

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS'LARDA
YENİ SAPTANAN MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLERİN
(CD70, GNA13, BTG1, MYD88, CD79B, TNFRSF14)
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YANSIMASININ
ALT TİPLENDİRMEYLE VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İlknur ALACA

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İsmet AYDOĞDU

Manisa 2020

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS'LARDA
YENİ SAPTANAN MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLERİN
(CD70, GNA13, BTG1, MYD88, CD79B, TNFRSF14)
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YANSIMASININ
ALT TİPLENDİRMEYLE VE PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. İlknur ALACA

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İsmet AYDOĞDU

Manisa 2020

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgisi, birikim ve deneyimleri ile bana yol gösterici olan, titiz, disiplinli ve azimli çalışma konusunda çok şey öğrendiğim, eğitim sürecim boyunca her zaman ufkumu açan tez danışmanım Prof. Dr. İsmet Aydoğdu'ya, immunohistokimyasal boyamaların değerlendirilmesi, tezin planlanması, yazılması ve diğer bütün aşamalarda her daim yanımda olan, engin bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan tez danışmanım Prof. Dr. Nalan Neşe'ye, tezimde hastaların değerlendirilmesi ve tez yazımı konusunda desteklerini sunan Dr. Ömer ATMIŞ'a, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, zor zamanlarımda yanımda olan çalışma arkadaşlarım Dr. Sabahat İrem Yılmaz ve Dr. Gamze Doğan'a, eğitim ve tez sürecindeki yardımlarından dolayı Patoloji AD laboratuvar teknisyenleri, arşiv çalışanları, sekreterleri ve personeline, tezimin kesit ve boya işleriyle ilgilenen Melek Türkdal, İlknur Çalışkan, Duru Karakuzu, Ahmet Karakaya, ve Emel Koyuncu'ya, daimi destekçim, yanımda olmasından büyük mutluluk duyduğum sevgili eşim Ömer Faruk Alaca'ya ve tüm eğitim hayatım boyunca bana her zaman destek olan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. İlknur Alaca

İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ	1
II.	GENEL BİLGİLER	3
1.	Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS	3
1.1.	Epidemiyoloji	5
1.2.	Etiyoloji	6
1.3.	Klinik Özellikler	6
1.4.	Morfolojik Özellikler	7
1.5.	İmmunofenotipik Özellikler	9
1.6.	Genetik Özellikler	9
1.7.	Teşhis.....	12
1.8.	Prognostik Faktörler	12
1.9.	Gen Ekspresyon Profili	15
1.10.	Tedavi	15
2.	Çalışmada Kullanılan Belirteçler	16
2.1.	CD70	16
2.2.	GNA13	16
2.3.	BTG1	16
2.4.	TNFRSF14	17
2.5.	MYD88	17
2.6.	CD79b	17

III. GEREÇ VE YÖNTEM	19
1. Olgular	20
2. İmmunohistokimyasal İnceleme	21
3. İmmunohistokimyasal Sonuçların Değerlendirilmesi	22
3.1. İstatistiksel Değerlendirme	22
IV. BULGULAR.....	23
1. Yaş, Cinsiyet Dağılımı ve Klinikopatolojik Özellikler	23
2. Morfolojik ve İmmunfenotipik Özellikler	26
3. İstatistiksel Analiz	28
V. TARTIŞMA.....	42
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
VII. ÖZET	50
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	52
IX. KAYNAKLAR	54

KISALTMALAR

ABC: Aktive B hücre tipi BBA: Büyük büyütme alanı

BTG1: Anti proliferasyon faktörü 1

CD70: Farklılaşma kümesi 70

CD79b: Farklılaşma kümesi 79b

DBBHL: Diffüz büyük B hücreli lenfoma

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EBV: Epstein-Barr virüs

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

FDG: Fluorodeoksiglukoz

GCB: Germinal merkez B hücre tipi

GNA13: G protein subunit alfa 13

HCV: Hepatit C virüsü

HE: Hematoksilen eozin

IFN: İnterferon

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks

KLL/SLL: Kronik lenfosittik lösemi/küçük lenfosittik lenfoma

KT: Kemoterapi

LDH: Laktat dehidrogenaz

LM oranı: Lenfosit/monosit oranı

MPV: Ortalama platelet hacmi

MYD88: Miyeloid farklılaşması birincil yanıtı 88

NHL: Non-Hodgkin lenfoma

NK: Doğal öldürücü

NL oranı: Nötrofil/lenfosit oranı

NOS: Başka türlü sınıflandırılmayan

PD-1: Programlanmış hücre ölümü 1

PD-L1: Programlanmış hücre ölümü ligand 1

PET: Pozitron emisyon tomografisi

PL oranı: Platelet/lenfosit oranı

R-CHOP: Rituksimab, siklofosamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizolon

R-IPI: Revize Uluslararası Prognostik İndeks

TCR: T hücre reseptörü

TİL: Tümörü infiltre eden lenfosit

TNFRSF14: TNF reseptör süperailisi üyesi 14

I. GİRİŞ

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), yetişkin hodgkin dışı lenfoma (NHL) vakalarının yaklaşık yüzde 25'ini oluşturan NHL'nin en yaygın histolojik alt tipidir ve yeni tanı alan lenfoma vakalarının %30'unu oluşturmaktadır (1). DBBHL'nin moleküler patogenezi, germinal veya post-germinal B hücresi kaynaklı malign bir klonun transformasyonu ve genişlemesi ile sonuçlanan karmaşık, çok aşamalı bir süreçtir. Bu yoldaki bazı adımlar açıklanmış olsa da, birçoğu hala bilinmemektedir (2). Dünya sağlık örgütü (DSÖ)'nün 2017 klasifikasyonu ile T hücresi/histiyosit bakımından zengin B hücreli lenfoma, primer mediastinal (timik) büyük b hücreli lenfoma, intravasküler büyük b hücreli lenfoma gibi klinikopatolojik olarak farklı seyirli bir grup diğerlerinden ayrılmıştır. En iyi karakterize edilmiş olan onkojenik olaylar; BCL6, BCL2 ve MYC gibi yeniden düzenlenme ile seyreden kazanılmış genetik lezyonlardır. Bu lezyonlar kısmen düşük dereceli lenfomaların diffüz büyük b hücreli lenfomaya transformasyonunun sebebi olarak düşünülebilir (2).

Yüksek gradeli b hücre kaynaklı lenfoma tipleri arasında tedavi yanıtı ve seyir farklılığı saptandıktan sonra ağırlıklı olarak BCL6, BCL2 ve MYC gibi yeniden düzenlenme ile seyreden kazanılmış genetik lezyonlarla karakterize lenfomalar ve başka şekilde kategorize edilemeyen lenfomalar (NOS- Non otherwise specified) olacak şekilde yeniden sınıflandırma yapılmıştır. Başka şekilde kategorize edilemeyen yüksek gradeli b hücreli lenfomalar eski sınıflandırmada Burkitt benzeri lenfomalar olarak adlandırılmaktaydılar (2).

DBBHL'ler morfoloji, genetik ve biyolojik davranış açısından heterojen bir gruptur. Germinal merkez benzeri B hücresinden kaynaklanan DBBHL, Aktive B hücre benzeri gen ekspresyon profili içeren DBBHL ve bu iki profilin arasında kalan bir grup daha bulunmaktadır. Bu farklı morfolojik ve genetik grupların tedavi yanıtları ve sağkalım oranları da birbirinden farklı izlenmektedir (3).

DBBHL'ler tipik olarak aylar içinde gelişen ve tedavi edilmediğinde ölümcül olabilecek semptomatik hastalığa neden olan agresif lenfomalardır. Buna karşın ileri evre olgularda dahi hastaların çoğu immunokemoterapi ile tedavi edilebilmektedir (4). Rituksimab, siklofosfamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizolon rejimi (RCHOP) gibi rituksimab ile kombine edilen antrasiklin bazlı kemoterapiler, DBBHL için standart tedavi olmuştur (5). Rituksimab tedavisiyle gözlenen gelişmelere rağmen ileri evre DBBHL olgularının yaklaşık üçte biri tedaviye dirençlidir ya da hastalık sık nükslerle seyreder. Hastaların yarısından fazlası uzun süreli remisyona ulaşsa da, özellikle yüksek riskli hastalarda bu tedaviler etkisiz kalabilmektedir (6).

MYD88, Toll benzeri reseptör ve interlökin-1 reseptör sinyalinde rol oynayan bir moleküldür ve B hücrelerinin hayatta kalmasını sağlar. MYD88 (MYD88 L265P) mutasyonu lenfoplazmositik lenfoma ile ilişkilendirilmiştir (7-9). Ancak buna spesifik değildir. Tüm matür B hücre kaynaklı neoplazmlarda izlenebilir. DBBHL'ların ABC subtipine özgü bir molekül olup bu tipte %29 oranında eksprese edilmektedir. Yüksek MYD88 protein ekspresyon oranının sağ kalım ve rekürrens üzerine negatif etkisi olduğu düşünülmektedir (9). Aynı şekilde CD70 ve CD79b mutasyonları da ABC tipinde sık görülürler (94). TNFRSF14 ve GNA13 ise GCB tipinde daha sık rastlanan mutasyonlardır (10).

Bu çalışmada; tümör mikroçevresi ve kontrol noktası blokajı ilişkili moleküllerden olan MYD88, CD70, CD79b, TNFRSF14, GNA13, BTG1'in DBBHL'lerde immunohistokimyasal yöntemle boyanma durumunun saptanması, bu verilerle hastaların prognostik verilerinin karşılaştırılarak bu belirteçleri DBBHL olgularında prognozu öngörüp göremeyeceğinin belirlenmesi amaçlanmaktadır

II. GENEL BİLGİLER

1. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS

DBBHL, diffüz gelişim paternine sahip, normal lenfosit boyutunun iki katından daha büyük, orta ya da büyük boy B lenfoid hücrelerin neoplazmidir (11). Non Hodgkin Lenfoma (NHL)'ler için 1960'lı yıllardan günümüze Rappaport, Lukes&Collins, revize Rappaport, Kiel, Working formulation ve REAL sınıflaması gibi farklı sınıflamalar kullanılmıştır (12, 13). 2001 yılında REAL sınıflaması temel alınarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflaması oluşturulmuştur (13). 2016 yılında, lenfoid sistem tümörleri için kullanılan DSÖ, 2008 sınıflaması güncellenmiş olup günümüzde bu sınıflama kullanılmaktadır (Tablo 1) (14).

Morfolojik, biyolojik ve klinik çalışmalar sonucu DBBHL'ler morfolojik varyantlar, moleküler alt tipler ve farklı hastalıklar olarak gruplara ayrılmıştır. Bununla birlikte, biyolojik olarak heterojen olabilen ve alt tiplere için açık ve kabul edilmiş bir ölçüte sahip olmayan birçok olgu vardır. Bu olgular, Tablo 1'de listelenen spesifik tanı ölçütlerine sahip olmayan olgulardır ve tümü DBBHL, başka türlü sınıflandırılmayan (DBBHL, NOS) olarak gruplanır (11). DSÖ, 2016 sınıflamasına göre DBBHL, NOS'lar; 'germinal merkez B hücre tipi (GCB)' ve 'aktif B hücre tipi (ABC)' olmak üzere iki moleküler alt tip içerir (11, 14). Morfolojik varyantları ise sık ve nadir görülen varyantlar olarak 2 ana gruba ayrılmaktadır. Sentroblastik, immunoblastik ve anaplastik varyantlar DBBHL, NOS'ların sık görülen morfolojik varyantlarıdır (14). Bunların dışında; miksoid stroma ya da fibriler matris içeren, psödorozet formasyonu oluşturan, iğsi görünümde veya taşlı yüzük benzeri morfolojide olan, sitoplazmik granüller, mikrovillus projeksiyonları ve intersellüler junctionlar oluşturan daha nadir görülen morfolojik varyantlar da tanımlanmıştır (11).

Tablo 1: DSÖ, 2016 sınıflamasına göre matür B hücre neoplazmları

Matür B hücre Neoplazmları
Kronik lenfosittik lösemi/küçük lenfosittik lenfoma
Monoklonal B hücre lenfositozu
B hücreli prolenfositik lösemi
Splenik marjinal zon lenfoma
'Hairy cell' lösemi (Tüylü hücreli lösemi)
<i>Splenik B hücreli lenfoma/lösemi, sınıflandırılmayan</i>
<i>Splenik diffüz kırmızı pulpa küçük B hücreli lenfoması</i>
<i>'Hairy cell' lösemi-varyant</i>
Lenfoplazmasitik lenfoma
Waldenström makroglobulinemisi
Önemi bilinmeyen monoklonal gammopati (MGUS), IgM
μ ağır zincir hastalığı
γ ağır zincir hastalığı
α ağır zincir hastalığı
Önemi bilinmeyen monoklonal gammopati (MGUS), IgG/A
Plazma hücreli myelom
Kemiğin soliter plazmasitomu
Ekstraosseöz plazmasitom
Monoklonal immunoglobulin depozisyon hastalıkları
Mukoza ilişkili ektranodal marjinal zon lenfoma (MALT lenfoma)
Nodal marjinal zon lenfoma
<i>Pediyatrik nodal marjinal zon lenfoma</i>
Foliküler lymphoma
in situ folliküler neoplazi
Duodenal tip folliküler lenfoma
Pediyatrik tip folliküler lenfoma
<i>IRF4 yeniden düzenlenimi gösteren büyük B hücreli lenfoma</i>
Primer kutanöz follikül merkez lenfoması
'Mantle' hücreli lenfoma
in situ 'mantle' hücreli neoplazi
Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), NOS
Germinal merkez B hücre tipi
Aktive B hücre tipi
T hücre/histiosit zengin büyük B hücreli lenfoma
Santral sinir sisteminin (SSS) primer DBBHL'si

Tablo 1: DSÖ, 2016 sınıflamasına göre matür B hücre neoplazmları (DEVAM)
Primer kutanöz DBBHL, bacak tipi
EBV+ DBBHL, NOS
<i>EBV+ mukokutanöz ülser</i>
Kronik yangı ilişkili DBBHL
Lenfomatoid granülomatozis
Primer mediastinal (timik) büyük B hücreli lenfoma
İntravasküler büyük B hücreli lenfoma
ALK+ büyük B hücreli lenfoma
Plazmablastik lenfoma
Primer efüzyon lenfoması
<i>HHV8+ DBBHL, NOS</i>
Burkitt lenfoma
<i>11q aberasyonu gösteren Burkitt benzeri lenfoma</i>
MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren yüksek dereceli B hücreli
Lenfoma
Yüksek dereceli B hücreli lenfoma, NOS
DBBHL ve klasik Hodgkin lenfoma arasında özellikler gösteren B hücreli lenfoma, Sınıflandırılmayan

Geçici antiteler italik olarak listelenmiştir.

1.1. Epidemiyoloji

DBBHL en yaygın lenfomadır ve gelişmiş ülkelerdeki tüm NHL'lerin yaklaşık yüzde 25'ini oluşturmaktadır (2, 15, 16). Amerika Birleşik Devletleri ve İngiltere'de DBBHL insidansı yılda 100.000 kişi başına yaklaşık 7 vakadır (15, 17). Bir bütün olarak Avrupa'da, insidans yılda 100.000 kişi başına yaklaşık 4.92 vakadır (18). Etnisiteye göre insidans değişmektedir. Kafkas ırklarında insidans daha yüksektir. Bunu sırasıyla siyahiler, asyalılar, amerika ve alaska yerlileri takip etmektedir (15, 17, 19). Buna kıyasla, Danimarka'daki insidans yılda 100.000 yetişkin başına yaklaşık 3 vakadır (20).

Diğer birçok NHL tipi gibi erkek predominansı mevcuttur. Vakaların %55'i erkeklerde görülmektedir. (15). İnsidans yaşla birlikte artar; ortalama başvuru yaşı 64'tür, ancak siyah ırkta kafkas ırkına göre başlangıç daha erken yaşlarda olabilmektedir (21).

1.2. Etiyoloji

Ailede lenfoma öyküsü, otoimmün hastalıklar, insan immun yetmezlik virüsü (HIV), hepatit c virüsü (HCV) seropozitifliği, obezite ve bazı mesleki maruziyetler DBBHL'nin risk faktörleri arasında sayılmaktadır (22). Olguların bir kısmı daha az agresif bir lenfomanın transformasyonu (sekonder) sonucu gelişmiştir. Kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma, folliküler lenfoma, marjinal zon lenfoma ya da nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma gibi daha az agresif lenfomalar DBBHL'ye transforme olabilirler (11, 23).

Konjenital veya edinilmiş immün yetmezlik durumlarının yanı sıra moleküler anormalliklere neden olan ajanlar da predispozan faktörlerdendir (24). Özellikle son yıllarda DBBHL ve virüsler arasındaki ilişkiler tartışma konusu haline gelmiştir. DBBHL ile hepatit C virüsü (HCV) arasında ilişki olduğu bildirilmektedir (21). Epidemiyolojik çalışmalar sonucu, HCV prevalansının yüksek olduğu bölgelerde düşük olanlara göre lenfoma riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (25, 26).

Epstein-Barr virüs (EBV), DBBHL da dahil olmak üzere geniş bir lenfoproliferatif hastalık spektrumu ile ilişkilidir (27-29). Zeminde immün yetmezlik olmayan DBBHL olgularında EBV pozitifliği batı toplumlarında %3 oranında iken Asya ve Latin Amerika toplumlarında yaklaşık %10 olarak bildirilmiştir. Tipik olarak bu olgulardaki lenfomalar ABC alt tipindedir, daha genç yaşlarda ortaya çıkabilmektedir ve genellikle ektranodal tutulumludurlar (29-35). Eğer tümör hücrelerinin çoğunda EBV pozitif ise EBV pozitif DBBHL, NOS ya da başka bir spesifik EBV pozitif lenfoma (kronik yangı ilişkili DBBHL, lenfomatoid granülomatozis vb.) tanısı düşünülmelidir (11).

1.3. Klinik Özellikler

DBBHL hastaları tipik olarak hızla genişleyen semptomatik kitle ile başvururlar. Çoğu zaman servikal ve/veya intraabdominal nodal genişleme ile seyrederler ancak primer mediastinal büyük B hücreli lenfomada olduğu gibi mediastende ve vücudun herhangi bir yerinde kitle lezyonu olarak ortaya

çıkabilirler. Ekstranodal tutulum evre I / II hastalığı olanlarda yaygındır (36). DBBHL nodal ya da ekstranodal hastalık şeklinde prezente olabilir.

Olguların %40'ı başlangıçta ekstranodal dokulara sınırlı olarak görülür (1, 37, 38). En sık ekstranodal tutulum yeri gastrointestinal sistem olmasına karşın tüm dokular primer tutulum yeri olabilir (11, 39). En sık tutulan diğer ekstranodal dokular; kemik, testis, dalak, Waldeyer halkası, tükürük bezi, tiroid, karaciğer, böbrek ve adrenal bezlerdir (11).

Sistemik "B" semptomları (yani ateş, kilo kaybı, gece terlemeleri) hastaların yaklaşık yüzde 30'unda görülür ve serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi hastaların yarısından fazlasında artar. Hastaların %40'ında bir ışınlama alanı içinde bulunabilen; lokalize hastalık varken %60'ında ileri evre DBBHL (evre III ve IV) saptanır (1, 40).

1.4. Morfolojik Özellikler

DBBHL, belirgin nükleol ve bazofilik sitoplazmaya sahip büyük transforme B hücrelerinden, diffüz büyüme paterninden ve yüksek (> yüzde 40) proliferasyon fraksiyonundan oluşan heterojen bir tümör grubudur.

1.4.1. Tipik Morfoloji

Lenf nodları incelendiğinde genellikle atipik lenfoid hücreler tarafından normal mimarinin bozulduğu görülür. Tümör hücreleri büyük boyutlardadır (küçük bir lenfositin en az iki katı veya bir doku makrofajının çekirdeğinden daha büyük boyutlarda). Genellikle normal sentroblastlara ve immunoblastlara benzemektedirler. Sentroblastlar, yuvarlak veya oval çekirdekli, veziküler kromatine, genellikle çoklu periferik nükleollere ve dar bir bazofilik sitoplazmaya sahip büyük, yarıksız hücrelerdir. İmmünoblastlar, çok belirgin nükleollere, bol sitoplazmaya ve sıklıkla plazmasitoid özelliklere sahip daha büyük hücrelerdir (11).

Bazı tümörler, sentroblastik ve immünoblastik formların karışımlarını içerir. Parsiyel nodal tutulum interfolliküler ve/veya daha az sıklıkla sinüzoidal olabilir. Nodal tutulumlu olgularda sıklıkla perinodal doku infiltrasyonu saptanır. Kalın ya da ince sklerotik bantlar görülebilir. DBBHL, NOS'ların morfolojik özellikleri

çeşitlilik gösterir ve olgular sık ve nadir görülen morfolojik varyantlar olarak gruplanabilir. Morfolojik özelliklerin çeşitliliği nedeniyle ayırıcı tanıya yönelik ek incelemelerin yapılması gerekmektedir. Tüm varyantlarda tümör hücreleri, çok sayıda T lenfositler ve/veya histiyositler ile karışık halde bulunabilir (11).

1.4.2. Morfolojik Varyantlar

a. Sentroblastik Varyant

Sentroblastik varyant en yaygın görülen varyanttır. Bazı olgularda tümör monomorfik olup %90'dan fazla sentroblast içerir ancak sentroblast ve immunoblastları beraber içerecek şekilde polimorfik özellikte olan olgulara %90 ile daha sık rastlanılmaktadır. Sentroblastik olgular genellikle GCB alt tipindedir (41).

b. İmmunoblastik Varyant

İmmunoblastik varyantta tümör hücrelerinin %90'ı immunoblastlardan oluşur. Sentroblastik ve immunoblastik varyantların ayırımında hematopatologlar arası tekrarlanabilirliğin düşük olması nedeni WHO sınıflamasında hepsi bir kategori altında incelenmektedir (42-44).

c. Anablastik Varyant

DBBHL'nin anaplastik varyantı, Reed -Sternberg hücrelerine ve anaplastik büyük hücreli lenfoma (ALCL) tümör hücrelerine benzeyen tuhaf pleomorfik çekirdeklere sahip büyük ila çok büyük yuvarlak, oval veya poligonal hücrelerin varlığı ile karakterize edilen nadir bir DBBHL (NOS) morfolojik varyantıdır (45-47). Bu varyant, ALK pozitif büyük B hücreli lenfoma ile biyolojik ve klinik olarak ilişkisizdir (11)

d. Nadir Görülen Morfolojik Varyantlar

Miksoid stroma ya da fibriler matriks içeren, psödorozet formasyonu oluşturan, iğsi görünümde veya taşlı yüzük benzeri morfolojide olan, sitoplazmik granüller, mikrovillus projeksiyonları ve intersellüler junctionlar oluşturan daha nadir görülen morfolojik varyantlar tanımlanmıştır (11).

1.5. İmmunofenotipik Özellikler

DBBHL'nin immünofenotipi histokimya veya akış sitometrisi ile doğrulanabilir. DBBHL'deki tümör hücreleri genellikle pan-B hücresi antijenlerini (CD19, CD20, CD22, CD79a) ve CD45'i eksprese ederler. Tümörlerin yüzde 50 ila 75'i, çoğunlukla IgM izotipinin yüzey veya sitoplazmik monoklonal immünoglobulinini (Ig) eksprese ederler ancak sitoplazmik immünglobulin varlığı CD38 ve CD138 gibi plazma hücre belirteçlerinin ekspresyonu ile ilişkili değildir. Fakat nadiren CD20 pozitif hücrelerde CD38 ve CD138 pozitifliği de saptanabilir. İmmünoglobulin değişken bölge genleri yeniden düzenlenmiştir ve genellikle somatik olarak mutasyona uğramıştır; klonla ilişkili alt popülasyonlar alternatif izotipleri ifade edebilir (48).

CD30 ekspresyonu vakaların yaklaşık yüzde 25'inde (özellikle anaplastik varyant) bulunur (31). EBV negatif DBBHL'deki CD30 ekspresyonunun, malign hücrelerin $\geq$ % 20'si CD30 için pozitif olduğunda olmayanlara kıyasla daha iyi bir prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (49).

Nadiren, DBBHL'ler daha agresif hastalık ve daha kötü prognoz ile ilişkili bir bulgu olan CD5'i eksprese ederler (49-53). CD5 pozitif olguların çoğu de novo olgulardır; kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfomadan (KLL/SLL) gelişimi nadirdir. CD5 pozitif DBBHL, 'mantle' hücreli lenfomanın blastoid varyantından Siklin D1 ve SOX11 negatifliği ile ayrılabilir (54).

DBBHL'deki en yaygın sitogenetik anormallikler BCL2, BCL6 ve MYC onkogenlerini içerir. BCL2 translokasyonları DLBCL'nin yaklaşık üçte birinde, çoğunlukla GCB moleküler alt tipinde bulunur.

1.6. Genetik Özellikler

DBBHL tümörlerinin çoğunda genetik anormallikler vardır, ancak tipik veya tanısal olan tek bir sitogenetik değişiklik yoktur. Çoğu tümörde immünoglobulin ağır ve hafif zincir genlerinin yeniden düzenlenimi ve bu genlerin farklı bölgelerinin somatik mutasyonları görülür (55, 56).

DBBHL'lerde MYC ve BCL2 ekspresyon oranları, pozitifliği tanımlamak için kullanılan eşik değere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Çoğu çalışmaya göre BCL2 ile tümör hücrelerinin $\geq 50\%$, MYC ile tümör hücrelerinin nükleer boyanması $\geq 40\%$ ise pozitif olarak kabul edilmektedir. Bu iki belirteç ile boyanan olgular 'double ekspresör' olarak adlandırılmaktadır ve bu olgular genellikle ABC alt tipindedir (57, 58).

BCL-6'daki değişiklikler: B hücresi lenfoma 6 (BCL6) geni olgun germinal merkez B hücrelerinde eksprese edilir, ancak farklılaşmış versiyonlarında (plazma hücreleri ve bellek B hücreleri) eksprese edilmez. BCL6 promoterindeki BCL6 bağlanma bölgelerini içeren negatif bir geri besleme döngüsü aracılığıyla BCL6'nın kendisi de dahil olmak üzere birçok gen için bir transkripsiyon baskılayıcı olarak işlev görür. B hücre lenfoma hücre dizilerinde BCL6'nın aşırı ekspresyonu, hücrelerin DNA hasarına yanıt olarak apoptoz geçirmesini önler (59, 60). Kromozom 3 üzerinde bulunan BCL6 geni, vakaların yüzde 20 ile 40'ında yeniden düzenlenir ve 5' kodlanmayan bölgede yüzde 70 oranında mutasyonlar gösterir (61-64). BCL6'yı içeren 20'den fazla translokasyon tanımlanmıştır. BCL6 proto-onkogeninin hem 5' kodlamayan bölge mutasyonları hem de immüoglobulin gen değişken bölgelerinin mutasyonları normal germinal merkez hücrelerinde bulunabilir ve DBBHL'deki mevcudiyetleri, bir germinal merkez ya da post-germinal merkez farklılaşma aşaması ile tutarlıdır (60, 65). 5' kodlamayan mutasyonlar, transkripsiyonel bir baskılayıcı olan BCL6 ile ekspresyonun negatif otomatik regülasyonunu ortadan kaldırırken, translokasyonlar, BCL6 promotörünü birçok farklı genden türetilen güçlü, yapısal olarak aktif promoterler ile değiştirir. Hem mutasyonlar hem de translokasyonlar DBBHL'de yaygın bir onkojenik mekanizma olan BCL6'nın aşırı ekspresyonu ile sonuçlanır (60, 65).

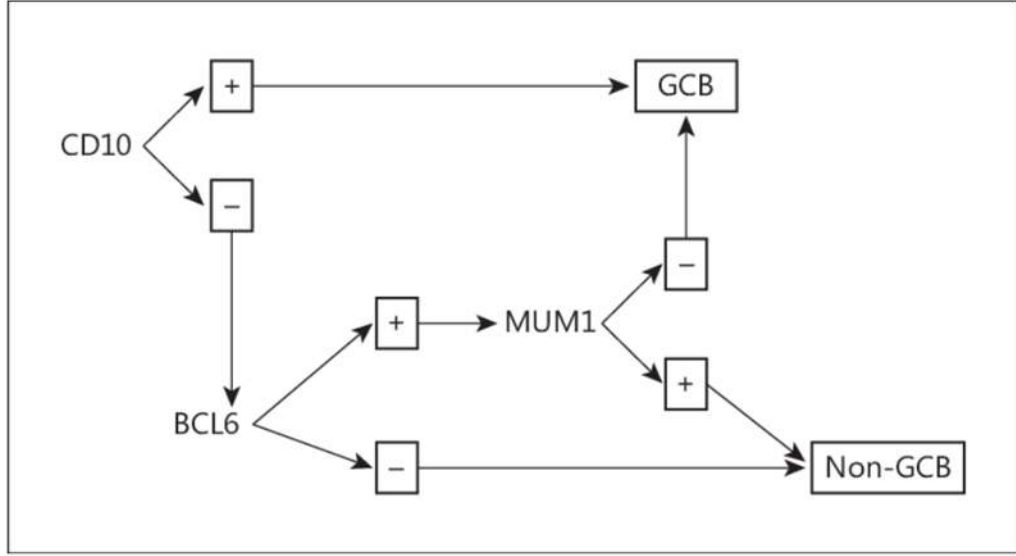
(14;18) Translokasyonu, BCL-2 Aktivasyonu: B hücresi lösemi/lenfoma 2 (BCL2) geni apoptozu bloke eden ve uzamış hücre sağkalımına yol açan bir onkojendir. BCL2 aşırı ekspresyonu genellikle BCL2'yi bir immüoglobulin promotörünün kontrolü altına alan bir (14;18) translokasyonun sonucudur. Foliküler lenfoma vakalarının $> 90\%$ 'ında görülen t(14;18), DBBHL hastalarının yaklaşık yüzde 30'unda (daha sık olarak GCB alt tipinde) mevcuttur ve BCL2

ve CD10 proteinlerinin ekspresyonu ile yakından ilişkilidir. Bu vakalar, foliküler lenfomanın histolojik dönüşümlerini temsil edebilir veya bir germinal merkez B hücresi gen ekspresyon profilini gösteren DBBHL altkümesiyle ilişkilendirilebilir (Şekil 1) (66, 67). Histolojik transformasyon durumunda, TP53 mutasyonları yüksek frekansta ve ayrıca pp ve p16 tümör baskılayıcılarını içeren 9p21'de homozigot delesyonlar gözlenir (68-71). T(14;18) nodal ve yaygın hastalık ile ilişkilidir; ancak kötü prognoz ile ilişkili değildir. Ayrıca, BCL6 ile olduğu gibi, BCL2 translokasyonu olmayan birçok tümörde BCL2 ekspresyonu gözlenebilir (72).

Diğer Mutasyonlar: MYC yeniden düzenlenimi olguların %8-14'ünde izlenir ve GCB alt tipi ile ABC alt tiplerinde benzer oranlarda saptanır. DBBHL'de, MYC yeniden düzenlenimi Burkitt lenfomadan farklı olarak karmaşık bir karyotip ile ilişkilidir. MYC translokasyonunu barındıran DBBHL olgularının yaklaşık yarısında ayrıca BCL2 ve/veya BCL6 translokasyonu da gözlenir. Bu olgular DSÖ, 2016 sınıflamasında 'MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma' başlığı altında ayrı bir tip olarak tanımlanmıştır ('double hit lenfoma') (58, 66, 67, 73-75).

363 DBBHL vakasının kapsamlı bir analizinde yüzde 87 oranında klonal karyotipik anormallikler saptanmış ve ilgili en yaygın yerler 14q32, 18q21, 1q21, 3q27, 1q36, 8q24, 3p21, 6q21, 1p22 ve 22q11 olarak bulunmuştur (76, 77) .

DBBHL'nin nadir plazmablastik formları, Anaplastik lenfoma kinaz (ALK) ve Klatrin ağır zincir (CLTC) genini içeren bir (2;17) (p23; q23) translokasyonuna sahiptir (78). Bunlar genellikle CD20, CD79a ve CD30 ile negatif, CD138 gibi plazma hücre markörleri ile pozitif boyanan ve ALK için granüler sitoplazmik boyama gösteren geç B hücreli tümörlerdir. Bazı seriler erkek baskınlığının ve kötü prognozun olduğunu göstermektedir. (79, 80).



Şekil 1: Hans algoritmasına göre olguların GCB ve non-GCB alt tiplerine ayrılması

1.7. Teşhis

DBBHL tanısı en iyi lenf nodu eksizyonel doku biyopsisi ile konur. Eksizyonel lenf nodu biyopsisi çoğu hasta için tercih edilen tanı testi olmakla birlikte, bazı hastalar ulaşılabilir lenfadenopati ile başvuramaz ve tanı için başka bir dokunun (yani plevral sıvı, dalak) patolojik değerlendirmesi gerekebilir. DBBHL'nin patolojik teşhisi morfolojik değerlendirme ve immünofenotiplemeye dayanır. CD20 ve CD79a gibi pan-B hücre belirteçleri ile boyanma, birçok durumda tanıyı koymak için yeterlidir; ancak atipik morfolojik özelliklere sahip vakalarda çok daha geniş bir dizi boyamaya ihtiyaç duyulabilir. Plazmablastik özelliklere sahip nadir durumlarda, tümörü multipl miyelomdan ayırt etmek için diğer klinik ve laboratuvar özelliklerle korelasyon gerekebilir.

1.8. Prognostik Faktörler

DBBHL vakalarının çoğunluğunda günümüzde kullanılan birinci basamak tedavi ile kür sağlanabilir. Sonuca katkıda bulunan tümör-ekstrinsik faktörler arasında yaş, sosyoekonomik koşullar, komorbid durumlar, performans durumu ve çeşitli klinik özellikler bulunur (81, 82).

DBBHL prognozu, doksorubisin içeren kemoterapötik rejimlerle tedavi gören agresif Hodgkin dışı lenfoma hastalarının prognozunu belirlemek için 1993 yılında önerilen Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) skoru ile yüksek oranda ilişkilidir (tablo 2 ve tablo 3). Bu bulgular DBBHL'li birçok hastada doğrulanmıştır.

Tablo 2: Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) Skoru

Prognostik Faktörler (Her biri 1 puan)	
Yaş >60	
Serum LDH yüksekliği	
Kötü performans durumu (ECOG skoru ≥ 2)	
Yüksek evre (Evre III-IV)	
1'den fazla ektranodal bölge tutulumu	
Risk Grubu (Standart IPI)	
0-1	Düşük risk
2	Düşük-orta risk
3	Orta-yüksek risk
4-5	Yüksek risk
Risk Grubu (R-IPI)	
0	Çok iyi
1-2	İyi
3-4-5	Kötü

LDH: Laktat dehidrogenaz, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

Tablo 3: Ann-Arbor Evreleme Sistemi:

I	Tek lenf nodu bölgesinin tutulumu veya tek bir ektranodal organ ya da bölgenin tutulumu (IE)
II	Diyaframın aynı tarafında iki veya daha fazla lenf nodu bölgesinin tutulumu ya da diyaframın aynı tarafında bir ektranodal bölge veya organın lokalize tutulumu (IIE) ile birlikte bir ya da daha fazla lenf nodu bölgesinin tutulumu
III	Diyaframın her iki tarafında lenf nodu bölgelerinin tutulumu Buna bir ektranodal organ veya bölgenin (IIIE) ya da dalağın (IIIS) ya da her ikisinin (IIISE) lokalize tutulumu eşlik edebilir
IV	Lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın, bir veya daha fazla uzak ektranodal organın diffüz ya da dissemine tutulumu
A: Asemptomatik	
B: Ateş, terleme, vücut ağırlığının %10'undan fazlasının kaybı	

Ritüksimab içermeyen antrasiklin temelli rejimlerle tedavi edilen agresif Hodgkin dışı lenfoma tanılı 2031 hasta içeren grupla yapılan çalışmada IPI skoru sıfır-bir, iki, üç ve dört ile beş olan hastalar için beş yıllık genel sağkalım oranları sırasıyla yüzde 73, 51, 43 ve 26 şeklinde saptanmıştır. Standart kemoterapiye ritüksimab eklenmesi, CD20 pozitif tümörü olan hastalarda genel sağkalım oranlarında iyileşme ile sonuçlanmıştır. Özellikle, ritüksimab artı CHOP (siklofosamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizon) veya CHOP benzeri rejimlerin kombinasyonu DBBHL için en sık kullanılan tedavidir (83, 84). Üç prospektif çalışma kapsamında ritüksimab artı CHOP veya CHOP benzeri kemoterapi alan 1063 agresif B hücreli lenfoma hastasının analiziyle orijinal IPI'nın prognostik değerini yeniden değerlendirilmiştir (83). 30 ayı aşan ortalama gözlem süresinde, olaysız sağkalım (EFS), ilerlemesiz sağkalım (PFS), genel sağkalım değerlendirilmiş olup IPI skoruna göre genel sağkalım için üç yıllık tahminler;

- IPI puanı sıfır veya bir - Sırasıyla yüzde 81, 87 ve 91
- IPI puanı iki - Sırasıyla yüzde 69, 75 ve 81

- IPI puanı üç - Sırasıyla yüzde 53, 59 ve 65
- IPI puanı dört veya beş - Sırasıyla yüzde 50, 56 ve 59 oranlarında bulunmuş olup tek tek incelendiğinde rituksimab artı CHOP kemoterapisi alan hastalarda orijinal IPI kullanımı uygun bulunmuştur (85, 86).

1.9. Gen Ekspresyon Profili

Tamamlayıcı DNA mikrodizileri yoluyla gen ekspresyon profili (GEP) Hodgkin dışı lenfoma ve diğer malignitelerin sınıflandırılması ve tanısına yönelik gelişen bir yaklaşımdır. DBBHL, altta yatan moleküler patogeneze ve klinik sonuçları açısından çeşitlilik gösteren heterojen bir tümör grubudur. Bazı çalışmalarda DBBHL GEP temelinde alt sınıflara ayrılmıştır (3, 41, 87, 88). Birkaç farklı sınıflandırma oluşturulmuştur; bu sınıflamalardan en yaygın olarak kullanılanı DBBHL'yi iki ana gruba ayırır.

Germinal merkez B hücre tipi (GCB) - Bu vakalarda normal bir germinal merkez B hücrelerine benzeyen bir GEP vardır. GCB tümörleri, vakaların yaklaşık yüzde 30 ila 40'ında t (14; 18) translokasyonlar gösterir ve standart R-CHOP tedavisi ile üstün bir beş yıllık sağkalım oranına sahiptir (87, 88).

Aktive B hücre tipi (ABC) - Bu vakalarda aktive B hücrelerine benzeyen bir GEP vardır. Bu tümörler muhtemelen plazmasitik farklılaşmanın erken aşamalarında gözlenen bir post-germinal-merkez B hücrelerinden türetilir. ABC tümörler sıklıkla trisomi 3 delesyonu içerir. GCB tipi tümörler ile karşılaştırıldığında, ABC tipi tümörler standart R-CHOP tedavisi sonrası daha düşük beş yıllık sağkalım oranlarıyla ilişkilidir (87, 88).

1.10. Tedavi

DBBHL agresif fakat potansiyel olarak multi-ajan kemoterapi ile tedavi edilebilir bir hastalıktır. CHOP kemoterapi rejimi yıllardan beri tedavinin dayanak noktası olmuştur. CHOP rejimine bir anti-CD20 antikoru olan rituksimab'ın eklenmesi ile yaşam sürelerinin önemli ölçüde uzadığı tespit edilmiştir (89). Farklı tedavi seçenekleri olsa da bunların sağ kalım üzerinde olumlu etkilerinin olup olmadığı belirsizdir (4). ABC alt tipindeki olgularda sağ

kalımı arttırmak için R-CHOP rejimi temeline yeni ajanların eklenmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (90-93).

2. Çalışmada Kullanılan Belirteçler

2.1. CD70

CD70 (Farklılaşma Kümesi 70), insanlarda CD70 geni tarafından kodlanan bir proteindir. CD70, CD27 için bir ligandır. CD70 proteini, yüksek derecede aktifleştirilmiş lenfositlerde (T ve B hücreli lenfomalarda olduğu gibi) eksprese edilir. CD70-CD27 yolu, özellikle antiviral yanıt oluşumu sırasında T hücresi bağışıklığının üretilmesinde ve korunmasında önemli bir rol oynar. CD27 bağlanması üzerine, kostimüle edilmiş T hücrelerinin proliferasyonunu indükler ve sitolitik T hücrelerinin oluşumunu artırır. Normal lenfositlerin CD70 ekspresyonunun düşük olması nedeniyle anti-CD70 antikollarının CD70 pozitif lenfomalar için olası bir tedavi olabileceği düşünülmektedir (94).

2.2. GNA13

GNA13 geni, G13 G protein alfa alt birimini kodlar. GNA12 ile birlikte, bu iki protein heterotrimerik G protein alfa alt birimlerinin dört sınıfından birini oluşturur (95). Heterotrimerik G proteinleri, hücre yüzeyi G proteinine bağlı reseptörler tarafından tespit edilen hormon ve nörotransmitter sinyallerinin hücre fonksiyonlarını modüle etmek için hücre içi sinyal yollarına dönüştürülmesinde işlev görür. G proteini alfa alt birimleri guanin nükleotidlerine bağlanır ve düzenleyici bir rol üstlenir (96, 97). Bu gendeki tekrarlayan mutasyonlar diffüz büyük B hücreli lenfoma vakalarıyla ilişkilendirilmiştir (10, 98).

2.3. BTG1

Protein BTG1, insanlarda BTG1 geni tarafından kodlanan bir proteindir. BTG1 gen lokusunun B hücreli kronik lenfositik lösemide t(8;12) (q24;q22) kromozomal translokasyonuna dahil olduğu gösterilmiştir. Antiproliferatif gen ailesinin bir üyesidir. BTG1 ekspresyonu, hücre döngüsünün G0/G1 fazlarında maksimumdur ve hücreler G1 boyunca ilerledikçe down regüle edilir ve hücre

çoğalmasını negatif olarak düzenler. Bu gendeki tekrarlayan mutasyonlar diffüz büyük B hücreli lenfoma vakalarıyla ilişkilendirilmiştir (10, 98).

2.4. TNFRSF14

Tümör nekroz faktörü reseptörü süperailisi elemanı 14 (TNFRSF14) olarak da bilinen herpesvirüs giriş mediatörü (HVEM), TNF-reseptör süperailisinin bir insan hücre yüzeyi reseptörüdür. Bu gendeki mutasyonlar yaygın olarak diffüz büyük B hücreli lenfoma ve pediatrik tip foliküler lenfoma vakalarıyla ilişkilendirilmiştir (10, 98, 99). TNFRSF14 mutasyonlarına GCB tipi DBBHL'lerde daha sık rastlanır.

2.5. MYD88

MYD88, Toll benzeri reseptör ve interlökin-1 reseptör sinyalinde rol oynayan bir moleküldür ve B lenfositlerin hayatta kalmasını sağlar. MYD88'de 265. pozisyonda lösinden proline bir değişikliğe yol açan mutasyon, Waldenström makroglobulinemisi ve diffüz büyük B hücreli lenfoma ABC alt tipi de dahil olmak üzere birçok insan lenfoma alt tipinde tespit edilmiştir (7, 8). MYD88'in (MYD88 L265P) aktive edici bir nokta mutasyonuna sahip hücrelerde MYD88, tümör sağkalımını desteklemek için Bruton tirozin kinaz (BTK) ile kompleks yapar (100).

Toll-benzeri reseptör (TLR) ve interlökin-1 reseptör sinyaline aracılık eden bir adaptör protein olan MYD88'deki somatik mutasyon, NF- κ B ve JAK-STAT3 sinyal yollarını uyararak DBBHL-ABC'lerde hücre sağkalımını artırmaktadır. MYD88 ve CD79B mutasyonları ağırlıklı olarak ABC-tipi DBBHL'de görülmekte ve bu iki mutasyon sıklıkla aynı tümörde birlikte bulunmaktadır. DBBHL-ABC'lerin yaklaşık %29'unda MYD88, %18' inde CD79B mutasyonu izlenmektedir. İmmün ayrıcalıklı bölgelerin lenfomalarında ise MYD88 ve CD79B mutasyonları nodal DBBHL'lere göre belirgin olarak daha sık izlenmektedir. Çeşitli çalışmalarda primer SSS lenfomasında %70, PTL'de %65-80, primer vitroretinal lenfomada %70 oranında MYD88 mutasyonu bildirilmektedir. Bu bilgi, MYD88 mutasyonlarının önemli ölçüde ve CD79B mutasyonlarının daha az oranda immün ayrıcalıklı bölgelerde lenfomagenezis

için önemli faktörler olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle, bu tümörlere sahip hastalar, IRAK4 kinaz inhibitörleri gibi MYD88 sinyal bileşenlerini hedef alan tedavilerden yararlanabilirler (9, 101-103).

2.6. CD79b

B lenfositlerinin aktivasyonunda rol alan en önemli yapı hücre membranında bulunan B hücre reseptör kompleksidir (BCR). CD79b (Farklılaşma kümesi 79b, Ig β) BCR kompleksinin bir parçasıdır. Membran IgM veya IgD (BCR) ve Ig α (CD79a) ile Ig β (CD79b) hep birlikte BCR kompleksini oluştururlar (104). Bu yapının en önemli elemanı yüzey immunoglobulin (Ig) molekülüdür. Ig yanında yer alan sitoplazmik kısmı daha uzun heterodimer moleküller CD79a ve CD79b, hücre içi sinyal iletiminde önemli rol alırlar (104, 105). CD79a ve CD79b'nin sitoplazmik kısımları tirozinden zengin ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs) içerirler ki bu motifler sinyal transdüksiyonu için gereklidir (105). CD79a ve CD79b'nin biraraya gelen ITAM motiflerindeki tirozin aminoasitleri bazı sitoplazmik protein kinazlar tarafından fosforile edilir (106). Daha sonra çeşitli sinyal enzimlerinin ve adaptör proteinlerin yardımı ile farklı sinyal yolları uyarılır. Tüm bu sinyal kaskadları gen ekspresyonunu indükleyen transkripsiyon faktörlerinin uyarılması ile sonuçlanır. Fos, Jun, NF- κ B gibi transkripsiyon faktörleri, B hücre proliferasyonunu ve diferensiasyonunu sağlayan genlerin ekspresyonunu başlatırlar (107).

MYD88 ve CD79B mutasyonları ağırlıklı olarak ABC-tipi DBBHL'de görülmekte ve bu iki mutasyon sıklıkla aynı tümörde birlikte bulunmaktadır. DBBHL-ABC'lerin yaklaşık %29'unda MYD88, %18'inde CD79B mutasyonu izlenmektedir (9).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Etik Kurul

49263 numaralı projemiz, 25.10.2017 tarihli toplantıda 20.478.486 karar no ile Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

1. Olgular

Çalışmamızda, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan, 1998-2017 yılları arasında tanı almış, tanı anında bilinen ektranodal tutulumu bulunmayan toplam 58 nodal DBBHL, NOS olgusu değerlendirildi. Bu 58 olgunun tümü insizyonel ya da eksizyonel biopsi ile tanı alan olgular olup uygulanacak geniş immunohistokimyasal panelde dokularının tükenebileceği düşünülen kalın iğne biopsi materyali ile tanı alan olgular çalışmaya dahil edilmedi. Olguların hematoksilen eozin (HE) boyalı preparatları, parafin blokları ve immunohistokimyasal preparatları arşivden çıkarıldıktan sonra tüm preparatlar gözden geçirilerek DSÖ, 2016 sınıflamasına göre tanımlar tekrar değerlendirildi. Bu gözden geçirme sırasında uygun blok seçimi yapıldı ve bloklardaki dokuların yeterliliği kontrol edildi.

Tekrar değerlendirme sonucunda yeterli doku elde edilemeyecek 1 olgu, folliküler lenfomadan transforme olduğu anlaşılan 1 olgu, 'mantle' hücreli lenfoma olarak değerlendirilen 1 olgu, marjinal zon lenfoma olarak değerlendirilen 1 olgu ile pür sinüzoidal patern sergileyen 2 olgu olmak üzere toplam 6 olgu çalışmadan çıkarıldı ve kalan 52 olgu çalışmaya alındı. Önceki yıllara ait olgularda DSÖ, 2016 sınıflamasına göre tanı için gerekli olan ancak uygulanmamış immunohistokimyasal belirteçler belirlendi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın rutin işleyişi sırasında istem yapılan preparatların altına çalışma grubundaki eksik boyaları olan olguların bloklarından kesitler alınarak bu eksikler tamamlandı. Tanı sırasında EBER-ISH yapılmayan olgulara EBER-ISH yapıldı ve böylelikle çalışmaya dahil edilen tüm olguların EBER-ISH negatif olduğu saptanarak olguların EBV ilişkili olmadıkları gösterildi.

Hastane kayıtlarından hastalığın evresi (Ann Arbor sistemine göre), klinik özellikleri (cinsiyet, yaş, LDH, hemoglobin, albumin değerleri, periferik kan lenfosit, monosit, trombosit ve nötrofil sayısı ile MPV değerleri), Uluslararası Prognostik İndeks skoru, ECOG skalası performans durumu, klinik gidişi (tanı aldığı andan itibaren yaşam süresi, son durumu), tedavisi (hangi kemoterapiyi aldığı, radyoterapi alıp almadığı, otolog veya allojenik kök hücre nakli yapıp

yapılmadığı), nüks olup olmadığı öğrenilerek bu bulgular prognostik analizler için kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen 52 olgudan 8'inde sayılan bu klinik prognostik verilere ulaşılamazken diğer olgularda bu bilgiler elde edilebildi.

2. İmmunohistokimyasal İnceleme

Formalin ile tespitli ve parafine gömülü dokulardan elde edilen 3,5 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü elektrostatik lamlara (Tomo İHC Adhesive Glass Slide) alındı ve 58°C'lik etüvde 4 saat tutuldu ve ardından barkodları basılarak çalışmaya hazır hale getirildi. Elde edilen tüm kesitler tam otomatik immunohistokimyasal boyama cihazına (BenchMark Ultra automated IHC/ISH slide staining system, Ventana Medical Systems; BenchMark XT automated IHC/ISH slide staining system, Ventana Medical Systems) yerleştirildi. İmmunohistokimyasal boyamalar için cihaz ile uyumlu Ultraview Universal DAB Detection Kit ve EZ prep, LCS, SSC, Cell Condition 1 (CC1), Reaction Buffer Concentrate solüsyonları ile Hematoksilen ve Blue Reagent kullanıldı.

İmmunohistokimyasal boyama için predilüe form tavşan poliklonal anti-human MyD88 (Poliklonal, Bioss), predilüe form tavşan monoklonal anti-human CD79b (Klon EP214, Boster), predilüe tavşan poliklonal anti-human CD70 (Poliklonal, Bioss), predilüe form fare poliklonal anti-human BTG1 (Poliklonal, Bioss), predilüe form tavşan poliklonal anti-human GNA13 (Poliklonal, Bioss) ve predilüe form tavşan poliklonal anti-human TNFRSF14 (Poliklonal, Bioss) antikorları uygulandı.

CD79b için CC1 (EDTA) (64 dakika), inkübasyon (37°C, 60 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Blue reagent (4 dakika) uygulandı.

Pozitif kontrol olarak tüm immunohistokimyasal boyalar için tonsil dokusu kullanıldı.

MyD88 için 1:50 ile 1:400 arasında değişen dilüsyonlarda ve 60 dakika inkübasyon süresinde denemeler yapıldı. Pozitif kontrol olarak belirlenen dokularda (tonsil) 8 deneme yapılmasına karşın kontrol dokularında istenen boyanma elde edilememesi üzerine sağlıklı boyanma elde edilemediği için olgulara MyD88 uygulanamadı ve bu belirteç çalışmadan çıkarıldı.

CD70 için 1:200 ile 1:400 arasında değişen dilüsyonlarda ve 40-60 dakika arasında değişen inkübasyon sürelerinde denemeler yapıldı; istenen boyanma elde edilememesi üzerine sağlıklı boyanma elde edilemediği için olgulara CD70 uygulanamadı ve bu belirteç çalışmadan çıkarıldı.

BTG1, GNA13 ve TNFRSF14 için 1:200 ile 1:400 arasında değişen dilüsyonlarda ve 60 dakika inkübasyon süresinde denemeler yapıldı. Bu denemelerde; 64 dakika CC1 (EDTA), 68-80 dakika arasında değişen sürelerde CC2, 16 dakika proteaz enzimi ve blok işlemlerinin farklı kombinasyonları uygulandı. Ancak pozitif kontrol olarak belirlenen dokularda (tonsil) 7 deneme yapılmasına karşın kontrol dokularında istenen boyanma elde edilememesi üzerine sağlıklı boyanma elde edilemediği için olgulara BTG1, GNA13 ve TNFRSF14 uygulanamadı ve bu belirteçler çalışmadan çıkarıldı.

Cihazda boyama işlemi tamamlandıktan sonra lamalar ılık deterjanlı su ile yıkanıp alkol serilerinden geçirildi. Şeffaflandırma işlemi için ksilolden geçirildi ve EntellanR (Merck and Co., Berlin) ile kapatıldı.

3. İmmunohistokimyasal Sonuçların Değerlendirilmesi

3.1. İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçların istatistiksel değerlendirmesinde kişisel bilgisayarda çalışan IBM® SPSS® (Statistical Package for Social Sciences) programının 25.0 versiyonu kullanıldı. Değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun olup olmadığını saptamak için Kolmogorov Smirnov testi, korelasyonun araştırılmasında Spearman korelasyon analizi, kategorik değişkenlerin anlamlılığının sınanmasında Fischer exact test, sürekli değişkenler ile kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin saptanmasında one-way ANOVA temel alındı. Sağ kalım analizinde kullanılacak uygun kesme değerlerinin belirlenmesinde ROC analizi kullanıldı. Sağ kalım analizi için Kaplan-Meier yöntemi ile sağ kalım eğrilerinin istatistiksel karşılaştırılması için log-rank testi kullanıldı. Sonuçlar $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

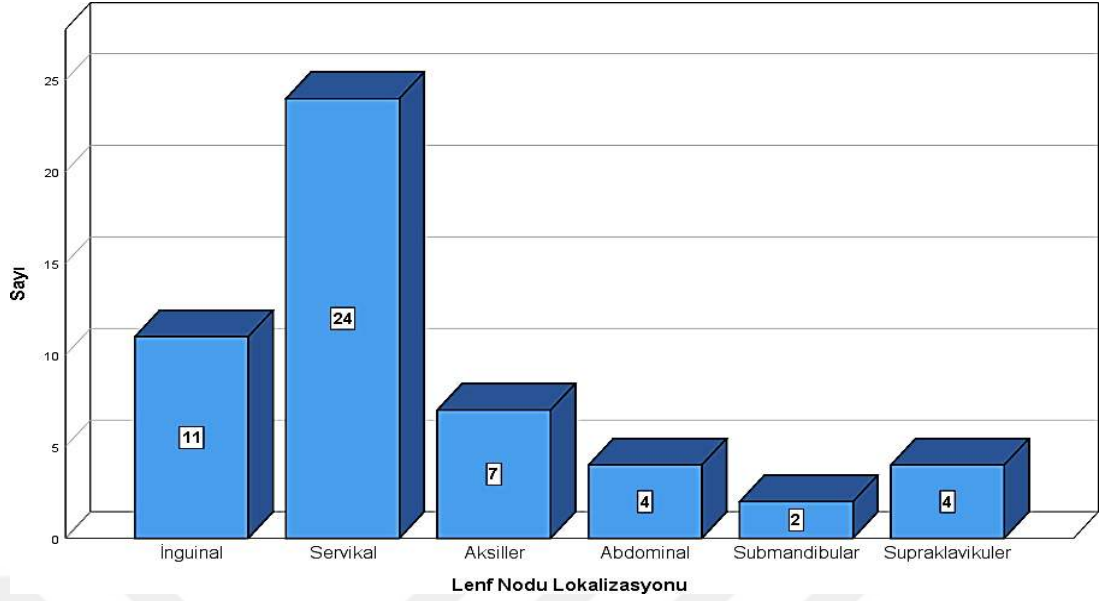
1. Yaş, Cinsiyet Dağılımı ve Klinikopatolojik Özellikler

Çalışmaya toplam 52 nodal DBBHL, NOS olgusu alınmış olup olguların 31'i kadın (%59,6), 21'i erkekti (%40,4). Olguların yaşları 28 ile 89 arasında değişmekte olup ortanca değeri 64,5, ortalama değeri ise 59,4 olarak saptandı. 60 yaşında ya da altında 22 olgu (%42,3) bulunmaktaydı.

Tablo 4: Olguların yaş aralıklarına göre dağılımı

Yaş (n=52)	Yaş Aralıkları	Olgu sayısı	Ora n (%)
	20-29 yaş	3	5,8
	30-39 yaş	5	9,6
	40-49 yaş	8	15,4
	50-59 yaş	6	11,5
	60-69 yaş	13	25
	70-79 yaş	12	23,1
	80-89 yaş	5	9,6
	Toplam	52	100

Olguların 9'u insizyonel biopsi (%17,3), 43'ü ise eksizyonel biopsi (%82,7) ile tanı almıştı. Lenf nodu biopsilerinin 11'i (%21,2) inguinal, 24'ü (%46,2) servikal, 7'si (%13,5) aksiller, 4'ü (%7,7) abdominal, 2'si (%3,8) submandibular, 4'ü (%7,7) ise supraklavikuler bölgeden yapılmıştı. Lenf nodlarının dağılımı şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4: Lenf nodlarının lokalizasyonuna göre dağılımı

Çalışmaya dahil edilen 52 olgudan 44'üne (%84,6) ait klinik bilgi ve prognostik verilere ulaşılırken 8 olguya (%15,4) ait bilgi elde edilemedi. LDH, olguların 20'sinde (%45,5) yüksek iken 24'ünde (%54,5) normaldi. Olguların 20'si (%45,5) düşük ECOG performans skoruna sahipken 24 olgu (%54,5) kötü performans durumuna sahipti. Olguların IPI skorlarına ve evrelerine göre dağılımları Tablo 5'te özetlenmiştir. Olgular R-IPI skorlamasına göre kategorilere ayrıldığında; 5 olgu (%11,4) 'çok iyi', 14 olgu (%31,8) 'iyi', 25 olgu (%56,8) ise 'kötü' kategorisinde yer almaktaydı. 13 olgu (%29,5) evre I-II olarak, 31 olgu (%70,5) ise evre III-IV olarak değerlendirildi.

Kemoterapi (KT) rejimi olarak 26 olguya (%59,1) rituksimab içeren R CHOP ya da benzeri bir tedavi protokolü; 10 olguya (%22,7) ise rituksimab içermeyen CHOP ve benzeri bir KT rejimi uygulanmıştı. 8 olguda (%18,2) düşük performans durumu ya da tedaviyi reddetme gibi nedenlerle KT uygulanmamıştı (Tablo 5). Olguların tedavi yanıtları değerlendirildiğinde ise KT uygulanan 36 hastanın 14'ünde tam yanıt, 8'inde kısmi yanıt saptanırken 14 olgu tedaviye yanıtızsız olarak değerlendirildi.

Hiçbir olguya allojenik kök hücre nakli uygulanmazken yalnızca 1 olguya KT sonrası otolog kök hücre nakli uygulanmıştı. 2 hastada KT'ye ek olarak radyoterapi tedavisi de uygulandığı saptandı. Olgulardan yalnızca 2'sinde

(%4,5) nüks saptandı.

Klinik verilerine ulaşılan 44 olgu göz önüne alındığında, takip süresi 1 ay ile 127 ay arasında değişmekteydi. Olgulardan 20'sinin (%45,5) yaşadığı, 24'ünün (%54,5) ise öldüğü tespit edildi (Tablo 5). Ölen 24 olgu ele alındığında sağ kalım süreleri 1 ay ile 100 ay arasında dağılım göstermekteydi ve bu olgularda ortalama sağ kalım süresi 12,8 ay olarak saptandı. Takip süresi 8 aydan kısa olan tüm olgular ilk 8 ayda ölen olgulardı ve yaşayan olguların takip süresi 8 ile 127 ay arasında değişmekteydi.

Yaşayan 20 olguda ortalama takip süresi 54,7 ay olarak hesaplandı.

Tablo 5: Klinik bilgileri bulunan 44 olgunun özellikleri

Klinik Özellikler	Değer	Olgu sayısı (n=44)	Oran (%)
IPI Skoru	0	5	11,4
	1	8	18,2
	2	6	13,6
	3	11	25
	4	13	29,5
	5	1	2,3
ECOG Performans Durumu	0-1	20	45,5
	≥2	24	54,5
LDH	Yüksek	20	45,5
	Normal	24	54,5
Evre	I	5	11,4
	II	8	18,2
	III	12	27,2
	IV	19	43,2
Kemoterapi	R-CHOP ve benzeri	26	59,1
	CHOP ve benzeri	10	22,7
	Tedavi yok	8	18,2
Nüks	Var	2	4,5
	Yok	42	95,5
Mortalite	Sağ	20	45,5
	Ölen	24	54,5

R-IPI: Revize Uluslararası Prognostik İndeks, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group, LDH: Laktat dehidrogenaz

2. Morfolojik ve İmmunfenotipik Özellikler

Olguların 20'si sentroblastik, 4'ü immunoblastik, 8'i anaplastik varyant özellikleri sergilerken 20 olgu sentroblastik ve immunoblastik varyantların morfolojik özelliklerini birlikte taşımaktaydı (mikst) (Tablo 6).

Olgular Hans algoritması kullanılarak immünojenotipik özelliklerine göre alt tiplere ayrıldı. Buna göre 17 olgu GCB subtipinde iken 35 olgu non-GCB subtipinde değerlendirildi (Tablo 6).

Tablo 6: Morfolojik ve immünojenotipik özelliklere göre olguların dağılımı

Morfolojik Varyant ve Subtipler		Olgu Sayısı (n=52)	Oran (%)
Morfolojik Varyant	Sentroblastik	20	38,5
	İmmunoblastik	4	7,7
	Mikst	20	38,5
	Anaplastik	8	15,3
Subtip	GCB	17	32,7
	non-GCB	35	67,3

GCB: Germinal merkez B hücre tipi

BCL2; 18 olguda (%34,6) pozitif, 34 olguda (%65,4) negatif olarak değerlendirildi. CD10 ile 14 olgu (%26,9) pozitif, 38 olgu (%73,1) negatif; BCL6 ile 35 olgu (%67,3) pozitif, 17 olgu (%32,7) negatif; MUM1 ile 40 olgu (%76,9) pozitif, 12 olgu (%23,1) negatif olarak değerlendirildi. CD5 ile 5 olguda (%9,6), CD30 ile 2 olguda (%3,8), siklin D1 ile ise yalnızca 1 olguda (%1,9) boyanma saptandı (Tablo 7). Siklin D1 pozitif bu olguya SOX11 ve CD5 çalışıldı. Her ikisi de negatif olduğundan, morfolojik olarak 'mantle' hücreli lenfomanın blastoid ya da anaplastik varyantına benzemediğinden ve siklin D1 boyanması zayıf olduğundan t(11,14) translokasyonuna bakılmaksızın olgu DBBHL, NOS olarak kabul edildi.

Olgularda immünohistokimyasal olarak MYC ekspresyonu %0 ile %90 arasında değişmekte iken ortanca değer %25, ortalama değer %27,6 idi. %40

ya da daha fazla hücrede MYC ile boyanma olan olgular pozitif olarak kabul edildi. Buna göre MYC 17 olguda (%32,7) pozitif, 35 olguda (%67,3) negatif olarak değerlendirildi (Tablo 7).

Ki67 proliferasyon indeksi %20 ile %100 arasında değişmekte olup ortanca değer %92,5, ortalama değer %85,4 idi. Olguların 18'inde (%34,6) Ki67 proliferasyon indeksi %80 ya da altında iken 34 olguda (%65,4) %80'in üzerindeydi (Tablo 7).

Tablo 7: İmmunohistokimyasal incelemelere göre olguların dağılımı

İmmunohistokimyasal Özellikler	Değer	Olgu sayısı (n=52)	Oran (%)
BCL2	- Pozitif	18	34,6
	- Negatif	34	65,4
CD10	- Pozitif	14	26,9
	- Negatif	38	73,1
BCL6	- Pozitif	35	67,3
	- Negatif	17	32,7
MUM1	- Pozitif	40	76,9
	- Negatif	12	23,1
Ki67	- ≤%80	18	34,6
	- >%80	34	65,4
CD5	- Pozitif	5	9,6
	- Negatif	47	90,4
CD30	- Pozitif	2	3,8
	- Negatif	50	96,2
Siklin D1	- Pozitif	1	1,9
	- Negatif	51	98,1
MYC	- Pozitif	17	32,7
	- Negatif	35	67,3

3. İstatistiksel Analiz

Klinik parametrelerin birbirleriyle olan ilişkilerini araştırmak üzere korelasyon analizi yapıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bulunan klinik parametreler, bu ilişkilere ait p değerleri ve korelasyonun yönü Tablo 10'da özetlenmiştir. İmmunohistokimyasal parametrelerin birbirleriyle ve klinik verilerle ilişkilerini karşılaştırmak için yapılan korelasyon analizi sonucunda anlamlı bulunan parametreler, bu ilişkilere ait p değerleri ve korelasyonun yönü ise Tablo 11'de özetlenmiştir.

Tablo 10: Aralarında istatistiksel anlamlı ilişki bulunan klinik prognostik parametreler (Spearman korelasyon testi)

Parametreler	p değeri	Korelasyon Yönü
IPI skoru - Albumin	<0,001	Negatif
IPI skoru - Hemoglobin	0,012	Negatif
IPI skoru - Lenfosit	0,001	Negatif
IPI skoru - LM oranı	0,036	Negatif
IPI skoru - PL oranı	0,013	Pozitif
Evre - LDH	<0,001	Pozitif
Evre - Albumin	0,001	Negatif
Evre - Hemoglobin	0,013	Negatif
Evre - ECOG skoru	0,001	Pozitif
ECOG skoru - Yaş	<0,001	Pozitif
ECOG skoru - LDH	<0,001	Pozitif
ECOG skoru - Albumin	<0,001	Negatif
ECOG skoru - Hemoglobin	0,011	Negatif
ECOG skoru - Lenfosit	0,001	Negatif
ECOG skoru - NL oranı	0,007	Pozitif
ECOG skoru - PL oranı	0,005	Pozitif
LDH - Albumin	<0,001	Negatif
LDH - Hemoglobin	0,040	Negatif
LDH - Lenfosit	<0,001	Negatif
Albumin - Yaş	0,012	Negatif
Albumin - Hemoglobin	<0,001	Pozitif

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group performans durumu, LDH: Laktat dehidrogenaz, LM oranı: Lenfosit/monosit oranı, PL oranı: Platelet/lenfosit oranı, NL oranı: Nötrofil/lenfosit oranı

Tablo 11: Klinik prognostik parametreler ve immunohistokimyasal belirteçler (Spearman korelasyon testi)

Parametreler	p değeri	Korelasyon Yönü
CD79b - ECOG skoru	0,042	Negatif
CD79b - CD3	0,068	Negatif
CD3 - Ki67	0,043	Negatif
MYC - Ki67	0,020	Pozitif

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group performans durumu, CD79b: Farklılaşma kümesi 79b

Ki67 proliferasyon indeksi, sentroblastik varyantta %60 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer %86,4, ortanca değer %90, immunoblastik varyantta ise %30 ile %95 arasında değişmekte olup ortalama değer %63,75, ortanca değer %65 olarak saptandı. Anaplastik varyant olarak değerlendirilen olgularda %90 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer %98,5, ortanca değer ise %100'dü. İmmunoblastik ve sentroblastik varyantın özelliklerini bir arada bulunduran mikst olgularda ise %20 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer %83,5, ortanca değer %95'ti (Tablo 12). Bu veriler karşılaştırıldığında, immunoblastik varyantta Ki67 proliferasyon indeksinin diğer varyantlara göre daha düşük ($p=0,019$), anaplastik varyantta ise diğer varyantlara göre daha yüksek ($p=0,037$) olduğu görüldü.

Tablo 12: Morfolojik varyantlara göre Ki67 boyanma oranlarının dağılımı

	Ki67		
	Aralık	Ortalama	Ortanca
Sentroblastik (n=20)	%60-100	%86,4	%90
İmmunoblastik (n=4)	%30-95	%63,75	%65
Mikst (n=20)	%20-100	%83,5	%95
Anaplastik (n=8)	%90-100	%98,5	%100

GCB ve non-GCB subtipleri karşılaştırıldığında, CD79b'nin herhangi bir DBBHL subtipinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla boyanmadığı görüldü (Tablo 13).

Tablo 13: GCB ve non-GCB subtipleri arasında CD79b boyanmalarının dağılımı

		GCB (n=17)	non-GCB (n=35)	p değeri
CD79b	Aralık	%0-100	%5-100	0,474
	Ortalama	%59,41	%42,59	

Ölen ve yaşayan hastaların BCL6 pozitiflikleri karşılaştırıldığında, yaşayan 20 hastanın 17'sinde (%85), ölen 24 hastanın ise 13'ünde (%54,2) BCL6 pozitif bulundu. Bu fark istatistiksel anlamlılık sınırında ($p=0,50$) olmasına karşın (Tablo 14), sağ kalım analizinde BCL6 pozitifliği ile genel sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,163$).

Tablo 14: Mortalite ile BCL6 boyanması arasındaki ilişki

		BCL6		Toplam	p değeri
		Negatif	Pozitif		
Mortalite	Sağ	3	17	20	0,050
	Ölen	11	13	24	
Toplam		14	30	44	

Ölen ve yaşayan hastaların evreleri karşılaştırıldığında, evre I-III olguların 15'inin (%60) yaşadığı, 10'unun (%40) ise öldüğü, evre IV olguların ise 5'inin (26,3) yaşadığı, 14'ünün (%73,7) ise öldüğü görüldü. Bekleneceği üzere evre IV olgularda mortalite oranı daha yüksekti ve iki grubun mortalite oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,035$) (Tablo 15).

Tablo 15: Mortalite ile evre arasındaki ilişki

		Evre		Toplam	p değeri
		I-III	IV		
Mortalite	Sağ	15	5	20	0,035
	Ölen	10	14	24	
Toplam		25	19	44	

Yaşayan ve ölen hasta gruplarının klinik ve patolojik verilerinin karşılaştırılması sonucunda anlamlı olarak bulunan veriler Tablo 16'da özetlenmiştir. Bekleneceği üzere; yaş, IPI, ECOG performans skoru, LDH, albumin ve hemoglobin değerlerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Yaşayan ve ölen olguların CD79b skorları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü (Tablo 16).

Altmış yaşının üstündeki hastalar ile 60 yaş ve altındaki hastaların sağ kalımları karşılaştırıldığında, 60 yaş ve altındaki olguların daha iyi genel sağ kalıma sahip oldukları gözlemlendi ($p=0,001$) (Şekil 5). 60 yaş ve altındaki 20 olgunun (%45,5) 6'sının (%30) öldüğü, 14'ünün (%70) yaşadığı saptanırken

60 yaşının üstündeki 24 olgunun (%54,5) 18'inin (%75) öldüğü, 6'sının (%25) ise yaşadığı görüldü (Şekil 5). İlk grupta ortalama sağ kalım 89,9 ay olarak bulunurken ikinci grupta ortalama sağ kalım 26,9 ay idi (Tablo 17).

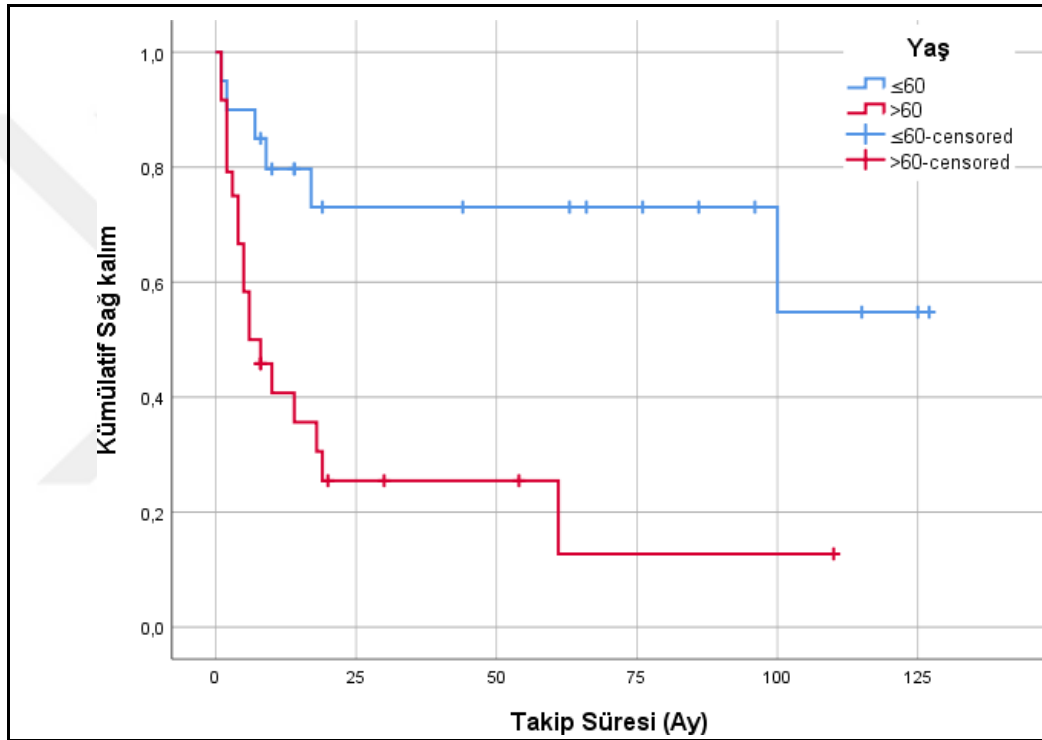
Tablo 16: Yaşayan ve ölen hasta gruplarında klinikopatolojik özelliklerin dağılımı

		Sağ (n=20)	Ölen (n=24)	
Yaş	Aralık	28-75	28-89	p=0,006
	Ortalama	50,5	65,13	
	Ortanca	50	70,5	
IPI Skoru	0	5 (%100)	0 (%0)	p<0,001
	1	7 (%87,5)	1 (%12,5)	
	2	3 (%50)	3 (%50)	
	3	2 (%18,2)	9 (%81,8)	
	4	3 (%23,1)	10 (%76,9)	
	5	0 (%0)	1 (%100)	
ECOG Performans Skoru	0	14 (%93,3)	1 (%6,7)	p<0,001
	1	4 (%80)	1 (%20)	
	2	1 (%8,3)	11 (%91,7)	
	3	1 (%9,1)	10 (%90,9)	
	4	0 (%0)	1 (%100)	
LDH (U/L)	Aralık	131-462	190-2623	p=0,023
	Ortalama	232,25	501,38	
	Ortanca	190	357	
Albumin (g/dL)	Aralık	3,6-4,7	2,0-4,3	p<0,001
	Ortalama	4,21	3,525	
	Ortanca	4,25	3,75	
Hemoglobin (g/dL)	Aralık	9,0-15,1	5,3-14,7	p=0,040
	Ortalama	12,885	11,625	
	Ortanca	13,35	11,35	
CD79b skoru	Aralık	1-5	1-5	p=0,007
	Ortalama	2,95	1,83	
	Ortanca	3	1	

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group, LDH: Laktat dehidrogenaz, CD79b: Farklılaşma kümesi 79b

Tablo 17: Yaş ile sağ kalım ilişkisi

Yaş	Toplam Olgu (%)	Yaşayan (%)	Ölen (%)	Ortalama Sağ kalım (Ay)	P değeri
≤60	20 (%45,5)	14 (%70)	6 (%30)	89,9	0,001
>60	24 (%54,5)	6 (%25)	18 (%75)	26,9	



Şekil 5: Yaş ile sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

Olgular ECOG performans durumuna göre iki gruba ayrılarak sağ kalım analizi yapıldığında, ECOG performans skoru 0 ya da 1 olan olguların ECOG performans skoru ≥ 2 olan olgulara göre daha iyi genel sağ kalıma sahip olduğu saptandı ($p < 0,001$).

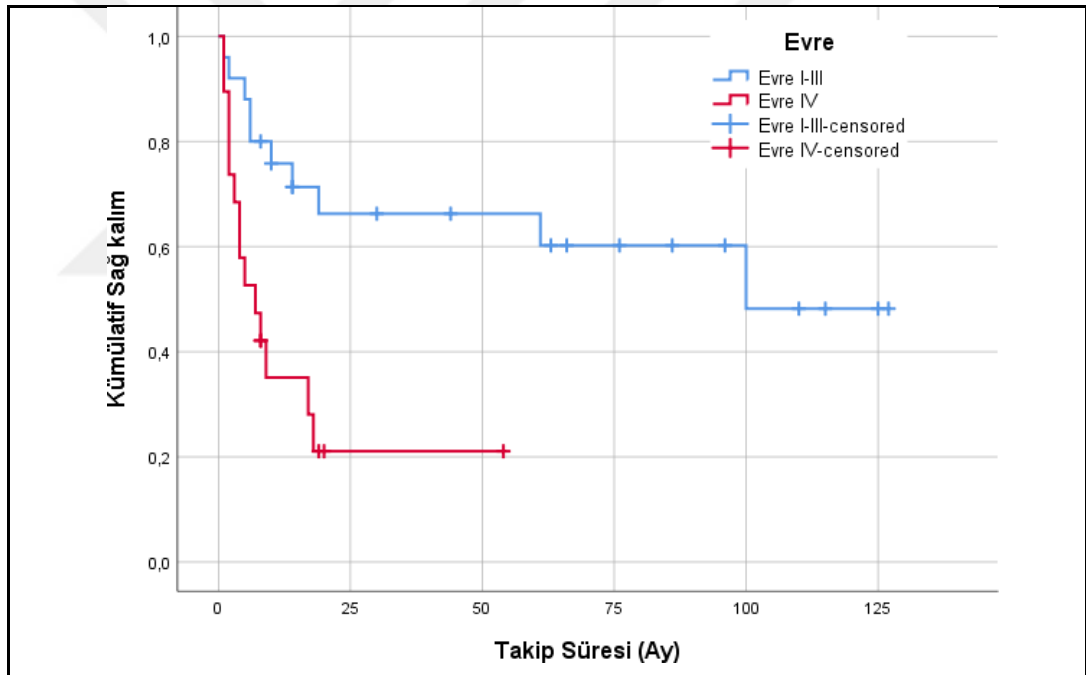
R-IPI ve IPI skorlamalarına göre olgular gruplara ayrılarak sağ kalım analizi yapıldığında, R-IPI ve IPI gruplarının sağ kalım ile ilişkili olduğu olduğu gözlemlendi ($p < 0,001$).

Evre ile sağ kalım ilişkisi araştırıldığında, evre IV olguların istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha kısa genel sağ kalıma sahip oldukları gözlemlendi ($p = 0,002$).

(Şekil 6). Evre I-III grubundaki 25 olgudan (%56,8) 10'unun (%40) öldüğü, 15'inin (%60) yaşadığı saptanırken evre IV grubunda yer alan 19 olgudan (%43,2) 14'ünün (%73,7) öldüğü, 5'inin (%26,3) ise yaşadığı saptandı (Tablo 18). Evre I-II olgularla evre III-IV olguların sağ kalımları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 18: Evre ile sağ kalım ilişkisi

Evre	Toplam Olgu (%)	Yaşayan (%)	Ölen (%)	Ortalama Sağ kalım (Ay)	p değeri
I-III	25 (%56,8)	15 (%60)	10 (%40)	79,7	0,002
IV	19 (%43,2)	5 (%26,3)	14 (%73,7)	16,5	



Şekil 6: Evre ile sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

LDH değerleri normal olguların LDH değerleri yüksek olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun genel sağ kalıma sahip oldukları saptandı ($p < 0,001$).

Albuminin sağ kalım üzerindeki etkisini saptamak için kesme değeri belirlemek amacıyla ROC analizi yapıldığında, en uygun kesme değerinin 3,95 g/dL olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Bu kesme değere göre, albumin değeri

>3,95 g/dL olan olguların anlamlı olarak daha uzun genel sağ kalım gösterdikleri görüldü ($p<0,001$). Hemoglobin için kesme değeri saptamaya yönelik uygulanan ROC analizinde, en uygun kesme değerin 12 g/dL olduğu saptandı ($p=0,048$). Bu kesme değere göre sağ kalım analizi yapıldığında, hemoglobin ≥ 12 g/dL olan olguların düşük hemoglobin değerlerine sahip olanlara göre anlamlı olarak uzun genel sağ kalıma sahip oldukları görüldü ($p=0,001$). Periferik kan lenfosit sayısı için kesme değeri belirlemeye yönelik yapılan ROC analizinde, en uygun kesme değerin 1470/ μ L olduğu saptandı ($p=0,007$). Buna göre yapılan sağ kalım analizinde; periferik kan lenfosit sayısı ≥ 1470 / μ L olan olgularda genel sağ kalımın anlamlı olarak uzadığı gözlemlendi ($p<0,001$).

Periferik kan nötrofil/lenfosit oranı (NL oranı) için 2,31 kesme değeri, periferik kan platelet/lenfosit oranı (PL oranı) için ise 180 kesme değeri belirlendiğinde, NL oranı $\leq 2,31$ olan olguların ve PL oranı ≤ 180 olan olguların daha iyi genel sağ kalım gösterdikleri saptandı (sırasıyla $p=0,022$ ve $p=0,024$).

Periferik kan monosit sayısı için kesme değeri belirlemeye yönelik yapılan ROC analizi sonunda ise istatistiksel olarak anlamlı kesme değeri elde edilemedi.

Periferik kan lenfosit/monosit oranı (LM oranı), platelet sayısı, nötrofil sayısı, MPV gibi klinik parametreler için yapılan sağ kalım analizlerinde anlamlı ilişki saptanmadı.

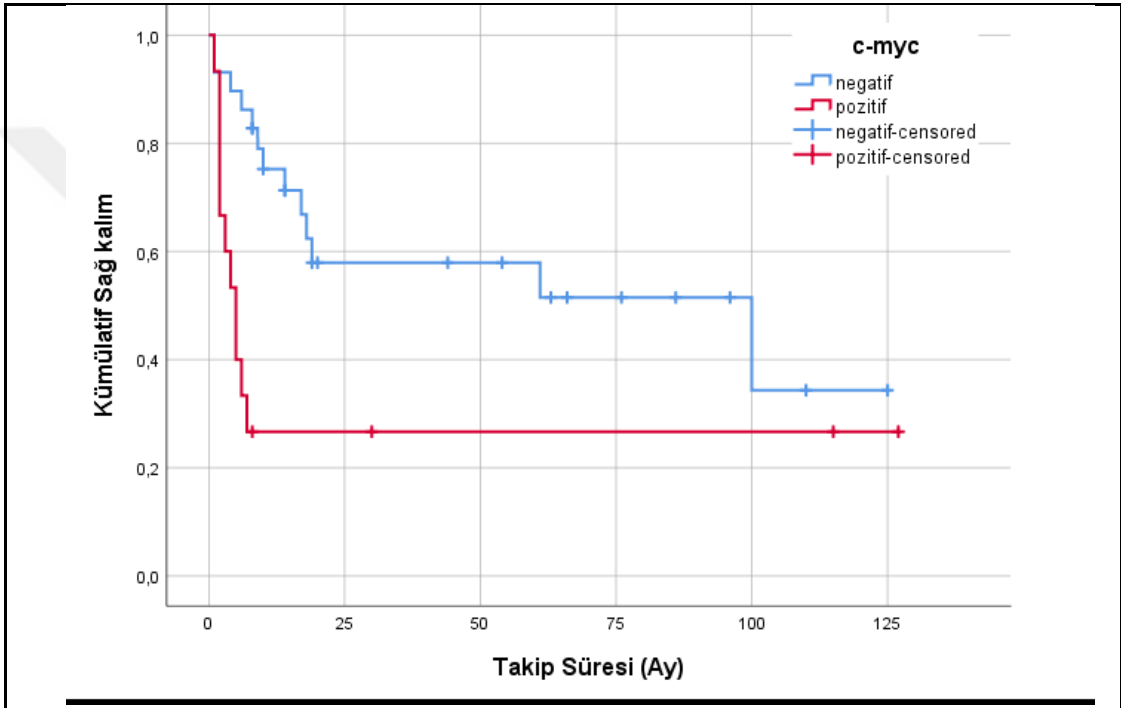
İmmunohistokimyasal belirteçlerin ve morfolojik özellikleri sağ kalıma etkileri araştırıldığında, CD3 için farklı kesme değerlerle uygulanan sağ kalım analizleri sonucunda anlamlı ilişki gözlenmedi. Benzer şekilde Ki67 proliferasyon indeksi ile de anlamlı ilişki saptanmadı. Morfolojik varyant ve suptip ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulunmamaktaydı.

MYC için $\geq 40\%$ kesme değeri pozitiflik olarak belirlendiğinde, MYC pozitif olguların negatif olgularla kıyaslandığında anlamlı şekilde daha kısa genel sağ kalıma sahip oldukları izlendi ($p=0,010$) (Şekil 7). MYC pozitif 15 olgunun (%34,1) 11'inin (%73,3) öldüğü, 4'ünün (%26,7) ise yaşadığı gözlenirken negatif 29 olgunun (%65,9) 13'ünün (%44,8) öldüğü, 16'sının (%55,2) ise yaşadığı tespit edildi. Ortalama sağ kalım süreleri MYC pozitif grupta 36,5 ay

iken negatif grupta 68,3 ay idi (Tablo 19).

Tablo 19: MYC ekspresyonunun sağ kalıma etkisi

MYC	Toplam Olgu (%)	Yaşayan (%)	Ölen (%)	Ortalama Sağ kalım (Ay)	p değeri
Pozitif	15 (%34,1)	4 (%26,7)	11 (%73,3)	36,5	0,010
Negatif	29 (%65,9)	16 (%55,2)	13 (%44,8)	68,3	



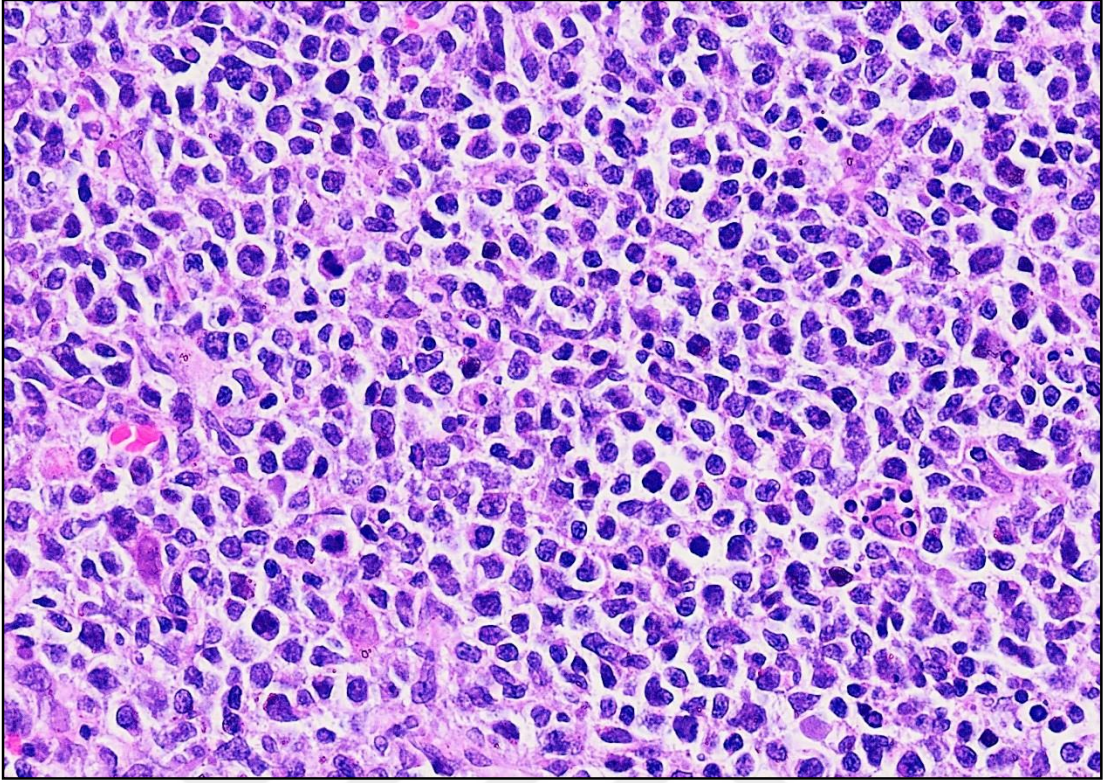
Şekil 7: MYC ekspresyonunun sağ kalımla ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

CD79b için skor 1 (<10 pozitif hücre/BBA) ve skor 2-5 (≥10 pozitif hücre/BBA) grupları karşılaştırılarak sağ kalım analizi yapıldığında, BBA'da 10'dan az CD79b pozitif hücre içeren olguların (skor 1) 10 veya daha fazla pozitif hücre içerenlere (skor 2-5) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzun genel sağ kalıma sahip oldukları saptandı (p=0,002) (Şekil 8). CD79b skoru 1 olan 9 olgunun (%21,4) 5'inin (%55,6) öldüğü, 4'ünün (%44,4) ise yaşadığı saptandı. CD79b skoru 2, 3, 4 ve 5 olan 33 olgunun (%78,6) 15'inin (%45,5) öldüğü, 18'inin (%54,5) ise yaşadığı saptandı. Ortalama sağ kalım süreleri ise CD79b (+) hücre sayısı düşük grupta 76,2 ay, yüksek grupta ise

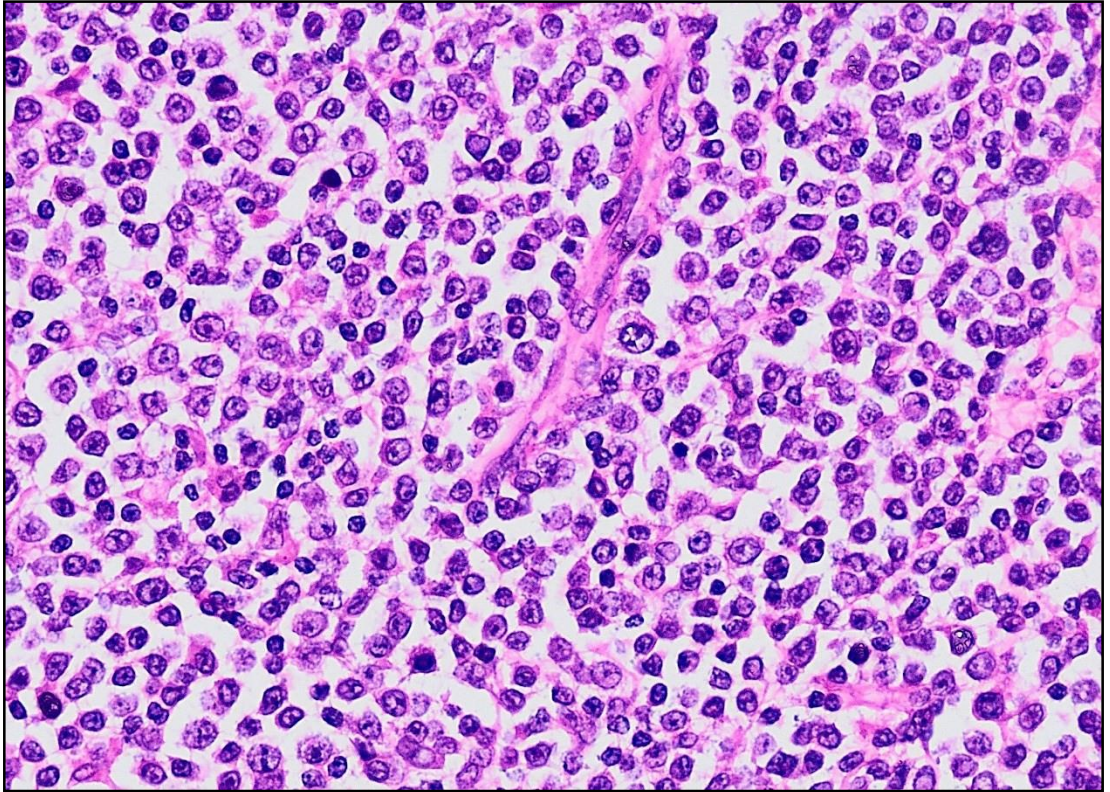
40,3 ay olarak hesaplandı. Bu veriler değerlendirildiğinde CD79b +'liğinin sağkalım üzerine negatif etkisinin olduğu izlendi.

Tablo 20: CD79b pozitifliğinin sağ kalıma etkisi

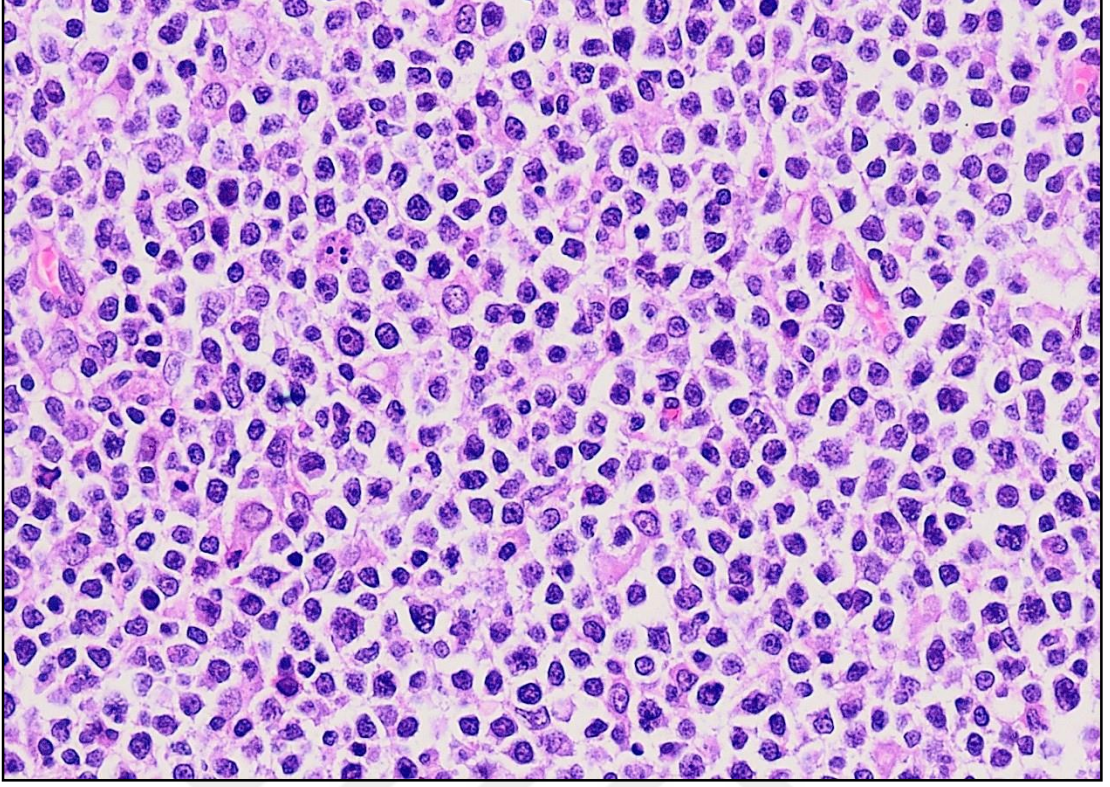
CD79b (pozitif hücre/BBA)	Toplam Olgu (%)	Yaşayan (%)	Ölen (%)	Ortalama Sağ kalım (Ay)	p değeri
<10	9 (%21,4)	4 (%44,4)	5 (%55,6)	76,2	0,002
≥10	33 (%78,6)	18 (%54,5)	15 (%45,5)	40,3	



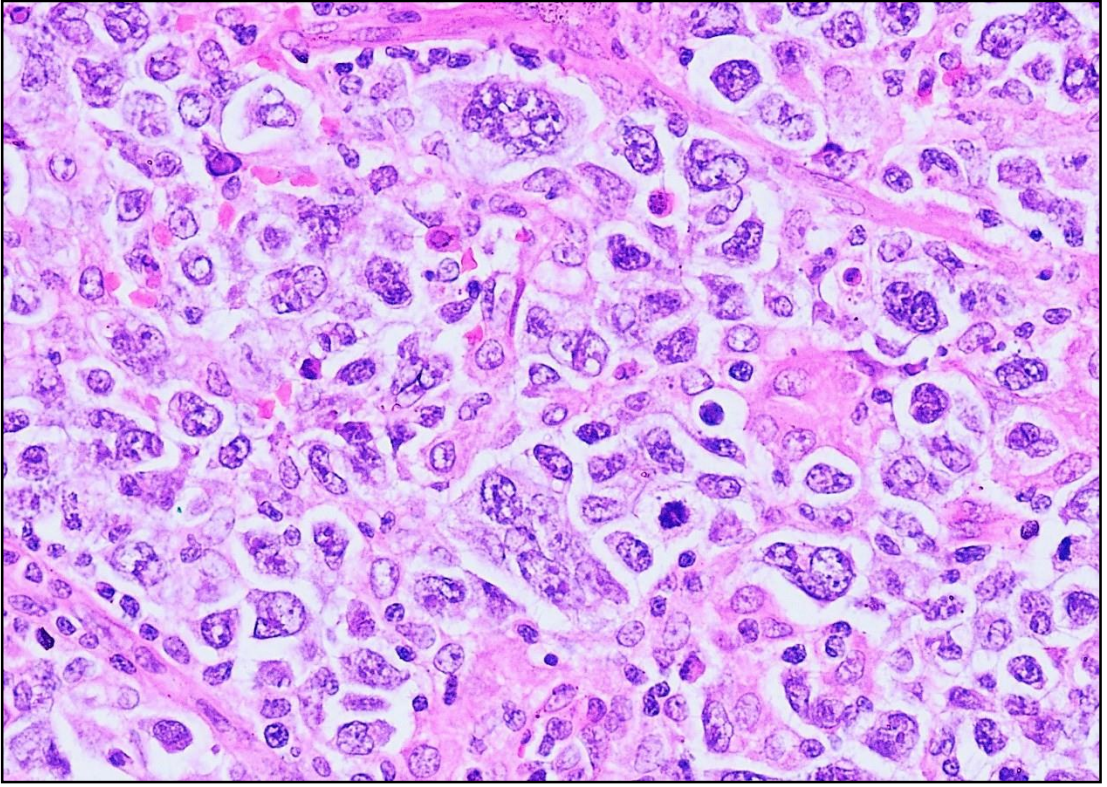
Resim 1: DBBHL'nin sentroblastik varyantı (H&E, x400).



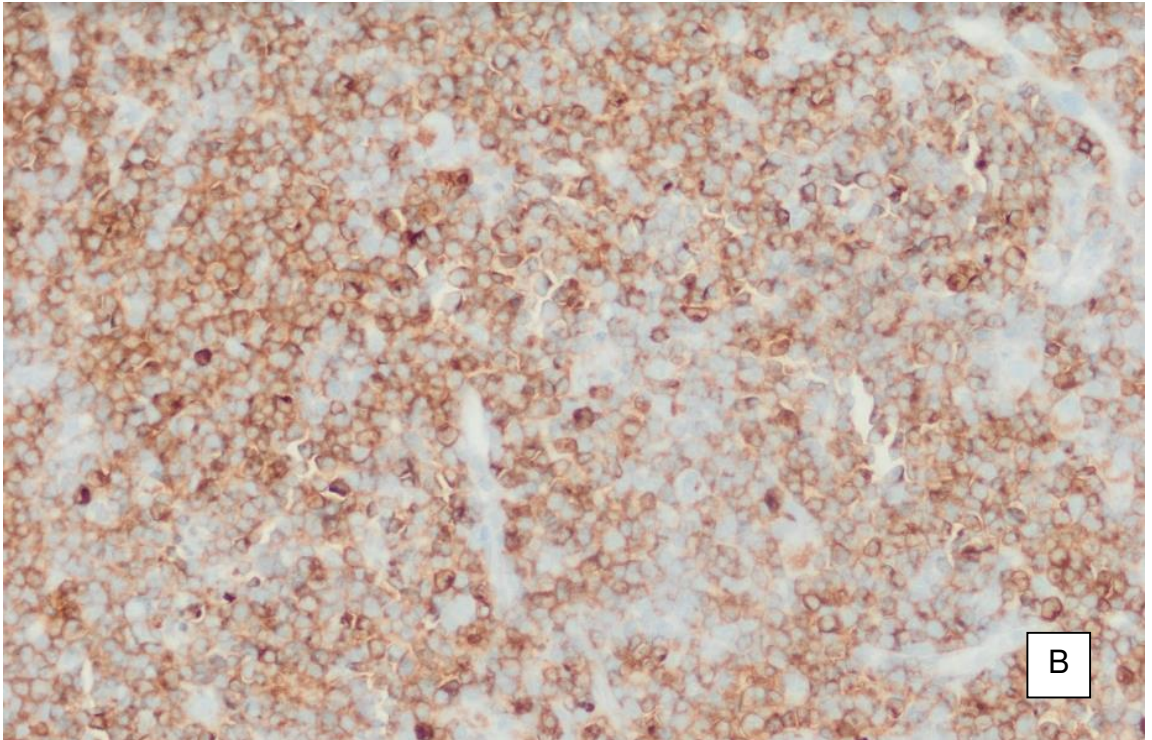
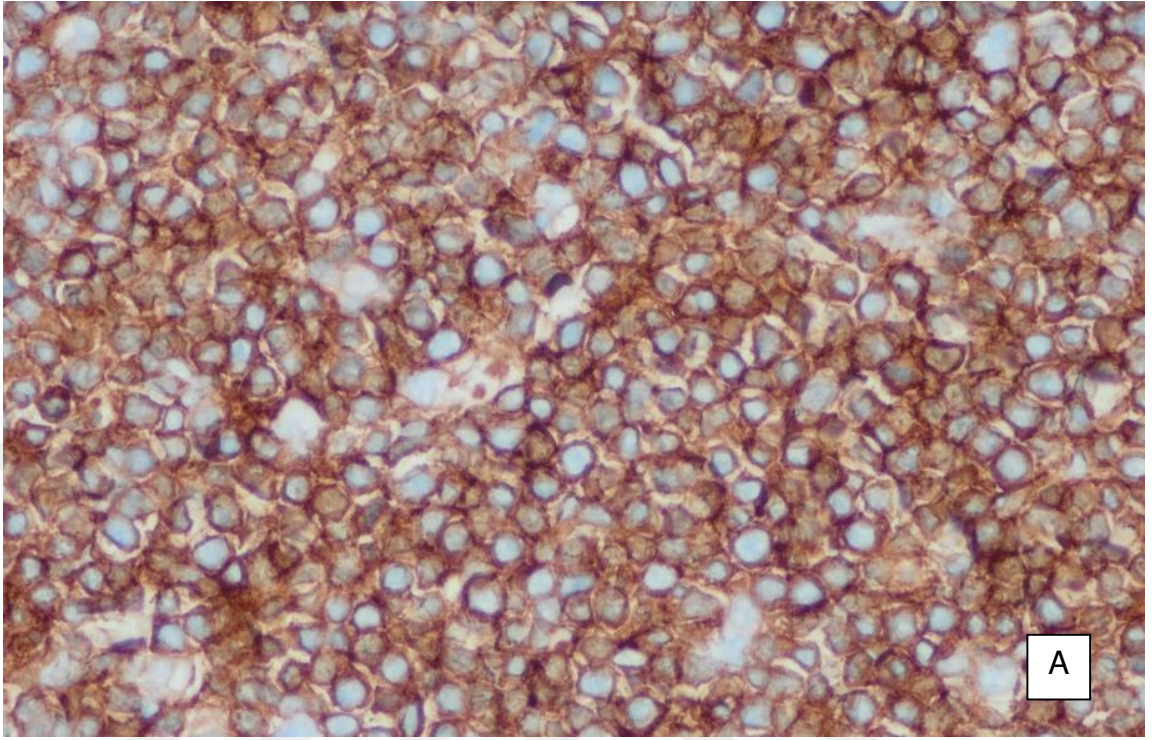
Resim 2: DBBHL'nin immunoblastik varyantı (H&E, x400).



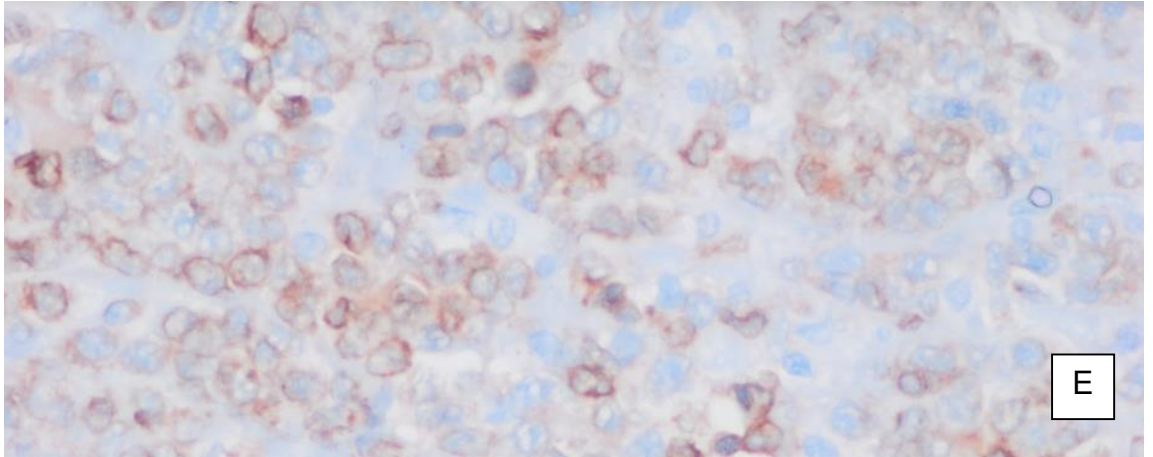
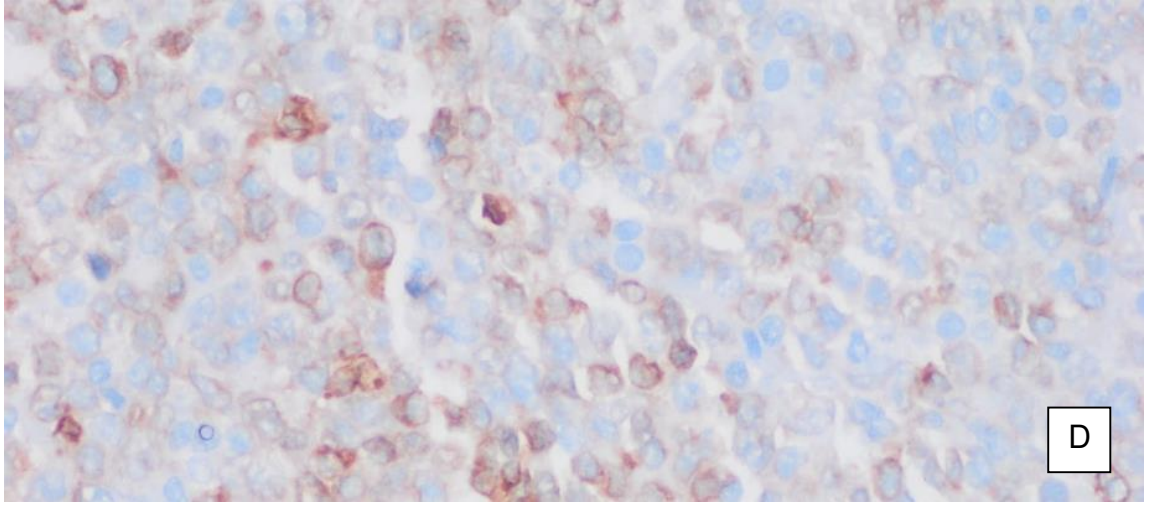
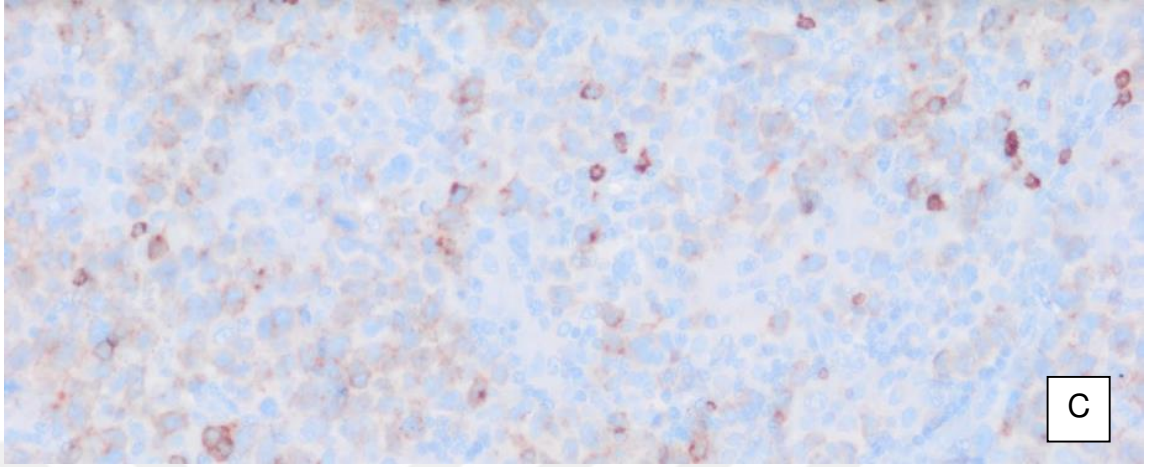
Resim 3: DBBHL'nin mikst varyantı (H&E, x400).



Resim 4: DBBHL'nin anaplastik varyantı (H&E, x400).



Resim 1: CD79B ekspresyonları. A. %100, B. %80 (DAB, x200).



Resim 2: CD79B ekspresyonları. C. %0, D. %5, E. %10 (DAB, x200).

V. TARTIŞMA

Diffüz büyük B hücreli lenfomalar, non-Hodgkin lenfomaların en sık görülen histolojik alt tipidir ve yeni tanı alan lenfomaların yaklaşık %30-40'ını oluşturur (108, 109). Tüm yaşlarda görülebilmesine karşın yaşlılarda daha siktir ve ortalanca hasta yaşı 65 yaştır (20). Erkeklerde kadınlara göre hafifçe daha siktir (1, 110). Farklı olarak çalışmamıza alınan 52 olgunun 31'i kadın (%59,6), 21'i erkektir (%40,4). Bu farkı oluşturan durumda hasta örneklem büyüklüğünün yapılan diğer çalışmalara göre daha az olmasının ve sadece nodal DBBHL hastalarının çalışmaya alınmasının etkisi olduğu düşünülmektedir. Olguların yaşları 28 ile 89 arasında değişmekte olup ortalanca değeri 64,5, ortalama değeri ise 59,4 olarak bulunmuştur.

Diffüz Büyük B hücreli lenfomalar biyolojik yapıları ve klinik seyirlerindeki değişkenlikler nedeniyle heterojen bir grup olarak kabul edilmektedir. Antrasiklin içeren tedavilerin yardımıyla hastaların yaklaşık %80'inde risk faktörlerine bağlı olmakla birlikte tam remisyon ve %60'ında da hastalıksız sağ kalım diğer bir deyişle kür elde edilebilmektedir (111). Rituksimab, siklofosfamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizolon rejimi (RCHOP) gibi rituksimab ile kombine edilen antrasiklin bazlı kemoterapiler, DBBHL için standart tedavi olmuştur (5). Bu tedaviler ile hastaların yaklaşık %80'inde risk faktörlerine bağlı olmakla birlikte tam remisyon ve %60'ında da hastalıksız sağ kalım diğer bir deyişle kür elde edilebilmektedir(111). İlk aşama tedavi ile tam remisyon sağlanamayan hastalarda uzun dönem sağ kalımın da daha kötü olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bazı olgularda, standart tedavilerle yanıt alınamayacağı çeşitli risk

faktörlerinin yardımıyla baştan öngörülebilirse daha agresif tedavilerle bu grup hastalarda da tedavi başarısının artırılabilceği düşünülmektedir (112).

Hastaların yaklaşık %75'i tanı sırasında lenf bezleri “bulky” tarzında büyük tutulumlar gösteren evre 2, evre 3 ve evre 4 hastalık olarak başvurmaktadır. Günümüzde evresi ne olursa olsun ilk seçenek tedavi rituksimab ve antrasiklin içeren kombine tedavilerdir. DBBHL tedavisinde son 30 yıl içerisinde standart kemoterapi rejimi belirgin bir şekilde değişmemekle birlikte yaklaşık 15 yıldır kullanılmaya başlanılan monoklonal antikorlar ile genel sağ kalımda gelişmeler sağlanmıştır (113).

Çalışmamızdaki klinik verilerine ulaşılabilen 44 olgu ele alındığında, 26 olguya (%59,1) rituksimab içeren R-CHOP ya da benzeri bir tedavi protokolü uygulandığı saptanmıştır. 10 olguya (%22,7) rituksimab içermeyen ve CHOP ve benzeri bir KT rejimi uygulanmıştır. 8 olguda (%18,2) ise düşük performans durumu ya da tedaviyi reddetme gibi nedenlerle KT uygulanmamıştır.

IPI skortlama sistemi, DBBHL hastalarında prognozu öngörmeye değerli bir prognostik araç olarak kabul edilmektedir ve yüksek IPI skoruna sahip olguların kısa sağ kalımla ilişkili olduğu bildirilmektedir (85). Çalışmamızda yüksek IPI skorunun kısa genel sağ kalımla ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, IPI skortlama sisteminin parametrelerinden olan yaş, evre, ECOG performans skoru ve LDH ile genel sağ kalım arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Çalışmamız verilerine göre bir başka kısa sağ kalım göstergesi olan CD79b ile ECOG performans skoru arasında ise negatif korelasyon bulunmuştur.

DBBHL olgularında periferik kan monositleri, lenfosit/monosit oranı ve periferik kan lenfosit sayısının prognostik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Feng ve arkadaşlarının yapmış olduğu meta-analizde, düşük mutlak lenfosit sayısının kötü prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (114).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da benzer şekilde düşük periferik kan lenfosit sayısının kısa genel sağ kalımla ilişkili olduğu bulunmuştur. Zhou ve

arkadaşları lenfosit/monosit oranı 3,2'den düşük olan olguların daha kısa sağ kalıma sahip olduklarını saptamışlardır (115). Ancak literatürde lenfosit/monosit oranının prognostik etkilerini öngörebilmek için araştırmalarda kullanılan kesme değerleri arasında görüş birliği bulunmamaktadır. Tanı anındaki lenfosit/monosit oranının DBBHL'lerdeki klinik sonuçları öngören kesme değerleri 2,1 ile 3,8 arasında değişmektedir (115). Literatürde farklı kesme değerleri kullanılarak yapılan ve düşük lenfosit/monosit sayısının kötü prognostik faktör olduğu bildirilen çalışmalar bulunmaktadır (109, 116-118). Buna karşın çalışmamızda lenfosit/monosit oranı ile sağ kalım arasında ilişki saptanmamıştır. DBBHL'lerde mutlak lenfosit sayısı $\geq 1,28 \times 10^9/L$ (109), mutlak monosit sayısı $< 0,575 \times 10^9/L$ (109), nötrofil/lenfosit oranı $< 2,81$ (109), platelet/lenfosit oranı < 150 (118), hemoglobin ≥ 12 g/dL (119), normal LDH düzeyi (120) olan olguların daha iyi genel sağ kalım ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda farklı kesme değerleri kullanılmış olsa da benzer şekilde düşük lenfosit sayısı, yüksek nötrofil/lenfosit oranı, yüksek platelet/lenfosit oranı, düşük hemoglobin ve yüksek LDH değerlerine sahip olguların düşük genel sağ kalım oranları gösterdikleri saptanmıştır. Ancak periferik kan monosit sayısı ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Ochi ve arkadaşları, 391 DBBHL albümin $< 3,5$ g/dL olan olguların düşük sağ kalımla ilişkili oldukları saptanmıştır (121). Yine albumin için de farklı kesme değeri belirlediğimiz çalışmamızda benzer şekilde albumin değerleri düşük olguların daha düşük genel sağ kalıma sahip oldukları saptanmıştır. Bairey ve arkadaşlarının çalışmasında, albumin ve hemoglobinin benzer şekilde sağ kalımla ilişkili olduğunu bildirmiş ve mutlak lenfosit ve monosit sayılarının ise sağ kalımla ilişkili olmadığı saptanmıştır (122). Bu çalışmada monosit sayısı ile sağ kalımın ilişkili olmaması, çalışmamızla benzer sonuçlar içermektedir.

Literatürde birçok çalışmada CD79b pozitifliğinin ABC subtipinde daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (123-125). Çalışmamızda da literatür bilgisine benzer

şekilde ABC subtipinde CD79b boyanma oranlarının anlamlı şekilde daha fazla olduğu saptanmıştır.

Diffüz büyük B hücreli lenfoma heterojen bir tanı yelpazesi gösterir. Bu heterojenlik kısmen gen ekspresyon profili ile tanımlanan farklı moleküler alt tiplerin varlığıyla açıklanabilir (3, 126). Germinal hücre benzeri DBBHL'lar germinal merkez hücrelerinden köken alırken; Aktive B hücre benzeri DBBHL'ler aktive edilmiş B hücrelerine benzerler. GCB ve ABC DBBHL'ler somatik mutasyonlar tarafından sıklıkla aktive edilen farklı onkojenik yollarla oluşurlar (3). Moleküler alt tiplerin ve spesifik mutasyonların varlığı ibrutinib gibi yol inhibitörleri ve lenalidomid gibi immünomodülatör ajanlarla tedavinin sağlanmasına olanak sağlamaktadır. Bu nedenle DBBHL'lerin sık nükslerle ve kötü prognozla seyreden alt tiplerinin tayini ve bunlara yönelik tedavi geliştirilmesi açısından genetik-immunohistokimyasal analizler ve prognostik değerlendirmelerin yapılması düşünülmelidir. Bu çalışmada farklı immunbelirteçlerin DBBHL hastalarının prognozu üzerine etkisinin diğer prognostik göstergeler ile karşılaştırılarak incelenmesi planlandı. Yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda CD79b ile daha az oranda boyanan (<10 hücre/BBA) vakaların sağ kalım sürelerinin daha fazla ve (>10 hücre/BBA) boyanan vakalara oranla daha uzun olduğu gözlemlendi.

NF-KB yolağında CD79a ve CD79b immunoreseptör tirozin-temelli aktivasyon motifini (ITAM) kullanarak BCR'nin akış sinyalini düzenler. Bu genlerde gelişen mutasyonlar artmış BCR sinyalizasyonu ile sonuçlanır ve çoğu ABC DBBHL hücresi bu sinyaller ile hayatta kalır (127, 128). Literatürde DBBHL ABC subtipinin prognozunun daha kötü olduğu bildirilmiş olup şüphesizdir ki kötü prognozlu ve daha sık nüksle seyreden bu hasta grubunda günümüz şartlarında uygulanan kemoterapötik yaklaşımlar yetersiz kalmaktadır ve hedeflenmiş tedavi ile rutin genetik-immunohistokimyasal incelemeler yapılması önerilmektedir(125, 129).

Yamada ve ark.'nın 2015 yılında 18 primer santral sinir sistemi DBBHL hastasında yaptığı genetik analiz çalışmasında vakaların 11'inde (%61,1) CD79b

ve 17'sinde MYD88 (%94,4) mutasyonu izlenmiş olup bu hastalarda NF-KB sinyalizasyon yolağında oluşan mutasyonların prognoz belirleyici olduğu ve bu hastaların hedeflenmiş tedaviden fayda görebileceği bildirilmiş olup, bu mutasyonların nodal DBBHL'larda daha az oranda izlenebileceği de bildirilmiştir (125, 129-131).

Polatuzumab vedotin, bir mikrotübül inhibitörü olan monometil auristatin E'ye (MMAE) konjuge edilmiş; B hücresi antijen reseptörü kompleksiyle ilişkili protein beta zincirini (CD79b) hedefleyen sentetik bir insan monoklonal antikoru (mAb) içerir. Nüks ve relapslarla seyreden kök hücre nakli imkanı olmayan DBBHL hastaları toplam DBBHL hastalarının yaklaşık %30'unu oluşturmakta olup bu grupta monoterapi olarak veya Rituksimab ve bendamustin ile ümit vaadeden bir tedavi seçeneği olmuştur (132, 133).

Sehn LH ve ark.'nın 2019 yılında relaps-refrakter DBBHL hastalarında Polatuzumab vedotin ve Rituksimab/Bendamustin kombinasyonu vererek prospektif değerlendirme ile yaptıkları çalışmada Faz 1b/2'de Pola-BR (Polatuzumab, Bendamustin, Rituksimab) verilen kolda, rastgele atanan kohorta göre anlamlı olarak daha yüksek tam yanıt (%40'a karşın %17,5; p: 0,026) ve daha uzun progresyonsuz sağ kalım (median 9,5'e karşın 3,7 ay) izlenmiştir (134).

Bizim çalışmamızda da bulunduğu gibi; Schmitz ve ark.'nın 574 DBBHL hastasının nodal biyopsileri üzerinde genetik inceleme ile yaptığı değerlendirmede daha ağırlıklı olarak ABC alt tipinde CD79b ve MYD88L256 mutasyonlarının görüldüğü bildirilmiştir (124). Yine Liu Y ve ark.'nın 2019 yılında yayınladığı derlemede bildirildiği üzere CD79b mutasyonları prognozla yakından ilişkili bulunmuş ve tedavi açısından değerlendirilmesi ve Faz1b/2 aşamasındaki tedavilerin yeni çalışmalarının teşvik edilmesi önerilmiştir (135).

Aynı vakalar ile yapılan 2017-199 Bilimsel Araştırma Projesinde incelenen Programlanmış Hücre Ölümü 1 (PD1) ve Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı 1

(PDL1) ile yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda CD79b ile bir korelasyon gözlenmemiştir.



VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

DBBHL'lerde yeni prognostik faktörler belirlemeye ve hedef tedavi yöntemleri geliştirmeye yönelik yapılan çalışmalar son yıllarda oldukça artmıştır. Bir Anti-CD20 monoklonal antikoru olan Rituksimab'ın tedaviye eklenmesi sonrasında hastalığın seyrinin iyileşmesi ve kür oranının ciddi oranda artması ile bu çalışmalar özellikle yaygın görülen moleküler mutasyonlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Hastaların klinik seyrini öngörmek dışında, pek çok tümörde, özellikle de tedaviye dirençli olgularda bu moleküllerin inhibisyonu yeni tedavi hedeflerinde öne çıkmaktadır.

Çalışmamızda toplam 52 nodal DBBHL, NOS olgusunda CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14, MYD88 ve CD79b ekspresyonları immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiştir. Bu belirteçlerin birbirleri ile korelasyonu yanı sıra klinik ve laboratuvar prognostik verilerine ve sağ kalım bilgilerine ulaşılabilen 44 olguda, elde edilen bu verilerle immunohistokimyasal belirteçler arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çalışmamızın başında planlanan, ancak çok sayıda deneme sonucunda sağlıklı boyanma elde edilemeyen CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14 ve MYD88 immunohistokimyasal boyaları ise değerlendirilememiş ve çalışma dışı bırakılmıştır.

Çalışmamız sonucunda tümör dokusu içerisinde CD79b pozitifliği >10/BBA olan olguların istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha düşük genel sağ kalıma sahip oldukları gözlenmiştir. CD79b boyanma oranlarının ABC subtipinde GCB subtipine göre daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca, >60 yaş, ECOG performans skoru ≥ 2 , evre IV hastalık, yüksek IPI skoru (3-4-5), LDH yüksekliği, albumin $\leq 3,95$ g/dL, hemoglobin < 12 g/dL, periferik kan lenfosit sayısı $< 1470/\mu\text{L}$, periferik kan NL oranı $> 2,31$, periferik kan PL oranı > 180 , MYC $\geq 40\%$ olan olguların genel sağ

kalımlarının da anlamlı şekilde daha düşük olduğu saptanmıştır. Bulgular literatür ile uyumlu izlenmiştir. Literatürde CD79b değerlendirmesi ağırlıklı olarak genetik analiz ile değerlendirilmiş olup immunohistokimyasal boyama ile değerlendirme daha düşük bir oranda izlenmiştir. İmmunohistokimyasal boyamanın genetik analize göre daha ucuz olması nedeniyle bu yönde çalışmaların artırılması önemlidir.

Özetle, DBBHL'lerde özellikle CD79b pozitifliğinin hastaların prognozunu öngörmede yararlı bir parametre olabileceği sonucuna varılmıştır. Veriler günümüzde Faz1b/2 aşamasında olan bir Anti-CD79b molekülü olan Polatuzumab vedotin'in tedavide umut vaadedebileceğini düşündürmektedir. Bu hastaların tedavisine Polatuzumab vedotin eklenmesinin prognozu düzeltip düzeltmeyeceği konusunda ileri çalışmalara gereksinim olabilir.

VII. ÖZET

Amaç: Diffüz büyük B hücreli lenfomalarda (DBBHL) sık gözlenen CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14, MYD88 ve CD79b ekspresyonlarının saptanması, bu verilerle hastaların prognostik verilerinin karşılaştırılarak bu belirteçlerin DBBHL olgularında prognozu öngörüp göremeyeceğinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: 1998-2017 yılları arasında tanı alan, tanı anında bilinen ektranodal tutulumu bulunmayan toplam 52 nodal DBBHL, başka türlü sınıflandırılmayan (DBBHL, NOS) olgusu değerlendirilmiştir. Bu olgulardan 44'ünde klinik prognostik verilere ulaşılmıştır. İmmunohistokimyasal yöntemle CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14, MYD88 ve CD79b çalışılmış, CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14 ve MYD88 ile sağlıklı boyanma elde edilememesi nedeniyle bu belirteç çalışmadan çıkarılmıştır. Elde edilen sonuçların birbirleriyle ve klinik ve laboratuvar prognostik belirteçlerle ilişkisi araştırılmıştır.

Bulgular: CD79b ekspresyonu >10 pozitif hücre/BBA olan olguların daha düşük genel sağ kalıma sahip oldukları gözlenmiştir ($p=0,002$). CD79b boyanma oranlarının ABC subtipinde GCB subtipine göre daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca, >60 yaş, ECOG performans skoru ≥ 2 , evre IV hastalık, yüksek IPI skoru (3-5), LDH yüksekliği, düşük albumin düzeyi, düşük hemoglobin düzeyi, düşük periferik kan lenfosit sayısı, yüksek periferik kan nötrofil/lenfosit oranı, yüksek periferik kan platelet/lenfosit oranı, MYC $\geq 40\%$ olan olguların genel sağ kalımlarının daha kötü olduğu saptanmıştır.

Sonuç: DBBHL'lerde yeni prognostik faktörler belirlemeye ve hedef tedavi yöntemleri geliştirmeye yönelik yapılan çalışmalar son yıllarda oldukça artmıştır.

Literatürde CD79b değerdendirmesi ağırlıklı olarak genetik analiz ile değerdendirilmiş olup immunohistokimyasal boyama ile değerdendirme daha düşük bir oranda izlenmiştir. İmmunohistokimyasal boyamanın genetik analize göre daha ucuz olması nedeniyle bu yönde çalışmaları artırılması önemlidir.

DBBHL'lerde özellikle CD79b pozitifliğinin hastaların prognozunu öngörmeye yararlı bir parametre olabileceği sonucuna varılmıştır. Veriler günümüzde Faz1b/2 aşamasında olan bir Anti-CD79b molekülü olan Polatuzumab tedavinin tedavide umut vaadedebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diffüz büyük B hücreli lenfoma, tümör mikroçevresi, CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14, MYD88, CD79b

VIII. İNGİLİZCE ÖZET

THE RELATIONSHIP BETWEEN IMMUNOHISTOCHEMICAL REFLECTION AND PROGNOSIS OF NEWLY DETECTED MOLECULAR CHANGES (CD70, GNA13, BTG1, MYD88, CD79B, TNFRSF14) IN DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA (DLBCL), NOS

Aim: It is aimed to detect CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14, MYD88 and CD79b expressions frequently observed in diffuse large B cell lymphomas (DLBCL), and to determine whether these markers can predict prognosis in DBBHL cases by comparing these data with the prognostic data of patients.

Material and Methods: A total of 52 nodal DLBCL, not otherwise specified (DLBCL, NOS) cases diagnosed between 1998 and 2017 with no known extranodal involvement at the time of diagnosis were evaluated. Clinical prognostic data were obtained in 44 of these cases. CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14, MYD88 and CD79b were studied by immunohistochemical methods and CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14 and MYD88 markers were excluded from the study due to inability of obtaining proper staining. The relationships between the results and clinical and laboratory prognostic markers were investigated.

Results: It was observed that cases with CD79b expression >10 positive cells/LMA had lower overall survival ($p = 0.002$). It was observed that CD79b staining rates were higher in ABC subtype than GCB subtype. Also overall survival

was found to be worse in patients with, > 60 years of age, ECOG performance score ≥ 2 , stage IV disease, high IPI score (3-5), LDH elevation, low albumin level, low hemoglobin level, low peripheral blood lymphocyte count, high peripheral blood neutrophil / lymphocyte ratio, high peripheral blood platelet/lymphocyte ratio and MYC $\geq 40\%$.

Conclusion: Studies to determine new prognostic factors and develop targeted treatment methods in DLBCLs have increased considerably in recent years. In the literature, the evaluation of CD79b was predominantly evaluated by genetic analysis, and evaluation with immunohistochemical staining was observed at a lower rate. Since immunohistochemical staining is cheaper than genetic analysis, it is important to increase the studies in this direction. It was concluded that CD79b positivity in DBBHLs may be a useful parameter in predicting the prognosis of patients. The data suggest that Polatuzumab vedotin, an Anti-CD79b molecule currently in the Phase 1b/2 stage, can be promising in treatment.

Keywords: Diffuse large B-cell lymphoma, tumor microenvironment, CD70, GNA13, BTG1, TNFRSF14, MYD88, CD7

IX. KAYNAKLAR

1. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. J Clin Oncol. 1998;16(8):2780-2795. doi:10.1200/JCO.1998.16.8.2780
2. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016;127(20):2375-2390. doi:10.1182/blood-2016-01-643569
3. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature. 2000;403(6769):503-511. doi:10.1038/35000501
4. Sehn LH, Gascoyne RD. Diffuse large B-cell lymphoma: Optimizing outcome in the context of clinical and biologic heterogeneity. Blood 2015; 125:22-32
5. Habermann TM, Weller EA, Morrison VA et al. Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol 2006; 24:3121-7
6. Friedberg JW. New strategies in diffuse large B-cell lymphoma: translating findings from gene expression analyses into clinical practice. Clin Cancer Res 2011; 17:6112-7
7. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. Nature. 2011;470(7332):115-119. doi:10.1038/nature09671

8. Treon SP, Xu L, Yang G, et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med*. 2012;367(9):826-833. doi:10.1056/NEJMoa1200710
9. Kraan W, Horlings HM, van Keimpema M, Schilder-Tol EJ, Oud ME, Scheepstra C, et al. High prevalence of oncogenic MYD88 and CD79B mutations in diffuse large B-cell lymphomas presenting at immune-privileged sites. *Blood Cancer J* 2013;3:e139
10. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature*. 2011;476(7360):298-303. Published 2011 Jul 27. doi:10.1038/nature10351
11. Gascoyne RD, Campo E, Jaffe ES et al. Diffuse large B-cell lymphoma, NOS. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. (eds): *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon:IARC Press 2017; 291-7.
12. Berard CW, Hutchison RE. The problem of classifying lymphomas: an orderly prescription for progress. *Ann Oncol* 1997; 8 Suppl 2:3-9.
13. Gluzman DF. WHO classification of lymphoid malignancies. *Exp Oncol* 2012; 34:377-8.
14. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127:2375-90.
15. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 2006;107(1):265-276. doi:10.1182/blood-2005-06-2508
16. van Leeuwen MT, Turner JJ, Joske DJ, et al. Lymphoid neoplasm incidence by WHO subtype in Australia 1982-2006. *Int J Cancer*. 2014;135(9):2146-2156. doi:10.1002/ijc.28849

17. Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer*. 2011;105(11):1684-1692. doi:10.1038/bjc.2011.450
18. Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project [published correction appears in *Blood*. 2011 Mar 24;117(12):3477]. *Blood*. 2010;116(19):3724-3734. doi:10.1182/blood-2010-05-282632
19. Shirley MH, Sayeed S, Barnes I, Finlayson A, Ali R. Incidence of haematological malignancies by ethnic group in England, 2001-7. *Br J Haematol*. 2013;163(4):465-477. doi:10.1111/bjh.12562
20. Moller MB, Pedersen NT, Christensen BE. Diffuse large B-cell lymphoma: clinical implications of extranodal versus nodal presentation--a population-based study of 1575 cases. *Br J Haematol* 2004; 124:151-9.
21. Shenoy PJ, Malik N, Nooka A, et al. Racial differences in the presentation and outcomes of diffuse large B-cell lymphoma in the United States. *Cancer*. 2011;117(11):2530-2540. doi:10.1002/cncr.25765
22. Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015;26 Suppl 5:v116-v125. doi:10.1093/annonc/mdv304
23. Martelli M, Ferreri AJ, Agostinelli C et al. Diffuse large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 87:146-71.
24. Hartge P, Wang S. Overview of the etiology and epidemiology of lymphoma. In Mauch PM, Dalla-Favera R, Harris NL (eds): *Non-Hodgkin's lymphomas*. New York: Lippincott, Williams and Wilkins 2004; 711-27.
25. de Sanjose S, Benavente Y, Vajdic CM et al. Hepatitis C and non-Hodgkin lymphoma among 4784 cases and 6269 controls from the International

- Lymphoma Epidemiology Consortium. Clin Gastroenterol Hepatol 2008; 6:451-8.
26. Visco C, Finotto S. Hepatitis C virus and diffuse large B-cell lymphoma: Pathogenesis, behavior and treatment. World J Gastroenterol 2014; 20:11054-61.
 27. Oyama T, Ichimura K, Suzuki R et al. Senile EBV+ B-cell lymphoproliferative disorders: a clinicopathologic study of 22 patients. Am J Surg Pathol 2003; 27:16-26.
 28. Gibson SE, Swerdlow SH, Craig FE et al. EBV-positive extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue in the posttransplant setting: a distinct type of posttransplant lymphoproliferative disorder? Am J Surg Pathol 2011; 35:807-15.
 29. Hoeller S, Tzankov A, Pileri SA et al. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma in elderly patients is rare in Western populations. Hum Pathol 2010; 41:352-7.
 30. Ok CY, Li L, Xu-Monette ZY et al. Prevalence and clinical implications of epstein-barr virus infection in de novo diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. Clin Cancer Res 2014; 20:2338-49.
 31. Slack GW, Steidl C, Sehn LH et al. CD30 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study from British Columbia. Br J Haematol 2014; 167:608-17.
 32. Montes-Moreno S, Odqvist L, Diaz-Perez JA et al. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly is an aggressive post- germinal center B-cell neoplasm characterized by prominent nuclear factor-kB activation. Mod Pathol 2012; 25:968-82.
 33. Gibson SE, Hsi ED. Epstein-Barr virus-positive B-cell lymphoma of the elderly at a United States tertiary medical center: an uncommon aggressive lymphoma with a nongerminal center B-cell phenotype. Hum Pathol 2009; 40:653-61.

34. Dojcinov SD, Venkataraman G, Pittaluga S et al. Age-related EBV-associated lymphoproliferative disorders in the Western population: a spectrum of reactive lymphoid hyperplasia and lymphoma. *Blood* 2011; 117:4726-35.
35. Beltran BE, Castillo JJ, Morales D et al. EBV-positive diffuse large B- cell lymphoma of the elderly: a case series from Peru. *Am J Hematol* 2011; 86:663-7.
36. Hui D, Proctor B, Donaldson J, et al. Prognostic implications of extranodal involvement in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab and cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(9):1658-1667. doi:10.3109/10428194.2010.504872
37. Anderson JR, Armitage JO, Weisenburger DD. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann Oncol* 1998; 9:717-20.
38. Hunt KE, Reichard KK. Diffuse large B-cell lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132:118-24.
39. Castillo JJ, Winer ES, Olszewski AJ. Sites of extranodal involvement are prognostic in patients with diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: an analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. *Am J Hematol* 2014; 89:310-4.
40. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project.
41. Rosenwald A, Wright G, Chan WC et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346:1937-47.

42. De Paepe P, Achten R, Verhoef G, et al. Large cleaved and immunoblastic lymphoma may represent two distinct clinicopathologic entities within the group of diffuse large B-cell lymphomas. *J Clin Oncol*. 2005;23(28):7060-7068. doi:10.1200/JCO.2005.15.503
43. Engelhard M, Brittinger G, Huhn D et al. Subclassification of diffuse large B-cell lymphomas according to the Kiel classification: distinction of centroblastic and immunoblastic lymphomas is a significant prognostic risk factor. *Blood* 1997; 89:2291-7.
44. Ott G, Ziepert M, Klapper W et al. Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. *Blood* 2010; 116:4916-25.
45. Lennert K, Feller AC. Histopathology of Non-Hodgkin's Lymphomas based on the Updated-Kiel Classification, 2nd Edition, Springer-Verlag, Berlin. 1992:152.
46. Stein H, Warnke RA, Chan WC, Jaffe ES, Chan JKC, Gatter KC and Campo E. Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Not otherwise Specified, In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, Eds., WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th Edition, WHO Press, Lyon .2008: 233-237.
47. Haralambieva E, Pulford KA, Lamant L, et al. Anaplastic large cell lymphomas of B-cell phenotype are anaplastic lymphoma kinase (ALK) negative and belong to the spectrum of diffuse large B-cell lymphomas. *Br J Haematol*. 2000; 109: 584-591
48. Ottensmeier CH, Stevenson FK. Isotype switch variants reveal clonally related subpopulations in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2000;96(7):2550-2556.

49. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, et al. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2013;121(14):2715-2724. doi:10.1182/blood-2012-10-461848
50. Stein H, Lennert K, Feller AC, Mason DY. Immunohistological analysis of human lymphoma: correlation of histological and immunological categories. *Adv Cancer Res*. 1984;42:67-147. doi:10.1016/s0065-230x(08)60456-x
51. Doggett RS, Wood GS, Horning S, et al. The immunologic characterization of 95 nodal and extranodal diffuse large cell lymphomas in 89 patients. *Am J Pathol*. 1984;115(2):245-252.
52. Katzenberger T, Lohr A, Schwarz S, et al. Genetic analysis of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphomas suggests an origin from a somatically mutated CD5+ progenitor B cell. *Blood*. 2003;101(2):699-702. doi:10.1182/blood-2002-06-1726
53. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, et al. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients. *Blood*. 2002;99(3):815-821. doi:10.1182/blood.v99.3.815
54. Zeng W, Fu K, Quintanilla-Fend L et al. Cyclin D1-negative blastoid mantle cell lymphoma identified by SOX11 expression. *Am J Surg Pathol* 2012; 36:214-9.
55. Klein U, Goossens T, Fischer M, et al. Somatic hypermutation in normal and transformed human B cells. *Immunol Rev*. 1998;162:261-280. doi:10.1111/j.1600-065x.1998.tb01447.x
56. Küppers R, Rajewsky K, Hansmann ML. Diffuse large cell lymphomas are derived from mature B cells carrying V region genes with a high load of somatic mutation and evidence of selection for antibody expression. *Eur J Immunol*. 1997;27(6):1398-1405. doi:10.1002/eji.1830270616

57. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012; 30:3452-9.
58. Scott DW, Mottok A, Ennishi D et al. Prognostic Significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cell of Origin Determined by Digital Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Biopsies. *J Clin Oncol* 2015; 33:2848-56.
59. Phan RT, Saito M, Basso K, Niu H, Dalla-Favera R. BCL6 interacts with the transcription factor Miz-1 to suppress the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 and cell cycle arrest in germinal center B cells. *Nat Immunol.* 2005;6(10):1054-1060. doi:10.1038/ni1245
60. Shen HM, Peters A, Baron B, Zhu X, Storb U. Mutation of BCL-6 gene in normal B cells by the process of somatic hypermutation of Ig genes. *Science.* 1998;280(5370):1750-1752. doi:10.1126/science.280.5370.1750
61. Bastard C, Deweindt C, Kerckaert JP, et al. LAZ3 rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 217 patients. *Blood.* 1994;83(9):2423-2427.
62. Kramer MH, Hermans J, Wijburg E, et al. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 1998;92(9):3152-3162.
63. Kramer MH, Hermans J, Wijburg E, et al. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 1998;92(9):3152-3162.
64. Migliazza A, Martinotti S, Chen W, et al. Frequent somatic hypermutation of the 5' noncoding region of the BCL6 gene in B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(26):12520-12524. doi:10.1073/pnas.92.26.12520
65. Peng HZ, Du MQ, Koulis A, et al. Nonimmunoglobulin gene hypermutation in germinal center B cells. *Blood.* 1999;93(7):2167-2172.

66. Huang JZ, Sanger WG, Greiner TC, et al. The t(14;18) defines a unique subset of diffuse large B-cell lymphoma with a germinal center B-cell gene expression profile. *Blood*. 2002;99(7):2285-2290. doi:10.1182/blood.v99.7.2285
67. Barrans SL, Evans PA, O'Connor SJ, et al. The t(14;18) is associated with germinal center-derived diffuse large B-cell lymphoma and is a strong predictor of outcome. *Clin Cancer Res*. 2003;9(6):2133-2139.
68. Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, et al. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma [published correction appears in *Blood*. 2006 Apr 15;107(8):3052]. *Blood*. 2005;106(5):1770-1777. doi:10.1182/blood-2005-02-0542
69. Lo Coco F, Gaidano G, Louie DC, Offit K, Chaganti RS, Dalla-Favera R. p53 mutations are associated with histologic transformation of follicular lymphoma. *Blood*. 1993;82(8):2289-2295.
70. Elenitoba-Johnson KS, Gascoyne RD, Lim MS, Chhanabai M, Jaffe ES, Raffeld M. Homozygous deletions at chromosome 9p21 involving p16 and p15 are associated with histologic progression in follicle center lymphoma. *Blood*. 1998;91(12):4677-4685.
71. Matolcsy A, Casali P, Warnke RA, Knowles DM. Morphologic transformation of follicular lymphoma is associated with somatic mutation of the translocated Bcl-2 gene. *Blood*. 1996;88(10):3937-3944.
72. Papakonstantinou G, Verbeke C, Hastka J, Bohrer M, Hehlmann R. bcl-2 expression in non-Hodgkin's lymphomas is not associated with bcl-2 gene rearrangements. *Br J Haematol*. 2001;113(2):383-390. doi:10.1046/j.1365-2141.2001.02727.x
73. Iqbal J, Meyer PN, Smith LM et al. BCL2 predicts survival in germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP-like therapy and rituximab. *Clin Cancer Res* 2011; 17:7785-95.

74. Iqbal J, Sanger WG, Horsman DE et al. BCL2 translocation defines a unique tumor subset within the germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Pathol* 2004; 165:159-66.
75. Visco C, Tzankov A, Xu-Monette ZY et al. Patients with diffuse large B-cell lymphoma of germinal center origin with BCL2 translocations have poor outcome, irrespective of MYC status: a report from an International DLBCL rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Haematologica* 2013; 98:255-63.
76. Rao PH, Houldsworth J, Dyomina K, et al. Chromosomal and gene amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 1998;92(1):234-240.
77. Cigudosa JC, Parsa NZ, Louie DC, et al. Cytogenetic analysis of 363 consecutively ascertained diffuse large B-cell lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer*. 1999;25(2):123-133.
78. De Paepe P, Baens M, van Krieken H, et al. ALK activation by the CLTC-ALK fusion is a recurrent event in large B-cell lymphoma. *Blood*. 2003;102(7):2638-2641. doi:10.1182/blood-2003-04-1050
79. ALK in NHL: To B (cell) or not to B (cell)? Characterization of the entity "ALK+ DLBCL" (editorial), Morris SW *Blood*. 2003;102:2316.
80. Laurent C, Do C, Gascoyne RD, et al. Anaplastic lymphoma kinase-positive diffuse large B-cell lymphoma: a rare clinicopathologic entity with poor prognosis [published correction appears in *J Clin Oncol*. 2010 Jan 1;28(1):182]. *J Clin Oncol*. 2009;27(25):4211-4216. doi:10.1200/JCO.2008.21.5020
81. Smith A, Crouch S, Howell D, Burton C, Patmore R, Roman E. Impact of age and socioeconomic status on treatment and survival from aggressive lymphoma: a UK population-based study of diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Epidemiol*. 2015;39(6):1103-1112. doi:10.1016/j.canep.2015.08.015

82. Kallam A, Armitage JO, Chen B, et al. Center Effect and Socioeconomic Determinants of Overall Survival (OS) of Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL), *Blood*. 2016;128:5949.
83. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, et al. Standard International prognostic index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era [published correction appears in *J Clin Oncol*. 2011 Feb 20;29(6):779]. *J Clin Oncol*. 2010;28(14):2373-2380. doi:10.1200/JCO.2009.26.2493
84. Salles G, de Jong D, Xie W, et al. Prognostic significance of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Blood*. 2011;117(26):7070-7078. doi:10.1182/blood-2011-04-345256
85. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood*. 2007;109(5):1857-1861. doi:10.1182/blood-2006-08-038257
86. Bari A, Marcheselli L, Sacchi S, et al. Prognostic models for diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: a never-ending story. *Ann Oncol*. 2010;21(7):1486-1491. doi:10.1093/annonc/mdp531
87. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med*. 2002;8(1):68-74. doi:10.1038/nm0102-68
88. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103(1):275-282. doi:10.1182/blood-2003-05-1545
89. Coiffier B. Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene* 2007; 26:3603-13.

90. Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS et al. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2009; 113:6069-76.
91. Mathews Griner LA, Guha R, Shinn P et al. High-throughput combinatorial screening identifies drugs that cooperate with ibrutinib to kill activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111:2349-54.
92. Nowakowski GS, LaPlant B, Habermann TM et al. Lenalidomide can be safely combined with R-CHOP (R2CHOP) in the initial chemotherapy for aggressive B-cell lymphomas: phase I study. *Leukemia* 2011; 25:1877-81.
93. Nowakowski GS, LaPlant B, Macon WR et al. Lenalidomide combined with R-CHOP overcomes negative prognostic impact of non-germinal center B-cell phenotype in newly diagnosed diffuse large B-Cell lymphoma: a phase II study. *J Clin Oncol* 2015; 33:251-7.
94. Israel BF, Gulley M, Elmore S, Ferrini S, Feng WH, Kenney SC. Anti-CD70 antibodies: a potential treatment for EBV+ CD70-expressing lymphomas. *Mol Cancer Ther.* 2005;4(12):2037-2044. doi:10.1158/1535-7163.MCT-05-0253
95. Strathmann MP, Simon MI. G alpha 12 and G alpha 13 subunits define a fourth class of G protein alpha subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(13):5582-5586. doi:10.1073/pnas.88.13.5582
96. Gilman AG. G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu Rev Biochem.* 1987;56:615-649. doi:10.1146/annurev.bi.56.070187.003151
97. Rodbell M. Nobel Lecture. Signal transduction: evolution of an idea. *Biosci Rep.* 1995;15(3):117-133. doi:10.1007/BF01207453
98. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(10):3879-3884. doi:10.1073/pnas.1121343109

99. Koo M, Ohgami RS. Pediatric-type Follicular Lymphoma and Pediatric Nodal Marginal Zone Lymphoma: Recent Clinical, Morphologic, Immunophenotypic, and Genetic Insights. *Adv Anat Pathol*. 2017;24(3):128-135. doi:10.1097/PAP.000000000000144
100. Yang G, Zhou Y, Liu X, et al. A mutation in MYD88 (L265P) supports the survival of lymphoplasmacytic cells by activation of Bruton tyrosine kinase in Waldenström macroglobulinemia. *Blood*. 2013;122(7):1222-1232. doi:10.1182/blood-2012-12-475111
101. Chapuy B, Roemer MG, Stewart C, Tan Y, Abo RP, Zhang L, et al. Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas. *Blood* 2016;127(7):869-81.
102. Bruno A, Boisselier B, Labreche K, Marie Y, Polivka M, Jouvett A, et al. Mutational analysis of primary central nervous system lymphoma. *Oncotarget* 2014;5(13):5065-75.
103. Oishi N, Kondo T, Nakazawa T, Mochizuki K, Tanioka F, Oyama T, et al. High prevalence of the MYD88 mutation in testicular lymphoma: Immunohistochemical and genetic analyses. *Pathol Int* 2015;65(10):528-35.
104. Harris NL, Stein H, Caupland S et al. New Approaches to Lymphoma Diagnosis. *Hematology 2001 ASH 2001 Congress Education Book*. pp:195-220
105. Schattner EJ, Casali P. The immune system structure and function. *Neoplastic Hematopathology* Ed DM Knowles 2nd Edition 2001, USA, Chapter 2pp:43-92
106. Cambier JC, Getahun A. B cell activation versus anergy; the antigen receptor as a molecular switch. *Immunol Lett*. 2010;128(1):6-7. doi:10.1016/j.imlet.2009.09.006
107. Foletta VC, Segal DH, Cohen DR. Transcriptional regulation in the immune system: all roads lead to AP-1. *J Leukoc Biol*. 1998;63(2):139-152. doi:10.1002/jlb.63.2.139

108. Lenz G, Staudt LM. Aggressive lymphomas. *New England Journal of Medicine* 2010; 362:1417-29.
109. Wang J, Gao K, Lei W et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio is associated with prognosis of diffuse large B-cell lymphoma: correlation with CD163 positive M2 type tumor-associated macrophages, not PD- 1 positive tumor-infiltrating lymphocytes. *Oncotarget* 2017; 8:5414-25.
110. Armitage JO. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 89:3909-18.
111. Lichtman MA. The Non-Hodgkin Lymphomas. *Williams Hematology*, 7th ed. 2005;1407–1459. New York: McGraw-Hill
112. Ansell SM, Armitage J. Non-Hodgkin Lymphoma Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc.* August 2005;80 (8):1087-1097.
113. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *New Eng J Med* 1993;328:1002-6.
114. Feng J, Wang Z, Guo X et al. Prognostic significance of absolute lymphocyte count at diagnosis of diffuse large B-cell lymphoma: a meta-analysis. *Int J Hematol* 2012; 95:143-8
115. Zhou S, Xu L, Ma Y et al. Peripheral blood lymphocyte to monocyte ratio recovery from low levels at diagnosis after completion of first line therapy predicts good clinical outcomes in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget* 2017; 8:19556-65.
116. Li YL, Pan YY, Jiao Y et al. Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio predicts outcome for patients with diffuse large B cell lymphoma after standard first-line regimens. *Ann Hematol* 2014; 93:617-26.
117. Tadmor T, Bari A, Sacchi S et al. Monocyte count at diagnosis is a prognostic parameter in diffuse large B-cell lymphoma: results from a large multicenter study involving 1191 patients in the pre- and post- rituximab era. *Haematologica* 2014; 99:125-30.

118. Wang S, Ma Y, Sun L et al. Prognostic Significance of Pretreatment Neutrophil/Lymphocyte Ratio and Platelet/Lymphocyte Ratio in Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Biomed Res Int* 2018; 2018:9651254.
119. Nakayama S, Matsuda M, Adachi T et al. Novel prognostic index based on hemoglobin level and platelet count for diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified in the R-CHOP era. *Platelets* 2018; 1-9.
120. Li ZM, Huang JJ, Xia Y et al. Blood lymphocyte-to-monocyte ratio identifies high-risk patients in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *PLoS One* 2012; 7:e41658.
121. Ochi Y, Kazuma Y, Hiramoto N et al. Utility of a simple prognostic stratification based on platelet counts and serum albumin levels in elderly patients with diffuse large B cell lymphoma. *Ann Hematol* 2017; 96:1-8.
122. Bairey O, Shacham-Abulafia A, Shpilberg O et al. Serum albumin level at diagnosis of diffuse large B-cell lymphoma: an important simple prognostic factor. *Hematol Oncol* 2016; 34:184-92.
123. Kim Y, Ju H, Kim DH, et al. CD79B and MYD88 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Hum Pathol.* 2014;45(3):556-564. doi:10.1016/j.humpath.2013.10.023
124. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2018;378(15):1396-1407. doi:10.1056/NEJMoa1801445
125. Yamada S, Ishida Y, Matsuno A, Yamazaki K. Primary diffuse large B-cell lymphomas of central nervous system exhibit remarkably high prevalence of oncogenic MYD88 and CD79B mutations. *Leuk Lymphoma.* 2015;56(7):2141-2145. doi:10.3109/10428194.2014.979413
126. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, Wiestner A, Staudt LM. A gene expressionbased method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 9991–9996

127. Ngo VN, et al. A loss-of-function RNA interference screen for molecular targets in cancer. *Nature* 2006;441:106–110.
128. Davis RE, Ngo VN, Lenz G, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature*. 2010;463(7277):88-92. doi:10.1038/nature08638
129. Lim KH , Yang Y , Staudt LM . Pathogenetic importance and therapeutic implications of NF-kappaB in lymphoid malignancies. *Immunol Rev* 2012 ; 246 : 359 – 378 .
130. Kraan W , Horlings HM , van Keimpema M , et al . High prevalence of oncogenic MYD88 and CD79B mutations in primary testicular diffuse large B-cell lymphoma . *Leukemia* 2014 ; 28 : 719 – 720
131. Knittel G, Liedgens P, Korovkina D, Pallasch CP, Reinhardt HC. Rewired NFkB signaling as a potentially actionable feature of activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Haematol*. 2016;97(6):499-510. doi:10.1111/ejh.12792
132. Morschhauser F, Flinn IW, Advani R, et al. Polatuzumab vedotin or pinatuzumab vedotin plus rituximab in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma: final results from a phase 2 randomised study (ROMULUS). *Lancet Haematol* 6:254-265, 2019
133. Palanca-Wessels MCA, Czuczman M, Salles G, et al: Safety and activity of the anti-CD79B antibody-drug conjugate polatuzumab vedotin in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia: A phase 1 study. *Lancet Oncol* 16:704-715, 2015
134. Sehn LH, Herrera AF, Flowers CR, et al. Polatuzumab Vedotin in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2020;38(2):155-165. doi:10.1200/JCO.19.00172
135. Liu Y, Barta SK. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2019;94(5):604-616. doi:10.1002/ajh.25460