belirleyen faktörler klinik evre gibi diğer değişkenlerdir. Bu çalışmadaki hasta grubunda beklenildiği üzere evre istatistiksel olarak anlamlı seviyede sağkalımı etkilemektedir, yaş ve lenfoma tipi ise (35 yaş üstü ve altı; ALCL ve diğer T/NK hücreli lenfomalar) istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber sağkalım ile ilişki olarak bulunmuştur. P-gp'nin de novo ekspresyonu sarkomlarda tanımlanmıştır, aynı durum Lau ve arkadaşlarının da (1998) öne sürdüğü gibi T/NK hücreli lenfomalar için de geçerli olabilir. Bu olasılığın açıklığa kavuşması için daha fazla hasta sayısına sahip ileri çalışmalar gerektiği açıktır. Bu hastaların tedavisinde ilk etapta kullanılan ilaçların incelenen ÇİD proteinlerinin substratları olduğu düşünülürse, T/NK hücreli lenfomalarda de novo ekspresyonun teyid edilmesi halinde bu ÇİD proteinlerinin modülatörlerinin kemoterapi protokollerine eklenmesi konusu gündeme gelebilir. Bu da hastaların tedaviye cevabını ve sağkalımını artırabilir.

Özetle bu çalışmada agresif klinik davranışla tanınan ve bunun nedeni olarak hastaların çoğunun ileri evre hastalıkla başvurmasının yanısıra tedaviye direncin de katkıda bulunduğu düşünülen T/NK hücreli lenfomalar grubunda başvuru anında yüksek oranlarda ÇİD proteinlerinin eksprese olduğu saptanmıştır. Daha önceden lenfomalarda ekspresyonu bildirilmemiş olan BCRP ekspresyonu ile sağkalım arasında negatif bir ilişki gözlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında evre dışında başka prognostik faktörlere ihtiyaç duyulan bu grup lenfomalarda ÇİD proteinlerinin yeni prognostik belirleyiciler olabileceği ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesine ışık tutabileceği umulmaktadır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Hematolojik malignansilerin önemli bir kısmında ÇİD'de rol oynayan proteinlerin eksprese olduğu halen süre gelen çalışmalarla ortaya konulmaktadır ve bu çalışmada T/NK hücreli lenfomaların da bu gruba dahil olduğu görülmüştür.
2. T/NK hücreli lenfomalarda kayda değer miktarda P-gp, MRP-1, MDR ve BCRP ekspresyonu olduğu saptanmıştır.
3. Vakalarımızda tedavi öncesi biyopsi örneklerinin değerlendirilmiş olması, incelenen ÇİD proteinlerinin ekspresyonun T/NK hücreli lenfomaların bir kısmının intrensik bir özelliği olabileceği ve progresyondan ziyade başlangıç (initiation) safhasında kazanılmış anomalilere bağlı olabileceği olasılığını desteklemektedir. Tedavi öncesi ve sonrası biyopsilerin birlikte değerlendirilmesinin mümkün olabileceği hasta popülasyonlarıyla yapılacak çalışmalar bu çıkarımı aydınlatılabilir.
4. BCRP dışında incelenen diğer proteinlerle sağkalım ile protein ekspresyonu arasında ilişki saptanamamıştır. Ancak BCRP'nin aksine diğer proteinlerde pozitif ve negatif gruplar arasında evre ve yaş bakımından dengeli bir dağılımın olmadığı görülmüştür. Bu nedenle ÇİD proteinleri ekspresyonunun prognozu belirlemede evre ve yaştan bağımsız bir faktör olmadığı düşünülebilir. BCRP'de olduğu gibi evre ve yaş dengeli dağıldığı takdirde ise ÇİD proteinleri ek bir prognostik faktör rolü oynayabilir. Bu noktaların belirlenmesi için daha geniş hasta popülasyonlu çalışmalar gerekmektedir.
5. Günümüzde ÇİD proteinlerini modüle eden ilaçların hızla geliştiriliyor olduğu düşünüldüğünde immünohistokimya gibi ucuz ve rutin olarak kullanılacak yöntemlerle ÇİD proteinlerinin ekspresyonunun var olup olmadığının belirlenmesi ve hastanın tedavisinin buna göre yönlendirilmesi (eksprese edilen ÇİD proteinlerinin substratlarının yer almadığı ilaçları içeren protokoller kullanılarak veya ÇİD proteinlerin modüle edici ajanların eklendiği protokoller geliştirilerek) yakın gelecekte gündeme gelebilecek ve tedaviye cevabı artırabilecek olasılıklardır.

6. P-gp ve MRP-1 ile ALCL'larda diğer T/NK hücreli lenfomalara kıyasla daha yüksek oranda ekspresyon saptanmıştır. T/NK hücreli lenfomalar arasında tedaviye daha iyi yanıt verdiği bilinen bu grupta ÇİD'ni modüle edici ajanların kullanılmasının tedaviye yanıtı daha da artırabileceği düşünülmüştür.
7. Bu çalışmada yüzey epiteli ve endotel hücrelerinin fizyolojik barier görevleriyle de uyumlu olarak ÇİD proteinleriyle diffüz reaksiyon verdiği görülmüştür.
8. Gerek yüzey epiteli, gerek stromal hücreler ve endotel hücreleri, gerekse de inflamatuvar hücreler (plasma hücreleri, histiosit ve makrofajlar) ÇİD proteinlerini eksprese etmektedir. Bu nedenle moleküler çalışmalarla ÇİD proteinlerinin ekspresyonunun değerlendirilmesinde bu tür non-neoplastik hücrelerden kaynaklanabilecek hatalı yorum olasılığı göz önünde tutulmalıdır. İmmünohistokimyasal çalışmalar morfolojik incelemeye imkan verdiği için bu açıdan avantajlıdır.
9. BCRP için ancak membranöz boyanma pozitif kabul edildiği takdirde sağkalım ile protein ekspresyonu arasında bir ilişki saptanabilmiştir. Bu nedenle BCRP gibi membranda görev alan (P-gp, MRP'ler..) ÇİD proteinlerinin değerlendirilmesinde immünohistokimyasal yöntemlerle yapılan çalışmalarda membranöz boyanmanın esas alınması gerektiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abbondanza C, Rossi V, Roscigno A, Gallo L, Belsito A, Piluso G, Medici N, Nigro V, Molinari AM, Moncharmont B, Puca GA. Interaction of vault particles with estrogen receptor in the MCF-7 breast cancer cell. *J Cell Biol.* 1998 Jun 15;141(6):1301-10.
- Allikmets R, Schriml LM, Hutchinson A, Romano-Spica V, Dean M. A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Res.* 1998 Dec 1;58(23):5337-9. *Cancer Res.* 1998 Dec 1;58(23):5337-9.
- Ambudkar SV, Kimchi-Sarfaty C, Sauna ZE, Gottesman MM. P-glycoprotein:from genomics to mechanism. *Oncogene* 2003;22:7468-7485.
- Assaraf YG, Rothem L, Hooijberg JH, Stark M, Ifergan I, Kathmann I, Dijkmans BA, Peters GJ, Jansen G. Loss of multidrug resistance protein 1 expression and folate efflux activity results in a highly concentrative folate transport in human leukemia cells. *J Biol Chem.* 2003 Feb 28;278(9):6680-6. Epub 2002 Dec 16.
- Bakos E, Hegedus T, Hollo Z, Welker E, Tusnady GE, Zaman GJ, Flens MJ, Varadi A, Sarkadi B. Membrane topology and glycosylation of the human multidrug resistance-associated protein. *J Biol Chem.* 1996 May 24;271(21):12322-6.
- Biedler JL, Riehm H. Cellular resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro: cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies. *Cancer Res* 1970;30:1174-1184.
- Borst P, Elferink RO. Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem* 2002;71:537-592.
- Chauncey TR. Drug resistance in acute leukemia. *Curr Opin Oncol* 2001;13:21-26.

Chen CJ, Chin JE, Ueda K, Clark DP, Pastan I, Gottesmann MM and Roninson IB. Cell 1986;47:381-389.

Cheng AL, Su IJ, Chen YC, et al: Expression of P-glycoprotein and glutathione-S-transferase in recurrent lymphomas: The possible role of Epstein-Barr virus, immunophenotypes and other prognostic factors. J Clin Oncol 1993, 11:109-115.

Childs S, Yeh RL, Hui D ve Ling V. Taxol resistance mediated by transfection of the liver-specific sister gene of P-glycoprotein. Cancer Res 1998;58:4160-4167.

Chugani DC, Rome LH, Kedersha NL. Evidence that vault ribonucleoprotein particles localize to the nuclear pore complex. J Cell Science 1993;106(Pt 1):23-9

Coon JS, Wang Y, Bines SD, et al: Multidrug resistance activity in human lymphocytes. Human Immunol 1991. 32:134-140.

Covelli A. Modulation of multidrug resistance (MDR) in hematological malignancies. Annals of Oncology 1999; 10 (suppl 6):S53-S59.

Damiano JS, Dalton WS. Integrin-mediated drug resistance in multiple myeloma. Leuk Lymphoma 2000;38:71-81.

Dan S, Esumi M, Sawada U, et al: Expression of a multidrug resistance gene in human malignant lymphoma and related disorders. Leuk Res 1991, 15:1139-1143.

Doyle LA, Ross DD. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). Oncogene. 2003 Oct 20;22(47):7340-58.

Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, Krogmann T, Gao Y, Rishi AK, Ross DD. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Dec 22;95(26):15665-70.

Dréneu B, Lamy T, Amiot L, et al: CD3⁻ CD56⁺ Non-Hodgkin lymphomas with an aggressive behaviour related to multidrug resistance. *Blood* 1997, 89:2966-2974.

Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987 Jan;84(1):265-9.

Gascoyne R, Tolcher A, Van Iderstine E, et al: The prognostic relevance of p-glycoprotein expression in malignant lymphomas. *Proceedings of the General Motors Cancer Research Foundation International Symposium, Toronto, Canada, May 1993.*

Goldie JH, Coldman AJ. Quantitative model for multiple levels of drug resistance in clinical tumors. *Cancer Treat Rep* 1983;67:923-930.

Goldstein L, Galski H, Fojo A, et al. Expression of a multidrug resistance gene in human cancers. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:116-124.

Hrycyna CA. Molecular genetic analysis and biochemical characterization of mammalian P-glycoproteins involved in multidrug resistance. *Semin Cell Dev Biol* 2001;12:247-256.

Ikeda K, Oka M, Yamada Y, Soda H, Fukuda M, Kinoshita A, Tsukamoto K, Noguchi Y, Isomoto H, Takeshima F, Murase K, Kamihira S, Tomonaga M, Kohno S. Adult T-cell leukemia cells over-express the multidrug-resistance-protein (MRP) and lung-resistance-protein (LRP) genes. *Int J Cancer*. 1999 Aug 12;82(4):599-604.

Imai Y, Tsukahara S, Ishikawa E, Tsuruo T, Sugimoto Y. Estrone and 17beta-estradiol reverse breast cancer resistance protein-mediated multidrug resistance. *Jpn J Cancer Res*. 2002 Mar;93(3):231-5.

- Izquierdo MA, Neefjes JJ, Mathari AE, Flens MJ, Scheffer GL, Scheper RJ. Overexpression of the ABC transporter TAP in multidrug-resistant human cancer cell lines. *Br J Cancer* 1996a;74:1961-1967.
- Izquierdo MA, Scheffer GL, Flens MJ, Giaccone G, Broxterman HJ, Meijer CJ, van der Valk P, Scheper RJ. Broad distribution of the multidrug resistance-related vault lung resistance protein in normal human tissues and tumors. *Am J Pathol.* 1996b Mar;148(3):877-87.
- Jaffe ES, Harris NL, Harald S, Vardiman JW: WHO Classification of Tumors: Pathology and Genetics of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid tissues. IARC press Lyon 2001.
- Jedlitschky G, Leier I, Buchholz U, Barnouin K, Kurz G, Keppler D. Transport of glutathione, glucuronate, and sulfate conjugates by the MRP gene-encoded conjugate export pump. *Cancer Res.* 1996 Mar 1;56(5):988-94.
- Jillella AP, Murren JR, Hamid KK, et al: P-glycoprotein expression and multidrug resistance in cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer Invest* 2000, 18:609-613.
- Jonker JW, Buitelaar M, Wagenaar E, Van Der Valk MA, Scheffer GL, Scheper RJ, Plosch T, Kuipers F, Elferink RP, Rosing H, Beijnen JH, Schinkel AH. The breast cancer resistance protein protects against a major chlorophyll-derived dietary phototoxin and protoporphyria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Nov 26;99(24):15649-54. Epub 2002 Nov 12.
- Jonker JW, Smit JW, Brinkhuis RF, Maliapaard M, Beijnen JH, Schellens JH, Schinkel AH. Role of breast cancer resistance protein in the bioavailability and fetal penetration of topotecan. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Oct 18;92(20):1651-6.

Jung CK, Lee KY, Kim Y, et al: Epstein-Barr virus infection, drug resistance and prognosis in Korean T-and NK-cell lymphomas. *Pathol Int* 2001, 51:355-363.

Kage K, Tsukahara S, Sugiyama T, Asada S, Ishikawa E, Tsuruo T, Sugimoto Y. Dominant-negative inhibition of breast cancer resistance protein as drug efflux pump through the inhibition of S-S dependent homodimerization. *Int J Cancer*. 2002 Feb 10;97(5):626-30.

Kang YK, Zhan Z, Regis J, Robey R, Meadows B, Dickstein B, Lee JS, Otsuki T, Stetler-Stevenson M, Jaffe ES, Solomon D, Wilson WH, Fojo a, Bates SE. Expression of *mdr-1* in refractory lymphoma: Quantitation by polymerase chain reaction and validation of the assay. *Blood* 1995;86:1515-1524.

Kedersha NL, Rome LH. Vaults: large cytoplasmic RNP's that associate with cytoskeletal elements. *Mol Biol Rep*. 1990;14(2-3):121-2.

Kitazono M, Sumizawa T, Takebayashi Y, Chen ZS, Furukawa T, Nagayama S, Tani A, Takao S, Aikou T, Akiyama S. Multidrug resistance and the lung resistance-related protein in human colon carcinoma SW-620 cells. *J Natl Cancer Inst*. 1999 Oct 6;91(19):1647-53.

Knutsen T, Rao VK, Ried T, Mickley L, Schneider E, Miyake K, Ghadimi BM, Padilla-Nash H, Pack S, Greenberger L, Cowan K, Dean M, Fojo T, Bates S. Amplification of 4q21-q22 and the MXR gene in independently derived mitoxantrone-resistant cell lines. *Genes Chromosomes Cancer*. 2000 Jan;27(1):110-6.

Kruh GD, Belinsky MG. The MRP family of drug efflux pumps. *Oncogene*. 2003 Oct 20;22(47):7537-52.

Kuwazuru Y, Hanada S, Furukawa T, Yoshimura A, Sumizawa T, Utsunomiya A, Ishibashi K, Saito T, Uozumi K, Maruyama M, et al. Expression of P-glycoprotein in adult T-cell leukemia cells. *Blood*. 1990 Nov 15;76(10):2065-71.

Lage H, Dietel M. Involvement of the DNA mismatch repair system in antineoplastic drug resistance. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999;125:156-165.

Lage H, Perlitz C, Abele R, et al. Enhanced expression of human ABC-transporter tap is associated with cellular resistance to mitoxantrone. *FEBS Lett* 2001;503:179-184.

Lage H. ABC-transporters : implications on drug resistance from microorganisms to human cancers. *International journal of antimicrobial agents* 2003;22:188-199.

Laing NM, Belinsky MG, Kruh GD et al. Amplification of the ATP-binding cassette 2 transporter gene is functionally linked with enhanced efflux of estramustine in ovarian carcinoma cells. *Cancer Res* 1998;58:1332-1337.

Lau A, Nightingale S, Taylor GP, Gant TW, Cann AJ. Enhanced MDR1 gene expression in human T-cell leukemia virus-I-infected patients offers new prospects for therapy. *Blood*. 1998 Apr 1;91(7):2467-74.

Leier I, Jedlitschky G, Buchholz U, Cole SP, Deeley RG, Keppler D. The MRP gene encodes an ATP-dependent export pump for leukotriene C4 and structurally related conjugates. *J Biol Chem*. 1994 Nov 11;269(45):27807-10.

Leith CP, Kopecky KJ, Chen IM, Eijdem L, Slovak ML, McConnell TS, Head DR, Weick J, Grever MR, Appelbaum FR, Willman CL. Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance proteins MDR1/P-glycoprotein, MRP1, and LRP in acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group Study. *Blood* 1999;94:1086-1099.

Lin ZP, Johnson DR, Finch RA, Belinsky MG, Kruh GD, Sartorelli AC. Comparative study of the importance of multidrug resistance-associated protein 1

and P-glycoprotein to drug sensitivity in immortalized mouse embryonic fibroblasts. *Mol Cancer Ther.* 2002 Oct;1(12):1105-14.

Loe DW, Almquist KC, Cole SP, Deeley RG. ATP-dependent 17 beta-estradiol 17-(beta-D-glucuronide) transport by multidrug resistance protein (MRP). Inhibition by cholestatic steroids. *J Biol Chem.* 1996 Apr 19;271(16):9683-9.

Loo TW ve Clark DM. Cross-linking of human multidrug resistance P-glycoprotein by the substrate, tris-(2-maleimidoethyl)amine, is altered by ATP hydrolysis. Evidence for rotation of a transmembrane helix. *J Biol Chem* 2001a;276:31800-31805.

Loo TW ve Clark DM. Defining the drug-binding site in the human multidrug resistance P-glycoprotein using a methanethiosulfonate analog of verapamil, MTS-verapamil. *J Biol Chem* 2001b;276:14972-14979.

Lopez-Guillermo A, Cid J, Salar A, Lopez A, Montalban C, Castrillo JM, Gonzalez M, Ribera JM, Brunet S, Garcia-Conde J, Fernandez de Sevilla A, Bosch F, Montserrat E. Peripheral T-cell lymphomas: initial features, natural history, and prognostic factors in a series of 174 patients diagnosed according to the R.E.A.L. Classification. *Ann Oncol.* 1998 Aug;9(8):849-55.

Luciani F, Molinari A, Lozupone F. et al: P-glycoprotein-actin association through ERM family proteins:a role of P-glycoprotein function in human cells of lymphoid origin. *Blood* 2002. 99:641-648.

Maliepaard M, Scheffer GL, Faneyte IF, van Gastelen MA, Pijnenborg AC, Schinkel AH, van De Vijver MJ, Scheper RJ, Schellens JH. Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. *Cancer Res.* 2001 Apr 15;61(8):3458-64.

Marie JP. Drug resistance in hematologic malignancies. *Curr Opin Oncol* 2001;13:463-469.

Miller TP, Grogan TM, Dalton WS, et al. P-glycoprotein expression in malignant lymphoma and reversal of clinical drug resistance with chemotherapy plus high-dose verapamil. *J Clin Oncol* 1991;9:17-24.

Miyake K, Mickley L, Litman T, Zhan Z, Robey R, Cristensen B, Brangi M, Greenberger L, Dean M, Fojo T, Bates SE. Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res.* 1999 Jan 1;59(1):8-13.

Moscow JA, Fairchild CR, Madden MJ, et al. Expression of anionic glutathione S-transferase and P-glycoprotein genes in human tissues and tumors. *Cancer Res* 1989;49:1422-1428.

Mossink MH, van Zon A, Franzel-Luiten E, Schoester M, Kickhoefer VA, Scheffer GL, Scheper RJ, Sonneveld P, Wiemer EA. Disruption of the murine major vault protein (MVP/LRP) gene does not induce hypersensitivity to cytostatics. *Cancer Res.* 2002 Dec 15;62(24):7298-304.

Motoloji T, Motomura S, Wang YH. Multidrug resistance of acute leukemia and a strategy to overcome it. *Int J Hematol* 2000, 72;418-424.

Niehans GA, Jaszcz W, Brunetto V, et al: Immunohistochemical identification of P-glycoprotein in previously untreated, diffuse large cell and immunoblastic lymphomas. *Cancer Res* 1992;52:3768-3775.

Ohno N, Tani A, Chen ZS, Uozumi K, Hanada S, Akiba S, Ren XQ, Furukawa T, Sumizawa T, Arima T, Akiyama SI. Prognostic significance of multidrug resistance protein in adult T-cell leukemia. *Clin Cancer Res.* 2001a Oct;7(10):3120-6.

- Ohno N, Tani A, Uozumi K, Hanada S, Furukawa T, Akiba S, Sumizawa T, Utsunomiya A, Arima T, Akiyama S. Expression of functional lung resistance--related protein predicts poor outcome in adult T-cell leukemia. *Blood*. 2001b Aug 15;98(4):1160-5.
- Paulsen IT, Brown MH, Skurray RH. Proton-dependent multidrug efflux systems. *Microbiol Rev* 1996;60:575-608.
- Paulsen IT, Lewis K. Microbial multidrug efflux: introduction. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2001;3:143-144.
- Pileri S, Sabattini E, Falini B, et al: Immunohistochemical detection of the multidrug protein P170 in human normal tissues and malignant lymphomas. *Histopathology* 1991, 19:131-140.
- Poje E, Bierman P, Daley D, et al. Expression of P-glycoprotein in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1991;32:366 (abstr).
- Robbiani DF, Finch RA, Jager D, Muller WA, Sartorelli AC, Randolph GJ. The leukotriene C(4) transporter MRP1 regulates CCL19 (MIP-3beta, ELC)-dependent mobilization of dendritic cells to lymph nodes. *Cell*. 2000 Nov 22;103(5):757-68.
- Rodriguez C, Commes T, Robert J, et al : Expression of P-glycoprotein and anionic glutathione-S-transferase in non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Res* 1993, 17:149-156.
- Sarkadi B, Ozvegy-Laczka C, Nemet K, Varadi A. ABCG2 -- a transporter for all seasons. *FEBS Lett*. 2004 Jun 1;567(1):116-20.

- Scheffer GL, Schroeijers AB, Izquierdo MA, Wiemer EA, Scheper RJ. Lung resistance-related protein/major vault protein and vaults in multidrug-resistant cancer. *Curr Opin Oncol*. 2000 Nov;12(6):550-6.
- Scheffer GL, Wijngaard PL, Flens MJ, Izquierdo MA, Slovak ML, Pinedo HM, Meijer CJ, Clevers HC, Scheper RJ. The drug resistance-related protein LRP is the human major vault protein. *Nat Med*. 1995 Jun;1(6):578-82.
- Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, Kaaijk P, Dalton WS, van Heijningen TH, et al. Overexpression of a M(r) 110,000 vesicular protein in non-P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Cancer Res* 1993;53:1475-9.
- Schinkel AH. The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol*. 1997 Jun;8(3):161-70.
- Schlaifer D, Laurent G, Chittal S, et al. Immunohistochemical identification of multidrug resistance associated P-glycoprotein in tumor and stromal cells of human cancers. *Br J Cancer* 1990;62:177-182.
- Schroeijers AB, Reurs AW, Scheffer GL, Stam AG, de Jong MC, Rustemeyer T, Wiemer EA, de Gruijl TD, Scheper RJ. Up-regulation of drug resistance-related vaults during dendritic cell development. *J Immunol*. 2002 Feb 15;168(4):1572-8.
- Shain KH, Dalton WS. Cell adhesion is a key determinant in *de novo* multidrug resistance (MDR): new targets for the prevention of acquired MDR. *Molecular Cancer Therapeutics* 2001;1:69-78.
- Siva AC, Raval-Fernandes S, Stephen AG, LaFemina MJ, Scheper RJ, Kickhoefer VA, Rome LH. Up-regulation of vaults may be necessary but not sufficient for multidrug resistance. *Int J Cancer*. 2001 Apr 15;92(2):195-202.

- Sonneveld P. Multidrug resistance in hematological malignancies. *J Intern Med* 2000, 247: 521-534.
- St. Croix B, Florenes VA, Rak JW, et al: Impact of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 on resistance of tumor cells to anticancer agents. *Nat Med* 1996;2:1204-1210.
- Takahashi M, Misawa Y, Watanabe N, et al: Role of P-glycoprotein in human natural killer-like cell line-mediated cytotoxicity. *Expr Cell Res*. 1999, 253: 396-402.
- Tan B, Piwnica-Worms D, Ratner L. Multidrug resistance transporters and modulation. *Curr Opin Oncol* 2000;12:450-458.
- van der Kolk DM, de Vries EG, van Putten WJ, et al. P-glycoprotein and multidrug resistance protein activities in relation to treatment outcome in acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2000;6:3205-3214.
- van Haselen CW, Flens MJ, Scheper MJ, van der Valk P, Scheffer GL, Toonstra J, van Vloten WA. Multidrug resistance related proteins in primary cutaneous lymphomas. *Adv Exp Med Biol* 1999;457:119-131.
- van Zon A, Mossink MH, Scheper RJ, Sonneveld P, Wiemer EA. The vault complex. *Cell Mol Life Sci*. 2003 Sep;60(9):1828-37.
- Vulevic B, Chen Z, Boyd JT, et al. Cloning and characterization of human adenosine 5'-triphosphate-binding cassette sub-family A, transporter 2 (ABCA2). *Cancer Res* 2001;61:3339-3347.
- Willman C. The prognostic significance of the expression and function of multidrug resistance transporter proteins in acute myeloid leukemia: studies of the Southwest Oncology Group Leukemia Research Program. *Seminars in Hematology*, 1997;34 (suppl 5):25-53.

Yamaguchi M, Kita K, Miwa H, et al: Frequent expression of P-glycoprotein/MDR1 by nasal T-cell lymphoma cells. *Cancer* 1995, 76:2351-2356.

Yuen A R, Sikic BI: Multidrug resistance in lymphomas. *J Clin Oncol* 1994, 12:2453-2459.

Zhou S, Morris JJ, Barnes Y, Lan L, Schuetz JD, Sorrentino BP. Bcrp1 gene expression is required for normal numbers of side population stem cells in mice, and confers relative protection to mitoxantrone in hematopoietic cells in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Sep 17;99(19):12339-44. Epub 2002 Sep 6.

Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, Colapietro AM, Sampath J, Morris JJ, Lagutina I, Grosveld GC, Osawa M, Nakauchi H, Sorrentino BP. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med*. 2001 Sep;7(9):1028-34.

EK : Olgu listesi

No	Biyopsi No	Biyopsi Mikroskopik Tanı	Yas	Cinsiyet	P	PCR	MPP	LRP	Evre	Sagkalım (ay)	Durum
1	4551,99	T/NK	44	E	neg	1+	2+	neg	4	15	Ex
2	5686,99	ALCL,T,+	7	E	poz	1+	1+	neg		60	HS
3	6404,99	PTCL,nos	11	K	neg	3+	3+	poz			
4	6434,99	PTCL,nos	74	E	neg	2+	2+	poz	4	56	Ex
5	15041,99	PTCL,nos	21	K	poz	neg	2+	neg	4		
6	5489,00	PTCL,nos	51	E	poz	2+	3+	poz			
7	6088,00	ALCL,T,-	63	E	neg	1+	1+	neg	3B	53	HS
8	7952,00	PTCL,nos	46	E	poz	2+	3+	poz	2B	91	HS
9	15017,00	ALCL,T,-	35	E	.	.	.	poz	1A	51	HS
10	10798,00	PTCL,nos	40	K	neg	3+	2+	neg	4	17	Ex
11	11409,00	ALCL,n,-	26	K	neg	3+	2+	neg		40	HS
12	12842,00	PTCL,nos	43	E	neg	neg	2+	neg	2A	63	HS
13	10151,00	ALCL,n,-	35	E	poz	1+	3+	poz	3A	101	HS
14	2727,01	ALCL,T,-	54	E	neg	3+	3+	poz	1A	74	HS
15	3296,01	PTCL,nos	66	K	neg	3+	neg	poz	1A		
16	5402,01	ALCL,T,-	21	E	poz	1+	2+	neg	3A	45	HS
17	5463,01	ALCL,T,-	51	K	neg	neg	1+	neg			
18	5630,01	PTCL,nos	60	K	neg	neg	1+	neg	1A	45	HS
19	6862,01	T/NK	36	K	neg	2+	2+	neg	4	7	Ex
20	7207,01	ALCL,T,+	19	E	neg	3+	2+	neg	3B	7	Ex
21	9366,01	anjioimm	53	E	neg	neg	2+	.	4	10	Ex
22	14923,01	PTCL,nos	70	E	neg	2+	2+	poz	3B	39	HS
23	10106,02	ALCL,T,+	20	K	poz	1+	2+	neg	1	36	HS
24	11733,02	PTCL,nos	63	K	neg	neg	1+	poz	3B	9	Ex
25	15789,02	ALCL,T,+	68	E	neg	3+	2+	poz	1B	7	HS
26	315,03	PTCL,nos	55	E	neg	3+	3+	poz			

27	5356,03	5602,03	.	ALCL,T,+	LN	22	E	neg	2+	3+	poz	3A	5	Ex
28	5871,03	.	.	PTCL,nos	LN	64	E	.	.	.	poz	3B	.	.
29	3216,03	3511,03	.	ALCL,T,-	LN	45	E	poz	2+	3+	neg	4	4	Ex
30	8502,03	.	.	PTCL,nos	LN	48	E	poz	1+	2+	poz	2A	18	HS
31	9768,03	.	.	ALCL,n,-	LN	38	E	poz	3+	3+	poz	3B	22	Ex
32	10075,03	11459,03	.	ALCL,n,-	LN+EN	29	K	poz	2+	3+	poz	3	24	Ex
33	12898,03	2777,03	.	ALCL,T,+	LN	40	K	poz	2+	3+	poz	2A	37	HS
34	14277,03	.	.	NK/T	LN	51	E	neg	3+	neg	neg	4	1	Ex
35	13303,02	16000,03	.	PTCL,nos	LN	81	K	neg	neg	1+	poz	3B	24	Ex
36	11003,02	.	.	PTCL,nos	EN	42	K	neg	3+	neg	neg	.	.	.
37	16002,98	.	.	PTCL,nos	LN	35	K	neg	2+	neg	neg	2A	168	HS
38	10594,02	.	.	ALCL,T,-	LN	48	E	neg	1+	2+	neg	4	6	Ex
39	5508,00	4241,00	.	PTCL,nos	EN	53	E	neg	1+	neg	neg	1	9	Ex
40	1498,04	.	.	ALCL,T,-	LN	8	E	neg	1+	3+	poz	1A	16	HS
41	1620,04	.	.	ALCL,T,+	EN	23	E	neg	1+	neg	neg	4	6	HS
42	134,04	.	.	PTCL,nos	LN	74	2K	neg	3+	neg	poz	2B	16	HS
43	18017,03	.	.	C-ALCL	deri	71	E	neg	.	2+	neg	.	4	HS
44	3635,04	.	.	C-ALCL	deri	19	K	neg	2+	3+	poz	1A	9	Ex
45	5710,04	.	.	PTCL,nos	LN	57	K	.	.	.	neg	3	11	HS

LN: Lenf nodu, EN: Ekstranodal, HS: Halen sağ, Ex: Eksitus, Neg: negative, Poz: pozitif, Boş kutular: Değerlendirilemeyen