

**T.C.**  
**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**LENFOİD LEZYONLARDA S-100 PROTEİN  
VE VİMENTİN İLE RETİKÜLÜM  
HÜCRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Funda DEMİRAĞ**

**SAMSUN - 1993**

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
MATERYAL VE METOD	13
BULGULAR	15
TARTIŞMA	36
SONUÇLAR	43
ÖZET	44
KAYNAKLAR	45

## GİRİŞ

Lenfoid dokular farklı hücre popülasyonlarınınin topografik ve fonksiyonel organizasyonu sonucu oluşmuş kompleks yapılardır<sup>(1)</sup>.

Bu kompleks içerisinde yer alan lenfoid hücrelerin benign ve malign lezyonlardaki yerleri ve anlamları geniş kapsamlı araştırmalara konu olmuş ve oldukça ileri seviyelerde bilgi edinilebilmiştir.

Lenfoid dokuların klasik retikülüm hücreleri olan fibroblastik retikülüm hücreleri (FRC) ve folliküler dendritik retikülüm hücreleri (DRC)'nin benign ve malign lezyonlardaki davranışları hakkında henüz yeterli bilgiye sahip değiliz. Bu konudaki araştırmalar devam etmektedir.

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

## GENEL BİLGİLER

Fötal hayatın 3. ayında ilk lenf damarları venaların komşuluğunda, mezankim içinde duvarı yassılaşmış mezankim hücreleri ile döşeli borucuklar olarak belirir<sup>(2,3)</sup>. Bu lenf kesesi cisterna chyli'nin üst kısmı hariç fötal hayatın ilk dönemlerinde lenf nodu gruplarına transforme olur. Daha sonra mezankimal hücreler her bir lenf kesesini invaze eder. Damarlar periferie gelir ve burada periferal sinüsler belirir. Bağ dokusundan bir kapsül nodülün çevresini sarar. Bu esnada besleyici damarlar nodüle hilus yolu ile girer ve çıkar. Bu nodüllerdeki lenfositik hücre toplulukları gebeliğin 25-28. haftasından sonra daha belirgin olan folliküller oluştururlar. Normalde germinal merkezler postnatal hayatın 2-3. ayında oluşur. Eğer fötal yaşamda sifiliz, CMV ya da rubella gibi bazı antijenlerle stimule edilmişse daha erken oluşabilir<sup>(3,4)</sup>.

Lenf nodları lenfatik yol içinde afferent ve efferent lenfatikler ile dolaşımı bağlayan periferal lenfoid organlardır. Oval ya da yuvarlak şekilli bu lenfoid doku akümüasyonlarının büyüklüğü 2-20 mm olup longitudinal çapları ortalama 15 mm'dir<sup>(5)</sup>. Vücudun her yerine dağılmış olan lenf nodları özellikle lenf sıvısını torasik ve sağ lenfatik duktusa taşıyan lenfatik damarlar boyunca yerleşirler. Aksilla, kasık, boyunda büyük damarlar çevresinde, toraksda, abdomende ve mezenterde çok sayıda bulunurlar<sup>(6)</sup>.

Lenf nodlarının hacim ve kompozisyonu, yaşa, vücut içinde bulunduğu yere ve aldıkları stimülasyona göre değişmesine rağmen, hepsinde belli bir organizasyon gösterir. Sıkı bağ dokusundan oluşmuş bir kapsülle sarılmış lenf nodları korteks, parakorteks ve medulladan oluşmuştur<sup>(5,6)</sup>.

Kortikal bölge lenfoid folliküller içerip humoral immünite ile ilgilidir<sup>(5)</sup>. Primer folliküller küçük, koyu boyanmış lenfoid hücre grubu olup, eğer germinal merkez geliştirse sekonder follikül halini alır. Follikülün fonksiyonu antijene bağımlı B cell popülasyonu, hafıza hücreleri ve antikor oluşturan plazma hücrelerinin oluşumunu sağlamak olup, DRC, değişik gelişim aşamalarında lenfoid hücreler ve Tingible Body Makrofajlar (TBM)'lerden oluşmuştur<sup>(5,7)</sup> (Şekil 1A).

Lenfoid hücreler küçük, orta ya da büyük hacimlidir. Küçük lenfositler muhtemelen dinlenme halinde olan matür, sirkülatuar lenfositlerdir. Çapları 6 µm olup, en yüksek çekirdek / sitoplazma oranını verirler. Işık mikroskopunda çekirdek yoğundur, ayrıntısı görülemez. Sitoplazması ise perinükleer bir sınır gibidir. Yüzeylerinde Ig ve C<sub>3</sub> reseptörleri vardır. Büyük lenfositler poliribozomlar içeren daha büyük sitoplazmaya sahiptirler. Çekirdek geniş ve belirgin çekirdekçiklidir. Orta hacimdeki lenfositler dinlenme halindeki ile aktif lenfositler arasındaki geçişi gösterirler<sup>(5)</sup>.

Lukes ve Collins'e göre, folliküllerin germinal merkezi major B hücre sistemi olup 4 tip lenfoid hücre içerir. Bu hücreler geniş ve küçük, çentikli ve çentiksiz hücrelerdir. Mantle zonun periferindeki B lenfoid hücreler antijen tarafından blastik transformasyona uğratılır. Transformasyonun ilk

aşaması çentikli lenfoid hücrelerdir ki bölünmeyen formdur. Derece derece küçük çentikli hücrelerin pyraninofilik sitoplazması genişleyip geniş çentikli hücre oluşur. Daha sonra çentik kaybolur, çekirdek oval ya da yuvarlak şekil alır ve hücre dinlenim halindeki lenfositin 4 katı büyüklüğe ulaşır. Sitoplazması geniş olup, çok sayıda organel içerir, çekirdekçiği belirgindir. Bu hücrelerin mitotik bölünmesi ile küçük çentiksiz hücreler daha sonra da plazma hücreler oluşur<sup>(5)</sup>.

Yukarıda tanımlanan germinal merkez reaksiyonunun oluşumu için antijenin B lenfositlere DRC'ler tarafından sunulması gerekmektedir<sup>(8,9)</sup>. Sekonder B hücresi immün yanıtı için gerekli olan bu hücreler ilk kez 1927 yılında Maximow tarafından tanımlanmıştır. Primer folliküller çok az DRC içerirken sekonder folliküller içinde DRC'ler sinsityal kompleks görünümünde şebeke oluşturur. Işık mikroskobunda soluk bir sitoplazma içinde merkeze yerleşmiş çekirdek içerir. Bazen çekirdek sayısı 2 ya da daha fazladır. Bu nedenle ışık mikroskobunda sitoplazma sınırları zorlukla belirlenir. Elektron mikroskobunda ise en çarpıcı özellikleri sitoplazmik membran uzantıdır. Yüzeyinde kompleman ve Ig reseptörleri bulunur. Sitoplazması 5' nucleotidase ve nonspesifik esteraz içeren bu hücrelerin görevi humoral immün cevapta B bellek hücrelerini oluşturmaktır. Antijen depolanması makrofajdan farklıdır. Antijenler immünkompleks olarak DRC'nin membranına lokalize olur. Ancak antikolar olmadan da antijen bağlandığı gözlenmiştir<sup>(7,9,10)</sup>. Yapılan deneysel çalışmalar ile DRC'nin, mantle zona bitişik bölgedeki stromayı oluşturan fibroblastik retikülüm hücrelerinden (FRC) transforme olduğu gösterilmiştir<sup>(11,12)</sup>.

Germinal merkezdeki diğler bir hücre TBM olup, fagositik materyal içeren geçiş sitoplazmaya sahip, büyük hücrelerdir. Germinal merkezde yıldızlı gökyüzü manzarası oluşturan TBM'ler makrofajların pekçok özelliğine de sahiptir<sup>(7)</sup>.

Parakorteks lenfoid folliküller arasında kapsülden, kortikomedüller bileşkeye kadar uzanan hücreden zengin sahadır<sup>(5,6)</sup>. Lenfoid hücreler Interdigitating Dendritik Hücreler (IDC) ve postkapiller venüller içerir<sup>(7)</sup> (Şekil 1C).

Timus çıkarıldığında parakortikal bölgede bulunan lenfositlerin ortadan kalkması, T lenfosit popülasyonundan oluştuğunu göstermektedir (6,13). Bu küçük T lenfositler, irregüler ya da yuvarlak, kromatinden zengin çekirdekli, dar sitoplazmalı olup arada iri çekirdekli, 2 ya da daha fazla çekirdekcik içeren T-immünoblastlar da bulunabilir<sup>(7)</sup>.

Parakortikal bölgede T hücrelerine antijeni IDC sunmaktadır. Sitoplazmik uzantılara sahip şeffaf sitoplazması tipik özelliğidir. Bu özelliği sayesinde kolaylıkla farkedilebilen IDC'ler normal şartlardan bu sahadaki hücrelerin %0.1'inden daha azını oluştururlar ve sayıları kişiden kişiye değişir. Zayıf asid fosfataz ve  $\alpha$  naftil asetat esteraz aktivitesi gösteren bu hücreler S-100 protein ve kompleman reseptörleri açısından pozitiflerdir<sup>(9)</sup>. Afferent lenfatığın lıgasyonundan sonra, lenf nodu içinde sayılarının azalması bu hücrelerin lenf yolu ile geldiğı fikrini uyandırır<sup>(9,10)</sup>.

Parakorteksin diğler dikkate değer bir özelliğı de geniş oval çekirdekli, küçük çekirdekcikli, kübık ya da silendirik şekilli endotelyal hücreler ile

döşeli damarlarıdır. Bazen endotel lümenini oblitere edebilir. Bu damarlar periferal kandan lenf nodu parankimine lenfositlerin girdikleri kapıdır<sup>(7)</sup>.

Medüller bölge plazma hücresi proliferasyonunun ve antikor üretiminin temel kısmı olup çok sayıda küçük lenfosit, plazmositoid lenfosit ve plazma hücresi içermektedir<sup>(5,7)</sup>. Bu bölgedeki makrofajlar, hafif irregüler ve veziküler iri çekirdekli, geniş sitoplazmalı olup, fagositozdan çok antijen sunumu görevi yaparlar. Ayrıca medüller bölgede mast hücreleri, eozinofil ve nötrofil lökositler bulunabilir. İmmünolojik yönden medulla B hücre sahasıdır<sup>(7)</sup>.

Sinüsler lenfi afferent lenfatiklerden alıp, lenf bezinden geçirip, efferent lenfatığe taşıyan yapılardır. Afferent lenfatikler, subkapsüler sinüslere drene olur. Bu sinüs parsiyel olarak endotel ile döşelidir. Sinüsler nodu transvers geçip hilusa ulaşır ki medüller sinüs olarak isimlendirilen bu yollar endotel ve makrofajlar ile döşelidir. Sinüs makrofajlarının en önemli görevi fagositozdur<sup>(7)</sup> (Şekil 1B).

Lenf nodunun stromasının en önemli elemanı fibroblastik retikülüm hücreleri (FRC) ve retikülün lifleridir. Retikülün boyaları ile yapılan çalışmalarda FRC'nin retiküline paralel dizildiği ve bu lifler tarafından sarıldığı görülmüştür. FRC'ler bol soluk sitoplazmalı, veziküler keskin sınırlı çekirdeğe sahip uzunca hücrelerdir. İnce granüler kromatini çekirdek membranı boyunca yoğunlaştığı için ışık mikroskopunda veziküler görünür. Küçük merkezi yerleşimli çekirdekciği vardır. Bol granüllü EPR içermesi sitoplazmik alkalin fosfataz aktivitesinin olması güçlü fibroblastik fonksiyona

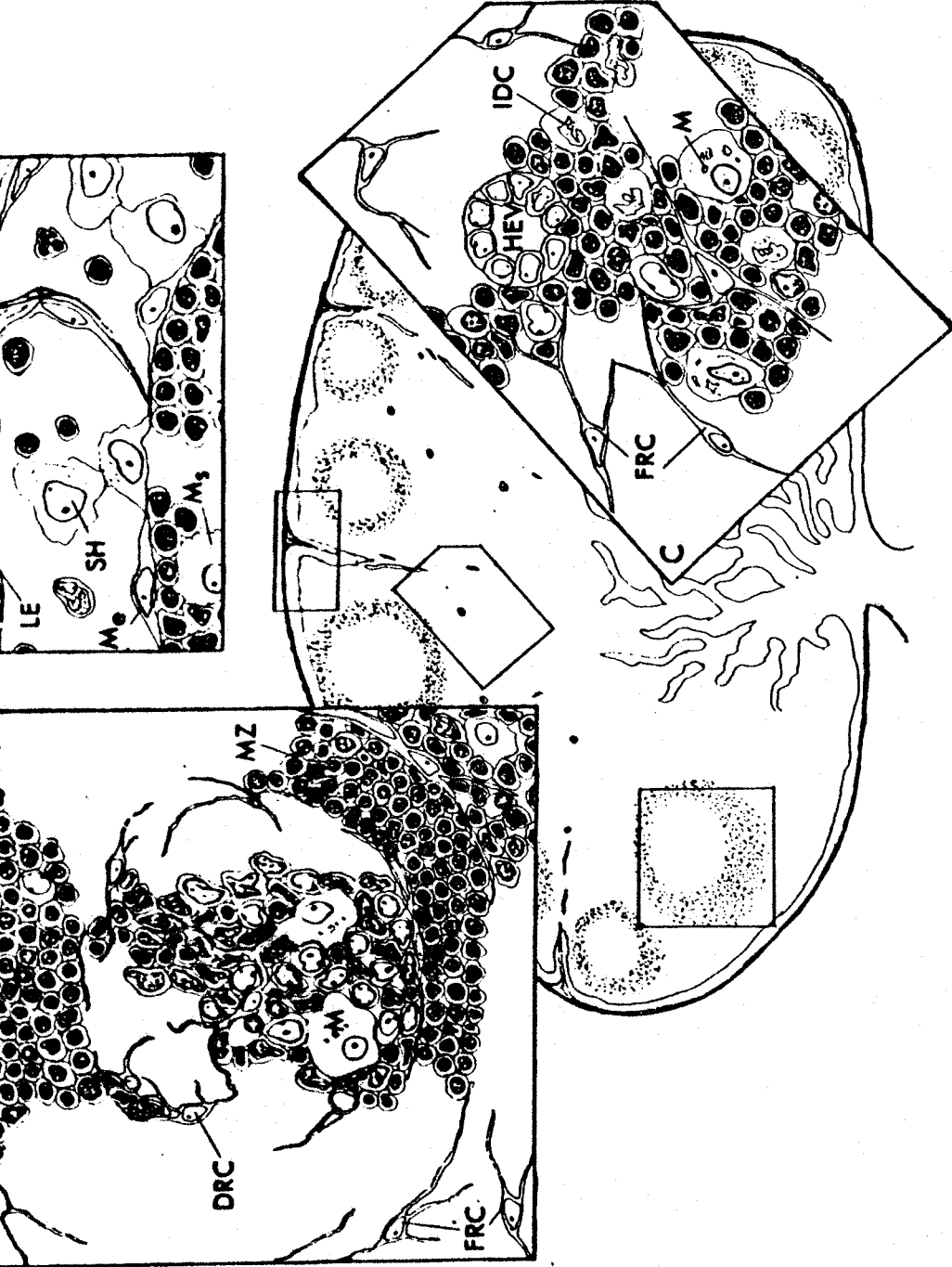


işaret eder ki bu da retikülünü yaptığını gösterir. Bu özellikler lenf nodu içindeki bir başka hücrede yoktur<sup>(12)</sup>.

FRC'nin diğer bir özelliği de 6-9 nm boyunda ince flamanlar içermesidir. Bu flamanlar hücrenin periferinde daha yoğundur ve retikülümün ince periferal lifleri ile kaynaşmaktadır. Bu flamanlar içinde miyoflamentler dikkati çeker ve FRC'ler bu sayede kontraksiyon yaparak lenf nodunun hacmini değiştirirler ve antijen-antikor hareketini kontrol ederler. Miyoflamanlar en iyi medüller sinüsün dış duvarını oluşturan FRC'ler içinde görülür<sup>(12)</sup>.

Lenfoid hücrelere yuva oluşturan FRC'ler lenf nodunun her yerinde bulunurlar, fakat özellikle germinal merkezin periferi ve kan damarları çevresinde daha belirgindir. Germinal merkezin periferinde yerleşenler FRC'lerin prekürsörüdür. Stromada FRC ile sinüs endotelleri arasında intersellüler bağlantıların gösterilmiş olması bunların aynı hücreler olabileceğini düşündürmüştür<sup>(11,12)</sup>.

FRC'leri görüntülemek için farklı yaklaşımlar kullanılmıştır. Işık mikroskopunda PAS (periodic acid Schiff) reaksiyonu pozitifliği ve yüksek alkalin fosfataz aktivitesi gösterilebilir<sup>(10,14)</sup>. FRC frozen kesitlerde immünohistokimyasal olarak cytokeratin, desmin ve düz kas aktinine karşı antikorlar çalışılarak da ortaya konulabilir. Yine immünohistokimyasal olarak parafin kesitlerde vimentine karşı geliştirilmiş antikorlarla reaksiyon verir<sup>(10)</sup>.



**Şekil 1:** A- Germinal Merkez, B- Subkapsüler sinüs, C- Parakorteks.

(DRC: Dendritik retikülüm hücresi, FRC: Fibroblastik retikülüm hücresi, M: Makrofaq, MZ: Mantle zone, LE: Lenfositik endotelial hücre, SH: Sinüs histiosit, Me: Endotel benzeri makrofaq, Ms: Subsinüsoidal makrofaq, HEV: High endotelial ven, IDC: Interdigitating hücre)

## İMMÜNOHİSTOKİMYASAL TEKNİKLER

Patolojide tanı yöntemi olarak kullanılan temel histolojik teknikler 1800'lü yıllardan beri değişmemiştir. Ancak son 40-50 yıl içinde geliştirilen immünohistolojik tekniklerin patologistlere önemli yararları olmuştur<sup>(15)</sup>.

İmmünohistokimya, immünolojik prensip ve tekniklerin hücre ve doku çalışmalarına uygulanmasıdır<sup>(16)</sup>. Bu teknikle insitu olarak bir dokuda oluşturulan spesifik antijen-antikor reaksiyonunu görünür hale getirmek amaçlanır. Orijinal metod Coons ve arkadaşları tarafından tasarlanmıştır. 1941 yılında bildirdikleri immünofluoresan işaretli antikor tekniği, immünkompleks veya otoantikor depolanması ile karakterize hastalıkların incelenmesine yeni bir boyut kazandırmış olmasına rağmen, preparatların dayanıklı olmaması, histolojik korelasyonunun iyi olmaması gibi dezavantajları nedeniyle beklenen faydayı sağlamamıştır<sup>(15-17)</sup>.

1970'li yılların başlarında Nakane ve Pierce tarafından enzim ile işaretlenmiş antikorların geliştirilmesi ile sorunlar büyük ölçüde giderilmiştir. Di Stefano ve arkadaşları ile Taylor ve Burns, formalin fikse, parafine gömülmüş dokulara bu metodu uygulamışlardır. Sternberg'in peroksidaz-antiperoksidaz, Hsu ve Raine tarafından da avidin-biotin peroksidaz kompleksinin kullanımı ile daha duyarlı immünoenzim boyama yöntemleri elde edilmiştir<sup>(15)</sup>. 1975 yılında Kohler ve Milstein tarafından hybridoma teknolojisi ile saf ve spesifik antikorların üretilmeye başlaması; immünohistokimyasal tekniklerin patoloji laboratuvarlarına girmesine yol açmıştır<sup>(15,17,18)</sup>.

### **Metodlar:**

Hedef antijene bağlanmış primer antikorun göstermek amacı ile bazı yöntemler geliştirilmiştir. Her yöntemde birkaç basamak eklenerek duyarlılığı arttırmak amaçlanmıştır. Bu metodlar aşağıda özetlenmiştir.

**1- Direkt Metod:** En eski yöntem olan bu yöntemde antijene karşı geliştirilmiş primer antikor enzim ile direkt birleştirilmiştir. Tek aşamalı olup hedefine bağlanan primer antikor ortama katılan renklendirici bir madde yardımı ile görünür hale getirilir<sup>(18,19)</sup>.

**2- İndirekt (Sandwich) metodlar:** Primer antikorun, enzimden ayırarak işlem daha duyarlı ve çok basamaklı hale getirildi. İlk indirekt yöntemlerde primer antikora karşı diğer bir hayvandan elde edilen enzim veya floresans veren bir işaretleyici ile birleştirilmiş sekonder antikorlar kullanılmıştır. Metodu daha duyarlı hale getirmek amacı ile işaretleyici (labeling) enzim birleştirici (link) antikordan ayrılarak üç aşamalı yöntemlerin çeşitli tipleri ortaya çıkmıştır. Peroksidaz-antiperoksidaz (PAP), Alkalen fosfataz-Antialkalen fosfataz (APAAP), avidin-biotin komplekslerinin (ABC) kullanımını ile dokudaki immün reaksiyon daha iyi gösterilmiştir. Bu metodların kullanıldığı yerlere göre değişen avantaj ve dezavantajları vardır<sup>(17,18,20)</sup>.

İmmünohistokimyasal yöntemler içerisinde immünofluoresan yöntemlere oranla 100-1000 kez hassas olan Biotin Strept Avidin yöntemlerinin güvenilir olmalarına rağmen yine de yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar verebileceği değerlendirme sırasında gözönünde bulundurulmalıdır<sup>(16)</sup>.

### **Vimentin:**

Intermediate filamentler memelilerin hücre iskeletinin temel bileşenidir<sup>(21,22)</sup>. 7-11 nm çapında küçük mikrofilamentler ve büyük mikrotübüller arasında yer alan filamentöz yapılardır<sup>(23,24)</sup>. Bu yapısal proteinler hücrenin diferansiyasyon işlemine bağlı olarak belirir<sup>(23)</sup>. Epitelyal hücreler cytokeratinler olarak sınıflandırılan epidermal tonofilamanlar, mezankimal hücreler vimentin, kas hücrelerinde desmin, nöronlarda nörofilamentler, glial hücrelerde glial fibriller asidik protein bulunur<sup>(21,23)</sup>. Bu filamentöz yapılar için geliştirilmiş monoklonal antikordardan kökeni bilinmeyen hücrelerin histogenezini aydınlatmada faydalanılır<sup>(22,23)</sup>.

Mezankimal hücreler genellikle güçlü vimentin pozitifliği gösterir. Fibrositler, lipositler, düz kas hücreleri, vasküler endotelial hücreler, periferik sinir Schwann hücreleri, makrofajlar, tükrük ve ter bezleri, memenin mioepitel hücrelerinde gösterilmiştir<sup>(21)</sup>. Melanoma, Schwannoma, renal hücreli karsinoma, papiller tiroid karsinomu, pulmoner adenokarsinom, memenin adenokarsinomu, hepatosellüler karsinom ve kolangiosellüler karsinomlarda ve sarkomlarda pozitifken, kolon, ince barsak, safra kesesi ve prostat adenokarsinomlarında negatif boyanır<sup>(21)</sup>.

Vimentin lenf nodlarında FRC'lerin dağılımını araştırmak amacı ile kullanılmıştır. Bu çalışmalarda hemen hemen tüm lenf nodu kompartmanlarında vimentin pozitif hücreler ile karşılaşmıştır. Endotel hücreleri, FRC ve histiositler asıl güçlü vimentin pozitifliği gösteren hücre tipi olup arada tek tük boyanmış lenfositler dikkati çeker<sup>(10)</sup>.

**S-100 Protein:**

S-100 protein ilk kez 1965 yılında Moore tarafından sinir sisteminde tanımlanmıştır<sup>(13)</sup>. Ca bağlayan bir protein olan S-100 protein,  $\alpha$  ve  $\beta$  subünitelerinden oluşmuştur. Schwann hücreleri, melanositler, tükürük bezlerinin duktus hücrelerinde, kondrositler, T lenfositler ve Langerhaus hücrelerinde bulunur<sup>(25)</sup>.

S-100 proteininin çeşitli tümörler yanısıra normal lenf nodunda PAP ve ABC metodları ile IRC'ler içinde iyi bir belirleyici olabileceği gözlenmiştir<sup>(13,25)</sup>.

Normal lenf nodunda PAP metodu kullanılarak S-100 protein araştırıldığında germinal merkezdeki makrofajların ve lenfoid hücrelerin reaksiyon vermediği görülmüştür<sup>(13,25)</sup>.

## MATERYAL VE METOD

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

Vakaların tamponlu %10'luk formalinde tespit edilmiş rutin parafin bloklarından 6 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Seri kesitlerin bir bölümüne Harris Hematoxylin Eozin boyandı. Diğer bölümüne ise anti-S-100 protein (ImmuStain, DPC, LA, California, C:15E2E2) ve antivimentin (ImmuStain DPC, LA, California C:V9) antikorları kullanılarak, immünhistokimyasal çalışma yapıldı. Çalışmada Strept Avidin Biotin boyama metodu (ImmuStain Universal Kiti, DPC, LA, California) ile S-100 protein için pozitif kontrol olarak periferik sinir kesitleri, vimentin için ise meme dokusu kullanıldı. Her gruptan 2 vakaya negatif kontrol uygulandı. Test preparatları sırası ile aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

### **Kesitler:**

1- Deparafinize ve dehidrate edildi.

2- Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için aqueous %3'lük hydrogen peroxide solüsyonu ile 15 dakika inkübe edildi.

3- 20 dakika süre ile tavşan normal serumundan oluşan nonspesifik bloke edici ajan uygulandı.

4. Daha sonra bütün test vakalarına ve pozitif kontrollere primer antikor olarak anti S-100 protein ve antivimentin mouse primer antikorunu, negatif kontrollere ise mouse IgG uygulandı. Oda ısısında 60 dakika inkübe edildi.

5- Kesitlere biotinlenmiş antimouse immünglobulinleri 30 dakika süre ile uygulandı.

6- Kesitler Horseradish peroksidase konjuge streptavidin ile 30 dakika inkübe edildi.

7- Renklendirici ajan olarak pH'ı 5.0 olan 1 M'lık acetate tampon ve %1'lik hydrogen peroxide içinde diaminobenzidine (DAB) hazırlandı. Tüm kesitler DAB ile kaplanarak oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.

8- İnkübasyondan sonra kesitler musluk suyunda yıkandı. Mayer's Hematoxylin ile 2 dak. zıt boyama yapıldı. Dehidrate edilip kapatıldı.

3 ile 4 no.lu aşamalar dışında diğer tüm basamaklar arasında kesitler phosphate buffer saline ile yıkandı.



## BULGULAR

Çalışmamızdaki vakaların en genci 2, en yaşlısı 78 yaşında olup, 25'i kadın, 50'si erkektir.

İlk grup 4 tüberküloz lenfadenit, 2 granülomatöz lenfadenit, 1 fibrotik lenf bezi, 11 reaktif lenf bezi, 1 Toxoplazma lenfadeniti, 6 kronik lenfadenit olmak üzere, lenf nodunun nonneoplastik hastalıklarını içeren 25 vakadan oluşmaktadır (Tablo 1).

**Tablo 1:** Lenf nodunun nonneoplastik hastalıklarını içeren grupta vakaların lenf nodu gruplarına göre dağılımı.

	Servikal	Aksiller	Perikardial	İnguinal	Abdominal	Toplam
Tbc LA	3	1	-	-	-	4
Granüloma töz LA	2	-	-	-	-	2
Fibrotik lenf bezi	1	-	-	-	-	1
Reaktif lenf bezleri	7	1	1	1	1	11
Toxo LA	1	-	-	-	-	1
Kronik LA	3	-	-	-	3	6
<b>Toplam</b>	<b>17</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>25</b>

İkinci grubu Hodgkin ve NonHodgkin Lenfomaları (NHL) oluşturmaktadır olup, Hodgkin lenfomalar "Rye klasifikasyonu", NHL'ar ise "Working Formulation" kullanılarak sınıflandırıldı(16,26). 12 adet Hodgkin lenfoma vakasının 5'i Mixed Cellularity (MS), 3'ü Lymphocyte Predominance (LP), 2'si Lymphocyte Depletion (LD) ve 2 tanesi de Nodular Sclerosis (NS) tiptir (Tablo 2). NHL'lar ise 3 adet Small Lymphocytic Lymphoma (SLL) Lenfoblastik, İmmünoblastik, Diffüz Large Cell ve 1 adet Small and Large Cell (SLC) olmak üzere 13 vakadan oluşmaktadır (Tablo 3).

**Tablo 2:** Hodgkin lenfoma vakalarının Rye klasifikasyonuna ve lenf nodu gruplarına göre dağılımı.

	Servikal	Aksiller	Mezenter	Toplam
MS	3	2	-	5
LP	2	1	-	3
LD	1	-	1	2
NS	2	-	-	2
<b>Toplam</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>12</b>

**Tablo 3:** Non-Hodgkin lenfoma vakalarının Working Formulation ve lenf nodu gruplarına göre dağılımı.

	Servikal	Aksiller	Mezenterik	İnguinal	Toplam
SLL	3	-	-	-	3
Lenfoblastik	2	-	1	-	3
İmmünoblastik	2	1	-	-	3
Diffüz large cell	1	1	-	1	3
Small and large cell	-	1	-	-	1
<b>Toplam</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>13</b>

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

**Tablo 4:** Metastatik lenf nodlarının, lenf nodu gruplarına göre dağılımı.

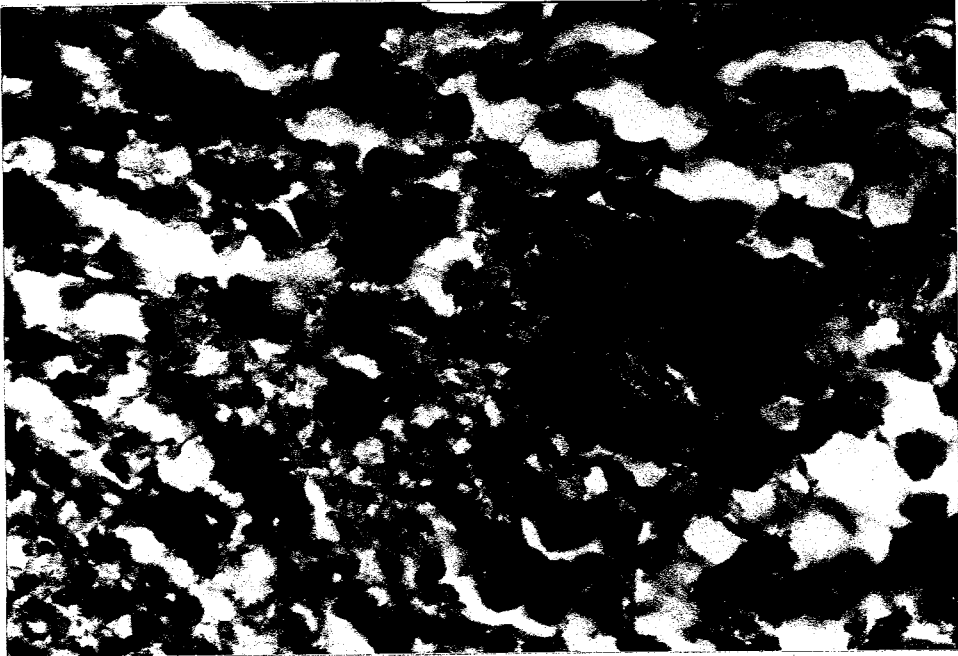
	Servikal	Aksiller	Abdominal	Toplam
Adenokarsinom	-	-	6	6
Anaplastik karsinom	1	-	-	1
Tiroidin medüller karsinomu	1	-	-	1
Malign melanom	1	-	-	1
Epidermoid karsinom	4	-	-	4
Wilm's tümörü	-	-	1	1
Nöroblastom	-	-	2	2
Transizyonel hücreli karsinom	-	-	1	1
Malign mikst tümör	1	-	-	1
İnfiltratif duktal karsinom	-	4	-	4
İnfiltratif lobuler karsinom	-	2	-	2
Memenin medüller karsinomu	-	1	-	1
<b>Toplam</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>25</b>

İmmünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde yalnızca belirgin sitoplazmik ya da sitoplazma membranını çizer tarzındaki boyanma olan hücreler pozitif kabul edildi (24).

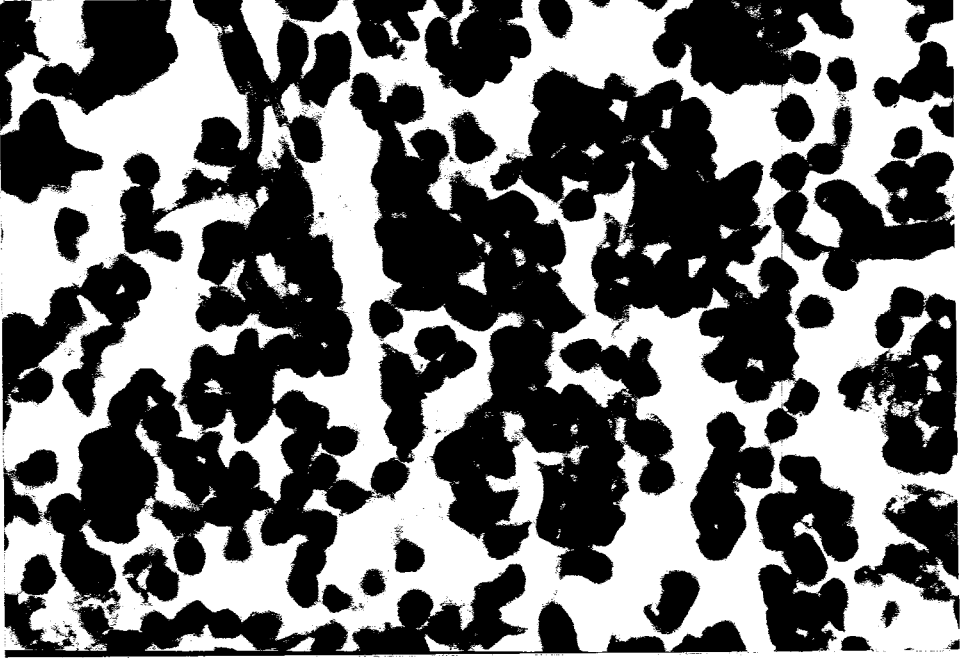
Kapsül, kan damarları, sinüsler, dendritik ve lenfoid hücrelerdeki boyanmalar ayrı ayrı değerlendirilip 0'dan 3'e kadar skorlandı. Eğer boyanma yoksa 0, zayıfısa 1, orta derecede ise 2, yoğun boyanma varsa 3 olarak değerlendirildi<sup>(27)</sup>. Dendritik hücrelerin subtiplerini lokalizasyon ve histolojik özellikleri yardımı ile tanımladık. Tip veremediklerimizi "dendritik hücre" olarak ifade ettik.

Vimentin ile farklı boyanma şekilleri ve farklı morfolojik özellikler gösteren hücrelere bütün lenf nodu kompartmanlarında rastlandı.

Granülomatöz lenfadenit vakalarının hepsinde Langhans tipi dev hücreler ve epitelooid histiositler ile vasküler yapılarda yoğun vimentin pozitifliği izlendi (Resim 1). Çevrelerindeki lenfoid doku içinde de yoğun boyanma gösteren dendritik hücreler vardı (Resim 2).



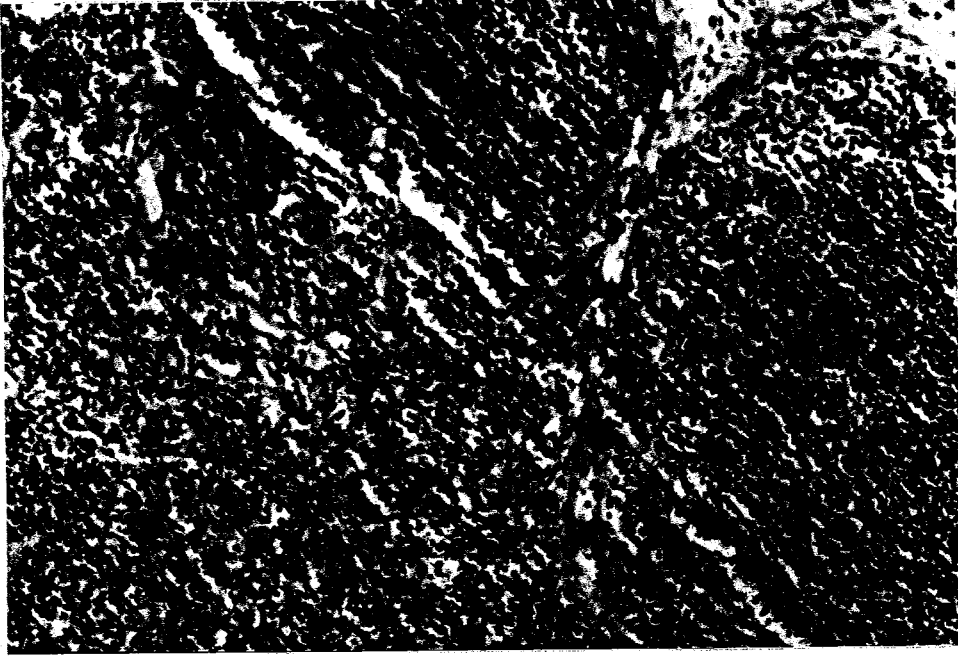
**Resim 1.** Langhans tipi dev hücreler ve epitelooid histiositlerde 3 şiddetinde vimentin immünreaksiyonu. (Vimentin, X1000)



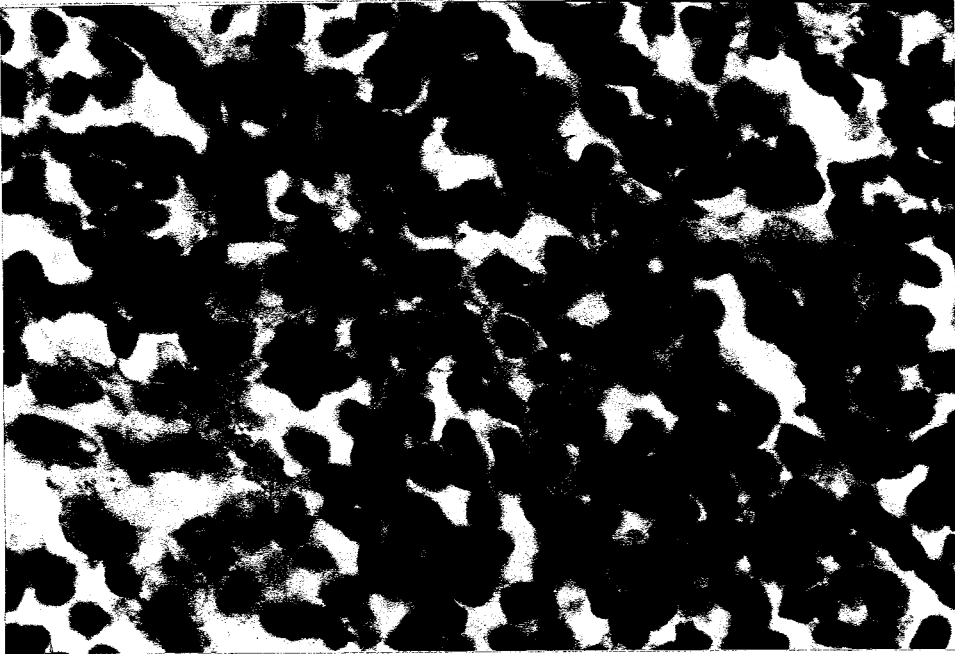
**Resim 2.** Granülomatöz lenfadenitlerdeki dendritik hücrelerde 2 şiddetinde vimentin immünreaksiyonu. (Vimentin, X1000)

Reaktif lenf bezlerinde ve kronik lenfadenitlerde germinal merkez içinde TBM'lar, parakortekste ise seyrek dağılmış dendritik hücreler ile sinüzoidler içindeki histiositlerin vimentin pozitif immünreaksiyon gösterdiği dikkati çekti (Resim 3, 4).

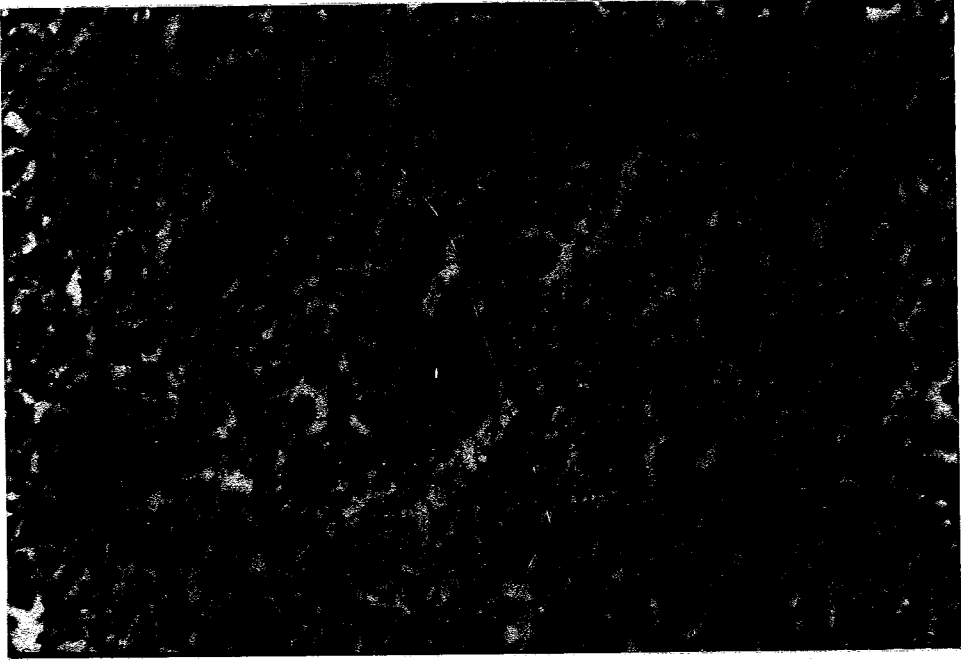
Toxoplasma lenfadeniti tanısı almış bir vakada germinal merkezde TBM, kortekste dağılmış epiteloid hücre kümeleri ile bunların çevresinde yoğun bir şebeke oluşturmuş dendritik hücrelerin 3 şiddetinde vimentin immün reaksiyonu gösterdiği izlendi (Resim 5).



**Resim 3.** Germinal merkezdeki TBM'lar. (Vimentin, X 200)



**Resim 4.** Reaktif lenf bezinde parakortekdeki dendritik hücreler.  
(Vimentin, X 1000)



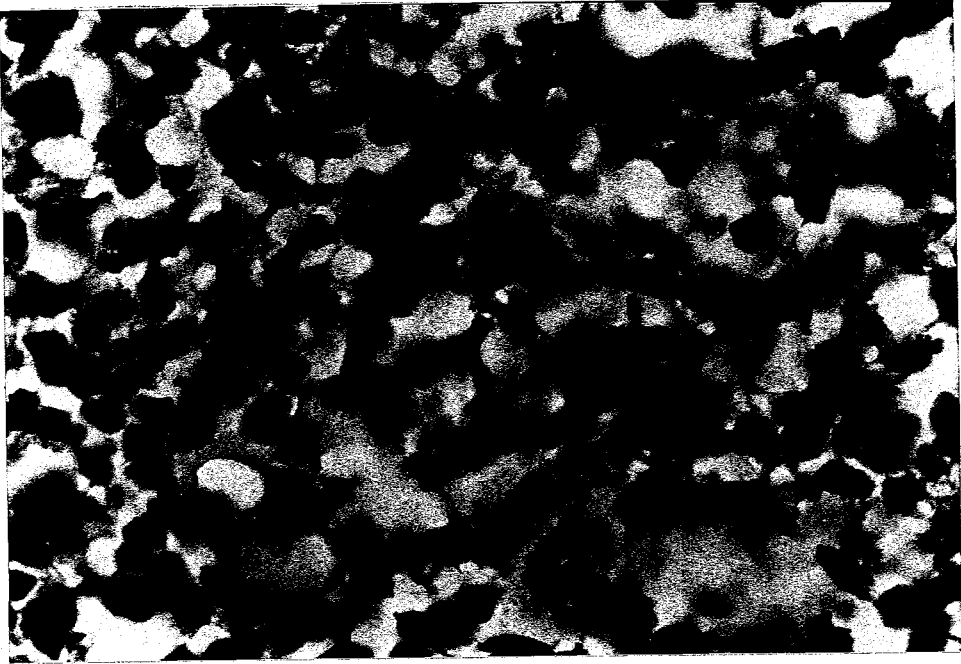
**Resim 5.** Toxoplazma lenfadenitinde, TBM'lar ve epiteloid hücreler.  
(Vimentin, X 400)

13 adet Hodgkin lenfoma vakasında kan damarlarında 3 şiddetinde boyanma mevcuttu. Klasik Reed Stenberg hücreleri vimentin ile yoğun boyanırken, mononükleer varyantları ve Lacuner hücreler daha zayıf pozitif reaksiyon gösteriyordu (Resim 6, 7). Büyük büyütme altında stroma incelendiğinde dendritik morfolojiye sahip hücrelerin Reed Stenberg hücreleri ve vasküler yapılar çevresinde yoğunlaştığı dikkati çekti (Resim 8). LD tip Hodgkin vakalarından birinde dendritik hücrelerin az sayıda olduğu, diğer 2 LD tip ve LP tip Hodgkin vakasında ise homojen dağılım gösterdiği görüldü (Resim 9). Nodüler sklerozan tip Hodgkin vakalarında kollagen bantların Vimentin ile 3 şiddetinde reaksiyon gösteren fibroblast ve vasküler yapılar içerdiği, mikroabse odakları içeren bir vakada bu alanlarda dendritik hücre bulunmadığı izlendi (Resim 10). Hiçbir Hodgkin lenfoma vakasında lenfositlerde boyanma olmazken, eozinofil lökositlerde ve histiositlerde boyanma görüldü (Tablo 5).

**Tablo 5:** Hodgkin lenfomalarda Vimentin dağılımı.

Vaka No.	Tip	Reed Stenberg	Kan damarları	Lenfoid hücreler	Dendritik hücreler	Diğer elemanlar
1	MS	3	1	0	Lenfoid hücreler arasında düzensiz dağılmış, Reed Stenberg çevresinde yoğunlaşmış 2	Histiositler 1
2	MS	3	3	0	Tüm lenf bezi boyunca dağılmış, Reed Stenberg hücreleri çevresinde yoğun 2	
3	MS	3	3	0	Tüm lenf bezi boyunca yoğun bir şekilde dağılmış 3	
4	MS	<sup>2</sup> Mononükleer varyantları 0/1	3	0	Lenf nodunu infiltre ettiği alanlarda düzensiz, az sayıda 2, Reed Stenberg çevresinde yoğun 3	
5	MS	3	3	0	Düzensiz bir şekilde dağılmış, Reed Stenberg hücreleri ve vasküler yapılar çevresinde yoğun 2	
6	LD	3	3	0	Her alana homojen dağılmış 3	
7	LD	<sup>2</sup> Mononükleer varyantları 0/1	3	0	Dendritik hücreler diğer vakalara oranla az sayıda ancak homojen dağılmış 3	
8	LP	3	3	0	Homojen dağılmış 3	
9	LP	2	2	0	Homojen dağılmış az sayıda 2	
10	LP	2	3	0	Reed Stenberg hücreleri çevresinde odaksal yoğunlaşma göstermiş, lenfositlerin olduğu alanlarda az sayıda 2	
11	NS	<sup>2</sup> Lacuner hücreleri 0	3	0	Nodüler yapılar 3 şiddetinde boyanmış dendritik hücre içeriyordu. Ortalarındaki mikroabse odaklarında ise dendritik hücre Ø. Nodülleri ayıran kollagen bantlar vimentin ile 3 şiddetinde boyanmış, fibroblast ve vasküler yapılar içeriyordu	Eozinofiller 3
12	NS	<sup>1</sup> Lacuner hücreleri 0	2	0	Nodül içinde çok sayıda 3	-

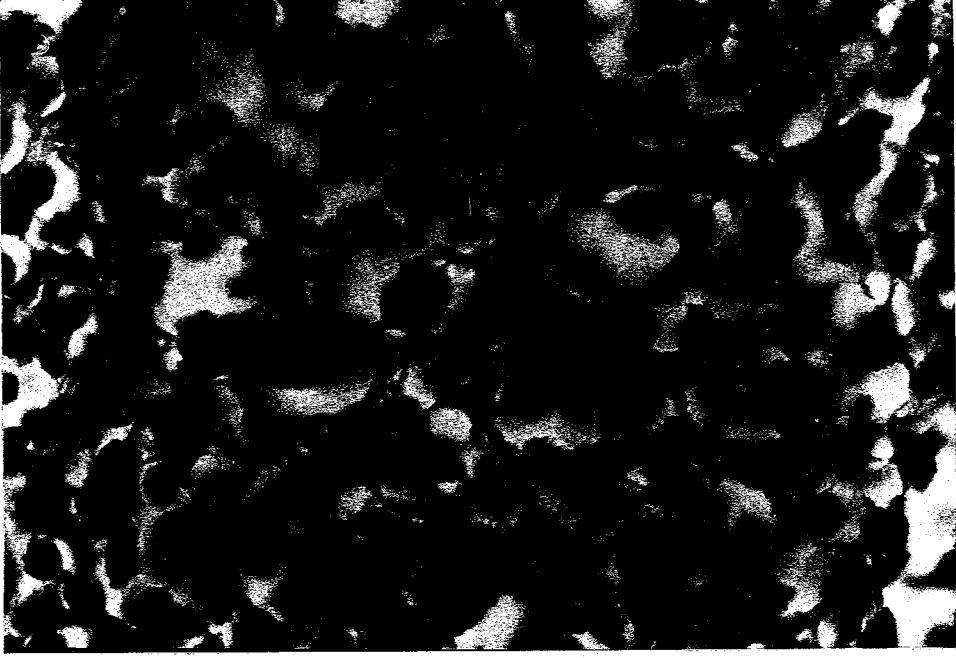




**Resim 6.** Klasik Reed Stenberg hücreleri 3 şiddetinde vimentin immünreaksiyonu.  
(Vimentin X1000)



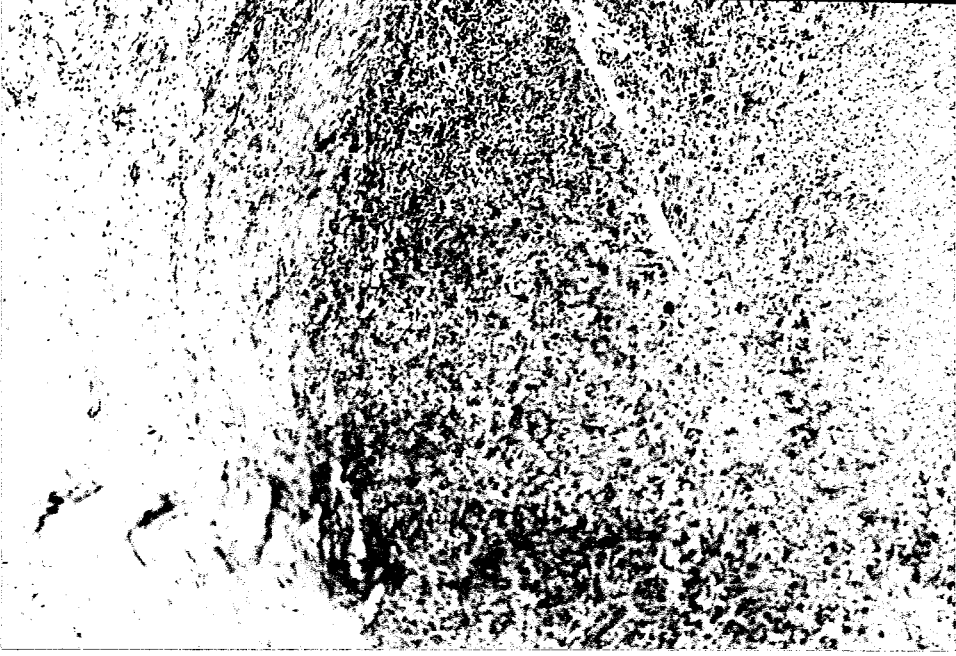
**Resim 7.** Reed Stenberg hücrelerinin mononükleer varyantlarda 1 ve 2 şiddetindeki vimentin immünreaksiyonu. (Vimentin, X1000)



**Resim 8.** Reed Stenberg hücrelerini çevreleyen dendritik hücreler.  
(Vimentin, X1000)



**Resim 9.** LD tip Hodgkinde dendritik hücreler. (Vimentin, X100)



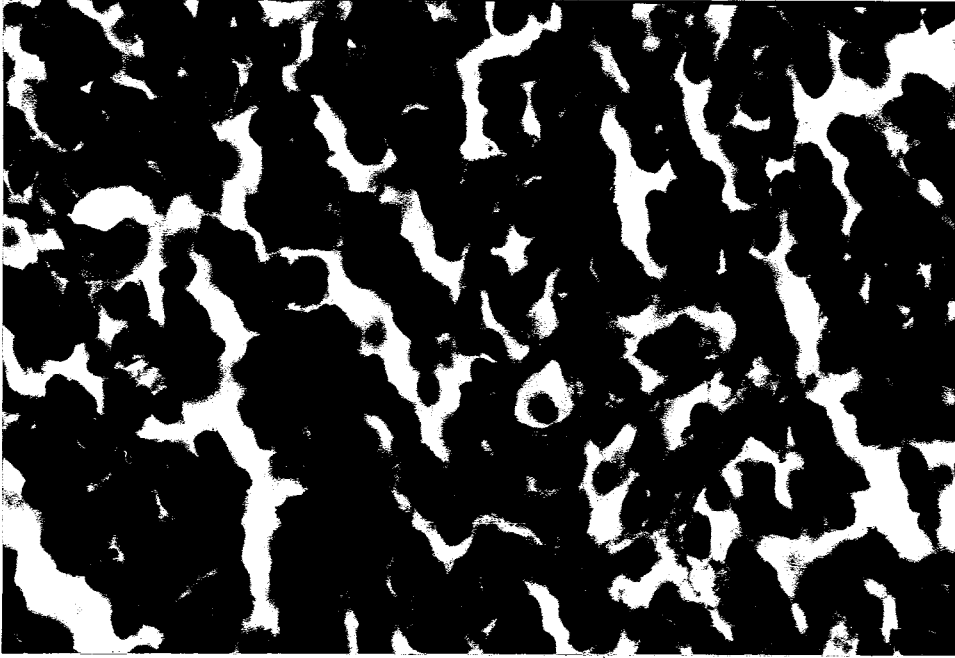
**Resim 10.** NS tip Hodgkinde kollagen bantlar. (Vimentin, X 100)

13 NHL vakası içinde, large cell lenfoma tanısı almış 1 vaka hariç, diğerlerinde vimentin ile değişik hücresel elemanlara ait boyanma elde edildi. Bütün NHL vakalarında vasküler yapılarda zayıftan kuvvetliye kadar değişen pozitiflik vardı (Resim 11). 2 Immünoblastik, 1 Large Cell Lenfoma ve 1 SLL da lenfoid hücreler ve immünoblastlarda zayıf boyanma izlendi (Resim 12).

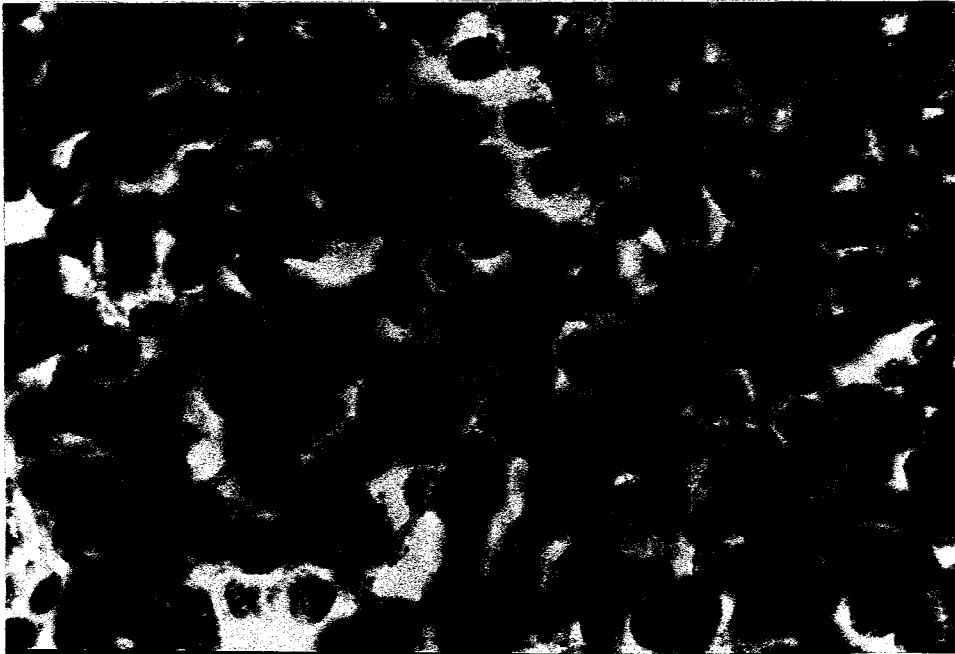
TBM'lerin ve histiositlerin 3 şiddetinde boyandığı dikkati çekti (Resim 13). Büyük büyütme altında dendritik morfolojili hücreler incelendiğinde SLL'da gevşek alveoler bir çatı oluştururken, Lenfoblastik, Immünoblastik ve Mixt Small and Large Cell'de tek tük çatı oluşturmaksızın dağıldığı görüldü (Resim 14). 2 Lenfoblastik ve 2 Large Cell Lenfomada bu hücrelerde boyanma gözlenmedi (Tablo 6).

**Tablo 6:** Non-Hodgkin lenfomalarda Vimentin dağılımı.

Vaka No.	Tip	Lenfoid hücreler	Vasküler yapılar	Dendritik hücreler	Diğer elemanlar
1	SLL	0/1	Seyrek 1	Gevşek alveoler çatı oluşturmuş dendritik hücreler 1	-
2	SLL	"	"	"	-
3	SLL	0		Seyrek dağılmış dendritik hücreler 1	-
4	Lenfoblastik L	-	1	-	-
5	Lenfoblastik L	-	3	-	Tingible body makrofajlar 3
6	Lenfoblastik L	-	2	Arada tek tük dendritik hücreler 1	-
7	İmmünoblastik L	0	3	Arada seyrek dağılmış 1	-
8	İmmünöblastik L	İmmünoblastik ve plazma hücrelerinde 1	2	Dendritik hücreler gevşek bir çatı oluşturacak tarzda dağılmış 2	-
9	İmmünoblastik L	1	2	Seyrek 1	Stüvözitleri dolduran histiositler 3
10	Diffüz large cell	-	Sadece vasküler yapılar 1	-	-
11	Diffüz large cell	-	-	-	-
12	Diffüz large cell	1	2	-	-
13	Small and large cell	0	2	Arada seyrek dağılmış	-



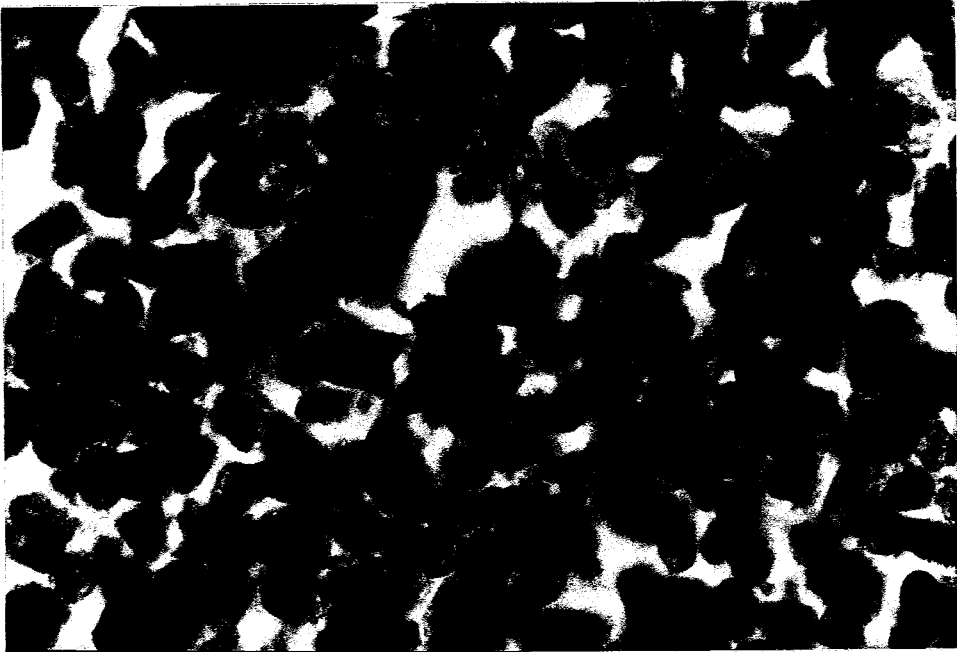
**Resim 11.** NHL'da vasküler yapılar. (Vimentin, X1000)



**Resim 12.** İmmünoblastlardaki zayıf vimentin immünreaksiyonu.  
(Vimentin, X1000)

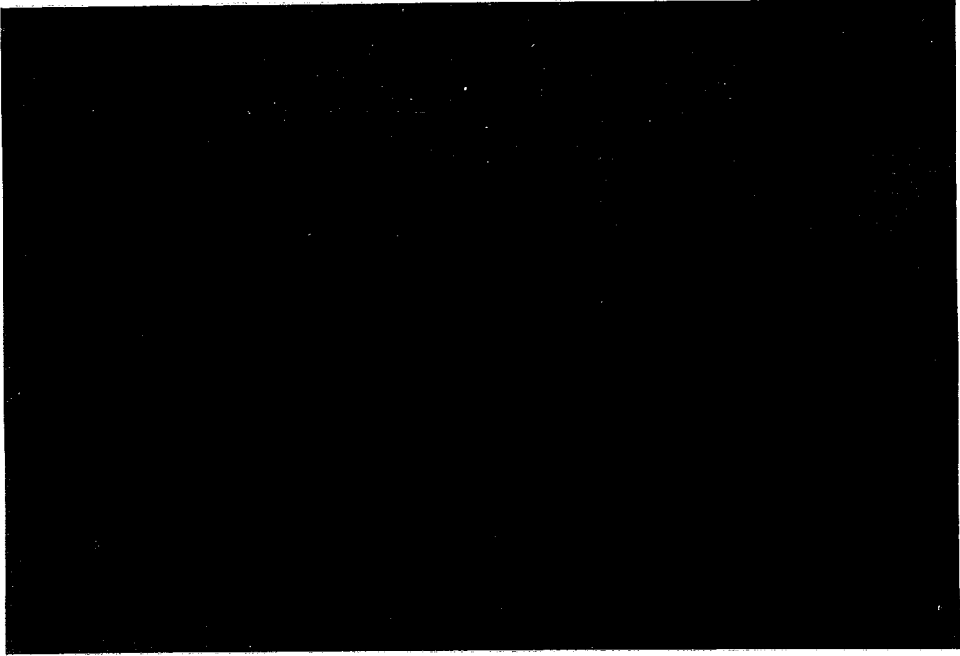


**Resim 13.** Histiositlerdeki vimentin immünreaksiyonu. (Vimentin, X200.)



**Resim 14.** Small and Large Cell Lenfomada dendritik hücreler. (Vimentin, X1000)

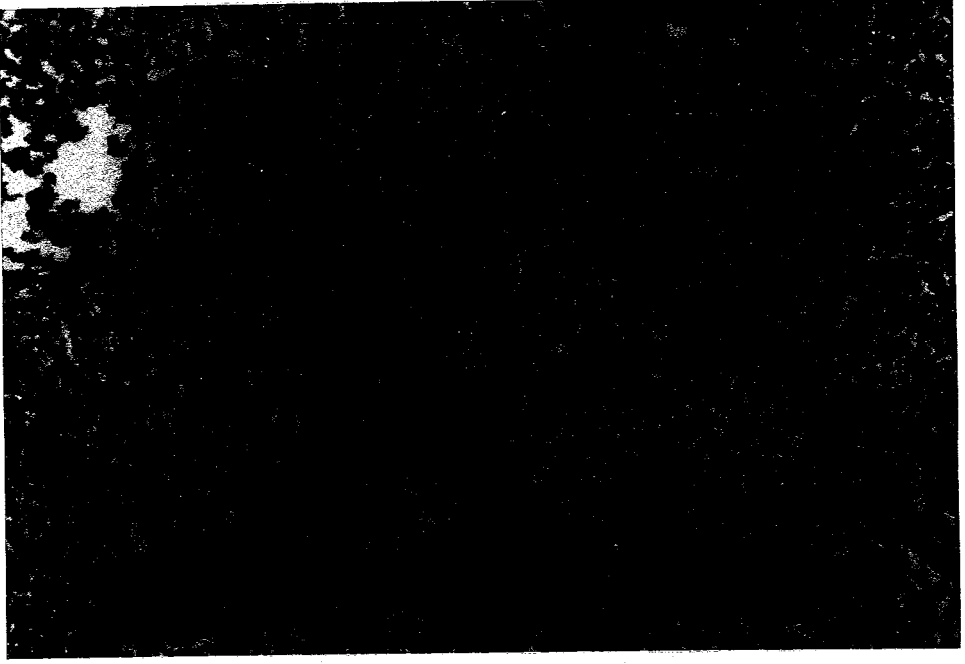
25 adet metastatik lenf nodunun ancak 14 tanesinde boyanma mevcuttu. Bunların çoğunda boyanma kapsül ve damarsal yapılara sınırlı kalmıştır. Dendritik hücrelerin izlenebildiği vakalarda ise tümör adalarının çevresinde ve parakortikal sahada gevşek bir ağ oluşturdıkları gözlemlendi (Resim 15).



**Resim 15.** Metastatik lenf nodunda, kapsül damarlar ve dendritik hücreler.  
(Vimentin, X200)

### **S-100 - Proteine ait boyanma bulguları:**

Granümatöz lenfadenitlerde granümatöz yapıların çevresinde ve parakortikal saha içinde S-100 protein pozitif dendritik hücreler izlendi. Reaktif lenf bezleri ve lenfadenitlerde de parakortikal saha içinde şiddetli 1 ile 3 arasında değişen seyrek dağılmış hücreler mevcuttu (Resim 16).



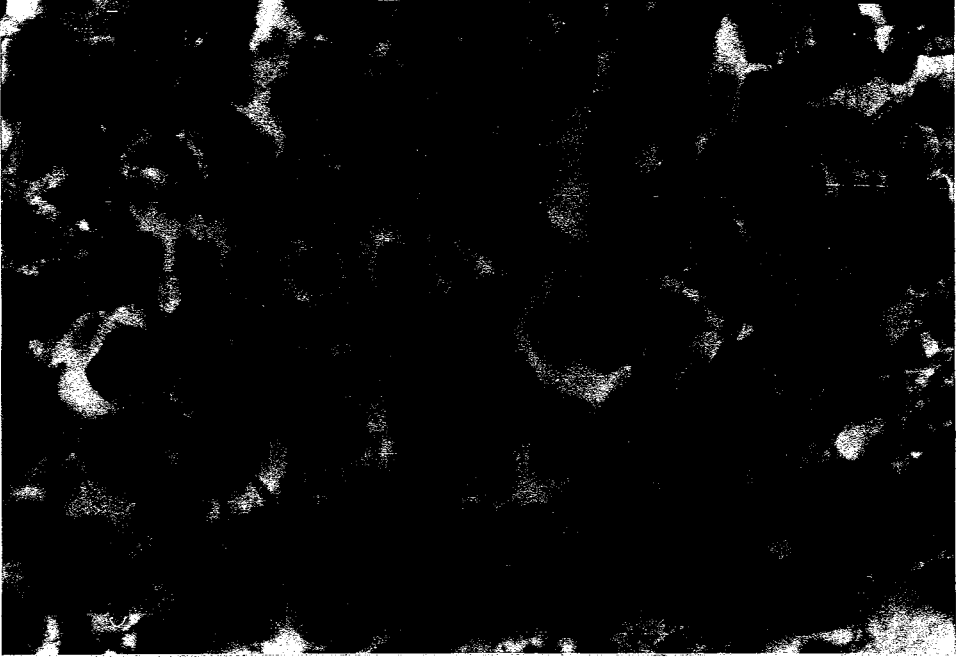
**Resim 16.** Granülomatöz yapılar arasındaki S-100 protein immünreaksiyonu gösteren hücreler. (S-100 protein, X200)

25 lenfoma vakasının ancak 13 tanesinde S-100 protein pozitif hücrelere rastlandı. Bu hücrelerin dendritik morfolojiye sahip olanlarında çekirdeği örtecek kadar yoğun boyanma mevcuttu (Resim 17). MS tip Hodgkin vakalarında bu hücrelerin az sayıda, tek tek dağılarak, şebeke oluşturmadığı ancak vakaların birinde 2'li 3'lü gruplar halinde dağıldığı dikkati çekti. Boyanma tespit edilen NS Tip Hodgkinli bir vakada bu hücrelerin Lacuner hücreleri çevreler tarzda yerleştiği görüldü (Resim 18). Bunun dışında bütün LP vakaları ile birer LD ve NS Tip Hodgkinli vakada S-100 protein pozitif hücreye rastlanmadı (Tablo 7).



**Tablo 7:** Hodgkin ve Non-Hodgkin lenfomalarda S-100 proteinle boyanmış hücrelerin dağılımı.

Lenfomanın tipi	S-100 protein ile boyanmış dendritik hücreler	S-100 protein ile boyanmış diğer hücreler
MS	Arada tek tük dağılmış 3	
MS	Arada tek tük dağılmış 3	Eozinofil lökositler
MS	Arada tek tük dağılmış 3	
MS	Arada tek tük dağılmış 3	
MS	2'li 3'lü gruplar oluşturmuş 3	Eozinofil lökositler
LD	Çok az 3	
LD	—	—
LP	—	—
LP	—	—
LP	—	—
NS	—	Eozinofil lökositler
NS	Lacuner hücreleri çevreler tarzda yerleşmiş	3
SLL	Arada morfolojisi tam seçilemeyen hücreler	1
SLL	—	—
SLL	Seyrek. tek tük dağılmış	3
Lenfoblastik	—	—
Lenfoblastik	—	—
Lenfoblastik	Arada tek tük dağılmış hücreler	3
İmmünoblastik	Zeminde boyanma	1
İmmünoblastik	Zeminde boyanma	1
İmmünoblastik	Zeminde boyanma	1
Large cell	—	—
Large cell	—	—
Large cell	—	—
Small and large cell	Arada küçük şebekeler oluşturmuş dendritik hücreler	2

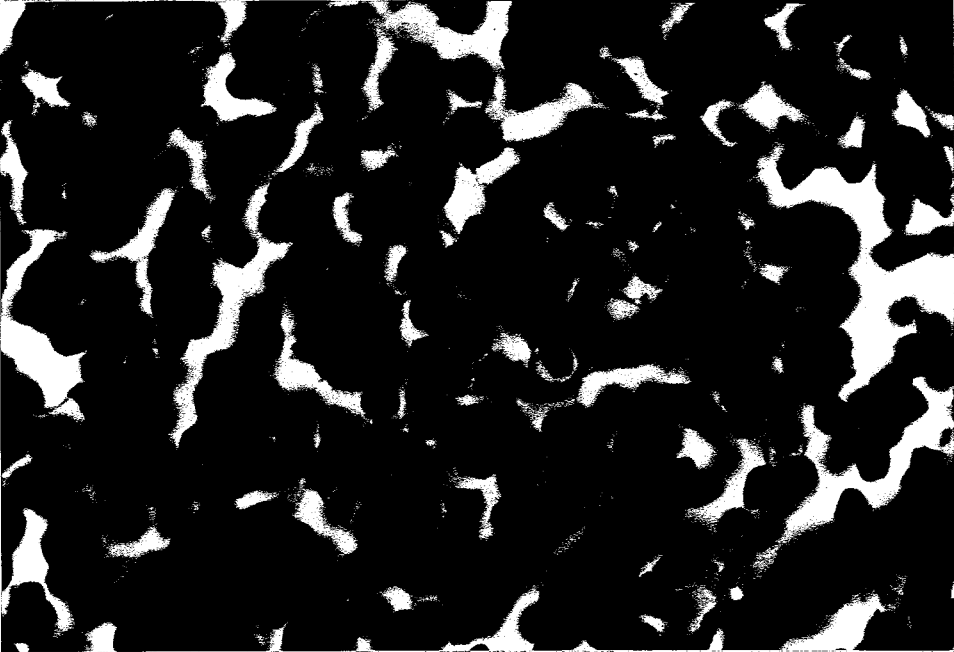


**Resim 17.** 3 şiddetinde S-100 protein immünreaksiyonu veren dendritik hücreler.  
(S-100 protein X1000)



**Resim 18.** NS tip Hodgkin'de dendritik hücreler S-100 protein.  
(S-100 protein, X1000)

NHL vakalarında ancak 2 SLL, 1 Lenfoblastik, 3 Immünoblastik ve 1 Small and Large Cell'de dendritik morfolojiye sahip S-100 protein ile boyanmış az sayıda hücreye rastlandı. Sadece Small and Large Cell vakasında bu hücrelerin küçük şebekeler oluşturur tarzda dağıldığı, diğerlerinde ise az sayıda olup tek tek dağıldığı tespit edildi (Resim 19). 3 Lenfoblastik Lenfoma vakasında stromada zayıf immün reaksiyon mevcuttu (Tablo 7).



**Resim 19.** SLL'daki S-100 protein immünreaksiyonu veren dendritik hücreler (S-100 protein X1000)

Metastatik lenf bezlerinde ise 25 lenf bezinin ancak 8 tanesinde reaksiyon izlendi. S-100 protein pozitif immün reaksiyon gösteren hücrelerin parakortikal saha içinde tek tek dağıldığı, 1 vakada ise tümör adaları çevresinde ve içinde S-100 protein pozitif hücrelerin bulunduğu gözlemlendi.

Vimentin ve S-100 proteine ait boyanma bulguları karşılaştırıldığında epiteloid histiositler Langhans tipi dev hücreler ve Reed Stenberg hücreleri vimentin ile yoğun immün reaksiyon gösterdiği halde S-100 proteininin bu hücrelerde bulunmadığı gözlemlendi. Dendritik hücrelerin ise vimentin ile daha yaygın ve daha yoğun immün reaksiyon gösterdiği, S-100 protein ile daha az sayıda hücrenin boyandığı dikkati çekti (Tablo 8).

**Tablo 8:** Her 3 grupta vimentin ve S-100 proteine ait immün reaksiyon paterni bulguları karşılaştırıldı. Boyanma şiddetine düşen vakaların sayısı yüzde olarak ifade edilir.

		VİMENTİN					S-100 PROTEİN				
		0	1	2	3	Değerlendirilemedi	0	1	2	3	Değerlendirilemedi
<b>Kompleks Hastalıklar</b>	Epiteloid histiositler	0	16	16	68	-	-	-	-	-	-
	Langhans tipi dev hücre	0	12	33	50	-	-	-	-	-	-
	Vasküler yapılar	16	16	32	28	8	-	-	-	-	-
	Lenfositler	96	4	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dendritik hücreler	8	28	24	4	36	36	16	24	4	20
<b>Hodgkin Lenfoma</b>	Reed Stenberg	-	9	41	50	-	-	-	-	-	-
	Vasküler yapılar	-	-	25	75	-	-	-	-	-	-
	Lenfositler	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dendritik hücreler	-	-	50	50	-	42	8	-	50	-
<b>MHL</b>	Lenfoid hücreler	70	23	7	-	-	-	-	-	-	-
	Vasküler yapılar	-	38	38	24	-	-	-	-	-	-
	Dendritik hücreler	38	48	14	-	-	46	30	8	8	8
<b>Metastatik Lenf Benzeri</b>	Vasküler yapılar	32	8	8	24	28	-	-	-	-	-
	Dendritik hücreler	28	32	4	8	28	56	12	4	12	16

## TARTIŞMA

Lenfoid dokunun stromasını oluşturan 4 tip hücre tanımlanmıştır. Bunlar histiositler, Interdigitating retikülüm hücreleri (IRC) folliküler dendritik retikülüm hücreleri (DRC) ve fibroblastik retikülüm (FRC) hücrelerdir. Histiositler ve IRC'ler kan ve lenf yoluyla geldiğinden asıl elemanlar FRC ve DRC'dir. Enzim ve elektron mikroskopik çalışmalar sonucunda DRC'nin FRC'den köken aldıkları ortaya konmuştur<sup>(10,11)</sup>. FRC'ler retikülüm liflerini oluşturup ona paralel dizilirken, DRC'ler humoral immün cevapta IRC'ler ise hücreyel immün cevapta aksesuar hücre olarak görev almaktadır<sup>(9,11,12)</sup>.

Son yıllarda neoplastik lenfoid hücreler ve stromal hücre elemanları arasındaki ilişki enzim ve immünohistokimyasal çalışmalar yoluyla araştırılmıştır<sup>(1)</sup>. Fibronektin, Tip I ve III kollagen ile retiküler lifler, Tip IV kollagen ve laminin ile bazal membran gösterilerek ekstrasellüler matriks özellikleri de ortaya konmuştur<sup>(1,27,28)</sup>. Stromayı oluşturan hücreyel yapıları görüntülemek içinse S-100 protein ve vimentin ile immün reaksiyonlarından faydalanılmıştır<sup>(10)</sup>.

Vimentin mezankimal kökenli hücrelerin sitoplazmasında bulunan intermediate filamentöz yapıdır<sup>(22,23,29)</sup>. Pekçok araştırmacı malign ve benign lenfoid dokularda antivimentin antikoru ile bu belirleyicilerin hem

retikülüm hücrelerinin dağılımını hem de lenfoid dokudaki ekspresyonunu araştırmışlardır<sup>(10,21,29,30)</sup>.

Normal lenf nodlarında sekonder follikülün mantle zonu içindeki retikülüm liflerinde, germinal merkezde ise Tingible Body Makrofajlarda (TBM) vimentin immün reaksiyonu gözlenir. Yapılan çalışmalarda lenfoid dokunun bütün dendritik retikülüm hücrelerinin vimentin ile immün reaksiyon gösterdiği ortaya konmuştur<sup>(21)</sup>. Biz de çalışmamızda bu hücrelerin tiplerini ancak lokalizasyona göre, literatürden elde ettiğimiz bilgiler ışığında ayırabildik. Spesifik tiplerini söyleyebildiklerimizi ayrıca belirtirken diğerlerini dendritik retikülüm hücresi olarak ifade ettik.

Çalışmamızda reaktif lenf nodları ve kronik lenfadenitlerde, endotel hücrelerinin, FRC ve histiositlerin vimentin ile pozitif boyandığı görüldü. Parakortikal ve interfolliküler sahaya gelişigüzel olarak dağılmış fibroblastik retikülüm hücreleri güçlü sitoplazmik pozitiflik gösteriyordu. Sekonder folliküllerin germinal merkezlerinde TBM'ların morfoloji ve dağılımının aynısını gösteren, ince immün boyanma veren dallanmış hücreler görüldü. Granülomatöz lenfadenitlerde, epiteloid histiositler ve Langhans tipi dev hücrelerde güçlü pozitif vimentin reaksiyonu mevcut olup, parakorteks içinde dendritik morfolojiye sahip hücreler vardı. Sinüs histiositozisi gösteren vakalarda ise sinüzoidler içinde çok sayıda histiosit vimentin ile boyanmıştı. Granülomları oluşturan epiteloid histiositler modifiye olmuş makrofajlardır ve Langhans tipi dev hücreler de bu epiteloid histiositlerin füzyonundan oluşmuştur<sup>(31)</sup>. Vimentin immünreaksiyonunun granülomatöz

yapıları bu kadar iyi ortaya koyması yapısını oluşturan epiteloid histiosit ve Langhans tipi dev hücrelerin kökeninin vimentin pozitif boyanan makrofajlar olmasından kaynaklanmaktadır<sup>(10)</sup>.

Hodgkin lenfomalarında yapılan immünohistokimyasal çalışmalarla Reed Stenberg hücreleri ve onun mononükleer varyantlarının antijenik fenotiplerinin normal lenf nodundaki herhangi bir hematopoetik hücreden çok dendritik hücrelere benzediği ortaya konmuştur<sup>(28)</sup>. 1990 yılı öncesine kadar literatürde Hodgkin lenfomalarında Reed Stenberg hücrelerinin vimentin ile boyanmasına ait bulgu yoktu. 1990 yılında Sarker ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile Reed Stenberg hücrelerinin vimentin ile boyandığı, bunlar için bir belirleyici olarak kullanılabilceği kabul edilmiştir<sup>(29)</sup>. Bizim çalışmamızda bütün Hodgkin vakalarında Reed Stenberg hücrelerinde yoğun boyanma tespit ettik. Bu, Sarker ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olup, ayrıca Reed Stenberg hücrelerinin, dendritik hücre kökenli olduğunu destekler bir bulgudur. Ancak biz mononükleer varyantlarının ve Lacuner hücrelerin vimentin ile daha zayıf boyandığını tespit ettik. Literatürde bu konuya ait bilgiye rastlamamakla birlikte, boyanma farkı bu iki hücrenin kökeninin farklı olabileceğini düşündürmüştür.

Hodgkin ve NonHodgkin lenfomalarında fibröz doku miktarındaki artış hastalığın yayılmasına karşı konağın verdiği reaksiyon olup iyi prognozun işaretidir. Lenfoma hücrelerinin retikülün yapılması için dendritik hücreler üzerine indükleyici etkisi olduğu ileri sürülmektedir<sup>(27)</sup>. Çalışmamızdaki LD tipi Hodgkin vakasında dendritik hücrelerin az sayıda oluşu bu tümörün



agresiv seyri ile uyumludur.

NonHodgkin lenfomalar vimentin ile boyandığında kapiller ve endotelial venüllerin endotellerinde yoğun boyanmanın yanısıra, nodüler tümörlerde neoplastik nodüllerin çevresinde vimentin pozitif FRC'ler dizilim göstermektedir. TBM ve histiositlerde de boyanma mevcuttur<sup>(10)</sup>. Bizim NHL vakalarımızın hepsi diffüz yapıya sahip olup Hodgkin lenfomadan daha az sayıda dendritik retikülüm hücresi içermektedir. Bu hücrelerde gevşek alveoler bir çatı oluşturmaktaydı. Ayrıca vasküler yapılar histiositler ve TBM'larda vimentin ile immün reaksiyon gözlenmiştir.

Çalışmamızda, NonHodgkin lenfomalarda stromadaki bu vimentin boyanmasının yanısıra 2 Immünoblastik, 1 Large Cell Lenfoma ve 1 Small Lenfositik Lenfoma vakasında lenfoid hücrelerde vimentin pozitifliği dikkati çekti. Periferik kandaki mononükleer hücrelerin hepsi vimentin ile boyanmasına karşın lenf bezinde çok az hücre reaksiyon vermektedir<sup>(29)</sup>. Giorno ve Sciotto NonHodgkin lenfomalarının %50'den azının vimentin ile boyandığını, Möller ise diferansiyasyon ve maturasyon aşamasına göre lenfoid hücrelerde pozitiflik gözlemişlerdir. Bu çalışmaya göre T lenfositler maturasyonun her aşamasında vimentin ile immün reaksiyon verirken B lenfositlerde plazma hücresine dönüşüm aşamasında azalmaktadır<sup>(24.30)</sup>. Bununla beraber Tamuri ve arkadaşları NHL'in immünofenotipik ya da histopatolojik kategorileri ile vimentin boyanması arasında hiçbir bağlantı olmadığını bildirmektedirler. Çünkü NHL'in vimentin içeriğinin %0'dan %100'e kadar değişmesi, sonuçların laboratuvarından laboratuvara farklılık

göstermesi bunun kullanılan antikoruyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Gown ve Vogel, vimentin C: 43  $\beta$  E8 antikoru ile negatif sonuç elde ederken V9 antikoru ile %100 pozitif reaksiyon gözlenmiştir. Sonuç olarak V9 ve MVI vimentini en iyi karakterize eden antijenik klonlardır<sup>(32)</sup>. Bizim çalışmamızda V9 klonunu kullanmamız bazı vakalarda lenfoid seride pozitiflik elde etmemize neden olmuştur.

Tsujitani ve arkadaşları tümör çevresindeki T lenfositler ve dendritik hücrelerin antitümör sitotoksitesinde önemli rol oynamaları nedeni ile gastrik malign lezyonlarda dendritik hücre infiltrasyonu ile lenf nodu metastazı arasında ilişki olup olmadığını araştırmışlardır. Tümör çevresindeki dendritik hücre infiltrasyonunun, tümör infiltrasyonunu engellemediğini, ancak nodal tutulumu önlediğini ortaya koymuşlardır<sup>(33)</sup>. Biz metastatik lenf nodlarını araştırmaya katarken, lenf nodu içindeki tümör adalarının dendritik hücre dağılımını nasıl etkilediğini göstermeyi amaçladık. Vimentin ile kapsül ve vasküler yapıların yoğun bir şekilde boyandığı, tümör adaları çevresinde ve parakortikal saha içinde dendritik hücrelerin gevşek bir ağ oluşturduğunu izledik. Bu görünüm reaktif lenf nodlarındaki görünüme benzemektedir. Beklenenin aksine dendritik hücrelerde artış tespit etmedik.

S-100 protein, formalinle fikse, parafin kesitlerde DRC ve IRC hücreleri için immünohistokimyasal bir belirleyicidir<sup>(27)</sup>. Ekstrafoliküler S-100 protein pozitif hücrelerin hepsi bol sitoplazmalı, tek, irregüler şekilli ve seffaf çekirdekli olup IRC'ye benzemektedir. Bu hücrelerin sitoplazması S-100 protein ile çekirdeği örtecek derecede yoğun boyanır. Germinal mer-

kezdeki DRC'ler daha az yoğun boyanmakta olup, TBM'lar ve lenfoid hücrelerde boyanma tespit edilmemiştir<sup>(25)</sup>.

Biz çalışmamızda, S-100 protein pozitif hücrelerin reaktif lenf nodları ve kronik lenfadenitlerde, NHL'dakine benzer şekilde dağıldığını bulduk. Yalnızca granülomatöz lenfadenitlerde, granülomatöz yapıları çevreleyen IRC morfolojili S-100 protein pozitif hücreler vardı. Bu yoğunlaşma IRC'nin hücresel immün cevapta rol oynayan dendritik hücre olmasından kaynaklanmaktadır<sup>(9,10)</sup>.

Hodgkin lenfoma vakalarında IRC hücrelerine benzer morfolojideki S-100 protein pozitif hücrelerin az sayıda olduğu ve tek tek dağıldığı görüldü. Sadece NS Hodgkin vakasında bu hücrelerin lacuner hücreleri çevreler tarzında dizildiği dikkati çekti. Takeshita Hodgkin lenfoma tarafından tutulmuş bir dalakta, beyaz pulpadaki erken Hodgkin lenfoma odaklarının çevresindeki DRC şebekesinin kesildiğini gözlemiştir. İlerlemiş lezyonlarda DRC şebekesi neoplastik hücreler ve T lenfositleri tarafından tümüyle ortadan kaldırılmaktadır<sup>(34)</sup>. Bu gözlem bir dendritik hücre tipi olan IRC'nin Hodgkin lenfomalarda az sayıda oluşunu açıklamaktadır.

Literatürde S-100 protein ile yapılan pekçok çalışmada NHL'in foliküler tiplerinde interfolliküler alanda, diffüz olanlarında ise diffüz ve seyrek dağılmış IRC hücreleri tespit edilmiştir<sup>(10)</sup>. Bizim çalışmamızdaki NHL vakaları diffüz yapı göstermekte olup boyanma tespit edilen vakalarda hücre morfolojisinin IRC ile uyumlu olduğunu gözledik. Bu IRC'lerin tüm lenf bezi boyunca diffüz ve az sayıda olduğu dikkatimizi çekti.

Metastatik lenf nodlarında da yine parakortikal saha içindeki IRC'lerde S-100 protein pozitifliği mevcuttu. Yalnızca bir vakada tümör adalarının içinde ve çevresinde bu hücrelerin yoğunlaşması, bu tümörün yeterli bir immün yanıt oluşturduğunun kanıtı olmuştur(9).

Lenf nodlarının stromasını oluşturan FRC'ler retikülüma tutunarak lenf nodu volümü ile lenfosit migrasyon ve lokalizasyonunu kontrol etmektedirler. FRC'lerin antijen transportunda önemli rol oynadığı ve immün kompleks yakalama yeteneği olduğu bilinmektedir<sup>(12)</sup>. Diğer yandan bu fonksiyonların çoğu folliküler DRC'lerde de tanımlanmış olup DRC'ler immünkompleks bağlama yeteneğindedir. Literatürde FRC ve DRC arasındaki histogeneze ait ilişki DRC için poliklonal S-100 protein ve FRC için monoklonal antivimentin antikoru kullanılarak "Double Immunostaining" yöntemi ile gösterilmiştir. Mantle zon ve germinal merkez içinde vimentin pozitif FRC'lerin ve S-100 protein pozitif DRC'lerin morfolojik bir ilişki olmaksızın immünolojik fonksiyonlarda rol oynadığı dikkati çekmiştir. Biz de çalışmamızda vimentin pozitif ve S-100 protein pozitif boyanan hücrelerin dağılımlarının farklı olduğunu gördük.

## SONUÇLAR

1. Hodgkin lenfomalarında vimentin ile boyanmış dendritik morfolojili hücreler, vasküler yapılar ve Reed Stenberg hücreleri çevresinde yoğunlaşmıştır. NHL'da ise bu hücrelerin miktarı Hodgkin lenfomadan daha az olup gevşek bir çatı oluşturmaktadır. Bu boyanma farkı nedeniyle vimentin Hodgkin ve NHL'in ayırıcı tanısında kullanılabilir.

2. Hodgkin lenfomalarında Reed Stenberg hücreleri vimentin ile yoğun boyanırken mononükleer varyantları ve Lacuner hücreler daha zayıf pozitiflik göstermektedir. bu boyanma özellikleri ile vimentin klasik Reed Stenberg hücreleri için iyi bir belirleyicidir.

3. Vimentinin V9 klonunun kullanımı ile NHL vakalarında lenfoid seride de boyanma elde edilebilir.

4. Vimentin granüloamatöz lenfadenit vakalarında Langhans tipi dev hücreleri ve epiteloid hücreleri yoğun boyadığından, granüloamatöz yapıları görüntülemek için belirleyici olarak kullanılabilir.

5. S-100 protein ile boyanmış hücreler morfolojik olarak IRC'lere benzer. Bu hücreler malign ve benign lezyonlarda az sayıda olup, tek tek dağılmıştır. Gruplar arasında belirgin bir farklılık yoktur.

## ÖZET

1987-1993 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'na gelen lenf bezi biyopsilerinden 75 vaka seçildi. Bu 75 vakanın 25'i Hodgkin ve Non Hodgkin lenfoma, 25'i reaktif lenf bezleri ve lenfadenitler, geri kalanı da metastatik lenf nodlarıdır. Bu vakalarda fibroblastik retikülüm hücreleri (FRC) ve folliküler dendritik retikülüm hücrelerini (DRC) gösterebilmek amacıyla immünohistokimyasal olarak vimentin ve S-100 protein boyadık.

Hodgkin lenfomalarında vimentin ile Reed Stenberg hücrelerinde yoğun bir boyanma elde edilirken NHL'da vimentin ile boyanmış dendritik hücrelerin gevşek alveoler bir çatı oluşturduğunu gördük. Ayrıca V9 klonunu kullandığımız için bazı lenfoid hücrelerde de boyanma mevcuttu. Reaktif lenf bezleri, lenfadenitler ve metastatik lenf nodlarında vimentin ile boyanmış dendritik hücreler benzer dağılım göstermekteydi.

Bütün gruplarda S-100 protein ile boyanmış, morfolojisi Interdigitating Retikülüm hücrelerine (IRC) benzeyen az sayıda, tek tek dağılmış hücreler tespit edildi.

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

**KAYNAKLAR**

1. Carbone A., Manconi R., Poletti A., Colombatti A., Tirelli U., Volpe R. S-100 protein fibronectin and laminin immunostaining in lymphomas of follicular center cell origin. *Cancer* 1986; 58: 2169-2176.
2. Erkoçak A. Özel Histoloji, 5. Baskı, İzmir, 1984
3. Wigglesworth J.S., Singer D.B. *Textbook of Fetal and Perinatal Pathology*, vol II; Boston, Blackwell Scientific Publications, 1991.
4. Moore K.L. *The Developing Human*, Fourth Edition, Philadelphia W.B. Saunders Company ,1988.
5. Ioachim H.L.: *Lymph Node Biopsy*, Philadelphia Lippincott. Company. 1982.
6. Junquera L.C., Carneiro J., Contopoulos A.N. *Basic Histology* 2nd Ed. Los Altos California, Lange Medical Publications, 1975.
7. Sternberg S.S.: *Histology for Pathologists*, New York, Raven Press, 1992.
8. Rosen P.D., Fechner R.E. *Pathology Annual Nineteen eightyseven*, Part 2, Connecticut Appleton Century Crofts, 1987.
9. Wacker H.H., Radzun H.J., Parwaresch M.R. Accessory cells in normal human and rodent lymph nodes: morphology, phenotype and functional implications. *Current Topics Pathology* 1990; 84: 193-218.

10. Gloghini A., Volpe R., Carbone A. Vimentin Immunostaining in Fibroblastic Reticulum cells within human reactive and neoplastic lymphoid follicles. *Hum Pathol* 1990; 21: 792-798.
11. Heusermann U., Zurborn K.H., Schroeder L., Stutte H.J. The origin of the dendritic reticulum cells. *Cells Tissue Res* 1980; 209: 279-294.
12. Tykocinski Mark, Schinella A.R., Greco A.M., Fibroblastic Reticulum Cells in human lymph nodes. *Arch Pathol Lab Med* 1983;107: 418-422.
13. Carbone A., Manconi R., Poletti A., Volpe R., Santi L. S-100 protein immunostaining in cells of dendritic morphology within reactive germinal centers by ABC immunoperoxidase metod. *Virchows Arch* 1985; 406: 33-43.
14. Beckstead J.H. The evaluation of human lymph nodes, using plastic sections and enzyme histochemistry. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 131-139.
15. Rickert R.R., Malinrak R.M. Intralaboratory quality assurance of immunohistochemical procedures. *Arch Pathol Lab Med* 1989; 113: 673-679.
16. Rosal J. *Ackerman's Surgical Pathology Vol II. 7th Ed.*, St Luis, The C.V. Company 1989.
17. Taylor CR, Bennington J.L. (eds) *Immunomicroscopy: A diagnostic Toll for the Surgical Pathologists*. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 1986
18. Falini B., Taylor C.R.: New Developments in Immunoperoxidase techniques and their application. *Arch Pathol Lab Med* 1983; 107: 105-117
19. Hayderman E: Immunoperoxidase technique in histopathology: Applications, methods and controls. *Journal of Clinical Pathology* 1979, 32: 971-978



20. Hsu S.M., Raine L., Fanger H. Use of avidin biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 1981; 29: 577-580.
21. Azumi N., Battifora H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. *Am J. Clin Pathol* 1987; 88: 286-296.
22. Gown A., Vogel A. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. *Am J Pathol* 1984; 114: 309-321.
23. Giorno R. Immunohistochemical analysis of the distribution of vimentin in human peripheral lymphoid tissues. *The Anatomical Record* 1985; 211: 43-47.
24. Giorno R., Sciotto CG. Use of monoclonal antibodies for analyzing the distribution of the intermediate filament protein vimentin in human non-hodgkin's lymphomas. *Am J Pathol* 1985; 120: 351-355.
25. Carbone A., Poletti A., Manconi R., Volpe R., Santi L. Demonstration of S-100 protein distribution in human lymphoid tissues by the avidin-biotin complex immunostaining method. *Human Pathol* 1985; 16: 1157-1164.
26. Ersboll J., Schultz H., Hougaard P., Nissen I., Hou-Jensen K. Comparison of the Working Formulation of NonHodgkin's Lymphoma with the Rappaport, Kiel and Lukes and Collins Classifications. *Cancer* 1985; 55: 2442-2458.
27. Karttunen M., Sarkkinen M.A., Alavaikko A., Blonco G., Aine R., Jürvinen M., Harmannan A. Characterization of extracellular matrix in Non-Hodgkin's lymphomas. *Path Res Prac* 1988; 183: 735-746.

28. Kennedy C.S., Hart D.N., Colls B.M., Nimmo J.C., Willis D.A., Angus H.B. Nodular sclerosing, mixed cellularity and lymphocyte-depleted variants of Hodgkin's disease are probable dendritic cell malignancies. *Clin Exp Immunol* 1989; 76: 324-331.
29. Sarker A.S., Akagi T., Yoshino T., Hoshida Y., Takahashi K., Hone Y. Expression of vimentin and epithelial membrane antigen in human malignant lymphomas. *Acta Pathol Jpn* 1990; 40: 581-587.
30. Tamuri J., Mikata A., Hami M., Takagi T. Study of vimentin expression in Non-Hodgkin's lymphoma using paraffin sections. *Acta Pathol Jpn* 1990; 40: 517-521.
31. Cotran R.S., Kumar V., Robbins S.L. *Robbins Pathologic Basis of Disease* 4th ed. Philadelphia: Saunders, 1989.
32. Gustmann C., Altmannsberger M.O., Osborn M., Griesser H., Feller A.C. Cytokeratin expression and vimentin content in large cell anaplastic lymphomas and other non-Hodgkin's lymphomas. *American Journal of Pathology* 1991; 138: 1413-1422.
33. Tsujitani S., Kakeji Y., Watanabe A., Kohnoe S., Maehara Y., Sugimachi K. Infiltration of dendritic cells in relation to tumor invasion and lymph node metastasis in human gastric cancer. *Cancer*, 1990, 66: 2012-2016.
34. Alavaikko M., Hansmann M.L., Nebendahl C., Parwaresch M.R., Lennert K. Follicular dendritic cells in Hodgkin's disease. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 194-200.