

Çocukluk çağı hodgkin lenfomalarında CD163 ekspresyonunun prognostik önemi

The prognostic impact of CD163 expression in childhood hodgkin lymphomas

Özben Yalçın¹, Emine Türkkan², Damla Karabıyık Altıok³

¹SBÜ Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²SBÜ Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Mardin Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Mardin, Türkiye

İletişim: Damla Karabıyık Altıok

Mardin Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Mardin, Türkiye

e-mail: damlakrbyk@gmail.com

ORCID ID:

OY 0000-0002-0019-1922

ET 0000-0002-5126-7843

DKA 0000-0002-1995-2576

Gönderim Tarihi: 28 Şubat 2022, **Kabul Tarihi:** 31 Mart 2022

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, pediatrik Hodgkin lenfoma olgularında CD163 ekspresyonunun prognozla ilişkisini incelemektir.

Materyal ve Metodlar: Bu çalışmaya retrospektif olarak; Ocak 2014- Aralık 2020 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Klinikleri'nde Hodgkin Lenfoma (HL) tanısı ile tedavi ve takipleri yapılan 0-18 yaş aralığındaki, 21 pediatrik hasta dahil edildi. Olguların ilk tanı biyopsilerine CD163 immünohistokimyası uygulandı. CD163 ekspresyonlarına göre; <%5, %5-25, >%25 olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Bulgular: Olguların yaşları 6 ile 17 arasında değişmekte olup %4,8'i (n=1) Evre 1, %28,6'sı (n=6) Evre 2, %33,3'ü (n=7) Evre 3, %33,3'ü (n=7) Evre 4 olarak tanı almıştır. Olguların %42,9'unda (n=9) B semptomu, %15'inde (n=3) progresyon, %38'inde (n=8) dalak tutulumu mevcuttur. Histolojik subtip dağılımları; %4,8 (n=1) lenfositten fakir tip, %33,3 (n=7) mikst selüler tip, %4,8 (n=1) nodüler lenfosit predominant HL, %57,1 (n=12) nodüler sklerozan tip şeklindedir. CD 163 ekspresyon değerleri incelendiğinde, olguların %38,1'inin (n=8) %5'in altında, %33,3'ünün (n=7) %5-25 aralığında, %28,6'sının (n=6) >%25 olduğu görülmektedir. CD163 ekspresyon gruplarına göre olguların cinsiyetleri, yaşları evreleri, B semptomu varlığı, progresyon durumu, histolojik subtipler ve dalak tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Sonuç: CD163 ekspresyonunun pediatrik HL olgularında prognostik öneminin anlaşılması için daha kapsamlı araştırmalar gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: CD163, pediatrik hodgkin lenfoma, tümör ilişkili makrofaj

SUMMARY

Aim: The aim of this study is to examine the relationship between CD163 expression and prognosis in pediatric Hodgkin Lymphoma cases.

Material and Methods: In this study retrospectively; twenty-one pediatric patients were included who were treated and followed-up with the diagnosis of Hodgkin Lymphoma (HL) in the Pediatric Oncology and Hematology Clinics of Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu City Hospital, between January 2014 and December 2020. CD163 immunohistochemistry was applied to the initial diagnostic biopsies of the cases.

Results: The ages of the cases ranged from 6 to 17, with 4.8 % (n=1) Stage 1, 28.6 % (n=6) Stage 2, 33.3 % (n=7) Stage 3, 33.3 % (n=7) were diagnosed as Stage 4. B symptoms were present in 42.9 % (n=9) of the cases, progression in 15 % (n=3), and spleen involvement in 38 % (n=8). Histological subtype distributions; 4.8 % (n=1) lymphocyte-poor type, 33.3 % (n=7) mixed cellular type, 4.8 % (n=1) nodular lymphocyte predominant HL, 57.1% (n=12) nodular sclerosing type. When CD 163 expression values were examined, 38.1% (n=8) of the cases were below 5 %, 33.3 % (n=7) were between 5-25 %, 28.6 % (n=6) were >25% appears to be. According to CD163 expression groups, there was no statistically significant difference in terms of gender, age, stage, presence of B symptoms, progression status, histological subtypes and spleen involvement (p>0.05).

Conclusion: More extensive studies are required to understand the prognostic significance of CD163 expression in pediatric HL cases.

Keywords: CD163, childhood hodgkin lymphoma, tumor-associated macrophage

GİRİŞ

Hodgkin lenfoma (HL) tüm çocukluk çağı kanserlerinin yaklaşık %5 ila %6'sını oluşturmakta olup sosyoekonomik düzey ve coğrafi alanlara göre karakteristik epidemiyolojik, klinik ve patolojik özellikler sergilemektedir. Modern tıbbın her geçen gün eklenen yeni araştırmalar ile tedavide daha az yan etkili komplikasyonsuz yöntemler araştırılmaktadır (1,2). Son yıllarda, enflamatuvar hastalıklar ve malignansilerde farmakolojik tedavinin bir parçası olarak makrofaj aktivitesinin etkisinin gösterilmesi, klinik çalışmalardan geçen birden fazla ilaç adayının gelişmesine ve araştırılmasına yol açmış, klinik onayla tedavide kullanılmışlardır. Genel olarak makrofaj yönlendirilmiş tedavide, makrofaj reseptörleri veya makrofajlar tarafından salgılanan sitokinler hedeflenir (3-5).

Biz de bu çalışmamızda tümör ilişkili makrofajlar üzerinde CD163 protein ekspresyonunu, immünohistokimya (IHC) kullanarak inceleyip, çocukluk çağı HL hastalarında risk sınıflandırmasında ve prognozda etkisini araştırmak istedik.

MATERYAL VE METOTLAR

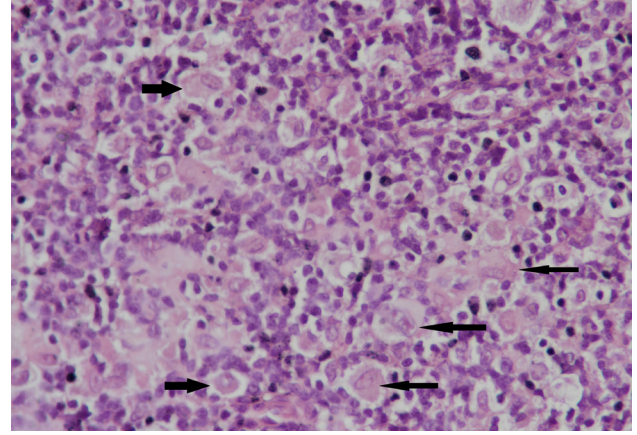
Bu çalışmaya retrospektif olarak; Ocak 2014- Aralık 2020 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Klinikleri'nde HL tanısı ile tedavi ve takipleri yapılan 0-18 yaş aralığındaki, ilk tanı biyopsilerine ulaşılabilen, tanı sonrası en az 12 ay takibi olan 21 pediatrik hasta dahil edildi. Olgulara ait demografik veriler, tanı anındaki evreleri, HL alt tipi, B semptomu varlığı (gece terlemesi, kilo kaybı, ateş), progresyon durumu, dalak tutulumu gibi veriler hastane bilgi işletim sistemi, hasta takip dosyaları, patoloji raporları ve hastalarla/hasta yakınlarıyla telefonla görüşülerek elde edildi.

Her olgunun ilk tanı materyalinden, Reed-Sternberg hücreleri içeren tümörün tamamını temsil edebilen, %10'luk tamponlu formalin ile fikse, parafine gömülü bir blok seçildi. Bu bloklardan pozitif yüklü lamlara 2 µm kalınlığında kesitler alındı. CD163 (klon EP324, Epitomics, dilüsyon 1/150) antikorunu Ventana Benchmark Ultra otomatik boyama cihazında uygulandı.

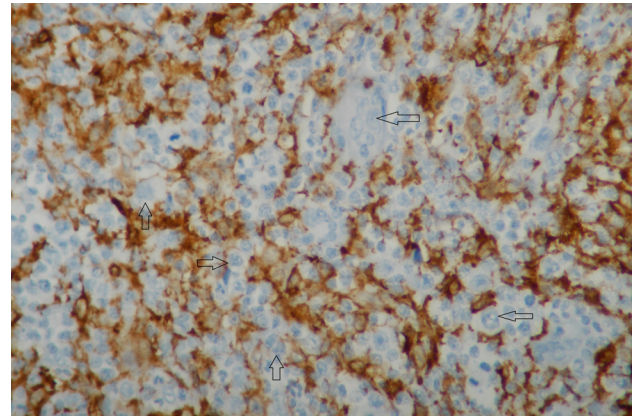
Hazırlanan immünohistokimya boyalı preparatlar ışık mikroskopunda olguların klinikopatolojik verileri ve sağkalım durumlarını bilmeyen iki patolog tarafından değerlendirildi. Membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma gösteren makrofajlar CD163 pozitif olarak kabul edildi. Değerlendirmeler Reed-Sternberg hücrelerinden zengin alanda yapıldı (Şekil 1a, 1b). İmmünreaktivite toplam selüeriteye göre skorlanarak; <%5, %5-25, >%25 olmak üzere 3 gruba ayrıldı (6).

İstatistiksel analizler için NCSST (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı.

Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Fisher-Freeman-Halton exact test kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.



Şekil 1a: Neoplastik Reed-Sternberg hücreleri (H&E, x400)



Şekil 1b: Neoplastik hücreler çevresindeki CD163+ tümör ilişkili makrofajlar (x400)

BULGULAR

Olguların yaşları 6 ile 17 arasında değişmekte olup, ortalama yaş $13,05 \pm 3,22$ olarak belirlenmiştir. Tanı anındaki evreler incelendiğinde, olguların %4,8'inin (n=1) Evre 1, %28,6'sının (n=6) Evre 2, %33,3'ünün (n=7) Evre 3, %33,3'ünün (n=7) Evre 4 olduğu görülmektedir. Olguların %42,9'unda (n=9) B semptomu, %15'inde (n=3) progresyon, %38'inde (n=8) dalak tutulumu mevcuttur. Histolojik subtip dağılımları; %4,8 (n=1) lenfositten fakir tip, %33,3 (n=7) mikst selüer tip, %4,8 (n=1) nodüler lenfosit predominant HL, %57,1 (n=12) nodüler sklerozan tip şeklindedir (Tablo 1).

Tablo 1. Tanımlayıcı özelliklerin dağılımı

Özellikler		n (%)
Cinsiyet	Kız	6 (28,6)
	Erkek	15 (71,4)
Yaş	Ortalama ± ss	13,05 ± 3,22
	Medyan (Min-Maks)	14 (6-17)
Evre	Evre 1	1 (4,8)
	Evre 2	6 (28,6)
	Evre 3	7 (33,3)
	Evre 4	7 (33,3)
B Semptomu	Yok	12 (57,1)
	Var	9 (42,9)
Progresyon	Yok	17 (85,0)
	Var	3 (15,0)
Histolojik Tip	Lenfositler fakir tip	1 (4,8)
	Mikst selüler tip	7 (33,3)
	NL predominant	1 (4,8)
	Nodüler sklerozan tip	12 (57,1)
Dalak tutulumu	Yok	13 (61,9)
	Var	8 (38,1)
CD 163 ekspresyon yüzdesi	<%5	8 (38,1)
	%5-25	7 (33,3)
	>%25	6 (28,6)

CD 163 ekspresyon değerleri incelendiğinde, olguların %38,1'i (n=8) %5'in altında, %33,3'ü (n=7) %5-25 aralığında, %28,6'sı (n=6) >%25 olduğu saptanmıştır.

CD163 ekspresyon gruplarına göre olguların cinsiyetleri ve yaşları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Demografik özelliklerin CD 163 ekspresyon gruplarına göre değerlendirilmesi

		CD 163 ekspresyon yüzdesi			P
		<%5	%5-25	>%25	
Cinsiyet	Kız	4 (50,0)	2 (28,6)	0 (0)	*0,158
	Erkek	4 (50,0)	5 (71,4)	6 (100)	
Yaş	Ort±Ss	14,63±2,20	12,43±2,70	11,67±4,37	*0,200
	Medyan (Min-Maks)	15 (11-17)	14 (9-16)	11 (6-17)	

*Fisher Freeman Halton Test

^bKruskal Wallis Test

CD163 ekspresyon gruplarına göre olguların evreleri, B semptomu varlığı, progresyon durumu, histolojik subtipler ve dalak tutulumu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 3).

Tablo 3. CD 163 ekspresyon gruplarına göre değerlendirmeler

		CD 163 ekspresyon yüzdesi			P
		<%5	%5-25	>%25	
Evre	Evre 1	0 (0)	1 (14,3)	0 (0)	*0,810
	Evre 2	3 (37,5)	2 (28,6)	1 (16,7)	
	Evre 3	3 (37,5)	1 (14,3)	3 (50,0)	
	Evre 4	2 (25,0)	3 (42,9)	2 (33,3)	
B Semptomu	Yok	4 (50,0)	5 (71,4)	3 (50,0)	*0,738
	Var	4 (50,0)	2 (28,6)	3 (50,0)	
Progresyon	Yok	5 (62,5)	7 (100)	5 (100)	*0,088
	Var	3 (37,5)	0 (0)	0 (0)	
Histolojik Tip	Lenfositler fakir	1 (12,5)	0 (0)	0 (0)	*0,111
	Mikst	0 (0)	4 (57,1)	3 (50,0)	
	NL predominant	1 (12,5)	0 (0)	0 (0)	
	Nodüler sklerozan	6 (75)	3 (42,9)	3 (50,0)	
Dalak tutulumu	Yok	5 (62,5)	5 (71,4)	3 (50,0)	*0,855
	Var	3 (37,5)	2 (28,6)	3 (50,0)	

TARTIŞMA

Transmembran reseptörü CD163 sadece monositler (düşük ekspresyon) ve makrofajlarla (yüksek ekspresyon) ifade edilir (7). CD163 ekspresyonu ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, lupus nefriti gibi birçok hastalıkta gösterilmiş olup reseptörün hastalığıdaki patolojik rolü hakkındaki bilgiler henüz tam değildir (8-10).

CD163'ün olumsuz prognostik öneminin HL hastaları için öngörücü bir biyobelirteç olduğu çeşitli çalışmalarda doğrulanmıştır (11,12). Yoon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yüksek bir CD163 immün boyama yoğunluğunun özellikle azalmış tam remisyon oranı ile ilişkili olduğu ve HL'de spesifik bir güvenilir prognostik gösterge olarak kabul edildiği sonucuna varılmıştır (13). Huda Al Sayed Ahmed ve arkadaşları yaptığı çalışmada CD163'ün tümör ilişkili makrofajlar için spesifik bir belirteç olduğu ve aşırı ekspresyonunun, nüks ve tedavi sonrası azalmış sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (14). Sumit ve arkadaşlarının pediatrik grupta yaptığı çalışmada yetişkin HL'den farklı olarak, Reed Sternberg hücrelerinin daha yüksek bir yüzdesi kötü sonuçla ilişkilendirilirken, tümör ilişkili makrofajların yüksek düzeyi ile ilişki bulunmamıştır (15).

Çalışmamızda CD163 ekspresyon gruplarına göre olguların evreleri, B semptomu varlığı, progresyon durumu, histolojik tipler ve dalak tutulumu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$). Benzer şekilde D.Azambuja ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CD68 veya CD163 ekspresyonları ile klinik özellikler ile arasında ilişki saptamamışlardır. Ayrıca CD68 veya CD163 ekspresyonunu progresyon ve survi ile ilişkilendirememişlerdir (16).

Sonuç olarak CD163 ekspresyonunu çocukluk çağı HL hastalarında prognostik sınıflandırması için kullanımı önerilmeden önce daha fazla çalışma gerekmektedir. Pediatrik olgularda tümör mikro ortamının erişkinlerden daha farklı olabileceği ve bu farklı bileşenlerinin sonuçla ilişkisini ileriye dönük olarak belirlemede daha kapsamlı, ayrıntılı çalışmalar gerekmektedir.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarımı: ÖY, DKA, Veri Toplama: ET, Yazı Taslağı: ÖY,ET, DKA, İçeriğin Eleştirel İncelemesi: ÖY,ET, DKA, Son Onay ve Sorumluluk: ÖY,ET
Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.
Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Chang ET, Zheng T, Weir EG, Borowitz M, Mann RB, Spiegelman D et al. Childhood social environment and Hodgkin's lymphoma: new findings from a population-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(8):1361-1370.
2. Punnett A, Tsang RW, Hodgson DC. Review Hodgkin lymphoma across the age spectrum: epidemiology, therapy, and late effects. *Semin Radiat Oncol.* 2010;20(1):30-44.
3. Werner L, Dreyer J.H, Hartmann D, Barros M.H.M, Büttner-Herold M, Grittner U et al. Tumor-associated macrophages in classical Hodgkin lymphoma: Hormetic relationship to outcome. *Sci. Rep.* 2020;10: 1–11.
4. He W, Kapate N, Shields CW, Mitragotri S. Drug delivery to macrophages: A review of targeting drugs and drug carriers to macrophages for inflammatory diseases. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2019.
5. Cassetta L, Pollard JW. Targeting macrophages: Therapeutic approaches in cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2018; 17:887–904.
6. Harris JA, Jain S, Ren Q, Zarineh A, Liu C, Ibrahim S. CD163 versus CD68 in tumor associated macrophages of classical hodgkin lymphoma. *Diagnostic Pathology.* 2012;7:12.
7. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen, C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SA. et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature.* 2001;409:198–201.
8. Guo L, Akahori H, Harari E, Smith SL, Polavarapu R, Karmali V et al. CD163+ macrophages promote angiogenesis and vascular permeability accompanied by inflammation in atherosclerosis. *J. Clin. Investig.* 2018;128:1106–1124.
9. Li J, Liu CH, Xu DL, Gao B. Significance of CD163-Positive Macrophages in Proliferative Glomerulonephritis. *Am. J. Med. Sci.* 2015;350:387–392.
10. Olmes G, Buettner M, Ferrazzi F, Distel LV, Amann K, Daniel C. CD163+ M2c-like macrophages predominate in renal biopsies from patients with lupus nephritis. *Arthritis Res. Ther.* 2016;18:90.
11. Tan KL, Scott DW, Hong F, Kahl BS, Fisher RI, Bartlett NL et al. Tumor-associated macrophages predict inferior outcomes in classic Hodgkin lymphoma: A correlative study from the E2496 Intergroup trial. *Blood.* 2012;120:3280–3287.
12. Steidl C, Lee T, Shah SP, Farinha P, Han G, Nayar T et al. Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2010;362:875–885.
13. Yoon DH, Koh YW, Kang HJ, Kim S, Park CS, Lee SW et al. CD68 and CD163 as prognostic factors for Korean patients with Hodgkin lymphoma. *Eur J Haematol.* 2012 ;88:292–305.

14. Al Sayed Ahmed H, Raslan WF, Deifalla AHS, Fathallah MD. CD163 is a predictive biomarker for prognosis of classical Hodgkin's lymphoma in Saudi patients *Mol Clin Oncol.* 2019;11(1): 67–76.
15. Gupta S, Yeh S, Chami R, Punnett A, Chung C. The prognostic impact of tumour-associated macrophages and Reed-Sternberg cells in paediatric Hodgkin lymphoma *European Journal of Cancer.* 2013;49(15):3255-3261.
16. Azambuja D, Natkunam Y, Biasoli I, Lossos IS, Anderson MW, Morais JC et al. Lack of association of tumor-associated macrophages with clinical outcome in patients with classical Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol.* 2012;23(3):736-742.