

163165



T. C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
HEMATOLOJİ BİLİM DALI

PRİMER NODAL DİFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ NON-HODGKIN
LENFOMALI HASTALARDA FAS (CD95/APO-1)
POZİTİFLİĞİNİN PROGNOSTİK ÖNEMİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. BÜLENT ESER

Danışman
Prof Dr. ALİ ÜNAL

KAYSERİ-2004

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	i
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİLLİSTESİ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Hodgkin dışı lenfoma (NHL) sınıflaması.....	4
Hodgkin dışı lenfomalarda prognostik faktörler.....	5
APOPİTOZ.....	8
Kaspaslar ve aktivasyonları.....	10
Apopitoz yolları.....	11
Mitokondri bağımlı yol ve bcl 2 ailesi proteinleri.....	11
Ölüm ligandları ve ölüm reseptörleri aracılı yol.....	13
Kaspas aktivasyonunun düzenlenmesi.....	14
Decoylar (tuzak reseptörleri) ve flipler.....	16
Mitokondrial yolun inhibisyonu.....	16
Apopitozun biyolojik önemi.....	17
Kanserde apopitoz.....	18
APOPİTOZLA İLİŞKİLİ GENLER.....	18
Bcl-2.....	18
Fas (Cd95; Apo-1).....	19
p53 tümör supresör geni.....	21
GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEM.....	24
Evreleme ve tedavi cevabının değerlendirilmesi.....	26
İmmünohistokimyasal boyamalar.....	28

Değerlendirme.....	29
İstatiksel değerlendirme	29
BULGULAR	31
Tam cevap sağlanmasını etkileyen faktörler.....	32
İmmünohistokimyasal boyaların prognostik faktörlerle ilişkisi ...	32
Toplam sağkalımı etkileyen faktörler.....	33
Fas boyanmasının prognostik faktörlere göre değerlendirilmesi.	34
Olaysız sağkalım	37
TARTIŞMA.....	40
SONUÇLAR.....	53
KAYNAKLAR.....	55
EKLER.....	71
TEZ ONAY SAYFASI.....	72



TEŞEKKÜR

Hematoloji eğitiminde ve bu çalıŐmayı hazırlamada önemli katkıları bulunan Prof.Dr. Ali Ünal, Doç.Dr. Mustafa etin, Yrd. Doç.Dr. Özlem Canöz başta olmak üzere Hematoloji Bilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve diğer tüm çalıŐanlarına, her zaman olduğu gibi tezin hazırlanması sırasında da sabırla beni destekleyen sevgili eŐime teŐekkürü bir borç bilirim.

Dr. Bülent ESER



KISALTMALAR

ALL	: Akut lenfoblastik lösemi
ALPS1	: Otoimmün lenfoproliferatif sendrom I
ATRA	: All trans retinoik asit.
Bcl-2	: B hücreli lösemi lenfoma geni
Ced	: Caenorhabditis elegans death gene
CLL/SLL	: Kronik lenfositik lösemi/ küçük lenfositik lenfoma MALT:
CRu	: Doğrulanmamış tam remisyon
CT	: Kompüterize tomografi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EBV	: Epstein-Barr virus
ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
EFS	: Event-free survival (olaysız yaşam süresi)
FAP-1	: Fas ilişkili fosfataz 1
FasL	: Fas ligand
GM-CSF	: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör.
IAP	: Inhibitor of apoptosis (apoptoz inhibitörü)
IL-2 ve IL-6	: Interlökin 2 ve 6
IPI	: International prognostic index (uluslararası prognostik indeks)
İV	: İntravenöz
LDH	: Laktik dehidrogenaz
MF	: Mycosis fungoides
NHL	: Non-Hodgkin (Hodgkin dışı) lenfoma
NK	: Naturel killer (doğal öldürücü) lenfosit
OS	: Overall survival=toplam yaşam süresi
REAL	: Revised European-American Lymphoma
sFas	: Soluble (çözünür) Fas
SSS	: Santral sinir sistemi
TRAIL	: TNF ilişkili apoptoz uyarıcı ligand /APO-2
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TABLO LİSTESİ

	Sayfa no
Tablo 1 : Lenfomalar için önerilen WHO sınıflaması.....	6
Tablo 2 : Uluslararası prognostik indeks.....	7
Tablo 3 : Apoptoz düzenlenme bozukluğu ve hastalıklar.....	9
Tablo 4 : Lenfomalarda Evreleme (Ann-Arbor Evreleme Sistemi).....	25
Tablo 5 : CHOP Protokolü.....	25
Tablo 6 : Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)'a göre performans skorlaması.....	26
Tablo 7 : Non-Hodgkin lenfomada tedaviye cevap kriterleri.....	27
Tablo 8 : Sağkalım süreleri ile ilgili tanımlamalar.....	27
Tablo 9 : İmmünohistokimyasal boyamalara ait skorlama sistemi.....	29
Tablo 10 : Hastaların genel özellikleri.....	31
Tablo 11 : Tam cevapla klinik ve immünohistokimyasal parametrelerin ilişkisi	32
Tablo 12 : Hastalarda immünohistokimyasal boyanma sayı ve yüzdeleri.....	33
Tablo 13 : Toplam sağkalımı etkileyen faktörler.....	35
Tablo14 : Bcl-2 gen yeniden düzenlenmesi ve protein ekspresyonu ile ilgili çalışmalar.....	50
Tablo 15 : P53 gen yeniden düzenlenmesi ve protein ekspresyonu ile ilgili çalışmalar.....	51
Tablo 16 : Fas gen yeniden düzenlenmesi ve protein ekspresyonu ile ilgili çalışmalar.....	52

ŞEKİLLİSTESİ

	Sayfa no
Şekil 1 : Apoptoz ve nekroz.....	10
Şekil 2 : Ölüm reseptörü (Fas) aracılı apoptoz yolu.....	14
Şekil 3 : P53 pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- p53 pozitif hastalar, — p53 negatif hastalar.....	33
Şekil 4 : bcl-2 pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- bcl-2 pozitif hastalar, — bcl-2 negatif hastalar.....	34
Şekil 5 : Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi, $p: 0.007$. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar.....	34
Şekil 6 : p53 pozitif hastalarda Fas pozitifliğinin sağkalıma etkisi, $p: 0.006$. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar.....	36
Şekil 7 : p53 negatif hastalarda Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar, $p > 0.05$	36
Şekil 8 : Bcl-2 negatif hastalarda Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar, $p: 0.004$	37
Şekil 9 : Bcl-2 pozitif hastalarda Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar, $p > 0.05$	37
Şekil 10 : p53 pozitifliğinin olaysız sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- p53 pozitif hastalar, — p53 negatif hastalar.....	38
Şekil 11 : bcl-2 pozitifliğinin olaysız sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- bcl-2 pozitif hastalar, — bcl-2 negatif hastalar.....	38
Şekil 12 : Fas pozitifliğinin olaysız sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar.....	39

ÖZET

Amaç: Fas (CD95/APO-1) özellikle lenfoid hücrelerin apoptozuyla ilişkili bir proteindir. Bazı tümörlerde Fas ekspresyonunun artışı tümöre karşı immün cevabın artışı ve iyi sağkalım süreleriyle ilişkili bulunmuştur. Fas'ın non-Hodgkin lenfoma seyrine ve prognoza etkisini araştıran çalışma sayısı sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı, nodal difüz büyük B hücreli lenfomalı hastalarda immünohistokimyasal olarak Fas pozitifliğinin prognozla ilişkisi olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve yöntem: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda 1990-2003 yılları arasında biyopsi ile diffüz büyük B-hücreli lenfoma tanısı alan primer nodal non-Hodgkin lenfomalı 63 hasta çalışmaya alındı. Hastaların ortanca yaşı 55 (19 ile 102 arası) idi. İmmünohistokimyasal olarak Fas, bcl 2 ve p53 uygulanmış kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Hastalar negatif ve pozitif boyananlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Olaysız ve toplam sağkalım açısından yapılan karşılaştırmalarda bcl-2, p53, Fas pozitif boyanması, yaş, cins, performans durumu, klinik evre, B semptomu varlığı, kemik iliği tutulumu, laktik dehidrogenaz yüksekliği ve toplam IPI skoru değerlendirmeye alındı.

Bulgular: Ortanca takip süresi 19 aydı (2-132 ay). Birinci sıra kemoterapi sonrası 28 hastada (%44.4) tam cevap elde edildi. Lojistik regresyon analizinde Fas pozitifliği, erkek cins, performans durumu ECOG 0-1 olan hastalar, evre I-II hastalık, B semptomu olmaması, kemik iliği tutulumu olmaması, laktik dehidrogenaz değerinin normal sınırlarda olması, IPI skorunun düşük veya düşük-orta olması tam

cevap elde etme olasılığını arttıran faktörlerdi. Fas pozitifliği ve ECOG performans durumu toplam sağkalım için de bağımsız prognostik değişkenler olarak bulundu. Faktörlerin hiçbirinin olaysız sağkalımı etkilemediği görüldü.

Sonuç: Primer nodal difüz büyük B hücreli non-Hodgkin lenfoma hastalarında immünohistokimyasal olarak Fas pozitif boyanması tam cevap ve toplam sağkalım için iyi prognostik kriter olarak bulundu.

Anahtar kelimeler: Apoptoz, non-Hodgkin lenfoma, prognoz ve tedavi.



PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF FAS (CD95/APO-1) POSITIVITY IN PATIENTS WITH PRIMARY NODAL DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA

ABSTRACT

Aim: Fas (CD95/APO-1) is a protein that related with apoptosis of lymphoid cells. Increment of Fas expression associated with enhanced immune response against tumor and related with long term survival in some malignancies. There are limited study regarding the effect on the course of non-Hodgkin's lymphoma and prognosis. The aim of this study was to investigate whether there was a relationship between positive Fas staining and prognosis in nodal diffuse large B cell lymphoma.

Materials and methods: A total of 63 patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma diagnosed in Erciyes University Department of Hematology in between 1990-2003 were included in the study. Median age of the patients was 55 years (range 19-102 years). Histopathological sections stained immunohistochemically were evaluated in light microscope for Fas, bcl-2 and p53. Patients were stratified as negative and positive staining group. Patients were compared for overall survival and disease free survival in terms of clinical and laboratory parameters including Fas, bcl-2 and p53 positivity, age, sex, performance status, clinical stage, presence of B symptoms, bone marrow involvement, extra-

nodal involvement, lactic dehydrogenase levels and International Prognostic Index score.

Results: Median follow-up period was 19 months (2-132 months). Complete remission was obtained in 28 patients (44.4%) after first line chemotherapy. The factors affecting complete remission in multivariate analysis were as follows: Fas positivity, male gender, good performance status, clinical stage I-II, absence of B symptoms, normal lactic dehydrogenase value, absence of bone marrow involvement, low or low-intermediate IPI score. Positive Fas and ECOG performance status were also found to be independent prognostic factors for overall survival. None of the factors has been affected event free survival.

Conclusion: Immunohistochemical Fas positivity were found to be a favorable prognostic factor for complete remission and overall survival in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma.

Key words: Apoptosis, non-Hodgkin's lymphoma, prognosis and therapy.

GİRİŞ VE AMAÇ

Non-Hodgkin lenfoma (NHL) histopatolojik olarak farklı alt tipleri olan bir grup lenfoid hücre malignitesidir. Histopatolojik sınıflamaya göre hastaların beklenen sağkalım süreleri değişmektedir. En sık rastlanan tip difüz büyük hücreli lenfomadır. Son yıllarda prognozu önceden belirleme açısından hastaların risk gruplarına ayrıldığı indeksler geliştirilmiştir. Uluslararası prognostik indeks bunlardan en sık kullanılanıdır (1). Bununla birlikte bu indeks de bazı hastaların prognozunu belirlemede yetersiz kalabilmektedir.

Apopitoz (programlı hücre ölümü) non-Hodgkin lenfomaların patogeneğinde önemli bir role sahiptir. Literatürde apopitozla ilişkili gen ve proteinlerin sağkalım süreleri ve prognozla ilişkilerini araştıran bazı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların çoğunluğu p53 ve bcl-2 üzerine yoğunlaşmıştır (2-4,5).

Fas (CD95/APO-1) da apopitozla ilişkili bir proteindir. Daha çok immün sistemle ilişkili apopitozdan sorumlu olmakla birlikte kanser hücrelerinin apopitozuyla da ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Çeşitli tümörlerde Fas ekspresyonunun artışı tümöre karşı immün cevabın artışı ve bazen de iyi sağkalım süreleriyle ilişkili bulunmuştur (6-9). Fas'ın NHL seyrine ve prognoza etkisini araştıran çalışma sayısı sınırlıdır.

Bu çalışmanın amacı, nodal difüz büyük B hücreli lenfomalı hastalarda immünhistokimyasal olarak Fas pozitifliğinin prognozla ve klinik parametrelerle ilişkisi olup olmadığını araştırmaktı.



GENEL BİLGİLER

Hodgkin dışı lenfoma (non-Hodgkin's lenfoma) genellikle lenf nodlarından ve bazen de herhangi bir organdan köken alan heterojen bir grup B veya T lenfosit malignitesidir. Erkeklerde tüm kanserlerin yaklaşık %5'ini, kadınlarda ise %4'ünü oluşturur (10). Tüm kanser türleri ele alındığında sıklık olarak beşinci sırada yer alır (11). Nedenleri çok iyi bilinmemekle birlikte 1995 yılında gözlenen yeni vaka oranı 1973 yılında gözlenenlere göre yaklaşık iki kat (8/100.000'den 16/100.000'e) artmıştır. Bu artıştan en çok edinsel immün yetmezlikler (Human Immunodeficiency Virus, solid organ transplantasyonları ve allogeneik kemik iliği nakli yapılan hastalarda gözlenen Epstein-Barr virus ile ilişkili lenfoproliferatif sendrom) sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca çeşitli kimyasal ajanlar, tarım ilaçları (pestisit ve herbisitler), saç boyaları ve iyonize radyasyon da bu artıştan sorumlu olabilecek etkenlerden bazılarıdır.

Hodgkin dışı lenfomalar erkeklerde kadınlardan, beyaz ırkta da siyah ırktan biraz daha sık gözlenir. Görülme yaşı hastalığın histolojik alt tipine göre farklılık gösterir. Çocuklarda ve genç erişkinlerde Burkitt lenfoma ve lenfoblastik lenfoma daha sık gözlenirken küçük lenfositik lenfoma ve foliküler lenfomalar daha çok ileri yaşların hastalığıdır. Genelde 60 yaş üzerinde belirgin bir artış gözlenir. Ülkemiz gibi genç nüfusun yoğun olduğu bölgelerde görülme yaşı biraz daha düşüktür. Daha önce kliniğimizde yapılan bir çalışmada 1990-2000 yılları arasında yeni tanı almış Hodgkin dışı lenfomalı hastalarda ortalama yaş 58 olup hastalığın en sık gözleendiği

yaş grubu 55-65 yaş arası olarak tespit edildi. Aynı hasta grubunda hastalığın erkeklerde kadınlardan biraz daha sık gözleendiği rapor edilmişti (12).

Hodgkin dışı lenfoma (NHL) sınıflaması

NHL sınıflaması ilk tanımlandığı yıllardan günümüze önemli değişikliklere uğramıştır. Sınıflama aynı morfolojik özelliklere sahip alt tipleri ayırmak yanında benzer klinik davranış ve tedavi yanıtı elde edilebilme özelliğini de içermelidir. Rappaport tarafından 1966 yılında yapılan ilk lenfoma sınıflaması büyük oranda morfolojik kriterlere göre yapılmıştır. Bu sınıflamada hücrelerin lenf nodunu tutma şekli (difüz veya nodüler) ve farklılaşmalarına göre (iyi diferansiye veya kötü diferansiye) ayırım yapılmaktaydı.

Daha sonraki yıllarda Lukes ve Collins tarafından yapılan sınıflama sisteminde ise hücrelerin kaynaklarına göre sınıflama yapılmıştır (B hücreli veya T hücreli). Her iki sınıflama da büyük oranda histopatolojik farklılıklar dikkate alınarak yapıldığından kliniğe uyarlanması, yani tedavi kararının alınması ve prognozun belirlenmesi açısından yetersiz kalmıştır. Bu nedenle klinik kullanıma uygun bir lenfoma sınıflaması ihtiyacı hissedilmiştir. Bu amaçla Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kanseri Enstitüsü (National Cancer Institute) tarafından “Working Formulation” adı verilen sınıflama sistemi geliştirilmiştir (13). Bu sınıflamada NHL düşük, orta ve yüksek dereceli lenfomalar olarak üç ana grupta incelenmiş, bunların içinde morfolojik özelliklere göre alt gruplar belirlenmiştir. Working formulation tek bir boyama yöntemiyle (hematoksilen-eozin) uygulama kolaylığı ve klinik özelliklerle büyük oranda uyum göstermesi nedeniyle hem klinisyenler ve hem de patologlar tarafından yaygın kabul görmüştür. Ancak uygulamalar sonrası bu sınıflamanın da bazı eksik taraflarının olduğu görülmüştür. Aynı histopatolojik sınıflama içerisine alınan hastalarda klinik gidiş ve tedavi yanıt oranlarında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında bu sınıflamanın hücre orjinlerini belirlemede yetersiz kalması, immünohistokimyasal ve genetik özelliklerinin de sıklıkla farklı olması nedeniyle yeni bir sınıflamaya ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla Avrupa’lı ve Amerikalı bilim adamlarının ortak görüşleri çerçevesinde önce “Revised European-American Lymphoma” (REAL) sınıflaması (14), daha sonra da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflaması (15) geliştirilmiş ve tüm dünyada bu sınıflamaların kullanılması yönünde fikir birliği sağlanılmaya çalışılmıştır (Tablo 1). Başlangıçta

hematopatologlar tarafından ortaya atılan bu sınıflamalar günümüzde hematolog ve onkologlar tarafından da kabul görmektedir. REAL ve WHO sınıflamalarında Working formulation'a göre önemli farklılıklar mevcuttur. Birincisi, bu sınıflamalarda hücreler orjinlerine göre gruplara ayrılmıştır (B hücreli, T ve NK hücreli). Ayrıca daha önceki sınıflamalarda ayrı olarak değerlendirilen Hodgkin hastalığı bu sınıflamada lenfomaların içerisinde bir grup olarak değerlendirilmiştir. Benzer şekilde plazma hücreli maligniteler ve akut lenfoid lösemiler de sınıflamaya dahil edilmiştir. Alt gruplar da klinik ve histopatolojik özellikler dikkate alınarak daha detaylı olarak gruplandırılmıştır.

Diffüz büyük B hücreli lenfoma NHL'nın en sık gözlenen alt tipidir. Görülme sıklığı %30 civarında rapor edilmektedir (10). Bizim hastalarımızda da diffüz büyük B hücreli lenfoma tüm NHL'lı hastaların %40'a yakın bir kısmını oluşturmaktadır (12).

Hodgkin dışı lenfomalarda prognostik faktörler:

En önemli prognostik faktör histopatolojik sınıflamadır. Klinik evrelendirme de önemli bir faktördür. Evrelendirmede Hodgkin Hastalığı'ndaki gibi Ann Arbor sistemi kullanılır.

Bazı çalışmalar bunu doğrulamasa da sistemik B semptomları kötü özellik olarak düşünülmektedir. Yaş da bir prognostik faktör olarak düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar tarafından tartışmalı bulunsa da 60 yaş üstü kötü bir prognostik özellik olarak kabul edilmektedir. Bu durum yaşlı hastaların kemoterapötik ajanlara toleransının düşük olmasına bağlı olabilir. Ekstranodal hastalık, özellikle de santral sinir sistemi (SSS) tutulumu kötü bir prognostik özelliktir. Primer SSS hastalığı daha agresif histoloji ile ilişkilidir.

Tablo 1. Lenfomalar için önerilen WHO sınıflaması (15)

B hücreli neoplaziler

1. Prekürsör B hücreli neoplaziler:

Prekürsör B lenfoblastik lösemi/lenfoma

2. Matür (Periferik) B hücreli neoplaziler

B kronik lenfositik lösemi/ küçük lenfositik lenfoma (CLL/SLL)

B hücreli prolenfositik lösemi

Lenfoplazmasitik lenfoma

Dalak marjinal zon B hücreli lenfoma (+/- villöz lenfosit)

Tüylü hücreli lösemi (Hairy cell leukemia)

Plazma hücreli myeloma/plazmasitoma

Ekstranodal marjinal zon B hücreli lenfoma, MALT tipi

Nodal marjinal zon B hücreli lenfoma (+/- monositoid B hücre)

Foliküler lenfoma

Mantle hücreli lenfoma

Mantle hücreli lenfoma, blastositoid varyant

Diffüz büyük B hücreli lenfoma

Mediastinal (timik) büyük B-hücreli lenfoma

Primer efüzyon lenfoması

Burkitt lenfoma/Burkitt hücreli lösemi

Sınıflanamayan B hücreli lenfoma

T hücreli neoplaziler

1. Prekürsör T hücreli neoplaziler:

Prekürsör T hücreli lenfoma/lösemi (Prekürsör T ALL)

2. Matür (Periferik) T hücreli neoplaziler

T hücreli prolenfositik lösemi

Küçük hücreli

Serebriform hücreli

T hücreli granüler lenfositik (LGL) lösemi

Agresif NK hücreli lösemi

Erişkin T hücreli lösemi/lenfoma (HTLV1+)

Ekstranodal NK/T hücreli lenfoma, nazal tip

Enteropati tipi T hücreli lenfoma

Hepatosplenik gamma/delta T hücreli lenfoma

Subkutan pannikülit benzeri T hücreli lenfoma

Mycosis fungoides/Sezary sendromu

Anaplastik büyük hücreli lenfoma, T/null hücre, primer kutanöz tip

Periferik T hücreli lenfoma

Anaplastik büyük hücreli lenfoma, T/null hücre, primer sistemik tip

Sınıflanamayan T hücreli lenfoma

Hodgkin Hastalığı

1. Nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma (LPHL)

2. Klasik Hodgkin lenfoma

Nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma (grade 1 ve 2)

Lenfositten zengin klasik Hodgkin lenfoma

Karışık hücreli (Mikst sellüler) Hodgkin lenfoma

Lenfositten fakir Hodgkin lenfoma

Sınıflanamayan Hodgkin lenfoma

Tümör büyüklüğü ve büyüme hızı prognoz ile ilişkilidir. On cm'den büyük tümör kitlesi kötü prognostik faktör olarak düşünülmektedir. Yüksek serum laktik dehidrogenaz (LDH) düzeyi de kötü prognostik faktör olup tümör yükünü yansıtır. Tartışmalı olmakla birlikte bazı çalışmalar çok agresif hastalıkta T hücre fenotipinin kötü bir prognostik faktör olduğunu bildirmektedir. KI-67 antijeni ile değerlendirilebilen yüksek proliferatif indeks bazı çalışmalarda kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Bazı kromozom anormallikleri de kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Intermediate ve high grade lenfomalarda geniş hasta grupları değerlendirildikten sonra bir prognoz değerlendirme sistemi geliştirilmiştir. Uluslararası prognostik indeks (International prognostic index=IPI) skorlaması tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Uluslararası prognostik indeks (1)

1) 60 ve üzeri yaş
2) ECOG: 2 ve üzeri
3) Kan LDH düzeyinin normal değerinin üzerinde olması
4) 2 veya fazla ekstra nodal organ tutulumu
Ann-Arbor sınıflamasına göre evre III ve IV
Her faktör 1 puan olarak değerlendirilir. Buna göre risk sınıflaması:
0 ve 1 : Düşük risk
2 : Düşük-orta risk
3 : Yüksek-orta risk
4,5 : Yüksek risk
Yaşa göre düzeltilmiş indeks:
0 : Düşük risk
1 : Düşük-orta risk
2 : Yüksek-orta risk
3,4 : Yüksek risk

Hastalarda risk düzeyi arttıkça toplam sağkalım ve hastalısız sağkalım süresinin kısaldığı görülmüştür. Bu skorlamanın önemli özelliği basit ve tüm merkezlerde kolay uygulanabilir olmasıdır.

Apopitoz ile ilişkili çeşitli genlerin ve bu genlerin ürünü olan proteinlerin klinik parametreler ve sağkalım ile ilişkisini araştıran çeşitli çalışmalar da mevcuttur. Fakat prognostik önemleri farklı çalışmalarda değişik şekillerde ortaya çıkmıştır.

APOPİTOZ

Kerr ve arkadaşları 1972 yılında “apoptosis” terimini literatüre katmışlardır (16). Eski Yunanca’dan gelen bu kelime fizyolojik hücre ölümünün morfolojisini yansıtır. Apoptosis (apopitoz) sıklıkla programlı hücre ölümü ile eş anlamlı kullanılmaktadır. Genom içinde kodlanmış önceden mevcut olan ölüm programının aktivasyonu sonucu oluşur. Apopitoz olayında hücre büzülmesi, çekirdekte yoğunlaşma, membranda kabarcıklaşma, membrana bağlı apopitotik cisimciklerin içine parçalanma ve etkilenmiş hücrenin fagositozu ile sonuçlanan membran değişiklikleri ile karakterize bir sıra olaydan oluşur.

Genetik defektler, yaralanma, hastalıklar veya çeşitli zararlı ajanlara maruz kalan hücrelerin uzaklaştırılması apopitoz yoluyla olur. Bu şekilde fonksiyonu bozulan ve organizmanın ahengini bozabilecek hücreler yok edilmiş olur.

Artmış veya yetersiz apopitoz iskemi, nörodejenerasyon, otoimmünite ve tümör hücrelerinin büyüme veya regresyonu gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde katkıda bulunabilir (17) (Tablo 3).

Her ne kadar apopitoz 30 yıl kadar önce tanımlanmış olsa da bu hücre ölüm şeklinin mekanizması ve işleyişi ile ilgili esas bilgiler henüz yeni anlaşılmaya başlanmıştır. Apopitoz diğer hücre ölümlerinden farklıdır. Örneğin nekrozla aralarında belirgin farklılıklar vardır. Hücrelerde şişme ve membran parçalanması nekrozun önde gelen belirtileridir. Çekirdek kromatini erir ve çekirdekte yoğunlaşma oluşmaz. Geniş hücre grupları olaya katıldığı için hücre içeriği erken dönemde hücre dışı boşluğa dağılır. Buna bağlı olarak da çevresinde yoğun bir inflamasyon gözlenir. Tam tersine apopitoz olayında membran hasarı çok geç dönemde olur ve genelde ölen hücreler çevresindeki komşu hücreler ve fagositler tarafından fagosite edilir. Çoğunlukla olay çok yaygın değildir ve belirgin inflamasyona yol açmaz.

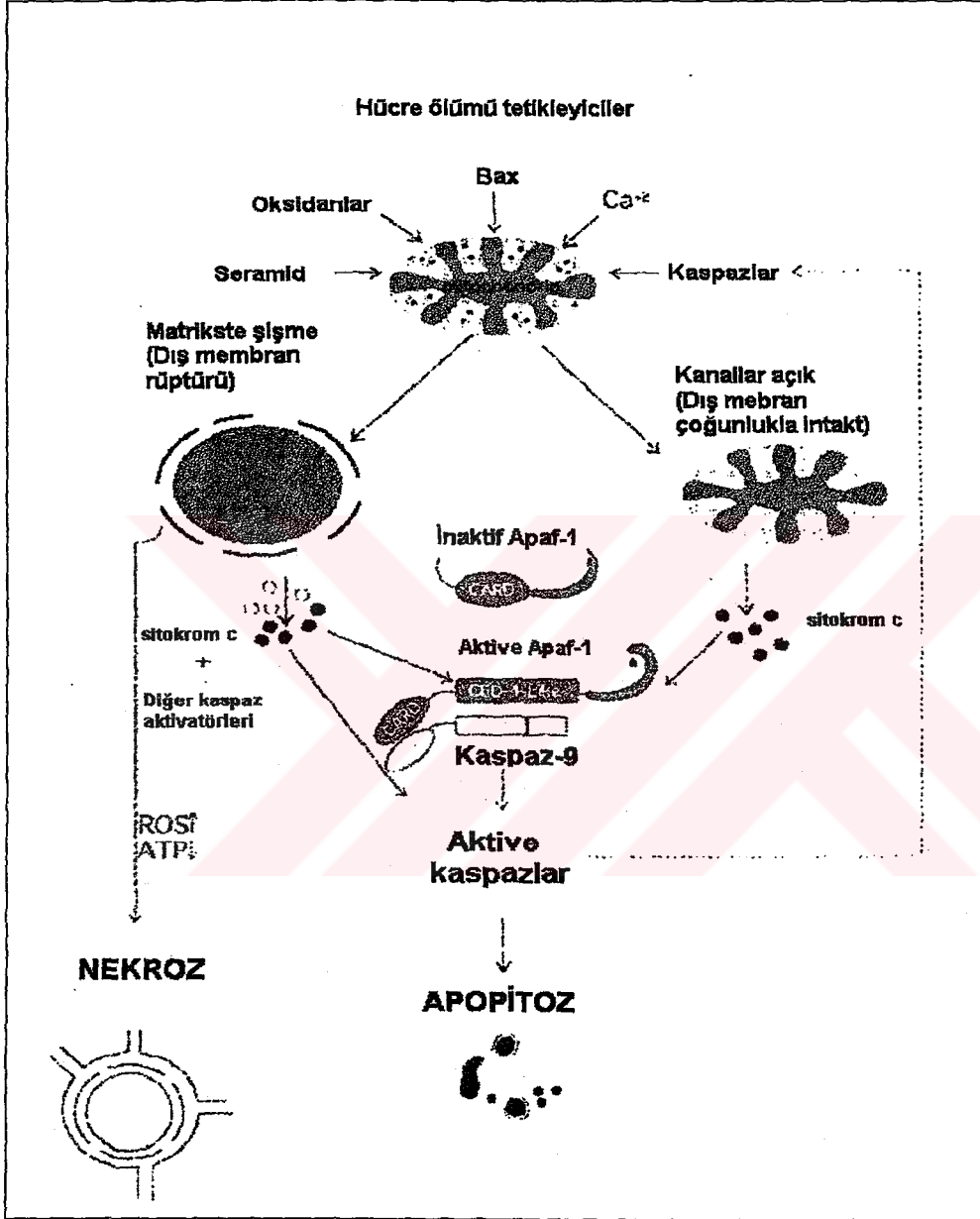
Tablo 3. Apoptoz düzenlenme bozukluğu ve hastalıklar (17)

Artmış apoptoz	Yetersiz apoptoz
Dejeneratif nörolojik hastalıklar (Alzheimer, Huntington, Parkinson hastalıkları)	Otoimmün lenfoproliferatif sendrom Graves hastalığı Hipereozinofilik sendrom
Aplastik anemi	Hashimoto tiroiditi
AIDS	Lupus eritematozus
Hashimoto tiroiditi	Lenfoma
Lupus eritematozus	Lösemi
Multiple skleroz	Solid tümörler
Myelodisplastik sendrom	Tip 1 diabetes mellitus
Tip 1 diabetes mellitus	Osteoporoz
Ülseratif kolit	Gelişimsel defektler
Wilson hastalığı	
Kronik nötropeni	
Gelişimsel defektler	

Apoptoz enerji gerektiren bir işlemdir. Nekrozda ise enerji gerekliliği yoktur. Bununla birlikte apoptoz ve nekrozun biyokimyasal olarak bazı ortak noktaları da vardır. Bu da özellikle iskemiye uğramış hücrelerin akibeti konusunda yanlış yoruma yol açabilir. Örneğin, internükleozomal DNA bölünmesi veya DNA basamakları elektroforezle veya TUNEL yöntemiyle gösterilebilir ki bu hem apoptozun ve hem de nekrozun bir bulgusudur ve ayırt edici değildir. Şekil 1'de apoptoz ve nekroz gelişim aşamaları şematik olarak gösterilmiştir.

Apoptozun aşamaları ilk olarak 1980 sonlarında bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'da gösterilmiştir. Bu parazitte hücrelerin ölümünü düzenleyen 3 gen tarif edilmiştir. Bunlar *Caenorhabditis elegans* ölüm geninin (*Caenorhabditis elegans* death gene) baş harfleriyle anılan *ced-3*, *ced-4*, *ced 9*'dur. *Ced-3* ve *ced-4* apoptoza götüren, *ced 9* ise apoptozu engelleyen gendir. Memelilerde de apoptoz kontrolünde bu genlerin benzerleri bulunmaktadır (18-21).

Apoptoz kontrol ve düzenleme aşamasında, ölüm reseptörleri, adaptör moleküller, caspase (kaspas) kaskadı, mitokondri ve Bcl 2 ailesinin dahil olduğu ölüm sinyalleri ile bağlantıyı sağlayan çeşitli proteinler vardır (22-24).



Şekil 1. Apoptoz ve nekroz

Kaspaslar ve aktivasyonları:

Güncel modellerde apoptozun klasik ayar mekanizmalarının çoğu ortaya çıkarılmıştır. Standart morfolojik değişiklikler ve internükleozomal DNA parçalanması, hücre içi polipeptitlerin seçici proteolitik ayrışmasıyla olur (25, 26).

Bu polipeptitlerin ayrışması kaspas etkilerinin bir göstergesidir. Kaspaslar intraselüler sistein proteaz ailesi olup bazı ortak özellikler içerirler (27): Birincisi: Kaspaslar peptit zincirlerini aspartatın karboksil ucundan parçalarlar, bu özellik diğer ökaryotik proteazlardan ayırıcı özel bir durumdur. İkincisi: Aktif kaspaslar $\alpha_2\beta_2$ tetramerlerinden oluşur. Bunlar iki tane 17-35 kilo dalton (kDa) ve iki tane 10-12 kDa'dan oluşan alt ünitlerdir ve her aktif bölge bir büyük ve bir küçük alt ünitte oluşur. Üçüncüsü: Kaspaslar zimojen olarak sentezlenirler ve her bir öncül polipeptit aktivasyon işlemi sırasında bir büyük ve bir küçük alt ünit ortaya çıkarır.

Kaspas gen ailesi memelilerde 14 üyeden oluşur. Bunlar iki alt gruba ayrılır:

1. ICE veya inflamasyon grubu: Kaspas 1,4,5,13'den oluşur.

2. Ced-3 apoptozis alt grubu: Kaspas 2,3,6,7,8,9,10'dan oluşur.

Apoptozla ilgili kaspaslar da fonksiyonları açısından iki gruba ayrılır; başlatıcı kaspaslar (kaspas 2,8,9,10) ve öldürücü (veya efektör) kaspaslar (kaspas 3,6,7)'dir.

Apoptoz yolları:

Apoptoz işleminin başlaması başlıca iki yolla olabilir: Birincisi plazma membranında reseptör aracılıklı sinyaller tarafından olurken diğeri mitokondriyal sitokrom c'nin salınması yoluyla tetiklenir. Ölüm reseptörü yolu başlangıçta prokaspas 8'i aktive eder. Halbuki mitokondriyal yolda başlangıçta prokaspas 9 aktive edilmektedir. Aktivasyon başladıktan sonra bu başlatıcı kaspasların her biri aktive olur parçalara ayrılır ve efektör kaspaslar denen kaspas 3, kaspas 6 ve kaspas 7'yi oluştururlar. Bunlar da sırasıyla nükleaz inhibitörü (ICAD) (28, 29) ve hücre iskeleti (cytoskeleton) komponentlerini kapsayan çeşitli substratlara ayrışırlar. Sonuç olarak çekirdek içi DNA ayrışması ve karakteristik morfolojik değişiklikler oluşur.

Mitokondriye bağımlı yol ve bcl 2 ailesi proteinleri

Memeli hücrelerinde Bcl 2 ailesinin 19 üyesi tespit edilmiştir. Bcl 2 ailesi üyeleri, fonksiyonları ve yapılarına göre üç gruba ayrılırlar:

1. Bcl 2, Bcl-XL ve Boo (Diva), Bcl-w, Mcl-1, A1(Bfl-1), NR-13 antiapoptotik üyeler, BH1 ve BH2 içerirler.

2. Bax, Bak ve Bok (Mtd), gibi pro-apoptotik üyeleri, sırasıyla BH1, BH2 ve BH3 içerirler.

3. Bid, Bad, Bim, Bik, Blk, Bod, Hrk (DP5), Bnip3, BimL ve Noxa sadece BH3 içeren pro-apoptotik üyelerdir. (19)

Bir protoonkogen olan Bcl 2 (B hücreli lösemi lenfoma 2) geni dış mitokondrial zarda yer alan 26 kD ağırlıkta, hidrofobik karboksi ucu içeren bir proteindir. Onsekizinci kromozomda yer alır (18q21). Kanserli hücrede t(14;18) kromozom translokasyonu sonucu Bcl-2, 14q kromozomundaki (14q32) immünglobulin ağır zincir (IgH) ile birleşir. Bcl 2 proteininin aşırı yapımından sorumlu promotör gen ve sonuçta Bcl-2 onkogeni oluşur (30).

Ağır zincir IgH'ye yakın alandaki c-myc protoonkogenindeki translokasyon da kanseröz B hücrelerinin gelişimine yol açar. Bir çok araştırmada lenfoid sistem hücrelerinde Bcl 2 ve c-myc onkogeninin birlikteliği gösterilmiştir. Bcl 2'nin aşırı ekspresyonu radyasyon, c-myc, antikanser ilaçları gibi çeşitli ajanlar ile tetiklenebilir (31, 32).

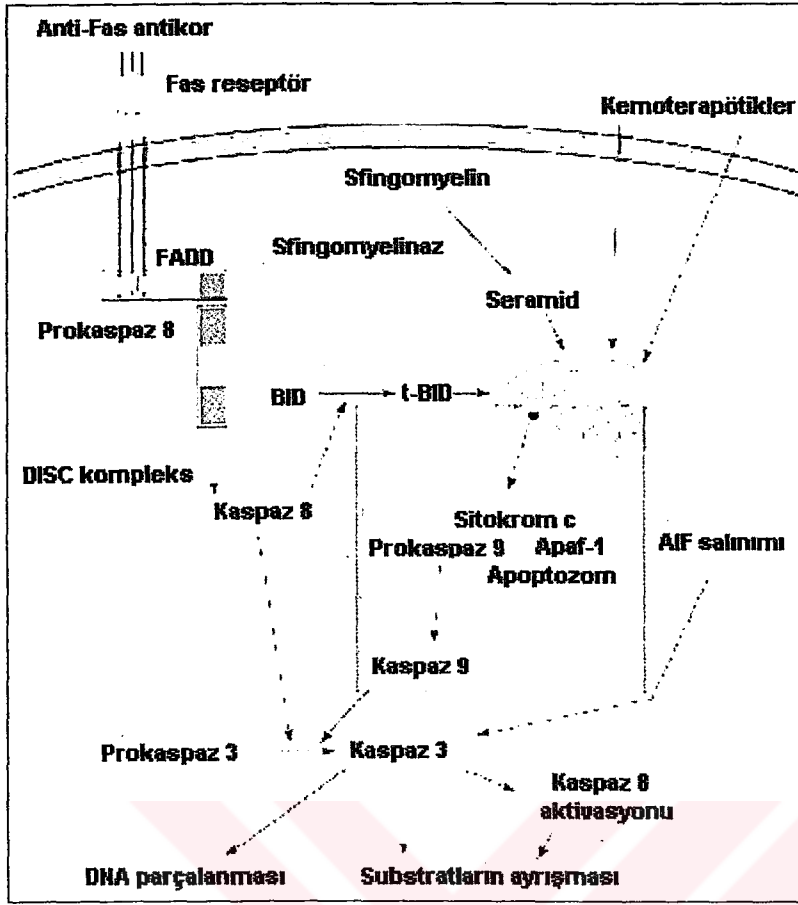
Bcl 2 ilk kez 1984 yılında folliküler lenfomalarda sıklıkla karşılaşılan t(14;18) kromozom translokasyonu çalışılırken tarif edilmiş ve onkojenik potansiyeli ilk olarak folliküler lenfomalarda gösterilmiştir (33).

Fazla miktarda bcl 2 proteini hücrelerde mitokondriden sitokrom c serbestleşmesini önleyerek kaspas aktivasyonunun gerçekleşmesini baskılar ve bunun sonucunda apoptozu önler (18, 34). Hücresel stresler pro-apoptotik bcl 2 aile üyelerinin sitozolden mitokondriye yer değiştirmesine ve sitokrom c'nin serbestleşmesine neden olur. Sitokrom c'nin serbestleşmesini takiben kaspaslar aktive olur ve apoptosom aracılığı ile hücre apoptoza gider. Sitozolda bulunan bir protein olan ve sitokrom c'yi bağlayan Apaf-1 ile procaspase-9 birlikte apoptosomu oluştururlar. Bu olay hücre içerisinde ATP'ye bağımlıdır. Apoptosom procaspase-3'ü çalıştırır, bu inaktif caspase-9'u aktive eder ve hücrede apoptoz gerçekleşir (23). Anti-apoptotik Bcl 2 proteinleri, sitokrom c'nin mitokondriden serbestleşmesini önleyerek apoptosom oluşumunu engeller ve hücrenin yaşamının sürdürmesini sağlar (30, 33).

Ölüm ligandları ve ölüm reseptörleri aracılı yol:

Ölüm reseptörleri olarak bilinen tümör nekroz faktör ailesi üyeleri, Fas (APO-1/CD 95), TNFR1, DR3/WSL ve TRAIL (TNF ilişkili apoptoz uyarıcı ligand /APO-2)'dir. Bunlar Fas Ligand, DR3 ligandı ya da TRAIL/Apo 2L olarak adlandırılan ligandlar tarafından bağlanarak apoptoz yolunu aktive ederler. Bu grubun en iyi bilinen üyesi Fas (APO-1/CD 95)'dir (35-38).

Fas 48-kDa ağırlığında tip 1 transmembran proteindir. Onuncu kromozomda yerleşmiştir. İnterferon α ve TNF gibi sitokinler ile ekspresyonu artırılabilir. Fas, hücre yüzeyinin bir ölüm reseptörüdür. Primer olarak hedef hücrenin sitotoksik lenfositler tarafından parçalanması olayına karışır (39). Bu reseptörün ekstraselüler parçasına trimerik Fas ligandın bağlanması, reseptörün oligomerizasyonu ile sonuçlanır. Fas'ın sitoplazmik parçasına FADD adlı oligomerik adaptör molekülün bağlanması ve prokaspas-8 ve prokaspas-10'un olayın içine katılması ile de Fas/FADD kompleksi oluşur (40). Daha sonra prokaspas-8 ve prokaspas-10 bölünerek aktif kaspaslar oluşur; aynı zamanda prokaspas-3'ü aktive ederler. Kaspas aktivasyonunu sağlamak için reseptöre bağlanan adaptör moleküller ölüm reseptör ligandları (37) ve hücre tiplerine göre farklı olsalar da benzer olaylar diğer ölüm reseptörleriyle (TNF-alfa tip1 reseptör ve ölüm reseptörleri 3-6 gibi) tetiklenme sırasında da gözlenir (Şekil 2).



Şekil 2. Ölüm reseptörü (Fas) aracılı apoptoz yolu.

Her ne kadar DNA hasarı gibi çeşitli hücre hasarını Fas yolunu uyararak apoptozu tetiklediği gibi görüşler öne sürülse de günümüzde bu uyarının başlıca kaspas-9 yoluyla olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte toksik hasar bcl-2 aile üyelerinin değişimine yol açarak mitokondrinin membranlar arası yüzeyinden sitokrom c ve diğer polipeptitlerin salınmasına neden olur. Sitokrom c sitozole salındıktan sonra Apaf-1 adlı proteinle etkileşime geçer (27). Bu şekilde Apaf-1'in ATP'ye bağımlı bir mekanizmayla prokaspas-9'a bağlanması ve onu aktive etmesi sağlanır (41). Aktive olduktan sonra kaspas-9 parçalanır ve prokaspas-3 ve prokaspas-7'yi aktive eder.

Kaspas aktivasyonunun düzenlenmesi:

Kontrolden çıkmış kaspas aktivasyonunun neler yapabileceği açıktır. Bu nedenle kaspasların aktivasyonu sıkı düzenleyici mekanizmalarla kontrol edilir. Ölüm reseptör yolu çeşitli farklı seviyelerde düzenlenir. Birincisi, değişik ölüm reseptörlerinin ekspresyonu, hücre tipleri ve hücrelerin değişik gelişim aşamalarına göre farklıdır (39). Örneğin, DR4 ve DR5 normal erişkin timusunda ve çeşitli tümör

hücrelerinde eksprese edilirler, fakat diğer normal erişkin dokularında eksprese edilmezler. İkincisi, bazı hücreler tuzak reseptörleri diye adlandırılan ve hücre yüzeyinde bulunan veya ölüm ligandlarını bağlayan protein yapısında maddeler salgırlar. Bunların ölüm ligandlarına yüksek afinitesi vardır, fakat sitoplazmik adaptör molekülere sinyal iletimi yeteneğine sahip değildirler. Üçüncüsü, ölüm reseptörlerinden prokaspas-8'e sinyal iletimi kendi adaptörleri vasıtasıyla düzenlenir. Örneğin: çoğu hücreler c-FLIP eksprese ederler. Bu bir polipeptittir ve prokaspas-8'e benzer bölgeler ihtiva eder, fakat kaspas aktif bölgesini içermez. Aşırı ekspresyonu durumunda c-FLIP FADD'yi bağlar ve yarışmalı olarak prokaspas-8 ve prokaspas-10'un katılımını önler, bu şekilde de sinyal iletimi belirli bir noktada kopmuş olur (26).

Mitokondriyal yolun aktivasyonu da sıkı bir şekilde kontrol edilir. Antiapoptotik bcl-2 aile üyeleri sitokrom c salınımını inhibe ederler (42, 43). Bu görevi muhtemelen proapoptotik aile üyeleri olan Bax ve Bak'ın aracılığıyla mitokondri dış kısmındaki voltaja bağımlı anyon kanallarının açılmasını kolaylaştırarak yaparlar (44). Zıt olarak pro-apoptotik bcl-2 aile üyeleri antiapoptotik aile üyelerini bağlayarak ve bunları nötralize ederek apoptoz oluşumuna yardım ederler.

Bazı düzenleyici mekanizmalar her iki yol üzerinden eşzamanlı olarak etki ederler. Bunlar prokaspas transkripsiyonu, protein kinazlardan Akt aile üyelerinin aktivasyonu ve kaspas regülatörü olan IAP aile üyelerinin ekspresyonudur. Örneğin transkripsiyon faktörü olan Stat-1'in (signal transducer and activator of transcription-1) eksik olduğu hücrelerde ölümü indükleyen bir uyarı durumunda prokaspas-1, prokaspas-2 ve prokaspas-3 ekspresyonunun yetersiz veya çok zayıf olduğu görülür. Bununla birlikte Stat-1'den bağımsız prokaspas-3 ve prokaspas-8'in transkripsiyon değişiklikleri de tanımlanmıştır (45).

Her iki yolun aktive edilmesi çeşitli kinazlar vasıtasıyla da olur. Bir protein kinaz olan Akt ölüm reseptör yolunun aktivasyonu kadar (46) mitokondriyal sitokrom c salınımını da inhibe eder (47).

Kaspas aktivasyonu ve regülasyonu IAP'ler tarafından da yapılır (48). Bu polipeptitlerden her biri aktif kaspaslara bağlanma ve onları inhibe etme yeteneğine

sahiptirler. cIAP1, cIAP2, XIAP ve survivin'in caspas-3 ve caspas-7 aktivitesini inhibe ettikleri gösterilmiştir. İlave olarak insan cIAP1 ve cIAP2'nin sitokrom c aracılıklı prokaspas-9 aktivasyonunu ve caspas-8 in indüklediği prokaspas-3 aktivasyonunu inhibe ettiği de gözlemlenmiştir (48).

Decoylar (tuzak reseptörleri) ve FLIPler:

Kanser hücreleri bazı yollarla apoptoz mekanizmasını bozmaktadırlar. Ölüm reseptör yolunda mekanizma çeşitli şekillerde duraklayabilmektedir. Bazı tümörlerde Fas ekspresyonu azalmaktadır (49). Fasligand'a bağlı sitotoksik T lenfosit aracılıklı hücre ölümü kanserden koruyucu önemli bir mekanizma olması ve Fas'ın baskılanmasına bağlı olarak immün sistemde hasar oluşması karsinogeneze katkıda bulunmaktadır.

Tümör hücreleri tarafından aşırı salınımları sağlanan decoy (tuzak) reseptörleri ölüm reseptörlerinin baskılanması olayına katılır. Pek çok tuzak reseptör tanımlanmış olmakla birlikte bunlardan en fazla ilgi çeken DcR3'tür. Bu reseptör Fas-liganda bağlanır ve Fas aracılıklı apoptozu inhibe eder. DcR3 geni akciğer ve kolon kanserlerinin yaklaşık %50'sinde tespit edilmiştir (50). Ölüm reseptör sinyallerini azaltmanın bir yolu da prokaspas-8'in baskılanmasıdır (42).

Mitokondriyal yolun inhibisyonu:

Mitokondriyal yoldaki bozukluk da çeşitli mekanizmalarla oluşabilir. Antiapoptotik Bcl-2'nin aşırı ekspresyonu pek çok insan kanserinde tespit edilmiştir. İlave olarak da çoğu kanser türünde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (akut myeloid lösemi, lenfomalar, prostat kanseri, over kanseri ve üst GİS kanserleri). Benzer durum proapoptotik Bcl-2 ailesi üyelerinin (Bax gibi) azalmış ekspresyonu neticesinde de oluşabilir (42). Bcl-2 aşırı ekspresyonu myc'in indüklediği apoptozu da engelleyebilmektedir (51, 52). Bazen karsinojen madde kendisi direkt olarak mitokondriyal yol inhibisyonu yapabilmektedir. Örneğin ratlarda karaciğer için karsinojen olan 2-asetilaminofloren adlı madde kalsiyumun indüklediği geçirgenliği bozmaktadır (mitokondriyal membrandan geçirgenlik azalmaktadır) (53).

Apopitozun biyolojik önemi:

Apopitoza uğrayan normal hücrelerin çoğunda hücreleri ölüme götürmekten sorumlu sinyal hakkında çok az şey bilinmektedir. Bazı hücreler komşu hücrelerin ölümleri için sinyal gönderebilirler. Hücre ölümü apopitoz baskılayıcı sinyallerin kaybolması neticesi de oluşabilir.

Virüsler, enfekte ettikleri hücrede kendi proteinlerini sentez ettirirerek hücrenin kendisi için gerekli proteinlerin yapımını durdururlar. Bu durumda, hücrede apopitoz başlatılır ve hücre ile birlikte virüs de ortadan kaldırılır. Ancak Epstein-Barr gibi bazı virüsler enfekte ettikleri hücrenin apopitoza gitmesini engelleyen yollar geliştirmişlerdir. Örneğin, Epstein-Barr virüsü bir apopitoz inhibitörü olan Bcl-2'ye benzer moleküller salgılattığı gibi enfekte ettiği hücrenin Bcl-2 üretimini arttıran moleküller de üretmektedirler.

Hücreler çeşitli hastalıklarda zamanından erken ölebilirler. Zıt olarak da azalmış apopitoz çeşitli hastalıklara yol açabilir. Akut miyokard infarktüsü sırasında hücreler hem apopitoz ve hem de nekroza bağlı olarak kaybedilebilir.

Otoreaktif immün hücrelerin azalmış apopitozu ve ilave olarak bu hücrelerin indüksiyon ve proliferasyonu otoimmünite gelişimi için önemli bir rol oynar. Neoplazi gelişiminde de her ne kadar hücrelerin hızlı çoğalması ana gereklilikten biri olsa da gecikmiş apopitoza bağlı hücre yaşam süresinin uzaması da önemli bir faktör olabilir. Örneğin Bcl-2'nin translokasyonla yer değiştirmesi ve sonrasında buna bağlı olarak apopitozun duraklaması folliküler lenfomalar başta olmak üzere B hücreli lenfomaların patogenezinde önemli bir yer tutar. Bcl-2 ekspresyonunda artış ile uzun süreli yaşayan sentrositler birikmeye başlar, programlı hücre ölümü engellenir ve lenfoma oluşur.

Apopitoz bazı hastalıkların tedavi temelini de oluşturur. Radyoterapi ve kemoterapi sonrası değişime uğramış hücrelerin uzaklaştırılması, bu hücrelerin apopitozu ile mümkün olmaktadır.

Kanserde apopitoz:

Proliferatif yolun anormal aktivasyonu pek çok kanser türünde önemlidir. Diğer taraftan kronik lenfositik lösemi ve yavaş seyirli (indolent) lenfomalar gibi bazı neoplastik hastalıklarda ise proliferatif aktivite çok az olmasına rağmen anormal hücreler birikmeye devam ederler.

Normal hücrelerde apopitoz oranı yüksekken maligniteye doğru ilerleyen hücrelerde apopitoz oranı giderek azalmaktadır. Örneğin, normal kolon epiteli, adenom ve karsinomların karşılaştırıldığı hücre kültür örneklerinde normal kolonda en yüksek apopitoz oranı gözlenirken adenomda orta düzeyde, karsinomda ise en az düzeyde apopitoz gözlenmiştir (54).

APOPİTOZLA İLİŞKİLİ GENLER:

P53, bcl-2, Fas genlerindeki mutasyon varlığının dokularda immünohistokimyasal yöntemlerle tesbiti mümkündür. Bu genlerdeki mutasyonlar çeşitli kanserlerin patogeneğinde rol oynar:

Bcl-2:

Bcl-2 bir antiapopitotik proteindir. Endoplazmik retikulum, nükleer kılıf ve mitokondri dış membranının sitoplazmik yüzünde bulunur. Çeşitli sitotoksik etkenlere (gamma ve ultraviyole radyasyon, sitokin çekilmesi, deksametazon ve kemoterapötik ajanlar) karşı hücreyi korur (21).

Bcl-2 antiapopitotik (bcl-2, bcl-X_L) veya proapopitotik (bax, bcl-Xs, bak, bad, bid) aile üyelerinin bir prototipidir. Mitokondriden sitokrom c salınımını inhibe etmek suretiyle apopitozu inhibe eder ve bu suretle Apaf-1 ve takibeden kaspas aktivasyonlarını bloke etmiş olur (55). Bcl-2 ayrıca pro-apopitotik moleküller olan bax ve bcl-Xs'yi bağlar.

Bcl-2 hücre siklus ilerlemesine de etki eder. Optimal olmayan büyüme koşullarında hücre döngüsünden çıkışı düzenler. Bu etki genetik olarak apopitozdan ayrıdır ve etkiden sorumlu kısım amino-terminal bölgede yerleşmiştir (56).

Bcl-2'nin genetik mutasyonları foliküler lenfoma dışında çeşitli malignitelerde de gösterilmiştir. Fakat, bcl-2 translokasyonunun varlığı her zaman malignite ile eş anlamlı değildir. Bcl-2 gen yeniden düzenlenmesi bazen normal lenfoid dokularda da tespit edilebilmektedir (57). Malign transformasyon için ilave genetik değişiklikler de olması gerekli gibi görünmektedir. Bu olay bcl-2/IgH transgenik farelerde gösterilmiştir. Bu farelerde masif lenfoid hiperplazi oluşmakta, fakat malign lenfoma gelişimi c-myc onkogeni gibi bir onkogenin varlığı ile olmaktadır.

Kanser gelişiminde apoptoz ile ilişkili genlerin mutasyonları ve hatalı çalışmalarının da önemli rolleri vardır. Çeşitli insan tümörlerinde proapoptotik moleküller olan Fas (58-60) ve Bcl-10'da (61) veya kaspas inhibitörlerinde (cellular inhibitor of apoptosis: c-IAP2) (62) mutasyonlar saptanmıştır. Benign lenfoproliferatif hastalık ve bununla ilişkili otoimmün semptomlar sıklıkla Fas'ın (63, 64) veya Fasligand'ın (65) ya da kaspas-10'un (66) moleküler değişimiyle ilişkilidir. Ailevi periyodik ateş sendromu (67) ve kromozom 10'a bağlı ailevi hemofagositik lenfositosis (68) TNF-R1 ve sitotoksik molekül olan perforindeki defektlerle ilişkili bulunmuştur (69).

Fas (CD95; Apo-1):

Fas mutasyonu çok değişik hematolojik ve solid tümörlerde (Akut lenfoblastik lösemi, Hodgkin hastalığı, Non hodgkin lenfomalar ve prostat kanserleri) görülür ve tümör örnekleme çalışmalarında bu mutasyon yaklaşık %20-30 oranında saptanmıştır. Fas mutasyonu lenfoma ve otoimmün hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar. Germinal ve post-germinal merkez B hücrelerinden köken alan lenfomaların yaklaşık %50'sinde Fas geninde mutasyon vardır ve bunlar özellikle ektranodal lenfomalardır.

Fas mutasyonu erken MALT tipi lenfoma patogenezinde anahtar rol oynar. Ektranodal MALT tipi lenfomada t(11;18) en sık görülen kromozomal anomali olup kısmen de apoptozla ilgilidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda insan apoptoz inhibitör-1 geni (HIAP) 11. kromozomda tesbit edilmiştir. Bu protein Fas aracılı apoptozu ve kaspas aracılı diğer ölüm yollarını direkt olarak bloke eder. Bu gen daha az oranda diffüz büyük hücreli lenfomada da gösterilmiştir.

Fas bir transmembran reseptör proteindir. Kendi doğal ligandı olan Fas-liganda (FasL) bağlanarak apoptozu tetikler (70). Apoptoz sinyali hücre içi ölüm bölgesiyle iletilir ve bu moleküle adaptör protein olan FADD bağlanır, bu da prokaspas-8'i olaya katar. Prokaspas-8'in Fas sinyal kompleksine yapışması prokaspas-8'in bölünmesini otomatik olarak sağlar. Daha sonra da diğer kaspasların aktivasyonu gerçekleşir (36).

Mitokondriyi de içine alan bir diğer Fas aracılıklı apoptoz yolu da tanımlanmıştır. Bu yol hücre tipine (tip I ve II) ve kısmen de bcl-2 aile üyesi olan BID'ye bağlıdır (43). BID kaspas-8 tarafından bölünür ve bu bölünme sonrası p15 parçası mitokondriye taşınır. Burada mitokondriyal membrandan sitokrom c salınımını sağlar ve etkisi proapoptotik Bcl-2 aile üyesi olan Bax ile benzerdir. Tip II hücrelerde bu yol bcl-2 veya bcl-x1 aşırı ekspresyonuyla bloke edilebilir. Bu blokaj tip I hücreler için geçerli değildir (71).

Fas pek çok hücrede yaygın olarak eksprese edilir. Fas'ın fizyolojik rolü daha çok immun sistem ile ilgilidir. Otoreaktif T hücrelerinin azalması (72), aktive lenfositlerin uzaklaştırılması ve immun olayın sonlandırılması Fas-FasL etkileşimine bağlıdır (73). Farelerde spontan Fas mutasyonu olduğunda yaygın lenf nodları, dalakta büyüme ve çeşitli otoimmün hastalıkların olduğu bir lenfoproliferatif sendrom tablosu geliştiği gösterilmiştir (74). Tip I otoimmün lenfoproliferatif sendromlu (ALPS I) hastalarda da benzer semptomlar saptanmaktadır (Canale-Smith sendromu). Bu sendromda Fas geninde mutasyon vardır. Nadir görülen kalıtsal bir hastalıktır ve çocukluk çağında başlar. Lenf nodlarında büyüme, hepatosplenomegali ve otoimmün olaylarla karakterize bir sendromdur (fakat nadiren lenfositoz, hipergamaglobulinemi veya lenfoma gelişir). Bu hastalarda lenfositler Fas yoluyla olan hücre ölümüne dirençli veya çok az duyarlıdırlar. Lenfoproliferatif semptomlar yaşla ortadan kalkar fakat otoimmün olaylar devam eder. Otozomal dominant veya otozomal resesif geçiş tariflenmiştir.

Fas mutasyonları B ve T hücreli grupların birlikte değerlendirildiği bir NHL hasta grubunda %11 (16/150) oranında tespit edilmiştir (75).

Mutasyona uğramış Fas molekülü tümör hücresinin immün sistemden kaçmasına yardım eder. Fas direnci tümör hücresinin FasL'ı aşırı eksprese etmesine ve

kullanmasına olanak sağlar. Bu şekilde Fas'a duyarlı immün hücelere yönelik bir karşı atak başlatılır ve ilave olarak stromal ve parenkimal hücelerin öldürülmesiyle yayılım kolaylaşır (76).

P53 tümör supresör geni:

P53 tümör supresör geni 17. kromozomun kısa koluna yerleşir (17p) ve 53 kilodalton ağırlığında 393 aminoasitden oluşan oligomerik nükleer fosfoproteini kodlar. Kodlanan bu proteine Wild tip p53 (doğal, fonksiyonel tip) proteini adı verilir. Wild tip p53'ün yarılanma ömrü 6-20 dakikadır.

Mutant tip p53 ise daha uzun ömürlüdür (3-6 saat). Onkojenik etkiden bu tip sorumludur ve doğal p53'ün fonksiyonunu inaktive eder. Mutant p53 somatik veya herediter mutasyonlar sonucu oluşur ve çoğunluğu nokta mutasyonu şeklindedir. Mutasyona uğramış p53'ün antikanser etkisi ortadan kalkar, aşırı salınımı tümör baskılayıcı etkisinde kaybın yanısıra tümörojenik aktivitenin artışına neden olur.

p53 downstream genlerin regülasyonunu yapma kabiliyeti olan bir transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon gören bir nükleoproteindir (77). Hipoksiye bağlı hücrel stres veya bir onkogen aktivasyonunun varlığı ya da DNA hasarı durumunda hücrel p53 seviyesi artar ve p53 aktive olur (78). Daha sonra kendi hedef genlerinin transkripsiyonunu başlatır (79). DNA hasarına cevap olarak aktive olan P53, hasarlı DNA'ya sahip hücelerin hücre döngüsünü G1 ve G2 fazında bloke eder (80). Eğer DNA hasarı şiddetli ise hücre tipine ve hücrenin onkogen içeriğine göre hücreyi Bax gibi genlerin transkripsiyonu yoluyla apoptoza götürür.

P53'ün hücre siklusunu durdurucu etkisi p21 (WAF1, Cip-1) ve GADD45 yoluyla olur. P21 bir siklin bağımlı kinaz (cdk) inhibitörüdür. Bu siklin-cdk komplekslerini ve PCNA'yı bağlar ve G1 ve G2 fazında hücre siklusunun ilerlemesini durdurur. GADD45 de PCNA'yı bağlar ve hücre siklusunu G2 fazında durdurur. GADD45 ayrıca DNA'dan nükleotid kesip çıkararak onarım yapar (80).

P53 apoptoz yolu çok değişik gen ürünlerini içerir. Hücre tipine bağlı olarak insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (IGF-BP3) ve Bax ekspresyonu p53'ün aracı olduğu apoptoza yardımcı olur.

Son zamanlarda bulunan proapoptotik bcl-2 aile üyesi olan ve mitokondride bulunan Noxa'nın (81) p53'ün uyardığı apoptozun aracısı olduğu düşünülmektedir.

P53 tarafından kullanılan ilave bir yol da mitokondriye sinyal göndererek apoptozun uyarılmasıdır. P53 bunu reaktif oksijen radikallerinin düzeyini (ROS) arttırarak yapar. ROS da mitokondriden sitokrom c salınımına neden olur (82).

p53 bazı DNA onarım enzimlerinin kopyalanması ile bu olaya direkt olarak yardım eder. Hasarlı DNA onarırsa hücre siklusu tamamlanmaya bırakılır. Eğer DNA hasarı başarı ile tamir edilirse; mdm-2 (murine double minute-2) geninin proteini p53 proteinine bağlanır ve p53'ün tümör süpresör fonksiyonunu inaktive ederek hücre siklusunun devamını sağlar.

P53 mutasyonu insan kanserlerinde en sık rastlanan genetik değişikliktir. (tüm insan kanserlerinin %50-55'inde tespit edilir) (83). Ailevi Li-Fraumani sendromunda doğumsal mutant p53 alleli mevcuttur. Bu ailelerde sarkomlar, meme kanseri, beyin tümörleri, lösemi erken yaşlardan itibaren görülmektedir (84). p53 geninin kaybında veya mutasyonu durumunda hasarlı DNA onarılamaz ve hücre malign değişime gider (85).

P53 aracılıklı apoptoz antikanser ajanların toksik etkilerini düzeltebilir. Meme kanserinde p53 mutasyonları doksorubisine doğal direnç gelişimi ile kendini gösterir (86). Diğer tümörlerde de p53 mutasyonlarının kemoterapi veya radyoterapiye dirence yol açtığı gösterilmiştir.

P53 apoptozda Fas ve bcl-2 ile birlikte önemli rol oynar. Hedef genlerdeki aktivasyon yoluyla p53 kaspas bağımlı apoptozu başlatır. p53; Fas ve Bax'ı aktive ederken Bcl-2'yi inhibe ederek kaspas bağımlı birkaç mekanizma ile apoptozu başlatır. P53 Fas seviyelerini arttırmasına rağmen DNA hasarına cevap olarak gelişen p53 bağımlı apoptozda Fas kesin olarak gerekli değildir.

P53 mutasyonu solid tümörlerde daha sık görülürken, hematolojik malignitelerde daha az orandadır. P53 mutasyonu NHL'da yaklaşık %10-20 oranında görülürken, agresif lenfomalarda oran %30'lara yükselir. P53 bağımlı apoptoz bozukluğu sonucu değişik

hematolojik tümörlerde, p53'den bağımsız yollar aktif hale geçer. Örneğin; çocuklarda görülen akut lenfoblastik lösemi'de primer lösemi hücreleri yüksek oranda Fas bağımlı apoptoz gösterir ve Fas salınımı mutant p53 içeren hücrelerde yüksek seviyede görülürken, doğal tip p53 içeren hücrelerde daha düşük seviyede görülür. P53 mutasyonu olan lenfomalı hastalarda proliferasyon kapasitesi yüksek, prognoz kötü ve toplam yaşam süreleri de kısadır.

P53 ailesine mensup iki gen daha bulunmaktadır. Bunlar p63 ve p73'dür. Fakat bunların fonksiyonları p53 kadar iyi bilinmemektedir. P53 embriyonel gelişim aşamasında herhangi bir rol oynamaz. Diğer taraftan p63 ve p73 eksikliği bilinen hayvanlarda gelişimsel anomaliler oluşabileceği gösterilmiştir (87, 88). Benzer şekilde p63 ve p73 gen mutasyonları daha az sıklıkta gözlenir ve tümör oluşumundaki rolleri henüz net değildir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda 1990-2003 yılları arasında biyopsi ile diffüz büyük B-hücreli lenfoma tanısı alan ve düzenli takibi yapılmış olan primer nodal non-Hodgkin lenfomalı hastalar çalışmaya alındı. Hastaların Patoloji Anabilim Dalı arşivinden preparatları ve parafin blokları çıkarıldı. Cerrahi materyal veya eksizyonel lenf nodu biyopsisi ile tanı konan tüm olgular histolojik olarak REAL sınıflamasına göre yeniden değerlendirildi ve sınıflandırıldı. Diffüz büyük B-hücreli lenfoma tanıları doğrulanmış 63 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hastalarla ilgili kayıtlardan; yaşı, cinsiyeti, telefon numaraları ve adresleri, başvuru anındaki şikayetleri, performans durumları, tutulum yerleri, B semptomlarının varlığı, Ann-arbor sistemine göre evresi (Tablo 4), serum LDH düzeyi, ektranodal tutulum yerleri ve sayısı, kemik iliği tutulumu, uluslararası prognostik indeks skorları (IPI), tedavi şekilleri (kemoterapi ve/veya radyoterapi) çıkarıldı. Kemoterapi rejimi olarak birinci sıra tedavide CHOP (Tablo 5) veya CHOP benzeri protokol alan ve optimal tedavi uygulanmış hastalar çalışmaya alındı. Performans durumu ECOG kriterlerine göre değerlendirildi (Tablo 6).

Tablo 4. Lenfomalarda Evreleme (Ann-Arbor Evreleme Sistemi)

Evre	Tanımı
Evre I	Tek lenf nodu bölgesi tutulumu veya ekstralenfatik bir organın lokalize tutulumu (IE).
Evre II	Diafragmanın aynı bölgesinde iki veya daha fazla lenf nodu bölgesi tutulumu olması (II) veya ekstra lenfatik bir organın lokalize tutulumu ile birlikte bölgesel lenf nodu tutulumu veya diafragmanın aynı bölgesinde başka lenf nodu bölgesi tutulumu (IIE).
Evre III	Diafragmanın iki tarafında lenf nodu bölgesi tutulumu olması (III), ekstra lenfatik bir organın lokalize tutulumu ile birlikte olması (IIIE) veya dalak tutulumu olması (IIIS) ya da her ikisinin olması (IIIE+S).
Evre IV	Bir veya daha fazla yaygın (multifokal) ekstra lenfatik organ tutulumu veya izole ekstra lenfatik organ tutulumu ile birlikte bölge dışı lenf nodu tutulumu olması.

Tablo 5. CHOP Protokolü*

Kemoterapötik	Doz	Uygulama	Günler					
			1	2	3	4	5	
Siklofosfamid	750 mg/m ²	500cc serum fizyolojik (SF) içinde 30 dakikada intravenöz (İV) infüzyon	X					
Adriamisin	50 mg/m ²	100cc SF'te 15 dk'da İV infüzyon	X					
Vinkristin	1.4 mg/m ² (maksimum 2 mg)	İV puşe	X					
Prednizon	100 mg/gün	Oral yoldan	X	X	X	X	X	X

* Uygulamalar 21 gün arayla yapıldı.

Tablo 6. Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)'a göre performans skorlaması

DERECE	TANIM
Derece 0	Tamamen normal fizik aktivitesini sürdürebilir, herhangi bir kısıtlama yok.
Derece 1	Fiziksel aktivitede kısıtlanma var fakat hasta günlük işlerini normal olarak yapabiliyor.
Derece 2	Kendi işlerini kendi yapabiliyor, fakat diğer iş aktivitelerini yapamıyor. Zamanının %50' den fazlasını yatak dışında geçiriyor.
Derece 3	Sadece kendi işlerini sınırlı oranda yapabiliyor. Zamanının %50'den fazlasını yatakta geçiriyor.
Derece 4	Hiçbir işi kendisi yapamıyor ve tamamen yatağa bağımlı olarak yaşıyor.

Evreleme ve tedavi cevabının değerlendirilmesi: Dosya kayıtlarından fizik muayene bulguları yanında abdominal kompüterize tomografi (CT), akciğer PA grafisi veya akciğer CT, kemik iliği aspirasyon ve/veya biyopsilerinin sonuçlarına bakıldı. Tedavi sonrası cevap değerlendirmeleri ve daha sonraki takip bulguları kaydedildi (Tablo 7). Nüks veya progresyon zamanları ile ölenlerin ölüm tarihleri ve nedenleri not edildi. Bu verilerden istatistiksel karşılaştırma için gerekli olan süreler (Tablo 8) hesaplandı.

Tablo 7. Non-Hodgkin lenfomada tedaviye cevap kriterleri

Tedavi Cevabı	Tanımlama
Tam cevap (Tam remisyon)	Hastanın en son aldığı kemoterapiden 4 hafta sonrasında fizik muayene ve radyolojik bulguların normal olarak bulunması.
CRu (Doğrulanmamış tam remisyon)	Klinik ve görüntüleme yöntemleriyle tümöre ait bulgular olmaması veya tedavi başlangıcında kitle varsa bu kitlede %75' den fazla küçülme olması ve takiplerde bu kitlede progresyon gözlenmemesi.
Kısmi cevap (Parsiyel remisyon)	Tümör kitlesinde veya lenf nodlarında % 50'den fazla küçülme veya hepato-splenomegalide küçülme gözlenmesi.
Sabit hastalık	Tümör kitlesinde % 50'nin altında kalan küçülme veya % 25'in altında kalan büyüme olması
İlerleyici hastalık	Tümör kitlesinde % 25'den fazla artış veya hepato-splenomegalide büyüme ya da yeni tutulum bölgesi ortaya çıkması.

Tablo 8. Sağkalım süreleri ile ilgili tanımlamalar.

Sağkalım ile ilgili süreler	Tanımlama
OS (overall survival=toplam yaşam süresi):	Çalışmaya alınan tüm hastaların tanı tarihinden herhangi bir sebepten öldüğü zamana kadar geçen süre.
EFS (event-free survival=olaysız yaşam süresi):	Tam remisyon veya doğrulanmamış tam remisyona girmiş hastaların tanı tarihinden itibaren başarısızlık gözleendiği veya herhangi bir sebepten öldüğü zamana kadar geçen süre.

İmmünohistokimyasal boyamalar

Hastalarda fas, bcl-2 ve p53 ile immünohistokimyasal yöntemlerle boyama yapıldı. Bu boyalarla pozitif boyanma ile tedavi cevabı, sağkalım süreleri ve diğer prognostik faktörlerin ilişkisine bakıldı.

İmmünohistokimyasal boyama için parafin bloklardan hazırlanan 5 mikronluk kesitler, yapıştırıcı madde olarak poli-L lizin ile kaplanmış lamalar üzerine alındı. Kesitler 60 °C'da etüvde bir saat bekletildikten sonra, ksilol ve derecesi giderek azalan oranlarda alkolden geçirildi. Ardından sırayla aşağıdaki işlemler yapıldı:

- 1- Distile suda 10 dakika yıkandı.
- 2- Kesitler mikrodalga fırında %50 güç seviyesinde 10 dakika antijen retrivel yapıldı ve mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda ısısına gelene kadar 30 dakika bekletildi.
- 3- Distile suda 5 dakika yıkandı.
- 4- Spesifik olmayan boyamaları ve zemin boyamasını en aza indirmek için bütün preparatlara 10 dakika süreyle %3'lük H₂O₂ uygulandı.
- 5- Distile suda 5 dakika yıkandı.
- 6- Tamponlanmış salin (PBS) solüsyonu ile 5 dakika yıkandı.
- 7- Primer antikor olarak fare monoklonal antikor olan Fas (CD95/APO-1) (Neomarkers, Fremont, CA, USA, Cod no:MS-1098R7, Lot no:1098R106) hazır solüsyon, fare monoklonal antikor olan Bcl 2 (Neomarkers, Fremont, CA, USA, Cod no:MS-123P, Lot no:123P202) 1:50 dilüsyonda, fare monoklonal antikor olan P53 (Neomarkers, Fremont, CA, USA, Cod no:MS186P, Lot no:186P207) 1:100 dilüsyonda damlatıldı. P53 uygulamasında, 1:50 dilüsyonda p53 antikorunu damlatılarak 30 dakika oda ısısında bekletildi. Fas ve Bcl-2 uygulamasında ise, Fas (CD95/APO-1) ve 1:100 dilüsyonda Bcl 2 antikorunu damlatılarak gece inkübasyonu + 4 °C 'de yapıldı.
- 8- Tamponlanmış salin solüsyonu ile 10 dakika yıkandı .
- 9- Biotinlenmiş sekonder antikorunu 10 dakika uygulandı.
- 10- Tamponlanmış salin solüsyonu ile 10 dakika yıkandı .
- 11- Streptavidin peroksidaz konjugatı 10 dakika uygulandı.
- 12- Tamponlanmış salin solüsyonu ile 10 dakika yıkandı .
- 13- AEC kromojeni 15 dakika uygulandı .
- 14- Distile suda 10 dakika yıkandı.

15- Meyer'in hemotoksileni ile iki dakika zıt boya yapıldı.

16- Distile suda 5 dakika yıkandı.

17- Kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

İşlemler oda ısısında ve kesitlerin kurumaması için nemli ortamda gerçekleştirildi.

Pozitif kontrol olarak; Fas (APO 1/CD 95) için meme dokusu, bcl 2 için tonsil dokusu, P53 için mide dokusu kullanıldı.

Değerlendirme:

Fas (APO-1/CD 95), bcl 2 ve P53 uygulanmış kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Işık mikroskopunda x 40'lık büyütme ile 5-10 büyütme sahası taranarak skorlandı. Bu çalışmada Fas, bcl-2 ve p53 renk ayırıcı olarak AEC kullanılmasından dolayı kırmızı boyanma pozitif olarak kabul edildi. Fas (APO 1/CD 95) için çekirdek zarı ve/veya sitoplazmik boyanma, bcl 2 için sitoplazmik boyanma, p53 için ise nükleer boyanma dikkate alındı. Pozitif boyanma gösteren alanların değerlendirilmesinde aşağıdaki skorlama kullanıldı (tablo 10).

Tablo 9. İmmünohistokimyasal boyamalara ait skorlama sistemi

Pozitif boyanma (% olarak)	Skor
0	negatif
1-9	+
10-50	++
50' den fazla	+++

Standardizasyon sağlamak amacıyla tüm boyamalarda aynı değerler esas alındı ve preparatlar 0 ile (+) boyananlar ve (++) ile (+++) boyananlar olmak üzere iki gruba ayrıldı.

İstatiksel değerlendirme: Olaysız ve toplam sağkalım açısından bcl-2, p53, Fas pozitif boyanması, yaş (≤ 60 ve > 60), cins, ECOG performans durumu (0-1 ve 2-4), evre (I-II ve III-IV), B semptomu varlığı, kemik iliği tutulumu, LDH yüksekliği ve toplam IPI skoru (düşük, düşük-orta ve yüksek-orta, yüksek) değerlendirmeye alındı.

Hastalara ait sağkalım eğrileri Kaplan-Meier yöntemiyle çıkarıldı ve istatistiksel karşılaştırmada log-rank yöntemi kullanıldı. Sağkalımı etkileyen faktörlerin multivariate analizini yapmak için Cox-regresyon analizi kullanıldı. Prognostik faktörler ve immünhistokimyasal boyaların ilişkilerini değerlendirmek için ki-kare testi kullanıldı. Tam remisyon elde etmede etkili olan faktörleri belirlemede ki-kare testi yapıldı. Prognostik nemi olan parametreler karşılaştırılırken hastalar IPI skorunda olduğu gibi gruplandırıldı. P değerleri 0.05'in altında olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



BULGULAR

Erciyes Üniversitesi Tıp fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda yaşları 19 ile 102 arasında değişen (ortanca 55 yaş) 31'i kadın (%49.2), 32'si erkek (%50.8) toplam 63 hasta çalışmaya alındı. Ortanca takip süresi 19 aydı (2-132 ay). Birinci sıra kemoterapi sonrası 28 hastada (%44.4) tam cevap 8 (%12.7) hastada da kısmi cevap elde edildi (cevap elde edilen toplam hasta sayısı: 36 toplam cevap oranı: %57.1). Hastalara ait diğer özellikler tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Hastaların genel özellikleri

Klinik özellikler	Sayı	%	
Cinsiyet	Erkek	32	50.8
	Kadın	31	49.2
Yaş	≤ 60	35	55.6
	> 60	28	44.4
Performans durumu (ECOG'a göre)	0-1	29	46
	2-4	34	54
Ann Arbor evre	I,II	25	39.7
	III,IV	38	60.3
B semptom	var	29	46
	yok	34	54
Ekstranodal tutulum	≤ 1	51	81
	≥ 2	12	19
Kemik iliği tutulumu	var	9	14.3
	yok	54	85.7
LDH düzeyi	yüksek	29	46
	normal	34	54
Uluslararası prognostik indeks	düşük	20	31.7
	düşük-orta	14	22.2
	yüksek-orta	11	17.5
	yüksek	18	28.6

Tam cevap sağlanmasını etkileyen faktörler: Lojistik regresyon analizinde Fas pozitifliği, erkek cins, performans durumu ECOG 0-1 olan hastalar, evre I-II hastalık, B semptomu olmaması, en fazla bir ekstralenfatik organ tutulumu olması, kemik iliği tutulumu olmaması, LDH değerinin normal sınırlarda olması, IPI skorunun düşük veya düşük-orta olması tam cevap elde etme olasılığını arttıran faktörlerdi (Tablo 11). Tam cevap elde edilen 28 hastadan 10'u 13-94 ay arası sürede nüks etti. Diğer 18 hastanın ise takipleri tam remisyonda devam etmektedir.

Tablo 11. Tam cevapla klinik ve immünohistokimyasal parametrelerin ilişkisi

Prognostik parametreler		Tam cevap var (n=28)		Tam cevap yok (n=35)		X ²	P
		Sayı	%	Sayı	%		
p53	Pozitif	9	47	10	53	0.094	0.7
	Negatif	19	43	25	57		
bcl-2	Pozitif	17	44	22	56	0.03	0.8
	Negatif	11	46	13	54		
Fas	Pozitif	20	57	15	43	5.143	0.023
	Negatif	8	29	20	71		
Yaş	>60 yaş	11	39	17	61	0.543	0.46
	≤60 yaş	17	49	18	51		
Cins	Erkek	18	56	14	44	3.671	0.05
	Kadın	10	32	21	68		
ECOG	0-1	20	69	9	31	13.086	0.0001
	2-4	8	24	26	76		
Evre	I,II	16	64	9	36	6.419	0.01
	III,IV	12	32	26	68		
B semptomu	Var	5	17	24	83	16.105	0.0001
	Yok	23	68	11	32		
≥ 2 ektranodal organ tutulumu	Var	2	17	10	83	4.632	0.03
	Yok	26	51	25	49		
Kemik iliği tutulumu	Var	1	11	8	89	4.725	0.03
	Yok	27	50	27	50		
LDH yüksekliği	Var	10	29	24	71	6.76	0.009
	Yok	18	62	11	38		
IPI skoru	0-2	23	68	11	32	16.105	0.001
	3-5	5	17	24	83		

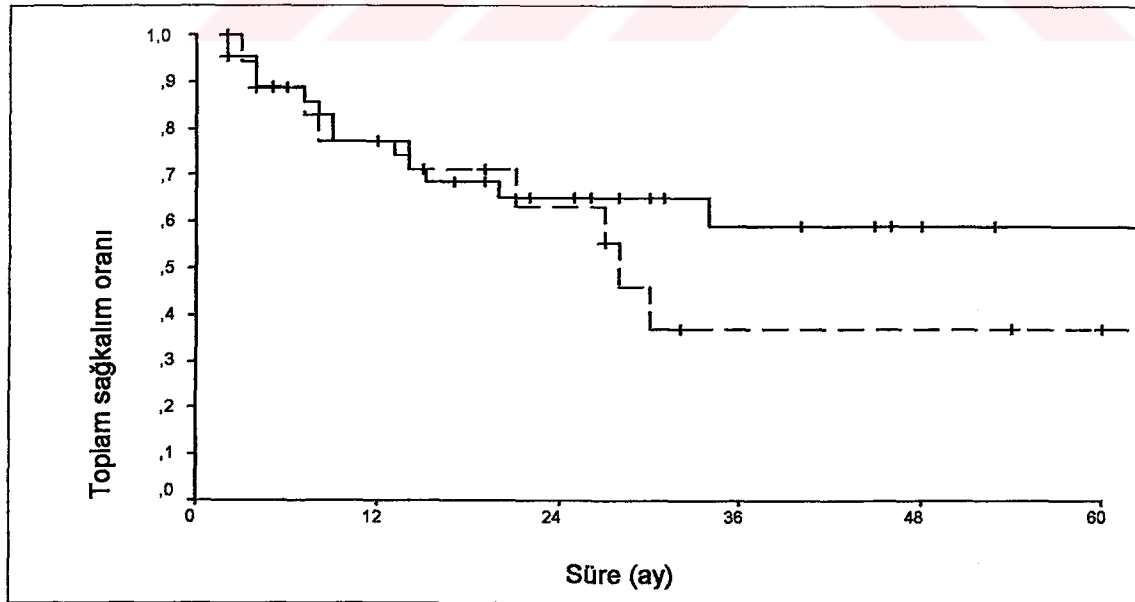
İmmünohistokimyasal boyaların prognostik faktörlerle ilişkisi: Hastaların immünohistokimyasal boyanma sayı ve yüzdeleri tablo 12'de gösterildi. P53, bcl-2 veya Fas pozitif boyanması ile yaş, ECOG performans durumu, B semptomu pozitifliği, birden fazla ektranodal organ tutulumu olması, LDH yüksekliği ve kemik iliği tutulumu mevcudiyeti arasında ilişki tespit edilmedi.

Fas ile pozitif boyanma, erken evre hastalıkta (erken evrede %72, ileri evrede %45) ve IPI skoru düşük ve düşük-orta olanlarda daha yüksek bulundu (düşük ve düşük-orta IPI skorunda %68, yüksek-orta ve yüksek IPI skorunda %41).

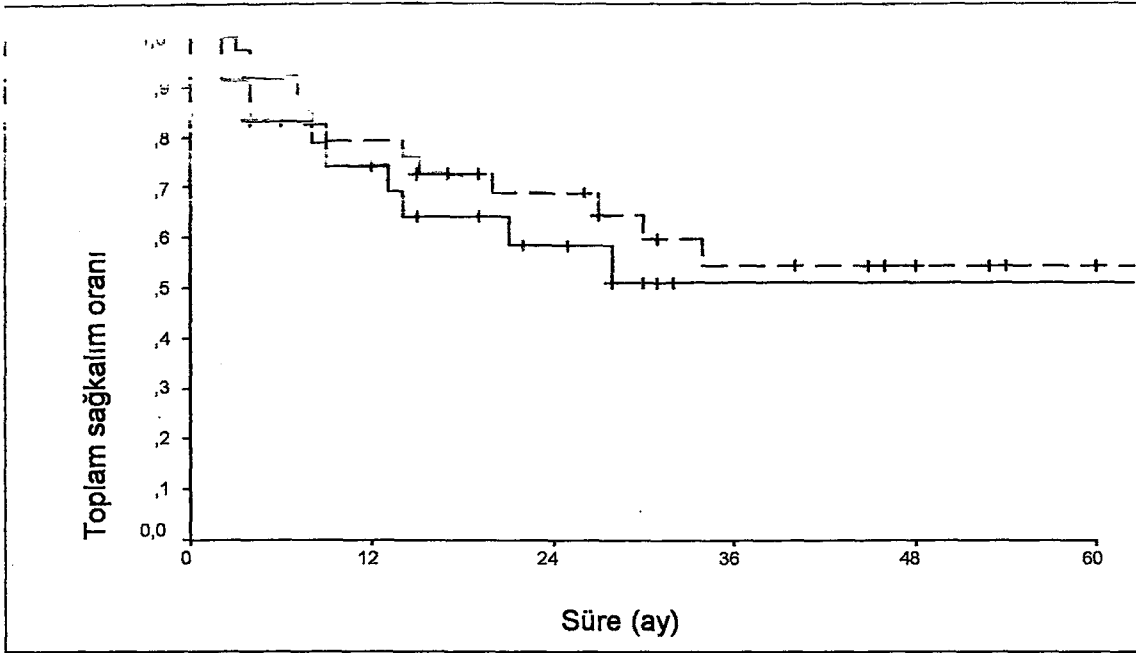
Tablo 12. Hastalarda immünohistokimyasal boyanma sayı ve yüzdeleri

İmmünohistokimyasal boya	Negatif		+		++		+++	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
P53	39	61.9	5	7.9	17	27	2	3.2
Bcl-2	9	14.3	13	20.6	26	41.3	15	23.8
Fas	23	36.5	5	7.9	14	22.2	21	33.3

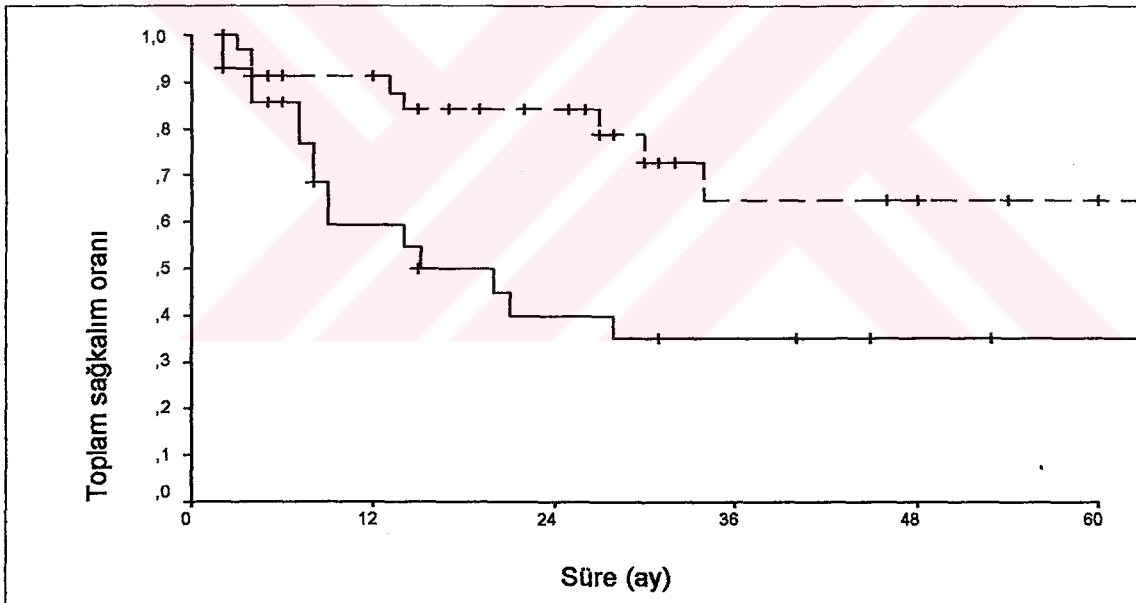
Toplam sağkalımı etkileyen faktörler: Ortanca 19 aylık takip süresi içinde 23 hasta öldü (2-34 ay arası sürede). Tüm hastalar değerlendirildiğinde 5 yıllık tahmini sağkalım olasılığı %52.2 idi. Kaplan-Meier sağkalım analizlerinde p53 ve bcl-2 pozitifliğinin sağkalımı etkilemediği, Fas pozitif boyananlarda ise sağkalım olasılığının Fas negatifliği olan hastalara göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü (p: 0.007)(Şekil 3-5). Multivariate analizde Fas pozitifliği (p: 0.039) ve ECOG performans durumu (p: 0.01) bağımsız prognostik değişkenler olarak bulundu (Tablo 13).



Şekil 3. P53 pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- p53 pozitif hastalar, — p53 negatif hastalar.



Şekil 4. bcl-2 pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- bcl-2 pozitif hastalar, — bcl-2 negatif hastalar



Şekil 5. Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi, $p = 0.007$. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar.

Fas boyanmasının prognostik faktörlere göre değerlendirilmesi;

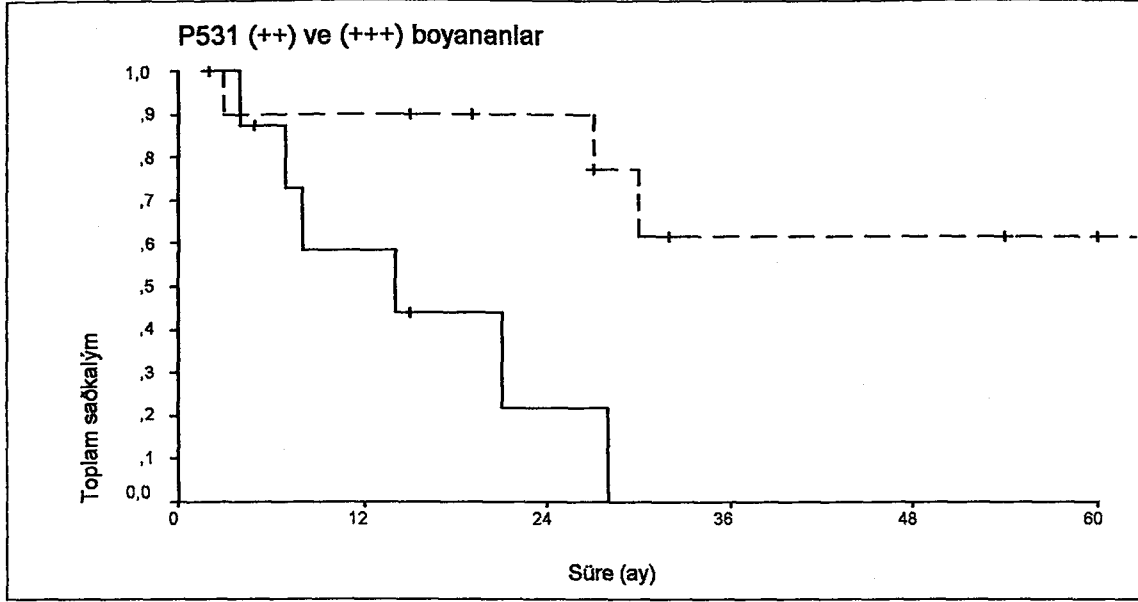
Fas boyanmasının diğer prognostik faktörlerin pozitifliği veya negatifliği durumunda sağkalımla ilişkisine bakıldı. Buna göre prognostik parametreler olan yaş, cins, evre, B semptom varlığı, birden fazla ektranodal tutulum mevcudiyeti, kemik iliği tutulumu olması, LDH yüksekliği ve IPI skorları değerlendirmeye alındı. Sonuçta; 60

yaş altı hastalarda (p: 0.0028), kadın cinsten (p: 0.018), B semptomu pozitif vakalarda (0.0029) Fas ile pozitif boyanmanın daha uzun sağkalım ile birlikte olduğu görüldü.

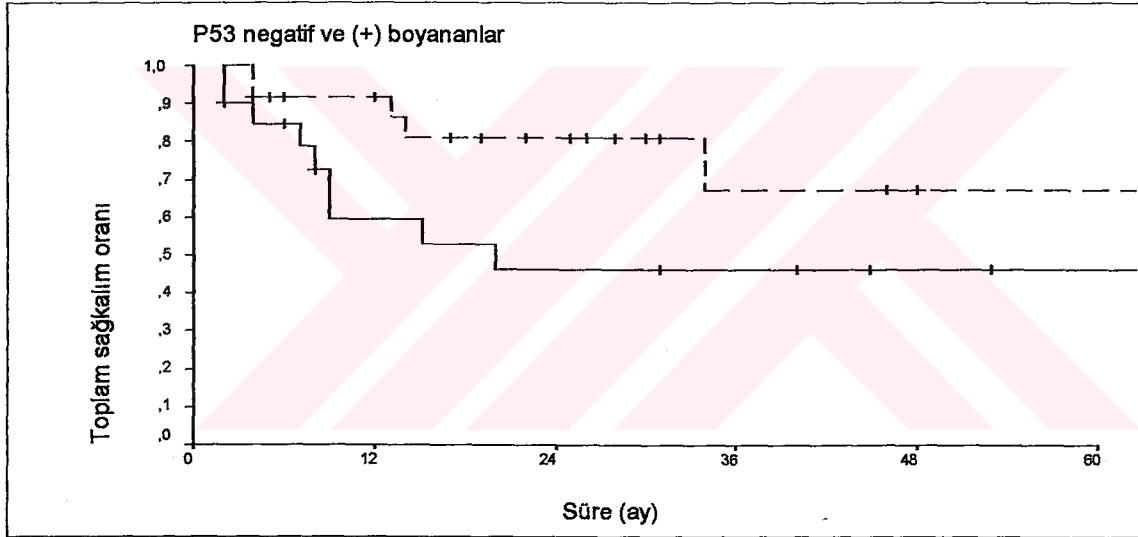
Tablo 13. Toplam sağkalımı etkileyen faktörler

Parametre	Odds ratio	%95 Güven aralığı	p
p53 (Pozitif / negatif)	0,662	0,211-2,079	0,5
Bcl-2 (Pozitif / negatif)	1,154	0,399-3,339	0,8
Fas (Pozitif / negatif)	0,308	0,101-0,943	0,039
Yaş (≤ 60 yaş / > 60 yaş)	0,872	0,289-2,628	0,8
Cinsiyet (E / K)	1,042	0,379-2,864	0,9
ECOG performans durumu (0-1 / 2-4)	8,944	1,685-47,487	0,01
Ann-arbor evre (1-2 / 3-4)	0,945	0,149-5,977	0,9
B semptomu (Var / yok)	2,670	0,833-8,555	0,1
Extranodal tutulum (0-1 / ≥ 2)	0,936	0,149-5,879	0,9
Kemik iliği tutulumu (Var / yok)	1,170	0,158-8,644	0,9
LDH yüksekliği (Yüksek / normal)	2,687	0,594-12,155	0,2
IPI skoru (0-2 / 3-5)	0,468	0,052-4,215	0,5

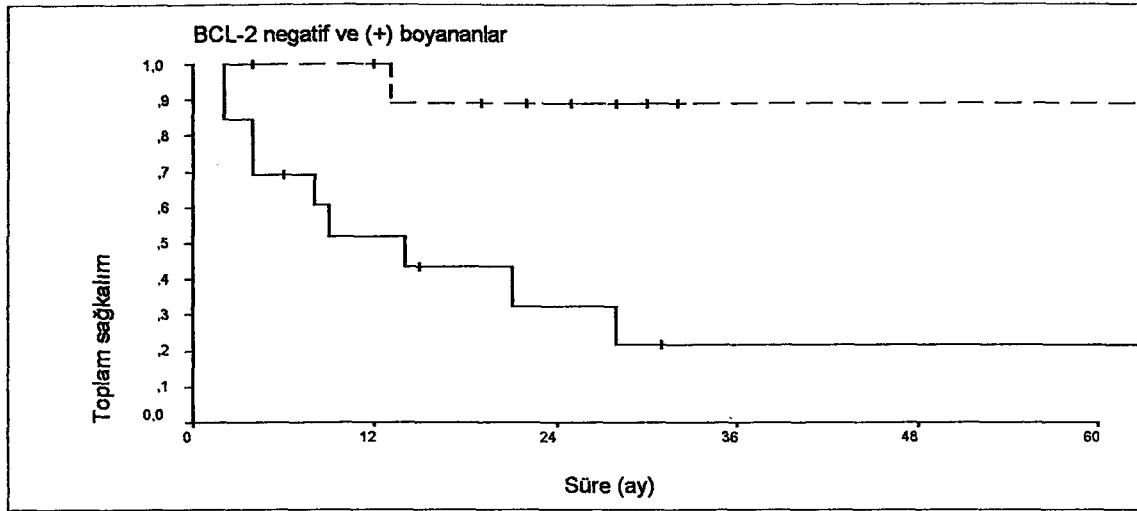
Fas boyanmasının diğer immünohistokimyasal boyamalarla kombine değerlendirildiği sağkalım analizlerinde: P53 pozitif hasta grubunda, Fas pozitif boyananların sağkalım oranı anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p:0.006). Bcl-2 negatif hasta grubunda da Fas pozitif boyanmasının sağkalımı olumlu etkilediği görüldü (p:0.004). P53 negatif olanlarda ve Bcl-2 pozitif olanlarda Fas boyanmasının prognoza bir etkisi olmadığı sonucu ortaya çıktı (p>0.05) (Şekil 9-12).



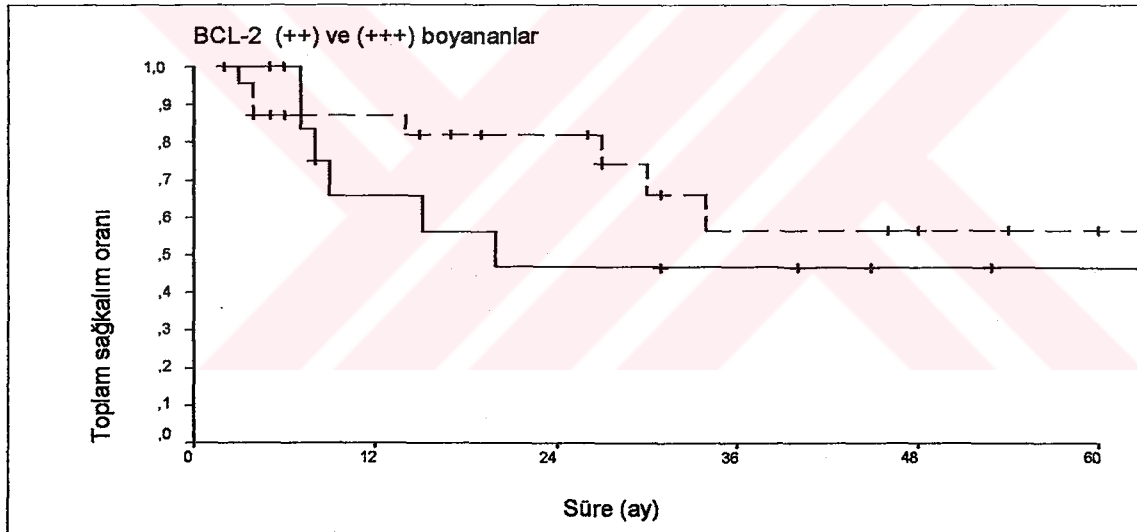
Şekil 6. p53 pozitif hastalarda Fas pozitifliğinin sağkalıma etkisi, $p:0.006$.---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar



Şekil 7. p53 negatif hastalarda Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar, $p > 0.05$.

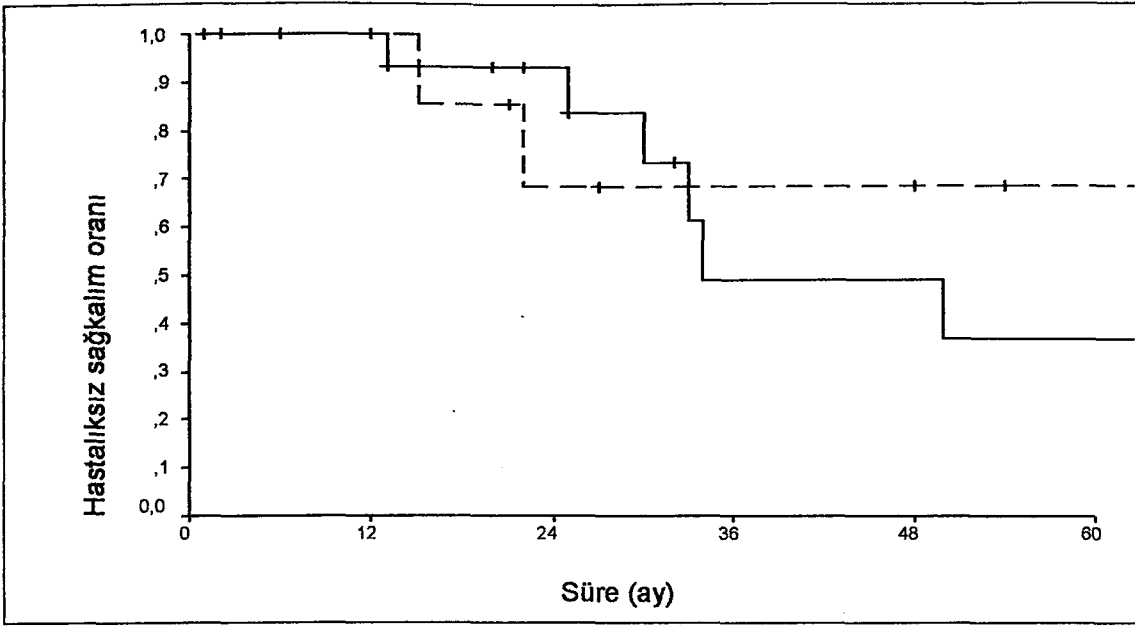


Şekil 8. Bcl-2 negatif hastalarda Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar, p:0.004

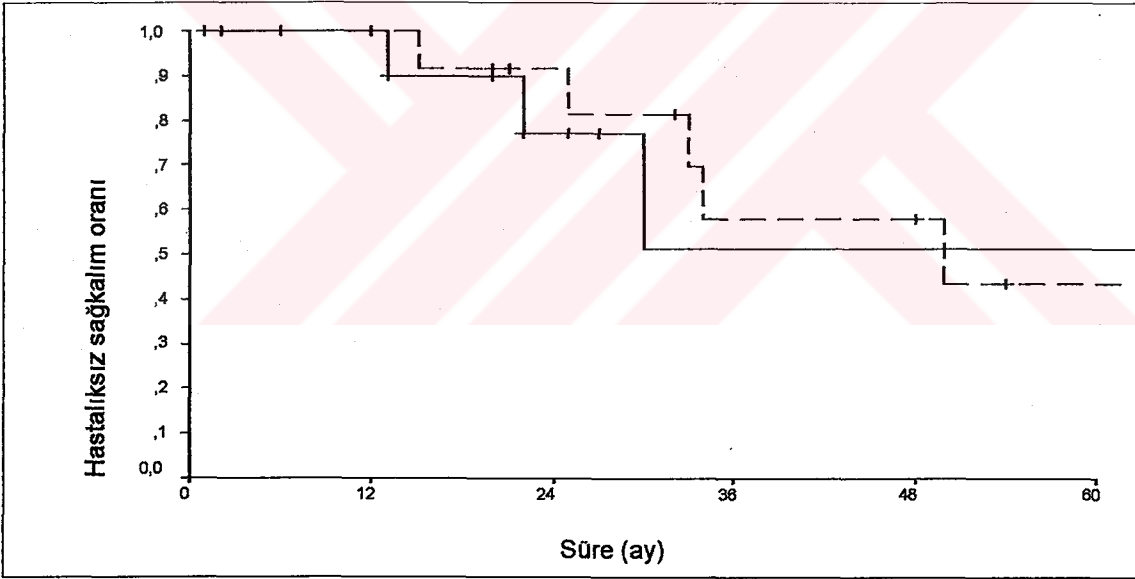


Şekil 9. Bcl-2 pozitif hastalarda Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi. ---- Fas pozitif hastalar, — Fas negatif hastalar, p >0.05

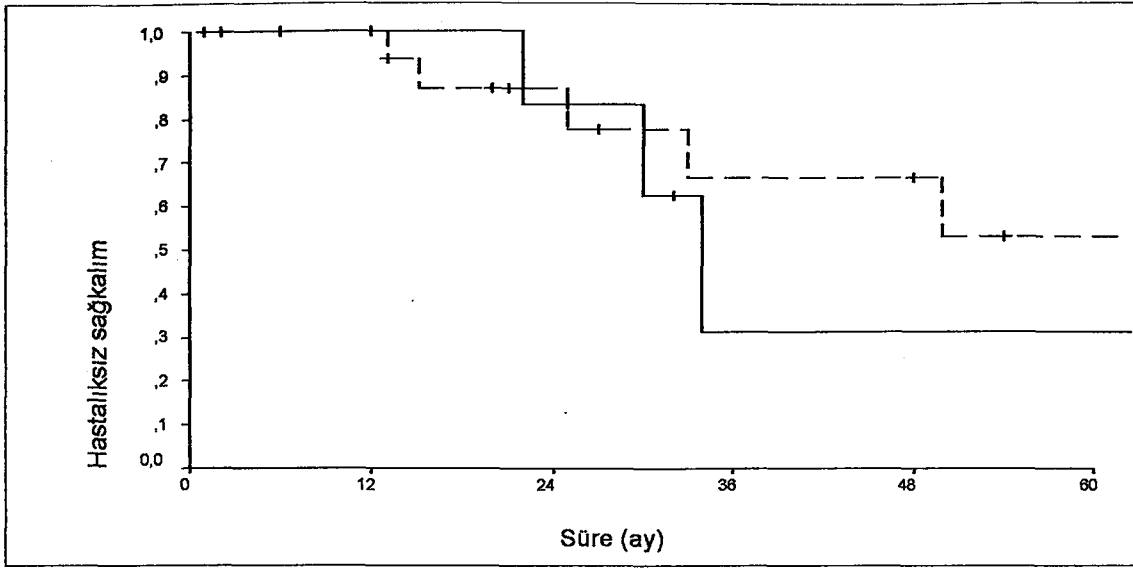
Olaysız sağkalım: Olaysız sağkalımı etkileyen faktörler açısından immünohistokimyasal boyalar ve IPI skorunu oluşturan parametrelere bakıldı. Faktörlerin hiçbirinin olaysız sağkalımı etkilemediği görüldü (Şekil 13-15).



Şekil 10. p53 pozitifliğinin olaysız sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- p53 pozitif hastalar, — p53 negatif hastalar



Şekil 11. bcl-2 pozitifliğinin olaysız sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- bcl-2 pozitif hastalar, — bcl-2 negatif hastalar



Şekil 12. Fas pozitifliğinin olaysız sağkalıma etkisi, $p > 0.05$. ---- Fas pozitif hastalar,
— Fas negatif hastalar

TARTIŞMA

Apopitoz ile ilgili genler ve bu genlerin eksprese ettiği proteinler içinde p53, bcl-2 ve Fas önemli bir yer tutar. Fas hücre membranından apopitozu başlatırken Bcl-2 mitokondri düzeyinde apopitozu engellemeye çalışır. P53 ise doğal bir tümör supresör genidir ve DNA hasarlarını onarmakla görevlidir. Eğer DNA hasarı fazlaysa hücreyi apopitoza götürür. Apopitozla ilişkili bu genlerin ve protein ekspresyonlarının bozulması, hücrelerde ölümün durmasına ve kontrolsüz çoğalmaya yol açarak kanser gelişiminde rol oynar. Kanserli hücrelerin de ölümünü geciktirerek hem bu hücrelerin birikmesine hem de çoğalmasına yardımcı olur. Programlı hücre ölümü, özellikle lenfoma patogeneğinde önemli bir yer tutar. İlave olarak metastaz biyolojisinde, kemoterapi ve radyoterapi cevabında da rolü vardır.

Apopitozla ilişkili genlerin ve protein ekspresyonlarının pozitifliği farklı anlamlar taşır ve kliniğe yansımaları da farklı şekillerde olabilir. p53 mutasyonu tümör baskılayıcı fonksiyonun bozulduğunu gösterir. Mutant p53 sonucu oluşan protein, hücre onarımı ve hasarlı hücrelerin apopitozunu gerçekleştiremez ve tümör oluşumu kolaylaştırır. Doğal p53'ün yarı ömrü kısadır ve immünohistokimyasal olarak gösterilmesi zordur. İmmünohistokimyasal yöntemlerle gösterilen mutant p53'dür.

Bcl-2 gen yeniden düzenlenmesi (rearanjman) ve bcl-2 protein ekspresyonu da apopitozun engellenmesi anlamını taşır. Bu şekilde malign hücreler uzun süre yaşar

ve birikirler. Bcl-2 gen ve protein bozuklukları özellikle lenfoma patogenezinde önemlidir.

Fas açısından durum bu ikisinden farklıdır. Normalde apoptozu başlatıcı görevi olan Fas ile ilişkili bir mutasyon olduğunda veya solubl Fas varlığında hücre apoptoza gidemez. İmmünohistokimyasal olarak gösterilen Fas ekspresyonu ise çoğunlukla bunların tam tersine apoptozun ve tümör hücresine karşı immün yanıtın göstergesidir.

Protein aşırı ekspresyonunu olması gende bir bozukluk olduğu anlamı taşımaz. Bu nedenden dolayı apoptoz genlerindeki bozukluklarla protein ekspresyonlarını ayrı değerlendirmek gerekir.

Bcl-2 protein ekspresyonu çoğu lenfoma türünde patogeneizde ve prognozda çok etkili iken bazı lenfoma türlerinde (özellikle gastrik lenfomalarda) etkisi daha azdır. Kramer ve arkadaşlarının çalışmasında (89) bcl2 protein ekspresyonu nodal tutulum olan hastalarda ektranodal tutulum olanlara göre daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada immünohistokimyasal olarak bcl-2 protein ekspresyonu gastrik lenfomalarda diğer ektranodal lenfomalara göre (%41-%100) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (90). Gaidano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da (91), MALT lenfomalarda bcl-1, bcl-2 ve c-myc genlerinin hiçbirisiyle spesifik bir ilişki saptanmamıştır.

Bcl-2 gen rearanjmanı tespiti dışında bazı faktörler de bcl-2 protein ekspresyonuna yol açabilmektedir. Diğer bir deyişle protein ekspresyonu olması gen mutasyonunun bir göstergesi olamaz. Fonksiyonu gösterdiği için prognostik parametre olma açısından protein ekspresyonu gen mutasyonundan daha önemlidir.

Geçmişteki bu tecrübeleri göz önüne alarak hasta grubumuzun daha homojen olması için yalnızca primer nodal difüz büyük B hücreli NHL'lı hastaları çalışmaya dahil edildi. Bu hastalarda apoptozla ilişkili protein ekspresyonlarının sağkalıma ve tedavi cevabına etkilerine bakıldı.

Bcl-2 gen ailesi içinde pek çok gen mevcuttur. Bunlardan bir kısmı apoptotik etkiye sahipken bir kısmı da apoptozu inhibe eder. Bu nedenle bazı çalışmalarda

prognostik öneme bakılırken bcl-2 ailesine ait birden fazla gen test edilmiştir. Bairey O ve arkadaşlarının çalışmasında (2), tek başına bcl-2 pozitifliğinin bağımsız prognostik faktör olmadığı görülürken. Bcl-2 ve bcl-x birlikte negatif olan hastalarda yaşam süresinin uzun olduğu, tam tersine bcl-2 ve bcl-x birlikte pozitif olan olgularda yaşam süresinin kısa olduğu görülmüştür.

Bcl-2 gen rearanjmanı foliküler lenfomaların karakteristik özelliğidir (92). Yüksek dereceli lenfomalarda da bcl-2 gen rearanjmanı gözlenebilir. Bunlardan bir kısmı foliküler lenfomadan dönüşüme uğramış hastalardır. Foliküler histopatolojiden büyük hücreli lenfomaya dönüşte bcl-2 ekspresyonu azalmaktadır (90). Ayrıca bcl-2 protein ekspresyonu ileri evre hastalıkta da çoğunlukla daha yüksek bulunur (92).

Çalışmamızda bcl-2 protein ekspresyonu varlığı ile toplam veya hastaliksız sağkalım arasında bir ilişki gözlenmedi. Bu durum iki şekilde yorumlanabilir: 1) bcl-2 apoptoza yol açan diğer gen ve proteinlerle denge halindeyse protein ekspresyonu tek başına prognostik faktör olarak belirlenmeyebilir. 2) bcl-2 antiapoptotik etkisini daha çok apoptozla ilişkili proteinlerin fonksiyonunu bozarak gerçekleştirmiş olabilir. Çalışmamızda da bcl-2 ile Fas birlikteliği olan vakalarda Fas pozitifliği sağkalımı etkilemezken bcl-2 negatif olan grupta Fas pozitifliğinin sağkalıma anlamlı bir katkısı olduğu bulunmuştur. Bu bulgu ikinci yorumu desteklemektedir. 3) bcl-2 negatif olan hastaların bir kısmı foliküler lenfoma orjinli olup histopatolojik olarak büyük hücreliye dönüşüm gösteren ileri evre hastalar olabilir. Bu durum da bcl-2'nin prognostik önemini maskeleyebilir. Bcl-2 gen yeniden düzenlenmesinin varlığı hastalığın foliküler lenfoma orjinli olduğunu gösterebilir. Bu çalışmada gen rearanjmanına bakılmadığı için bu konuyla ilgili bir yorum yapılamaz.

Bcl-2 ailesi dışında bazı apoptoz inhibitörleri de kanser hücrelerindeki bozulmuş apoptozdan sorumlu olabilir. Bunların en önemlilerinden birisi IAP grubudur (inhibitor of apoptosis). Survivin bu grubun bir üyesidir. Survivin'in non-Hodgkin lenfomalı hastalarda sağkalım üzerine etkisini araştıran 222 hastalık bir çalışmada survivin pozitifliği hem univariate hem de multivariate analizde bağımsız kötü prognostik faktör olarak bulunmuştur (93).

P53 mutasyonu veya protein ekspresyonu, özellikle B hücreli lenfomalarda daha önemlidir. İmmünohistokimyasal olarak P53 pozitifliği T hücreli lenfomalarda B hücrelilere göre daha az gözlenir. Pescarmona E. ve arkadaşlarının çalışmasında (94) primer nodal periferik T hücreli lenfomada P53 pozitifliği hastaların %20'sinde gözlenmiş ve %50'nin üzerinde p53 pozitifliği vakaların sadece %4.4'ünde saptanmıştır. Bu vakaların hiçbirinde PCR ile mutasyon saptanmamıştır.

p53 ekspresyonu için de mutlaka p53 mutasyonu olmasına gerek yoktur. Çeşitli faktörler doğal tip p53'ün yaşam süresini uzatarak veya fonksiyonunu bozarak tümör gelişimine katkıda bulunabilirler (95). P53 ekspresyonunun veya gen mutasyonunun ileri evre hastalıkta ortaya çıkma ihtimali daha yüksektir (96). p53 mutasyonu ayrıca histopatolojinin agresifleşmesine katkıda bulunarak (97) prognozu kötü yönde etkileyebilir.

Türkiye'den Hazar ve arkadaşları (98) gastrointestinal sistem lenfomalarında P53 boyanma ile klinik evre, tümör lokalizasyonu ve tümör yükü arasında bağlantı bulamamışlar fakat intermediate ve high grade lenfomalarda low grade lenfomalara göre p53 protein ekspresyonunun daha yüksek oranda olduğunu görmüşlerdir.

Hiçbir çalışmada p53 protein ekspresyonunun sağkalımı iyi yönde etkilediği görülmemiştir. Bu nedenle genel olarak bakıldığında p53 gen mutasyonu veya protein ekspresyonu NHL'li hastalar için kötü prognostik kriter olarak kabul edilebilir.

P53'ün immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi agresif NHL'da basit ve önemli bir prognostik marker olarak kullanılabilir. P53 mutasyonu olanlar veya p53 ekspresyonu pozitif bulunan agresif lenfomalı hastalara daha erken yoğun kemoterapi rejimleri uygulanması gerekir. Özellikle yüksek doz kemoterapi verilenlerde p53 dışında başka yollarla apoptoz oluşturulabilir.

Çalışmamızda p53 pozitifliğini oldukça düşük bir oranda gözlendik. p53 pozitifliği hem toplam hem de hastaliksız sağkalımı olumsuz etkileme eğiliminde olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmadı.

P53 ve bcl-2'nin sağkalım süreleri üzerine etkilerini hangi yolla yaptıkları çok açık değildir. Spekölasyonlardan biri ilaç direnci üzerine etkileri olduğudur. Wyndham H. ve arkadaşları (5) relaps veya refrakter NHL hastalarında p53 mutasyonu, p53 aşırı ekspresyonu, bcl-2 ekspresyonu ve tümör proliferasyonu ile klinik ilaç rezistansı ilişkisine bakmışlardır. Hastaların p53 anomalitesi (mutasyon veya aşırı ekspresyon) ile ilaç rezistansı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Diğer taraftan bcl-2 ekspresyonu ile ilaç rezistansı arasında ilişki gözlenmemiştir. Navaratnam S. ve arkadaşlarının çalışmasında da (99) immünhistokimyasal olarak P53 pozitifliği olanlarda kemoterapiye tam cevap elde etme yüzdesi daha düşük bulunmuştur. Ayrıca p53 pozitifliği olanlarda p53 pozitifliği olmayanlara göre nüks oranı yüksek olup (%60--%26) ortalama nüks süresi de kısa bulunmuştur. Bu sonuçların tersine p53 ekspresyonu ile ilaç direnci arasında ilişki olmadığını savunan yayımlar da vardır (100).

Çalışmamızda p53 ve bcl-2'nin ilaç direnci üzerine etkileri indirekt olarak test edildi. Performans durumu kötü olan hastalar, ileri evre hastalık, B semptomu pozitifliği, kemik iliği tutulumu olması, LDH yüksekliği, IPI skorunun yüksek-orta veya yüksek olması ve immünhistokimyasal olarak Fas negatif boyanması tam remisyona elde edilmesi açısından kötü prognostik faktörler olarak bulundu. Analizde p53 ve bcl-2 pozitifliğinin tam remisyona elde edilmesine etkisi olmadığı görüldü. Bu durum hastalarımızda p53 ve bcl-2'nin ilaç direncine direkt etkisi olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Fas (CD95/APO-1) özellikle lenfositlerin apoptozu ile ilişkili bir proteindir. Fas aracılı apoptoz, sitotoksik T hücrelerinin tümör hücrelerini öldürmesine katkıda bulunur (101, 102) Fas dinlenme halindeki T ve B lenfositleri ve monositlerde yaklaşık %30-40, doğal öldürücü lenfositlerde (NK) %5 oranında eksprese edilirken, aktive T ve B lenfositlerinde ekspresyon oranları %80-90'dır. Aktive NK hücrelerinde de ekspresyonu artar (103).

Bir çalışmada p53 +/- farelerde FasL eksikliğinin tümör gelişme olasılığını (ön planda sarkomlar) arttırdığı gösterilmiştir (104). Fas'ın apoptoz yolundaki etkilerinden dolayı NHL patogenezindeki etkileri de araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalardan bazıları Fas'ın NHL patogenezinde rolü olabileceğini göstermektedir.

Özellikle T hücreli lenfomalarda belirgin bir ilişki var gibi görünmektedir. Nazal NK/T hücreli lenfomada yüksek oranda (%50) Fas gen mutasyonu tespit edilmiştir (105). Benzer şekilde Epstein-Barr virus (EBV)-ilişkili lenfomada da Fas aracılı apoptoz mekanizmasının bozuk olduğu gösterilmiştir (106). T hücreli deri lenfomalarında ise CD4 pozitif hücrelerde Fas ile ilişkili apoptoz sistemi bozulmuştur (107). MALT tip lenfoma gelişiminde de Fas aracılı apoptozun rolü olabileceği gösterilmiştir. (108).

Fas veya Fas-L gen mutasyonlarının otoimmün lenfoproliferatif sendroma yol açtığı iyi bilinmektedir. Bununla birlikte bu hastalarda lenfoma gelişimi nadirdir (109). Bu bulgu lenfoma patogenezinde Fas gen mutasyonunun tek başına rolü olmadığını, patogeneizde başka mekanizmaların da ortak rolü olduğunu düşündürmektedir.

Çeşitli kanser türleri apoptozdan kaçmak için Fas aracılı apoptoza direnç geliştirirler. Direnç mekanizmaları çeşitlidir ve reseptör öncesi veya sonrası mekanizmalarla oluşabilir. Reseptör sonrası: Fas ilişkili fosfataz (FAP-1) aşırı ekspresyonu, intrastoplazmik sinyal gönderici parçası eksik olan Fas reseptör ekspresyonu, bcl-2 aşırı ekspresyonu veya bcl-X_L ekspresyonu ya da IAP veya FLIP ekspresyonları ile Fas aracılı apoptoz engellenebilir.

Direnç mekanizmalarından biri hücre içi ölüm sinyal bölgesinin eksik olmasıdır. (110). Aynı bölgedeki mutasyonlar da çeşitli hematolojik malignitelerde Fas aracılı apoptoza direnç mekanizmasını oluşturur. (111).

Reseptör öncesi: İntrasellüler IL-1beta artışının da Fas aracılı apoptozu inhibe ettiği Niitsu N, ve ark (112) tarafından lenfoma hücre kültürlerinde gösterilmiştir. Bu etkinin nasıl gerçekleştiği bilinmemektedir.

Tümör hücreleri tarafından salınan soluble Fas (sFas) proteini Fas aracılı apoptoza direnç mekanizmalarından en önemlisidir. sFas normal uzunluktaki Fas'dan farklı olarak Fas proteininin transmembran parçasını içermez. Bu özelliği nedeniyle Fas-liganda bağlanmasına rağmen apoptoz gerçekleşmez. Kanser hücreleri bu şekilde kendilerini apoptozdan koruyabilirler (113). sFas meme, kolon kanserleri, malign melanom, T ve B hücreli lösemiler gibi pek çok kanser türünde gösterilmiştir (114).

sFas seviyesi ALL'li ve NHL'li hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunur (115). Yüksek sFas seviyesi hastalık evresi ve progresyonuyla artmaktadır. Hastalar remisyona girdiğinde sFas düzeyleri azalmaktadır. Hara T. ve arkadaşlarının çalışmasında (116) sFas seviyesi 4 microg/l'nin altında olanlarda sağkalımın daha iyi olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada B ve T hücreli gruplar arasında ve erken veya ileri evre hastalıkta serum sFas düzeyleri arasında fark bulunamamıştır.

Agresif lenfomalarda sFas düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olup yüksek grade'li hastalarda da düşük grade'li olanlara göre daha yüksek bulunur. sFas seviyelerinin tedaviye yanıt alınan hastalarda düştüğü, progresyon gözlenen hastalarda ise arttığı görülmüştür (117).

Fas ekspresyonu aktif protein varlığını gösterir ve tümöre karşı immün cevabın bir göstergesidir. Fas ekspresyonu çoğu tümörde gösterilmiştir, ancak sağkalıma etkisi değişkendir. Jackel MC. Ve arkadaşlarının çalışmasında (6), larinks skuamöz hücreli karsinomda Fas ekspresyonunda artış tespit edilmiş, fakat Fas ekspresyonu ile sağkalım ve tümördeki apoptoz arasında bir ilişki saptanmamıştır. Mottolese M ve ark. (8) meme kanserinde Fas ve Fas-L ekspresyonunun sağkalıma etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada Fas-L pozitifliği ile metastatik lenf nodu ve daha büyük tümör kitlesi arasında pozitif birliktelik tespit edilirken tam tersine Fas pozitifliği ile nod negatifliği ve daha küçük tümör boyutu arasında birliktelik saptanmıştır. Ayrıca Fas pozitif tümöre sahip hastalarda hastaliksız sağkalım süresinin Fas negatif olanlara göre daha uzun olduğu bulunmuştur. Koomagi R ve Volm M.' ün (7) non-small cell akciğer kanserli hastalar üzerinde yaptığı çalışmada da Fas pozitifliği olanlarda negatif olanlara göre sağkalım belirgin olarak uzun bulunmuştur. Fas ve Fas-L immünohistokimyasal ekspresyonu ile yaş, evre ve histolojik tip arasında korelasyon saptanmamıştır. Fas ve Fas-L tek başlarına lenf nodu metastazı açısından fazla etkili bulunmazken ikisi kombine edildiğinde Fas ve Fas-L negatif olan grupta Fas ve Fas-L pozitif olan gruba göre lenf nodu metastazının daha fazla olduğu görülmüştür.

Shibakita M ve ark. (9) çalışmasında özefagus karsinomunda pozitif Fas ekspresyonunun daha az invazyon derinliği, iyi diferansiye tümör varlığı ve daha az lenf nodu metastazı ile birlikte olduğu görülmüştür. Fas ekspresyonu hastaliksız ve toplam sağkalım açısından da olumlu bir prognostik faktör olarak bulunmuştur. Fas pozitifliğinin değişik kanser türlerinde prognozu olumlu etkilemesi Fas aracılıklı apoptozun T hücrelerinin tümör hücrelerini öldürmesine olumlu yönde katkısı ile açıklanabilir.

Fas aracılıklı apoptoz yolunun inhibisyonu NHL patogenezinde rol oynarken, Fas-L mutasyonlarının ise hem lenfoma patogenezinde hem de Fas direncinde rolü sınırlıdır. Bir çalışmada 111 NHL'lı hastadan yalnızca birinde mutasyon tespit edilmiştir (118). Diğer taraftan Fas-L ekspresyonu mutasyondan bağımsız olarak NHL'da prognostik önem taşıyabilir. Ni X ve arkadaşlarının çalışmasında (119) mycosis fungoides (MF)'de Fas-L ekspresyonunun normal kontrole göre arttığı ve buna paralel olarak CD8+ T hücrelerinin azaldığı görülmüştür. MF hücrelerinin immün sistemden kaçmak amacıyla Fas-L eksprese ettikleri düşünülmektedir. NHL'da da Fas antijeni varlığı tümöre karşı artmış immün cevabın bir göstergesi olabilir (120). Fas-L ekspresyonu ise Fas'ın tersine apoptozdan kaçış şeklinde yorumlanabilir.

Fas mutasyonu veya ekspresyonu bazı çalışmalarda yüksek grade veya ileri evreyle ilişkili bulunmamıştır. Do B ve arkadaşlarının çalışmasında (121) foliküler lenfomalarda morfolojik transformasyon durumunda Fas ile ilişkili yeni bir mutasyon ortaya çıkmadığı görülmüştür. Bu görüşün aksine bazı çalışmalarda progresyonla birlikte Fas gen mutasyonunun arttığı görülmüştür (122). High grade lenfomalarda low grade lenfomalara göre Fas ekspresyon oranı daha az bulunmaktadır. CD95 ekspresyonunda veya fonksiyonunda azalma olması daha agresif tümör histopatolojisi ile birlikte olabilir. (123).

Fas ve Fas-L yolu kemoterapötiklerin etki mekanizmasında önemli bir yer tutar. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde Fas ve Fas-L birlikte pozitif olanlarda negatif olanlara göre ilaç sensitivitesinin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (%30'a karşı %18) (7). Zhu HL ve arkadaşlarının (124) mürin lenfoma hücrelerine uygulanan çeşitli kemoterapötiklerin hangi apoptoz yolunu etkilediğini inceledikleri

çalışmasında deksametazon ve VP-16'nın Fas ve Fas-L ekspresyonunu arttırdığı, bcl-2 ekspresyonunu ise etkilemediği görülmüştür. ATRA, bcl-2 düzeyini azaltarak etki etmekte fakat apopitoz yapmamaktadır. IL-2, IL-6 ve GM-CSF de Fas yolunu aktifleştirmekte fakat apopitoza yol açmamaktadır. As₂O₃ ise hiçbirini etkilememiş fakat apopitoza yol açmıştır. Bu bulgular çeşitli kemoterapötiklerin apopitozla ilişkili farklı proteinleri aktifleştirdiğini göstermektedir. Bu nedenle tedavide seçilecek olan ajanların farklı apopitoz yollarını kullanan ilaçlar olması tedavi etkinliğini arttırabilir.

Fas direncinin derecesi ile kemoterapi direncinin derecesi arasında direkt korelasyon tespit edilmiştir (125). Çalışmamızda da Fas pozitif hastalarda remisyon elde etme ihtimali Fas negatif olan gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu durum Fas negatif olan hastalarda kemoterapi rezistansı gelişmesiyle açıklanabilir.

CD95 (Fas) pozitif bulunan T hücreli deri lenfomalarında fotofereze tedavi cevabı Fas negatif olanlara göre daha iyidir (126). Radyoterapinin de etki mekanizmalarından biri Fas aracılı apopitozun uyarılmasıdır (127) AIDS ile ilişkili primer santral sinir sistemi lenfomasında da radyasyon ve IL-2 gibi sitokinlere maruziyette Fas ekspresyonu ve buna bağlı apopitozun aktifleştiği gösterilmiştir (128).

Çalışmamızda Fas pozitifliği hastaliksız sağkalımı anlamlı olarak etkilemezken toplam sağkalımı olumlu etkilediği görüldü. Muhtemelen Fas pozitif olan hastalarda kemoterapi cevabı daha iyi olmaktadır. Remisyon elde edilen hastalarda toplam sağkalım süresi daha uzun olduğundan genel olarak toplam sağkalım süresi de artmaktadır.

Yapılan bazı çalışmalarda bcl-2'nin Fas aracılı apopitozu azalttığı yönünde veriler mevcuttur. Jurkat lenfoma hücreleriyle yapılan deneysel çalışmalarda anti-Fas monoklonal antikoruyla indüklenen apopitozun bcl-2 aşırı ekspresyonuyla engellenebildiği gösterilmiştir (129) Bcl-2 ile Fas birlikteliği olan vakalarda Bcl-2 lenfoma hücrelerini Fas aracılı apopitozdan korumaktadır. Bcl-2'nin Fas aracılı apopitozu kısmi olarak bloke ettiğine dair başka yayınlar da mevcuttur (130, 131). B hücreli deri lenfomalarında da Fas ekspresyonu olması iyi, bcl-2 ve Fas-L ekspresyonu birlikteliği kötü prognozla birlikte bulunmuştur (132).

Bizim çalışmamızda Bcl-2 negatif hasta grubunda Fas pozitif olanlarda prognoz Fas negatif olanlara göre anlamlı olarak iyi bulunurken Bcl-2 pozitif olan hastalarda Fas pozitifliğinin sağkalımı etkilemediği görülmüştür. Sonuçlarımız Bcl-2'nin Fas aracılı apoptozu engellediği görüşünü desteklemektedir.

Bazı çalışmalarda Fas mutasyonu veya sFas düzeyi yüksekliği ile ektranodal tutulum ve otoimmün hadiseler arasında da ilişki bulunmuştur (133). Bazı yayınlarda da B semptom pozitifliği olanlarda serum soluble Fas seviyesinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (116). Bununla birlikte, serum sFas düzeyinin klinik ve laboratuvar parametreleriyle ilişkisi olmadığı yönünde çalışmalar da mevcuttur. (134). sFas düzeyindeki artışın B semptomu varlığı, klinik evre, histolojik alt tip gibi prognostik faktörlerle veya tedavi yanıtı ve yanıt süresiyle ilişkili olmadığını görmüşlerdir. Biz de çalışmamızda Fas pozitifliği ile B semptomu varlığı arasında bir ilişki gözlemedik.

Literatürde mevcut olan Bcl-2, p53 ve Fas ile ilgili önemli çalışmalar ve bunlara ait sonuçlar Tablo 15-17'de özetlenmiştir.

Tablo 15. Bcl-2 gen yeniden düzenlenmesi ve protein ekspresyonu ile ilgili çalışmalar.

Yazar	Hasta grubu	Parametrenin bakulma yolu	Bcl-2 pozitifliğinin hastalaksız sağkalıma etkisi	Bcl-2 pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi	Yorum
Bairey O ve ark. (2)	44 difüz büyük B hücreli NHL	Protein ekspresyonu	-	Kısa	Multivariate analizde bcl-2 pozitifliği bağımsız prognostik faktör değil. Bcl-2 ve bcl-x birlikte pozitif olan olgularda yaşam süresi daha kısa.
Gascoyne RD ve ark. (135)	139 difüz büyük B hücreli, ileri evre hasta	Bcl-2 gen rearanjmanı ve protein ekspresyonu	Gen rearanjmanın etkisi yok. Protein ekspresyonu olanlarda kısa sağkalım	Gen rearanjmanı etkisiz, protein ekspresyonu olanlarda kısa sağkalım	Prognostik parametre olma açısından protein ekspresyonu gen mutasyonundan daha önemli görülmektedir.
Kramer MH ve ark. (89)	372 difüz büyük hücreli NHL	Protein ekspresyonu	Kısa	Etkisi yok	Bcl-2 protein ekspresyonu nodal tutulum olan hastalarda ektranodal tutulum olan hastalara göre daha yüksek oranda tespit edilmiştir.
Zhang A ve ark. (136)	76 difüz büyük B hücreli	Protein ekspresyonu	Etkisi yok	Etkisi yok	
Llancos M ve ark. (92)	104 foliküler ve difüz büyük hücreli NHL	Protein ekspresyonu	-	Etkisi yok	Foliküler lenfoma hastalarının %93'ünde bcl-2 pozitif. Difüz büyük B hücreli hastalarda yüksek bcl-2 ekspresyonu evre III ve IV hastalarda daha fazla oranda gözlenmiştir (p = 0.03).
Cogliatti SB ve ark. (90)	55 ektranodal NHL	Protein ekspresyonu	-	-	Bcl-2 protein ekspresyonu gastrik lenfomalarda diğer ektranodal lenfomalara göre (%41-%100) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur.
Sohn SK ve ark. (137)	94 yeni tanı difüz büyük hücreli NHL	Protein ekspresyonu	-	Etkisi yok	Bcl-2 düşük ve düşük-orta IPI skoruna sahip hastalarda kötü prognostik faktör olarak belirlenmiştir.

Tablo 16. P53 gen yeniden düzenlenmesi ve protein ekspresyonu ile ilgili çalışmalar.

Yazar	Hasta grubu	Bakılan parametre	P53 pozitifliğinin hastaliksız sağkalma etkisi	P53 pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi	Yorum
Kramer MH ve ark. (89)	372 büyük hücreli NHL	Protein ekspresyonu	-	Etkisi yok	P53'ün tam remisyon elde edilmesine etkisi yok
Zhang A ve ark. (136)	76 difüz büyük B hücreli NHL	Protein ekspresyonu	Kısa	Etkisi yok	P53 pozitifliği difüz büyük B hücreli lenfomada prognostik marker olarak kullanılabilir.
Hazar ve ark. (98)	52 gastrointestinal NHL	Protein ekspresyonu	-	-	P53 boyanma ile klinik evre, tümör lokalizasyonu ve tümör yükü arasında bağlantı yok. High grade lenfomalarda low grade lenfomalara göre p53 protein ekspresyonu daha yüksek oranda.
Navaratnam S. ve ark. (99)	50 agresif NHL	Protein ekspresyonu	Kısa	-	P53 pozitifliği olanlarda kemoterapiye tam cevap elde etme yüzdesi daha düşük.
Llanos M ve ark. (92)	104 foliküler ve difüz büyük hücreli NHL	Protein ekspresyonu	-	Etkisi yok	Yüksek p53 ekspresyonu olanlarda düşük ve orta düzeyde ekspresyon olanlara göre progresyona kadar geçen süre daha kısa
Chen ve ark. (4)	Agresif NHL	Protein ekspresyonu	-	Kısa	P53 pozitifliği olanlarda tam cevap elde etme yüzdesi daha düşük.

Tablo 17. Fas gen yeniden düzenlenmesi ve protein ekspresyonu ile ilgili çalışmalar.

Yazar	Hasta grubu	Parametrenin bakılma yolu	Fas pozitifliğinin hastaliksız sağkalıma etkisi	Fas pozitifliğinin toplam sağkalıma etkisi	Yorum
Hara T, ve ark. (116)	Karışık NHL	Serumda sFas düzeyi	-	Kötü	sFas seviyesi 4 microg/l'nin altında olanlarda sağkalım daha iyi.
Jackel MC. Ve ark. (6)	Laryngeal skuamöz hücreli karsinom	İmmün-histokimyasal	-	Etkisi yok	Fas immün sistemi uyarmakta ve buna bağlı lenfosit cevabı artmaktadır. Fakat bu durum her zaman sağkalıma etki etmeyebilir.
Mottolose M ve ark. (8)	Meme kanseri	İmmün-histokimyasal	Uzun hastaliksız sağkalım	Etkisi yok	Fas pozitifliği ile nod negatifliği ve daha küçük tümör boyutu arasında birliktelik saptanmıştır
Koomagi R ve Volm M. (7)	Non-small cell akciğer kanseri	İmmün-histokimyasal	-	Uzun toplam sağkalım	Fas ve Fas-L ekspresyonu ile yaş, evre ve histolojik tip arasında korelasyon yok. Fas ve Fas-L negatif olan grupta Fas ve Fas-L pozitif olan gruba göre lenf nodu metastazının daha fazla olduğu görülmüştür.
Shibakita M ve ark. (9)	Özefagus karsinomu	İmmün-histokimyasal	Uzun hastaliksız sağkalım	Uzun toplam sağkalım	Pozitif Fas ekspresyonu daha az invazyon derinliği, iyi diferansiye tümör varlığı ve daha az lenf nodu metastazi ile birlikte bulunmuştur.
Niitsu N ve ark. (112)	Agresif NHL	sFas	Hastaliksız sağkalım oranı düşük	Toplam sağkalım oranı düşük	sFas seviyesi yüksek olanlarda tam remisyon elde etme şansı azalıyor.
Mevcut çalışma	Difüz büyük B hücreli lenfoma	İmmün-histokimyasal	Hastaliksız sağkalım oranları farksız	Toplam sağkalım oranı yüksek	Fas pozitifliği iyi prognostik faktör. Fas ile Bcl-2 birlikteliği varsa Fas pozitifliğinin olumlu etkisi ortadan kalkıyor.

SONUÇLAR

1) Performans durumu ECOG 0-1 olan hastalar (p:0.0001), B semptomu olmaması (p:0.0001), IPI skorunun düşük veya düşük-orta olması (p:0.001), LDH değerinin normal sınırlarda olması (0.009), evre I-II hastalık (p:0.01), Fas pozitifliği (p:0.023), en fazla bir ekstralenfatik organ tutulumu olması (p:0.03), kemik iliği tutulumu olmaması (p:0.03), erkek cins (p:0.05) lojistik regresyon analizinde tam cevap elde etme olasılığını arttıran faktörler olarak bulundu.

2) P53, bcl-2 veya Fas pozitif boyanması ile yaş, ECOG performans durumu, B semptomu pozitifliği, birden fazla ektranodal organ tutulumu olması, LDH yüksekliği ve kemik iliği tutulumu mevcudiyeti arasında ilişki tespit edilmedi.

3) Fas ile pozitif boyanma, erken evre hastalıkta (erken evrede %72, ileri evrede %45) ve IPI skoru düşük ve düşük-orta olanlarda daha yüksek bulundu (düşük ve düşük-orta IPI skorunda %68, yüksek-orta ve yüksek IPI skorunda %41).

4) Tüm hastalar değerlendirildiğinde 5 yıllık tahmini sağkalım olasılığı %52.2 idi.

5) p53 ve bcl-2 pozitifliğinin sağkalımı etkilemediği, Fas pozitif boyananlarda ise sağkalım olasılığının Fas negatifliği olan hastalara göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü (p: 0.007).

6) Cox multivariate analizde Fas pozitifliği (p: 0.039) ve ECOG performans durumu (p: 0.01) toplam sağkalımı etkileyen bağımsız prognostik değişkenler olarak bulundu.

7) Yaşı altmıştan küçük olan hastalarda (p: 0.0028), kadın cinste (p: 0.018), B semptomu pozitif vakalarda (0.0029) Fas ile pozitif boyanmanın daha uzun sağkalım ile birlikte olduğu görüldü.

8) P53 pozitif hasta grubunda, Fas pozitif boyananların sağkalım oranı anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p:0.006).

9) Bcl-2 negatif hasta grubunda da Fas pozitif boyanmasının sağkalımı olumlu etkilediği görüldü (p:0.004).

10) p53 negatif olanlarda ve Bcl-2 pozitif olanlarda Fas boyanmasının prognoza bir etkisi olmadığı sonucu ortaya çıktı (p>0.05).

11) immünohistokimyasal boyalar ve IPI skorunu oluşturan parametrelerin olaysız sağkalımı etkilemediği görüldü.

KAYNAKLAR

- 1) A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International non-Hodgkin's Lymphoma Project. N Engl J Med 1993; 329: 987-94.
- 2) Bairey O, Zimra Y, Shaklai M, Okon E, Rabizadeh E. Bcl-2, Bcl-X, Bax, and Bak expression in short- and long-lived patients with diffuse large B-cell lymphomas. Clin Cancer Res. 1999; 5: 2860-66.
- 3) Menegazzi M, Scarpa A, Prati AC, Menestrina F, and Suzuki H. Correlation of Poly (ADP-ribose) polymerase and p53 Expression Levels in High-Grade Lymphomas. Mol. Carcinog. 1999; 25: 256-61.
- 4) Chen PM, Chiou TJ, Hsieh RK, et al. p53 Gene Mutations and Rearrangements in Non-Hodgkin's Lymphoma. Cancer 1999; 85: 718-24.
- 5) Wilson WH, Feldstein JT, Fest T, et al. Relationship of p53, *bcl-2*, and Tumor Proliferation to Clinical Drug Resistance in Non-Hodgkin's Lymphomas. Blood 1997; 89: 601-9.

- 6) Jackel MC, Mitteldorf C, Schweyer S, Füzesi L. Clinical relevance of FAS (Apo-1/CD95) expression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2001; 23: 646-52.
- 7) Koomagi R, Volm M. Expression of Fas (CD95/APO-1) and Fas ligand in lung cancer, its prognostic and predictive relevance. *Int J Cancer* 1999; 84: 239-43.
- 8) Mottolese M, Buglioni S, Bracalenti C, et al. Prognostic relevance of altered Fas (CD95)-system in human breast cancer. *Int J Cancer* 2000; 89:127-32.
- 9) Shibakita M, Tachibana M, Dhar DK, et al. Prognostic significance of Fas and Fas ligand expressions in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2464-69.
- 10) Freedman AS, Nadler LM. Non-Hodgkin's lymphomas. In: Bast RC, Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Holland JF, Frei E (eds), *Cancer Medicine* (5th ed) B.C.Decker inc, Canada 2000, pp.2034-58.
- 11) Bociek RG, Armitage JO. Non-Hodgkin's lymphomas. In: Handin RI, Lux SE, Stossel TP (eds), *Blood; Principles and Practice of Hematology* (2nd ed) Lippincot Williams&Wilkins, Philadelphia 2003, pp 861-87.
- 12) Eser B, Çetin M, Ünal A, ve ark. Primer nodal ve ektranodal non-hodgkin lenfomalı hastaların klinik, histopatolojik özellikler ve sağkalım yönünden karşılaştırılması. *Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi (THOD)* 2001; 11: 126-32.
- 13) Non-Hodgkin's lymphoma pathologic classification Project. National Cancer Institute-sponsored study of classifications of non-hodgkin's lymphomas: summary and description of a Working Formulation for clinical usage. *Cancer* 1982; 49: 2112-35.
- 14) Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-92.

- 15) Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. The World Health Organization classification of hematological malignancies. Report of the Clinical Advisory committee Meeting; Airlie House, Virginia, November,1997. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3835-49.
- 16) Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-57.
- 17) Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease. *Am J Med.* 1999;107:489-506.
- 18) Nai-Kang KBS, Passaro E. Apoptosis: Programmed cell death. *Arch Surg* 1998; 133: 773-75.
- 19) Peter ME, Heufelder AE, Hengartner MO. Advances in apoptosis research. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 12736-7.
- 20) Nunez G, Hockenbery D, McDonnell TJ, Sorensen CM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 maintains B cell memory. *Nature* 1998; 353: 71-3.
- 21) Adams JM, Cory S. The Bcl 2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281: 1322-6.
- 22) Geske FJ, Gerschenson LE. The Biology of Apoptosis. *Hum Pathol* 2000; 32: 1029-38.
- 23) Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death *Pharmacol Ther* 2001; 92: 57-70.
- 24) Andrikoula M, Tsatsoulis A. The role of Fas-Mediated apoptosis in thyroid disease. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 561-8.

- 25) Porte AG, Ng P, Janicke RU. Death substrates come alive. *Bioessays* 1997; 19: 501-7.
- 26) Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates and functions during apoptosis. *Ann Rev Biochem* 1999; 68: 383-424.
- 27) Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1999; 15: 269-90.
- 28) Liu X, Zou H, Slaughter J, Wang X. DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 trigger DNA fragmentation during apoptosis. *Cell* 1997; 89: 175-84.
- 29) Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1998; 391: 43-50.
- 30) Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN. Bcl-2: role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 1996; 27: 102-10
- 31) Schmitz I, Kirchhoff S, Krammer PH. Regulation of death receptor-mediated apoptosis pathways. *Int J Biochem Cell Biol*. 2000; 32: 1123-36.
- 32) Uhlmann EJ, T. Subramanian, Vater CA, Lutz R, Chinnadurai G. A potent cell death activity associated with transient high level expression of Bcl-2. *J Biol Chem* 1998; 278: 17926-32.
- 33) Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science*. 1984; 226:1097-9.

- 34) Bretz JD, Arscott PL, Myc A, Baker JR. Inflammatory Cytokine Regulation of Fas-mediated Apoptosis in Thyroid Follicular Cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 25433-8.
- 35) Oehm A, Behrmann I, Falk W, et al. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Sequence identity with the Fas antigen. *J Biol Chem* 1992; 267: 10709-15.
- 36) Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998; 281: 1305-8.
- 37) Ashkenazi A, Dixit VM. Apoptosis control by death and decoy receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11: 255-60.
- 38) Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 1993; 75: 1169-78.
- 39) Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Los M, Wesselborg S, Peter ME. Apoptosis signaling by death receptors. *Eur J Biochem* 1998; 254: 439-9.
- 40) Peter ME, Krammer PH. Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis. *Curr Opin Immunol* 1998; 10: 545-1.
- 41) Rodriguez J, Lazebnik Y. Caspase-9 and APAF-1 form an active holoenzyme. *Genes Dev* 1999; 13: 3179-84.
- 42) Reed JC. Bcl-2 family proteins. *Oncogene* 1998; 17: 3225-36.
- 43) Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 1999; 13: 1899-911.

- 44) Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature* 1999; 399: 483-7.
- 45) Micheau O, Hammann A, Solary E, Dimanche-Boitrel MT. STAT-1 independent upregulation of FADD and procaspase-3 and -8 in cancer cells treated with cytotoxic drugs. *Biochem Biophys Res Comm* 1999; 256: 603-7.
- 46) Gibson S, Tu S, Oyer R, Anderson Sm, Johnson Gl. Epidermal growth factor protects epithelial cells against Fas-induced apoptosis. Requirement for Akt activation. *J Biol Chem* 1999; 274: 17612-8.
- 47) Kennedy SG, Kandel Es, Cross TK, Hay N. Akt/protein kinase B inhibits cell death by preventing the release of cytochrome C from mitochondria. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 5800-10.
- 48) Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis. *Genes Dev* 1999; 13: 239-52.
- 49) Strand S, Hofmann WJ, Hug H, et al. Lymphocyte apoptosis induced by CD 95(APO-1/Fas) ligand-expressing tumor cells-a mechanism of immune evasion? *Nature Med* 1996; 2: 1361-6.
- 50) Pitti RM, Marsters SA, Lawrence DA, et al. Genaomic amplification of a decoy reseptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature* 1998; 396: 699-703.
- 51) Fanidi A, Harrington Ea, Evan GI. Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 protooncogenes. *Nature* 1992; 359: 554-6.
- 52) Cory S, Vaux DL, Strasser A, Haris AW, Adams JM. Insight from Bcl-2 and Myc: malignancy involves abrogation of apoptosis as well as sustained proliferation. *Cancer Res* 1999; 59: 1685s-92s.

- 53) Klohn PC, Bitsch A, Neumann HG. Mitochondrial permeability transition is altered in early stages of carcinogenesis of 2-acetylaminofluorene. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1185-90.
- 54) Bedi A, Basricha PJ, Akhtar AJ, et al. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 1811-6.
- 55) Kluck RM, Wetzell EB, Green DR, Newmeyer DD. The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for bcl 2 regulation of apoptosis, *Science* 1997; 275: 1132-6.
- 56) Huang DCS, O'Reilly LA, Strasser A, Cory S, The anti-apoptosis function of bcl-2 can be genetically separated from its inhibitory effect on cell cycle entry, *EMBO J.* 1997; 16: 4628-38.
- 57) Limpens J, Stad R, Vos C, et al. Lymphomaassociated translocation t(14;18) in blood B cells of normal individuals, *Blood* 1995; 85: 2528-36.
- 58) Landowski TH, Qu N, Buyuksal I, Painter JS, Dalton WS. Mutations in the fas antigen in patients with multiple myeloma. *Blood* 1997; 90: 4266-70.
- 59) Beltinger C, Kurz E, Böhler T, Schrappe M, Ludwig WD, Debatin KM. CD95 (Apo-1/Fas) mutations in childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1998; 91: 3943-51.
- 60) Meijerink JPP, Mensink EJB, Wang K, et al. Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of function mutations of BAX. *Blood* 1998; 91: 2991-7.
- 61) Willis TG, Jadayel DM, Du MQ, et al. Bcl10 is involved in t(1;14)(p22;q32) of MALT B cell lymphoma and mutated in multiple tumor types. *Cell* 1999; 96: 35-45.
- 62) Baens M, Maes B, Steyls A, Geboes K, Marynen P, de Wolf-Peeters C. The product of the t(11;18), an API2-MLT fusion, marks nearly half of gastric MALT type lymphomas without large cell proliferation. *Am J Pathol* 2000; 156: 1433-9.

63) Jackson CE, Puck JM. Autoimmune lymphoproliferative syndrome, a disorder of apoptosis. *Curr Opin Pediatr* 1999; 11: 521-7.

64) Straus SE, Sneller M, Lenardo MJ, Puck JM, Strober W. An inherited disorder of lymphocyte apoptosis; the autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Annal Int Med* 1999; 130; 591-601.

65) Wu J, Wilson J, He J, Xiang L, Schur PH, Mountz JD. Fas ligand mutation in a patient with systemic lupus erythematosus and lymphoproliferative disease. *J Clin Invest* 1996; 98: 1107-13.

66) Wang J, Zheng I, Lobito A, et al. Inherited human caspase 10 mutations underlie defective lymphocyte and dendritic cell apoptosis in autoimmune lymphoproliferative syndrome type II, *Cell* 1999; 98: 47-58.

67) Centola M, Aksentijevich I, Kastner DL. The hereditary periodic fever syndromes: molecular analysis of a new family of inflammatory diseases, *Hum. Mol. Genet.* 1998; 7: 1581-8.

68) Lagelouse RD, Jabado N, Deist F, et al. Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis to 10q21-22 and evidence for heterogeneity, *Am. J. Hum. Genet.* 1999; 64: 172-9.

69) Stepp SE, Dufourcq-Lagelouse R, Deist F, et al. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis, *Science* 1999; 286: 1957-9.

70) Pinkoski MJ, Green DR. Fas ligand, death gene, *Cell Death Diff.* 1999; 6: 1174-81.

71) Scaffidi C, Fulda S, Srinivasan A, et al. Two CD95 (Apo-1/Fas) signaling pathways, *EMBO J.* 1998; 17: 1675-87.

- 72) Kurts C, Heath WR, Kosaka H, Miller JFAP, Carbone FR. The peripheral deletion of autoreactive CD8⁺ T-cells induced by cross-presentation of self-antigens involves signalling through CD95 (Fas, Apo-1), *J. Exp. Med.* 1998; 188: 415–20.
- 73) Nagata S. Fas ligand — induced apoptosis, *Annu. Rev. Genet.* 1999; 33: 29–55.
- 74) Villartay JP, Laucat FR, Fischer A, Deist F. Clinical effects of mutations to CD95 (Fas): relevance to autoimmunity? *Springer Semin Immun* 1998;19: 301–10.
- 75) Gronbaek K, Straten PT, Ralkiaer E, et al. Somatic Fas mutations in non-Hodgkin's lymphoma: association with extranodal disease and autoimmunity, *Blood* 1998; 92: 3018–24.
- 76) O'Connell J, Bennett MW, O'Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. Fas counter-attack — the best form of tumor defense? *Nat. Med.* 1999;5: 267–8.
- 77) Sionov RV, Haupt Y. The cellular response to p53: the decision between life and death, *Oncogene* 1999; 18: 6145–57.
- 78) Lohrum MAE, Vousden KH. Regulation and activation of p53 and its family members, *Cell Death Diff.* 1999;6 : 1162–8.
- 79) Amundson SA, Myers TG, Fornace AJ. Roles for p53 in growth arrest and apoptosis: putting on the brakes after genotoxic stress, *Oncogene* 1998; 17: 3287–99.
- 80) Bunz F, Dutriaux A, Lengauer C, et al. Requirement for p53 and p21 to sustain G₂ arrest after DNA damage. *Science* 1998; 282: 1497-501.
- 81) Oda E, Ohki R, Murasawa H, et al. Noxa, a BH3-only member of the bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis, *Science* 2000; 288: 1053–8.
- 82) Polyak K, Xia Y, Zweier JL, Kinzler KW, Vogelstein B. A model for p53-induced apoptosis, *Nature* 1997;389: 300–5.

- 83) Hollstein M, Shomer B, Greenblatt M, et al. Somatic point mutations in the p53 gene of human tumors and cell lines: updated compilation, Nucl. Acids Res 1996;24: 141–6.
- 84) Varley JM, Evans DGR, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome — a molecular and clinical review, Br. J. Cancer 1997;76: 1–14.
- 85) Langlois NE, Eremin O, Heys SD. Apoptosis and prognosis in cancer: rationale and relevance. J R Coll Surg 2000; 45: 211-9.
- 86) Aas T, Borresen AL, Geisler S, et al. Specific p53 mutations are associated with de novo resistance to doxorubicin in breast cancer patients, Nat. Med. 1996;2: 811–4.
- 87) Mills AA, Zheng B, Wang XJ, Vogel H, Roop DR, Bradley A. p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis. Nature. 1999 22; 398: 708-13.
- 88) Yang A, Walker N, Bronson R, et al. p73-deficient mice have neurological, pheromonal and inflammatory defects but lack spontaneous tumours. Nature. 2000; 404: 99-103.
- 89) Kramer MH, Hermans J, Parker J, et al. Clinical significance of bcl2 and p53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study. J Clin Oncol. 1996;14: 2131-8.
- 90) Cogliatti SB, Griesser H, Peng H, et al. Significantly different *bcl-2* expression profiles in gastric and non-gastric primary extranodal high-grade B-cell lymphomas. J Pathol 2000, 192: 470.
- 91) Gaidano G, Volpe G, Pastore C, et al. Detection of BCL-6 Rearrangements and p53 Mutations in Malt-Lymphomas. Am. J. Hematol. 1997; 56: 206–13.

- 92) Llanos M, Alvarez-Arguelles H, Aleman R, Oramas J, Diaz-Flores L, Batista N. Prognostic significance of Ki-67 nuclear proliferative antigen, bcl-2 protein, and p53 expression in follicular and diffuse large B-cell lymphoma. *Med Oncol* 2001;18:15-22.
- 93) Adida C, Haioun c, Gaulard P, et al. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 2000; 96: 1921-5.
- 94) Pescarmona E, Pignoloni P, Santangelo C, et al. Expression of p53 and retinoblastoma gene in high-grade nodal peripheral t-cell lymphomas: immunohistochemical and molecular findings suggesting different pathogenetic pathways and possible clinical implications. *J Pathol* 1999; 188: 400-6.
- 95) Delgado BM, Robledo M, Arranz E, et al. Correlation Between Mutations in p53 Gene and Protein Expression in Human Lymphomas. *Am J Hematol* 1997; 55: 1-8.
- 96) Charalambous GK, Gomatos IP, Konstadoulakis MM, et al. Protein expression of bax, bcl-2, and p53 in patients with non-Hodgkin's gastric lymphoma: prognostic significance. *World J Surg.* 2000; 24: 608-14.
- 97) Stokke T, Galteland E, Holte H, et al. Oncogenic Aberrations In The P53 Pathway Are associated with a high s phase fraction and poor patient survival in B-cell non-Hodgkin's lymphoma *Int J Cancer (Pred Oncol)* 2000; 89: 313-24.
- 98) Hazar B, Paydas S, Zorludemir S, Sahin B, Tuncer I. p53 protein expression in gastrointestinal lymphomas. *Oncology* 1997; 54: 84-7.
- 99) Navaratnam S, Williams GJ, Rubinger M, et al. Expression of p53 predicts treatment failure in aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Leukemia and Lymphoma* 1998; 29: 139-44.
- 100) Sakai A, Oda K, Asaoku H, Shintaku S, Hoshino S, Okita H, and Kimura A. Expressions of p53 and PCNA Do Not Correlate With the International Index or

Early Response to Chemotherapy in Non-Hodgkin's Lymphoma. *Am J Hematol* 1998; 58: 42–8.

101) Rouvier E, Luciani MF, Golstein P. Fas involvement in Ca(2+)- independent T cell-mediated cytotoxicity. *J Exp Med* 1993;177:195–200.

102) Kagi D, Vignaux F, Ledermann B, et al. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science* 1994; 265: 528–30.

103) Robertson MJ, Manley TJ, Pichert G, et al. Functional consequences of APO-1/Fas (CD95) antigen expression by normal and neoplastic hematopoietic cells. *Leuk Lymphoma* 1995;17:51-61.

104) Embree-Ku M, Boekelheide K. FasL deficiency enhances the development of tumors in p53+/- mice. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 705-13.

105) Takakuwa T, Dong Z, Nakatsuka S, et al. Frequent mutations of Fas gene in nasal NK/T cell lymphoma. *Oncogene* 2002; 21: 4702-5.

106) Snow AL, Chen LJ, Nepomuceno RR, Krams SM, Esquivel CO, Martinez OM. Resistance to Fas-mediated apoptosis in EBV-infected B cell lymphomas is due to defects in the proximal Fas signaling pathway. *J Immunol* 2001;167: 5404-11.

107) Dereure O, Portales P, Clot J, Guilhou JJ. Decreased expression of Fas (APO-1/CD95) on peripheral blood CD4+ T lymphocytes in cutaneous T-cell lymphomas. *Br J Dermatol* 2000;143:1205-10.

108) Seeberger H, Starostik P, Schwarz S, et al. Loss of Fas (CD95/APO-1) regulatory function is an important step in early MALT-type lymphoma development. *Lab Invest* 2001; 81: 977-86.

109) Boulanger E, Rieux-Laucat F, Picard C, Legall et al. Diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma in a patient with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Br J Haematol* 2001;113:432-4.

- 110) Cascino I, Papoff G, De Maria R, Testi R, Ruberti G. Fas/Apo-1 (CD95) receptor lacking the intracytoplasmic signaling domain protects tumor cells from Fas-mediated apoptosis. *J Immunol* 1996;156:13-7.
- 111) Rozenfeld-Granot G, Toren A, Amariglio N, Brok-Simoni F, Rechavi G. Mutation analysis of the FAS and TNFR apoptotic cascade genes in hematological malignancies. *Exp Hematol* 2001;29:228-33.
- 112) Niitsu N, Sasaki K, Umeda M. A high serum soluble Fas/APO-1 level is associated with a poor outcome of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 1999;13:1434-40.
- 113) Inaba H, Komada Y, Li QS, et al. mRNA expression of variant FAS molecules in acute leukemia cells. *Am J Hematol* 1999; 62: 150-8.
- 114) Midis GP, Shen Y, Owen-Schaub LB. Elevated soluble Fas (sFas) levels in nonhematopoietic human malignancy. *Cancer Res* 1996 ;56: 3870-4.
- 115) Liu X, Qi Z, Luo L, Zhang X. Measurement of soluble Fas in patients with hematological malignancy. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 1999; 24: 171-3.
- 116) Hara T, Tsurumi H, Takemura M, et al. Serum-soluble fas level determines clinical symptoms and outcome of patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol* 2000; 64: 257-61.
- 117) Doi T, Nishikawa Y, Endo H, Hosokawa Y, Tanimizu M, Hyodo I. Serum soluble Fas antigen in gastric MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma patients. *J Exp Clin Cancer Res* 1999; 18: 343-5.
- 118) Kim HS, Lee SH, Lee JW, et al. Mutational analysis of Fas ligand gene in human non-Hodgkin lymphoma. *APMIS* 2003;111: 490-6.

119) Ni X, Hazarika P, Zhang C, Talpur R, Duvic M. Fas ligand expression by neoplastic T lymphocytes mediates elimination of CD8+ cytotoxic T lymphocytes in mycosis fungoides: a potential mechanism of tumor immune escape? *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2682-92.

120) Aftabuddin M, Yamadori I, Yoshino T, Kondo E, Akagi T. Correlation between the number of apoptotic cells and expression of the apoptosis-related antigens Fas, Le(y) and bcl-2 protein in non-Hodgkin's lymphomas. *Pathol Int* 1995; 45: 422-9.

121) Do B, Lossos IS, Thorstenson Y, Oefner PJ, Levy R. Analysis of FAS (CD95) gene mutations in higher-grade transformation of follicle center lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2003; 44: 1317-23.

122) Maeda T, Yamada Y, Moriuchi R, et al. Fas gene mutation in the progression of adult T cell leukemia. *J Exp Med* 1999;189:1063-71.

123) Nguyen PL, Harris NL, Ritz J, Robertson MJ. Expression of CD95 antigen and Bcl-2 protein in non-Hodgkin's lymphomas and Hodgkin's disease. *Am J Pathol* 1996;148: 847-53.

124) Zhu HL, Wang YZ, Yu L, Li B, Yao SQ, Lou FD. The expression of Fas, FasL and Bcl-2 on RMA cells during the process of apoptosis induced by chemotherapeutic drugs *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2002;10: 35-9.

125) Landowski TH, Gleason-Guzman MC, Dalton WS. Selection for drug resistance results in resistance to Fas-mediated apoptosis. *Blood* 1997; 89: 1854-61.

126) Osella-Abate S, Zaccagna A, Savoia P, Quaglino P, Salomone B, Bernengo MG. Expression of apoptosis markers on peripheral blood lymphocytes from patients with cutaneous T-cell lymphoma during extracorporeal photochemotherapy. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: 40-7.

- 127) Ogawa Y, Nishioka A, Hamada N, et al. Expression of fas (CD95/APO-1) antigen induced by radiation therapy for diffuse B-cell lymphoma: immunohistochemical study. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 2211-6.
- 128) Baiocchi RA, Khatri VP, Lindemann MJ, et al. Phenotypic and functional analysis of Fas (CD95) expression in primary central nervous system lymphoma of patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Blood* 1997; 90: 1737-46.
- 129) Cao H, Qian Q, Wu M. Fas mediated apoptosis inhibited by human bcl-2 gene in lymphoma cell line Jurkat *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 1998; 19: 244-6.
- 130) Itoh N, Tsujimoto Y, Nagata S. Effect of bcl-2 on Fas antigen-mediated cell death. *J Immunol* 1993;151: 621-7.
- 131) Kondo E, Yoshino T, Yamadori I, et al. Expression of Bcl-2 protein and Fas antigen in non-Hodgkin's lymphomas. *Am J Pathol* 1994;145: 330-7.
- 132) Zoi-Toli O, Meijer CJ, Oudejans JJ, de Vries E, van Beek P, Willemze R. Expression of Fas and Fas ligand in cutaneous B-cell lymphomas. *J Pathol* 1999;189: 533-8.
- 133) Yufu Y, Choi I, Hirase N, et al. Soluble Fas in the serum of patients with non-Hodgkin's lymphoma: higher concentrations in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Am J Hematol* 1998; 58: 334-6.
- 134) Munker R, Younes A, Cabanillas F, Andreeff M. Soluble CD95 in the serum of patients with low and intermediate grade malignant lymphomas: absence of prognostic correlations. *Leuk Lymphoma* 1997; 27: 517-21.
- 135) Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, et al. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90: 244-51.

136) Zhang A, Ohshima K, Sato K, et al. Prognostic clinicopathologic factors, including immunologic expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Pathol Int.* 1999; 49:1043-52.

137) Sohn SK, Jung JT, Kim DH, et al. Prognostic significance of bcl-2, bax, and p53 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2003; 73: 101-7.



Ek: Hasta listesi

Ad-soyad	Dosya no	Ad-soyad	Dosya no
AÖ	945498	HS	1128500
AC	947305	İK	971924
AÇ	843140	İP	947374
AS	377015	KÖ	708983
AU	1052075	MB	1016371
AY	945215	MG	602140
BA	1116832	MK	646138
BÖ	948541	MK	720901
CE	714547	MK	945900
CS	1152553	MÖ	947523
CT	722722	MS	797808
EA	554893	MT	665456
EA	931499	MT	946620
FB	1063920	MÜ	919037
FD	945526	MZ	946869
FF	921565	NÇ	752056
FH	833959	ND	668939
FÖ	1138646	NK	948374
FS	877457	ÖS	825821
FT	714335	PY	805302
FÜ	639237	RT	1085723
GA	824356	SÖ	1059664
GK	824356	SS	576288
HA	405373	ŞK	1049672
HD	678235	ŞK	572253
HD	946794	ŞY	946690
HD	1138638	YG	1067579
HE	735819	YT	976783
HE	1043256	ZD	1010513
HE	350559	ZK	499598
HK	499178	ZP	1000517
HO	945504		

TC.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Bülent Eser'e ait "PRİMER NODAL DİFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ NON-HODGKIN LENFOMALI HASTALARDA FAS (CD95/APO-1) POZİTİFLİĞİNİN PROGNOSTİK ÖNEMİ" adlı çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda Yan Dal Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 22.06.2004

Başkan Prof. Dr. Emre Özbalkan

İmza

Üye Prof. Dr. Ali Ünal

İmza

Üye Prof. Dr. Merve Albayrak

İmza

Üye Doç. Dr. Mustafa Şehin

İmza

Üye Dr. Mehmet ŞENCAN
G. Hast. ve Hematoloji Uzmanı
Diploma No T 86 / 154

İmza