

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMADA PUMA, P53 VE BCL2’NİN
PROGNOSTİK ÖNEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Nargiz ABDALOVA

Trabzon-2022

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMADA PUMA, P53 VE BCL2'NİN
PROGNOSTİK ÖNEMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Nargiz ABDALOVA

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Özlen BALTA

Trabzon-2022

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın her bir aşamasında bilgisini ve desteğini benden esirgemeyen, değerli tavsiyeleri ve yönlendirmeleri ile katkıda bulunan tez danışmanı hocam sayın Prof. Dr. Özlen BALTA'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca bana akademik bilgilerini ve tecrübelerini aktararak bilimsel gelişimime katkı sağlayan, yol gösteren değerli hocalarıma, bizi her zaman dinleyen ve bilgilerini esirgemeyen yan dal uzmanlarımıza,

Tezimin yazılmasında bana yardımını esirgemeyen Dr. Serdar DURAK'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca hep yanımda olan Beyhan GÜVERCİN'e, Gamze EMİN'e, Zehra KESKİN'e, H. Bilge GÜR'e, Betül ŞAHİN'e, Merve AYDIN'a ve Gülcan VAROL'a,

Eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım kıdemlilerime, birlikte çalıştığım, pek çok anıyı paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma,

Uzmanlık eğitimim boyunca yanımda olamasalar da her daim manevi olarak varlıklarını hissettiğim anneme, babama, abime, kardeşime ve dualarını benden esirgemeyen babaanneme,

En içten duygularla sevgilerimi, saygılarımı ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Nargiz ABDALOVA

Trabzon, 2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda akademik ve etik kurallara bağlı kalarak gerçekleştirdiğimi, etik dışı hiçbir davranışımın olmadığını, bu tez çalışması sonucu elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlar için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr Nargiz ABDALOVA

ÖZET

Diffüz büyük B hücreli lenfomada PUMA, P53 ve BCL2'nin prognostik öneminin değerlendirilmesi

Giriş: Lenfomalar, lenfoid dokudan köken alan neoplazmlardır. Lenfoid hücre gelişiminin herhangi bir aşamasından köken alabilirler. Prognoz, lenfoma alt tipine bağlıdır. İndolent lenfomalar daha uzun sağ kalıma sahip olmasına rağmen genel olarak iyileşmez kabul edilir. Agresif lenfomalar daha hızlı progrese olur ancak iyileşme oranları daha yüksektir.

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), non-Hodgkin lenfoma (NHL) vakalarının yaklaşık olarak %30'unu kapsamakta olup en yaygın NHL histolojik alt tipidir. DBBHL'li hastalar tipik olarak hızlı bir şekilde büyüyen, en çok boyun veya karın bölgesinde nodal yayılım gösteren semptomatik bir kitle ile kendini gösterir. Hastaların yaklaşık %30'unda sistemik 'B' semptomları (ateş, kilo kaybı, gece terlemeleri) görülmektedir. Vakaların %30'unda kemik iliği tutulumu, %40'ında ektranodal ekstramedüller tutulum olduğu bildirilmiştir.

Apoptozis programlanmış hücre ölümüdür. Apoptozisde rol alan mekanizmalardan PUMA ve P53, BCL2 aracılığı ile fonksiyon gösterirler ve temel olarak apoptozisin gerçekleşmesini sağlarlar. PUMA, P53 ilişkili ve ilişkisiz olarak apoptozisi indükleyebilir.

Amaç: Bu çalışmada, DBBHL'de BCL2, P53 ve PUMA'nın genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkisi olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık. DBBHL hastalarının lenf nodu örneklerinde PUMA, P53 ve/veya BCL2 arasında sağkalım üzerine bir ilişki olması halinde, bu parametreler prognostik bir gösterge ve/veya hedefe yönelik bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilir.

Gereç ve Yöntem: Tanısal amaçlı lenf nodu eksizyonu yapılmış ve DBBHL tanısı konmuş 46 hastanın parafin blok halindeki lenf nodu biyopsi kesitlerine immunhistokimyasal boyama uygulandı. PUMA (cutoff %30) ve P53 (cutoff %50) pozitif veya negatif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Yaptığımız çalışmada yaş ile OS ve ektranodal tutulum ile OS arasında ilişki saptandı. P53 ve PUMA'nın tek başına pozitifliğinin veya BCL2, BCL6 ve MYC ile birlikte pozitifliğinin sağkalıma etkisi gözlenmedi. P53 pozitif hastalarda IPI skorlamasının sağkalıma etkisi bakıldığında OS açısından anlamlı olduğu görüldü. PUMA pozitif hastalarda IPI değerlendirildiğinde sağkalım açısından anlamlı sonuç bulunamadı.

Sonuç: P53 pozitif hastalarda IPI ve sağkalım süreleri arasındaki anlamlı sonuç P53'ün apoptozdaki rolüyle ilişkili olabileceği düşünüldü. PUMA pozitif hastaların OS ve PFS sürelerinin etki etmemesinin nedeni yaptığımız çalışmada kısıtlı hasta sayısının olması ile ilişkilendirilebilir. Yeterli hasta sayısı ile yapılan çalışmada anlamlı sonuç elde edilmesi durumunda tanı anında PUMA ve P53 çalışılması hastanın genel sağkalımı ile bize bilgi verebilir.

Anahtar Kelimeler: Lenfoma, Diffüz büyük B hücreli lenfoma, PUMA, P53, BCL2, apoptozis, prognoz

SUMMARY

Introduction: Lymphomas are neoplasms originating from lymphoid tissue. They may originate from any stage of lymphoid cell development. Prognosis depends on the subtype of lymphoma. Indolent lymphomas have a longer survival and are generally considered not to heal. Aggressive lymphomas progress faster, but recovery rates are higher.

Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) is the most common histologic subtype of non-Hodgkin lymphoma (NHL) accounting for approximately 30 percent of NHL cases. Patients with DLBCL typically present with a rapidly enlarging symptomatic mass, most usually nodal enlargement in the neck or abdomen. Systemic 'B' symptoms (ie, fever, weightloss, drenching, night sweats) are observed in approximately 30 percent of patients. Bone marrow involvement and extranodal extramedullary disease are seen in upto 30 and 40 percent of cases, respectively.

Apoptosis is programmed cell death. The mechanisms involved in this process, PUMA and P53, function by means of BCL2 and mainly provide the realization of apoptosis. PUMA may induce apoptosis with and without P53.

Objectives: In this study, we aimed to evaluate whether BCL2, P53 and PUMA have an effect on overall survival and progression free survival in DLBCL. If there is an association between PUMA, P53 and/or BCL2 on survival in lymph node samples from DLBCL patients, these parameters can be used as a prognostic indicator and/or a targeted therapy option.

Materials and Methods: Immunohistochemical staining was applied to the paraffin-blocked lymph node biopsy sections of 46 patients who underwent diagnostic lymph node excision and were diagnosed with DLBCL. PUMA (cutoff 30%) and P53 (cutoff 50%) were evaluated as positive or negative.

Results: In our study, a relationship was found between age and OS, and between extranodal involvement and OS. The positivity of p53 and PUMA alone or

in combination with BCL2, BCL6 and MYC did not have any effect on survival. Considering the effect of IPI scoring on survival in P53 positive patients, it was seen that it was significant in terms of OS. When the relationship between IPI and survival was evaluated in PUMA positive patients, no significant results were found.

Conclusion: The significant result between IPI and survival times in P53 positive patients was thought to be related to the role of P53 in apoptosis. The reason why OS and PFS times of PUMA positive patients did not affect may be related to the limited number of patients in our study. If the study with a sufficient number of patients obtain significant results the study of PUMA and P53 at the time of diagnosis can inform us about the overall survival of the patient.

Keywords: Lymphoma, Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL), PUMA, P53, BCL2, apoptosis, prognosis

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	1
BEYAN	1
ÖZET.....	2
SUMMARY	4
İÇİNDEKİLER	6
KISALTMALAR LİSTESİ.....	8
TABLolar LİSTESİ.....	10
ŞEKİLLER LİSTESİ	11
1. GİRİŞ.....	12
2. GENEL BİLGİLER	13
2.1. Tanım.....	13
2.2. Etiyoloji.....	13
2.3. Epidemiyoloji	13
2.4. Sınıflandırma	14
2.5. Evreleme.....	15
2.6. Genetik	17
2.7. Patogenez.....	17
2.7.1. MYC arttırıcı düzenlenmesi	19
2.7.2. BCL2 aktivasyonu	20
2.8. Prognoz.....	21
2.9. Tedavi.....	22
2.10. Apoptozis.....	23

2.10.1.P53 ve Apoptozis.....	23
2.10.2. PUMA ve Apoptozis.....	24
3.GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Hasta seçimi	25
3.2. Çalışma protokolü	25
3.3. DBBHL hastalarının klinik ve laboratuvar değerlendirilmesi	25
3.4. İmmunohistokimyasal Metot.....	27
3.5. İstatistiksel Metot	28
4. BULGULAR	29
5.TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
7. KAYNAKÇA.....	61

KISALTMALAR LİSTESİ

NHL	: Non-Hogkin Lenfoma
DBBHL	: Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma
DBBHL-NOS	: Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, sınıflandırılmamış
PUMA	: P53 Upregulated Modulator Of Apoptosis
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
PCD	:Programlı hücre ölümü
EBV	: Epstein-Barr Virüs
HCV	: Hepatit C Virüsü
GCB	: Germinal Merkez B Hücreli
ABC	: Aktive B Hücreli
ALK	: Anaplastik Lenfoma Kinaz
HHV-8	: İnsan herpes virüsü 8
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
R-CHOP	: Rituksimab -siklofosfamid, doksorubisin, vinkristin, prednizolon
DHL	: Çift vuruşlu lenfoma
THL	: Üçlü vuruşlu lenfoma
DEL	: Çift eksprese lenfoma
TEL	: Üçlü eksprese lenfoma
OS	: Genel sağkalım
DFS	: Hastalıksız sağkalım
IPI	: Uluslararası Prognostik İndeks
RT	: Radyoterapi
DHAP	: Deksametazon, sitozin-arabinozid, sisplatin
ICE	: İfosfamid, karboplatin, etoposid

GDP	: Gernsitabin, deksametazon, sisplatin
OKHN	: Otolog kök hücre nakli
AHKHN	: Allojenik hematopoetik kök hücre nakli
SSS	: Santral Sinir Sistemi
PET	: Pozitron emisyon tomografi
BT	: Bilgisayarlı tomografi
PBS	: Fosfat tamponlu salin
IQR	: İnter Quantile Range
Hgb	: Hemoglobin
Ca	: Kalsiyum
Cre	: Kreatinin
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
CRP	: C-reaktif protein
c-FLIP	: FLICE inhibitör proteini
IAP	: Apoptozis inhibitörü

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. 2022 ve 2016 WHO DBBHL sınıflamasının karşılaştırması	15
Tablo 2. Revize Ann Arbor evreleme sistemi	16
Tablo 3. IPI skortlama sistemi	21
Tablo 4. IPI'ye göre prognostik değerlendirme	22
Tablo 5. ECOG değerlendirmesi	26
Tablo 6. Lugano gözden geçirilmiş yanıt ölçütleri	27
Tablo 7. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı	29
Tablo 8. Hastaların tanı anında laboratuvar değerleri	29
Tablo 9. Hastaların tanı klinik evrelerine göre dağılımı	30
Tablo 10. Hastaların ECOG skoru ve LDH düzeyleri	30
Tablo 11. Hastaların IPI skortlamasına göre dağılımı	30
Tablo 12. Hastaların tedavi sonrası yanıt değerlendirmesi	31
Tablo 13. Hastaların relaps oranları	31
Tablo 14. PUMA, P53, BCL2, BCL6 ve MYC dağılımı	31
Tablo 15. Klinik özelliklerin ve prognostik faktörlerin genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkisi	39
Tablo 16. BCL2, BCL6, MYC, P53 ve PUMA'nın genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkisi	45
Tablo 17. BCL2, BCL6 ve MYC pozitif olan hastalarda P53 ve PUMA'nın genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalıma etkisi	51
Tablo 18. P53 pozitif hastalarda IPI'ye göre sağkalım	53
Tablo 19. PUMA pozitif hastalarda IPI'ye göre sağkalım	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Hans algoritması	19
Şekil 2. Tüm olgularda genel sağkalım.....	32
Şekil 3. Tüm olgularda progresyonsuz sağkalım.....	32
Şekil 4. Yaşa gruplarına göre genel sağkalım.....	33
Şekil 5. Yaş gruplarına göre progresyonsuz sağkalım.....	33
Şekil 6. Cinsiyete göre genel sağkalım	34
Şekil 7. Cinsiyete göre progresyonsuz sağkalım	34
Şekil 8. Klinik evreye göre genel sağkalım	35
Şekil 9. Klinik evreye göre progresyonsuz sağkalım.....	35
Şekil 10. ECOG'a göre genel sağkalım.....	36
Şekil 11. ECOG'a göre progresyonsuz sağkalım	36
Şekil 12. LDH'a göre genel sağkalım	37
Şekil 13. LDH'a göre progresyonsuz sağkalım.....	37
Şekil 14. Ekstranodal tutulumu göre genel sağkalım.....	38
Şekil 15. Ekstranodal tutulumu göre progresyonsuz sağkalım	38
Şekil 16. BCL2'ye göre genel sağkalım.....	40
Şekil 17. BCL2'ye göre progresyonsuz sağkalım	40
Şekil 18. BCL6'ya göre genel sağkalım.....	41
Şekil 19. BCL6'ya göre progresyonsuz sağkalım	41
Şekil 20. MYC'ye göre genel sağkalım	42
Şekil 21. MYC'ye göre progresyonsuz sağkalım.....	42
Şekil 22. P53'e göre genel sağkalım	43
Şekil 23. P53'e göre progresyonsuz sağkalım.....	43
Şekil 24. PUMA'ya göre genel sağkalım	44
Şekil 25. PUMA'ya göre progresyonsuz sağkalım	44
Şekil 26. BCL2 pozitif hastalarda P53'e göre genel sağkalım	45
Şekil 27. BCL2 pozitif hastalarda P53'e göre progresyonsuz sağkalım.....	46
Şekil 28. BCL2 pozitif hastalarda PUMA'ya göre genel sağkalım	46
Şekil 29. BCL2 pozitif hastalarda PUMA'ya göre progresyonsuz sağkalım	47
Şekil 30. BCL6 pozitif hastalarda P53'e göre genel sağkalım	47
Şekil 31. BCL6 pozitif hastalarda P53'e göre progresyonsuz sağkalım.....	48
Şekil 32. BCL6 pozitif hastalarda PUMA'ya göre genel sağkalım	48
Şekil 33. BCL6 pozitif hastalarda PUMA'ya göre progresyonsuz sağkalım	49
Şekil 34. MYC pozitif hastalarda P53'e göre genel sağkalım.....	49
Şekil 35. MYC pozitif hastalarda PUMA'ya göre genel sağkalım.....	50
Şekil 36. P53 pozitif olan hastalarda IPI'ye göre genel sağkalım	52
Şekil 37. P53 pozitif olan hastalarda IPI'ye göre progresyonsuz sağkalım	52
Şekil 38. PUMA pozitif hastalarda IPI'ye göre genel	53
Şekil 39. PUMA pozitif hastalarda IPI'ye göre progresyonsuz	54

1. GİRİŞ

Non-Hodgkin Lenfoma (NHL), B veya T hücre progenitörlerinden, olgun B veya T hücrelerinden köken alabilen lenfoid dokuların malign neoplazmasıdır (1). NHL'ler sıklıkla genetik yatkınlık, immün sistemdeki değişiklikler ve çevresel faktörler gibi multifaktöriyel nedenlerle ortaya çıkar. Genetik olarak, kromozomal translokasyonlar ve anormal somatik hipermutasyonlar etiyolojide önemli rol oynar (2).

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) bir NHL'dir ve tüm NHL'lerin %30-58'sini oluşturur. Vakaların %55'ini erkekler oluşturur (3).

DBBHL'da prognoz, yaş, serum laktat dehidrojenaz (LDH) konsantrasyonu, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performans durumu, klinik evre ve ektranodal bölge tutulumu varlığına göre değerlendirilmektedir (4).

Apoptosis programlanmış hücre ölümüdür ve tüm çok hücreli organizmalarda hücre proliferasyonunun kontrolünü sağlamak, doku homeostazını korumak, zararlı veya gereksiz hücreleri ortadan kaldırmak için önemli olan bir mekanizmadır (5). Genellikle kaspazlar (sisteinil, aspartat-spesifik proteazlar) olarak bilinen proteaz ailesi tarafından yönetilir (6). Kaspazlar, hücre ölümünün hem başlatıcıları hem de yürütücüleri oldukları için apoptozis mekanizmasının merkezinde yer alırlar (7).

Apoptozisin gerçekleşmesinde diğer mekanizmalar arasında BCL2 aktivasyonu, anormal BCL6 ekspresyonu, TP53 azaltıcı düzenlemesi, PUMA, MYC artırıcı düzenlemesi yer almaktadır (8-11).

Çalışmamızda, PUMA ve P53'ün, DBBHL prognozuna ve progresyonuna etkisinin değerlendirilmesini, ayrıca apoptozisle ilişkili bu parametrelerin diğer bir apoptozis ilişkili yapı olan BCL2 ile ilişkisinin varlığını değerlendirmeyi amaçladık. Herhangi bir ilişki olması halinde DBBHL patogenezi hakkında yeni bir bakış açısı elde edeceğiz ve yeni bir hedefe yönelik tedavi seçeneği ortaya çıkacaktır. Literatür taramamızda insanlarda DBBHL ile PUMA arasında ilişkiyle ilgili bir çalışmaya rastlamadık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

NHL, B veya T hücre progenitörlerinden, olgun B veya T hücrelerinden köken alabilen lenfoid dokuların malign neoplazmidir (1). DBBHL bir NHL'dir ve tüm NHL'lerin %30'unu oluşturur (12). Birçok çalışma sayesinde DBBHL, morfolojik varyantlara, moleküler ve immünofenotipik alt gruplara ve farklı hastalık antitelerine ayrılmıştır. Fakat hala çok sayıda vaka biyolojik ve klinik olarak ayıramamakta ve heterojenitesini korumaktadır. Bunlar sınıflandırılmayan DBBHL-NOS olarak adlandırılmaktadır (13).

2.2. Etiyoloji

NHL'ler genellikle genetik yatkınlık, immün sistemdeki değişiklikler ve çevresel faktörler gibi multifaktöriyel nedenlerle ortaya çıkar. Genetik olarak ise kromozomal translokasyonlar ve anormal somatik hipermutasyonlar etiyolojide önemli rol oynamaktadır (2).

İmmüsupresyon etiyolojide en önemli risk faktörü sayılmaktadır ve transplantasyon sonrası uzun süreli immüsupresif tedavi NHL riskini artırmaktadır (14,15). HIV enfeksiyonunun primer santral sinir sistem DBBHL riskini, Epstein-Barr virüsün (EBV) DBBHL'ye dönüşebilen lenfomatoid granülomatoz hastalık gelişme riskini, Hepatit C virüsünün (HCV) ise primer hepatosplenik DBBHL gelişme riskini artırdığı gösterilmiştir (16-18).

2.3. Epidemiyoloji

DBBHL, NHL vakalarının en yaygın histolojik alt tipidir. Diğer NHL'lerin çoğu gibi, erkeklerde daha sık görülmektedir ve meydana gelen vakaların yaklaşık %55'i erkeklerden oluşmaktadır (3). Avrupa'da insidans yılda 100.000 kişi başına yaklaşık 4.92

vakadır (19). İnsidans yaşla birlikte artmaktadır. Hastalar için ortalama başvuru yaşı 64'tür (20). Bu sebeple DBBHL, bir ileri yaş hastalığıdır ve bu yönü ile yaşlı hastaların tedavisi, hastalığın yönetimi açısından önem kazanmaktadır (21). DBBHL ve diğer NHL alt tiplerine sahip hastalarda ailesel yatkınlık kaydedilmiştir (22). Örnek olarak, İsveç ve Danimarka'da hastalar üzerinde yapılan geniş bir popülasyona dayalı gözlemsel çalışmada, agresif NHL'li hastaların akrabalarında NHL geliştirme riskinin yaklaşık 3.5 kat arttığı bildirilmiştir (23).

2.4. Sınıflandırma

DBBHL birkaç farklı şekilde sınıflandırılabilir. Yaygın morfolojik varyantları; sentroblastik, immünoblastik, anaplastik ve nadir varyantlardır. Moleküler alt gruplar, germinal merkez B hücreli (GCB) ve aktive B hücreli (ABC) tiplerindedir. İmmünohistokimyasal alt gruplar, CD5-pozitif DBBHL, GCB ve GCB dışı olanları içerir (24).

Dünya Sağlık Örgütü 2022 sınıflamasında DBBHL'ler için histomorfolojik immunhistokimyasal ve moleküler temellere dayanan farklı varyantlar tanımlamıştır (Tablo 1) (25).

Tablo 1. 2022 ve 2016 WHO DBBHL sınıflamasının karşılaştırması (25)

DSÖ 2016 DBBHL WHO sınıflaması	DSÖ 2022 DBBHL WHO sınıflaması
Sınıflandırılmayan DBBHL (GBC ve ABC)	Değişiklik yok
T-hücre /histiyositten zengin büyük B hücreli lenfoma	Değişiklik yok
MYC ve BCL2 ve/veyaBCL6 yeniden düzenlemeleri olan yüksek dereceli B hücreli lenfoma	DBBHL/ MYC ve BCL2 yeniden düzenlemeleri olan yüksek dereceli B hücreli lenfoma
ALK pozitif büyük B hücreli lenfoma	Değişiklik yok
IRF4 yeniden düzenlenmesi olan büyük B hücreli lenfoma	Değişiklik yok
11q sapmaları olan Burkitt benzeri lenfoma	11q sapmaları olan yüksek dereceli büyük B hücreli lenfoma
Lenfatoid granülomatozis	Değişiklik yok
EBV pozitif DBBHL	EBV pozitif DBBHL, NOS
Kronik inflamasyon ile ilişkili DBBHL	Değişiklik yok
Yok	Fibrin ilişkili büyük B hücreli lenfoma
Yok	Aşırı sıvı yüklenmesiyle ilişkili büyük B hücreli lenfoma
Plazmoblastik lenfoma	Değişiklik yok
Yok	İmmün ayrıcalıklı bölgelerin birincil büyük B hücreli lenfoması
Primer kutanöz DBBHL, bacak tipi	Değişiklik yok
İntravasküler büyük B hücreli lenfoma	Değişiklik yok
Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma	Değişiklik yok
DLBCL ve klasik Hodgkin lenfoma ortak özelliklerine sahip, sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma	Mediastinal gri bölge lenfoması
Yüksek dereceli B hücreli lenfoma NOS	Değişiklik yok

2.5. Evreleme

Revize Ann Arbor evreleme sistemi, NHL'li hastalar için kullanılmakta olan evreleme sistemidir. 1974'te Hodgkin lenfoma için geliştirilen ve 1988'de değiştirilen

Ann Arbor evreleme sistemine dayanmaktadır ve Lugano evreleme sistemi olarak da bilinir (Tablo 2) (26,27).

Tablo 2. Revize Ann Arbor evreleme sistemi (28)

Evre	Tutulum	Ekstranodal (E) tutulum
Erken Evre		
I	Tek lenf bezi veya komşu lenf bezi grubu	Nodal tutulum olmadan tek ekstranodal tutulum
II	Diyaframın aynı tarafında 2 veya daha fazla tutulan lenf nodu grubu	Evre I veya II nodal yayımlı sınırlı ekstranodal tutulum
II kitlesel	Kitlesel lezyona ilave olarak yukarıdaki gibi evre II hastalık	Uygulanamaz
İleri evre		
III	Diyaframın her iki tarafında nodal tutulum veya dalak tutulumu ile beraber diyafram üstü nodal tutulum	Uygulanamaz
IV	Komşu olmayan ekstral enfatik tutulum	
Hastalık yayılımı, PET/BT ve BT ile belirlenmiştir. Tonsiller, Waldeyer halkası ve dalak nodal doku olarak kabul edilmiştir. *Kitlesel hastalık: En büyük çapı 10 cm'in üzerinde olan kitle ya da arka/ön akciğer grafisinde torokal 5-6 intervertebral disk düzeyinde hesaplanan en uzun transvers transtorasik çapın 1/3'ünü aşan mediastinal kitle varlığı olarak tanımlanmıştır.		

Sınırlı ekstranodal tutulum belgelenmişse "E" alt simgesi kullanılır; daha kapsamlı ekstranodal hastalık evre IV olarak kabul edilir. Dalağı içeren hastalık, ekstranodalden ziyade nodal olarak kabul edilir. "X" alt simgesi, Ann Arbor evreleme sisteminde bulky hastalığının varlığını belirtmek için kullanılmıştır. Lugano sınıflandırması "X" adını kullanmak yerine en büyük tümör çapının kaydedilmesini gerektirir. Tedavi kriterleri, bulky hastalık histolojisine göre değişir (29).

Hodgkin lenfomanın aksine, sistemik "B" semptomları (ateş, terleme, kilo kaybı) artık NHL için evreleme sistemine dahil edilmemektedir. Bunun temel nedeni, bu sistemik semptomların NHL'li hastalarda bağımsız prognostik faktörler olmamasıdır (29).

2.6. Genetik

DBBHL, gen ekspresyon profillerinde varyasyonlara, klinik seyrinde ve tedaviye yanıtta önemli farklılıklara yol açan genetik değişikliklere sahip heterojen bir lenfoid neoplazmdır (30). ABC, GCB ve sınıflandırılmayan alt gruplarının gen ekspresyon profili, kaynaklandığı hücreye göre tanımlanmıştır (31).

Son 10 yılda yapılan çalışmalarda DBBHL'de, bazıları B hücreli lenfomalara özgü, bazıları ise diğer kanser türlerinde de gözlenebilen birçok genetik değişiklik tanımlanmıştır. Bu değişiklikler, B hücresi farklılaşması, B hücre reseptör sinyalleri, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) yolu aktivasyonu, apoptozis ve epigenetik düzenleme gibi çok çeşitli sinyal yollarının ve diğer hücresel süreçlerin aktivasyonu ile sonuçlanır (30).

2.7. Patogenez

B hücreli lenfomalar, normal B hücresi gelişiminin herhangi bir aşamasında ortaya çıkabilir (32). Normal B hücre gelişimi genel olarak üç ana aşamaya ayrılır:

Pre-germinal merkez: B hücresi gelişimi kemik iliğinde gerçekleşir ve progenitor B hücresinin (pre-pro B hücresi) olgun B hücresine dönüşmesiyle sonuçlanır. Kemik iliğinden salındıktan sonra, antijeni olmayan olgun B hücreleri, lenf düğümleri, dalak gibi ikincil lenfoid dokuların interfoliküler alanında antijene maruz kalırlar. Bu maruziyetten sonra, çoğunluk germinal merkeze göç eder. Antijensiz olgun B hücre popülasyonunun küçük bir kısmı periferik kanda dolaşır veya birincil lenfoid foliküllerde ve foliküllerin mantle bölgelerinde bulunur. Mantle hücreli lenfoma bu aşamada oluşan hastalıklardan biridir(33).

Germinal merkez: Antijene maruz kalan olgun B hücreleri sentroblast olarak adlandırılır. Bu hücreler, foliküler dendritik hücreler arasında birincil folikülün merkezinde çoğalır ve germinal merkezin aydınlık bölgesine geçiş yaparken sentrositlere olgunlaşırlar. Germinal merkezde, B hücreleri sınıf değiştirici rekombinasyon aracılığıyla IgM'den IgG veya IgA'ya dönüşür ve antijene antikor afinitesini arttırmak için somatik hipermutasyona uğrar. Bu aşamada oluşan

hastalıklara, Burkitt lenfoma, GBC DBBHL, foliküler lenfoma, marjinal zon lenfoma örnek verilebilir (33).

Post-germinal merkez: Germinal merkezden sonra, B hücreleri ya bellek B hücreleri ya da plazma hücrelerine dönüşen plazmablastlara farklılaşır. Bu süreçte ortaya çıkabilecek hastalıklar arasında ABC DBBHL, multipl miyelom sayılabilir (33).

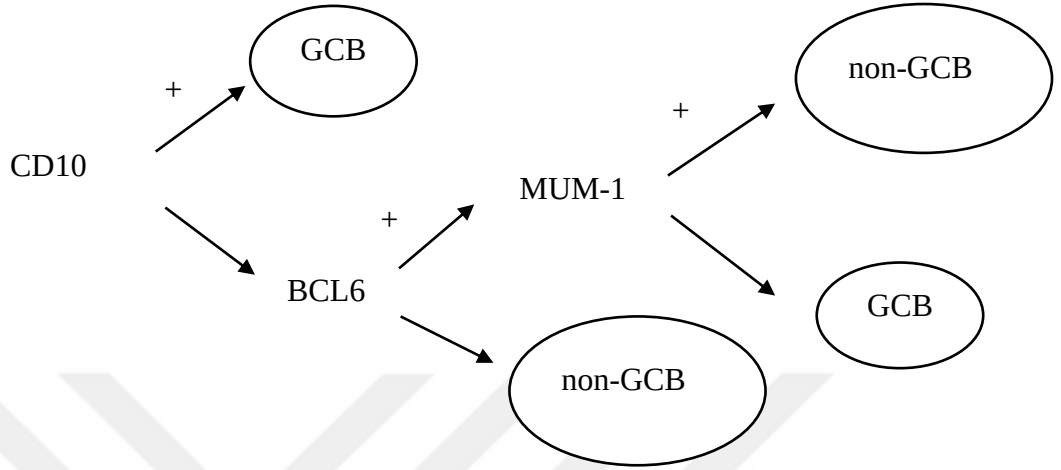
DBBHL, germinal merkez veya post-germinal merkez B hücrelerinden (aktif B hücreleri olarak da adlandırılır) kaynaklanan tümörleri içeren heterojen bir hastalıktır. Bu hücrelerin germinal merkez veya post-germinal merkez ataları, esas olarak, germinal merkez geçişinin bir belirteci olarak hizmet eden immunoglobulin genlerinin (IgVH) değişken bölgesindeki somatik mutasyonlar ile tanımlanır (34).

Patogenetik olaylar, bu iki alt grup arasında büyük farklılıklar göstermektedir. NF- κ B aktivasyonu, trizomi 3 ve MYD88, ABC lenfomalarında daha sık görülmektedir (35). Bunun dışında ABC-DBBHL patogenezinde MYC, BCL2, MUM1, CD44, FLIP, siklin D2 ve diğer birçok gen rol almaktadır. ABC-DBBHL'deki NF- κ B aktivasyonunun bu gen dizisinin ekspresyonunu uyardığına ve ABC fenotipine katkıda bulunduğuna inanılmaktadır (36). ABC lenfomalarında NF- κ B aktivasyonunun B-hücre reseptörü (BCR) yolağının aktifleşmesi ile oluştuğu gösterilmiştir (37). Spesifik olarak BCR yolağını hedefleyen tedaviler, bu tip DBBHL'de başarıyla kullanılmaktadır (38).

GCB tipi lenfomaların patogenezi ise daha az tanımlanmıştır (39). Bu lenfomalarda t(14;18) (q32;q21)/IGH-BCL2 yaygın görülmektedir. Aynı zamanda GCB alt grubu yüksek BCL6, ABC alt grubu ise daha düşük BCL6 seviyelerine sahiptir (40). Patogenetik farklılıklar nedeniyle GCB DBBHL'li hastalar, standart R-CHOP immünokemoterapisine daha iyi yanıt vermektedir ve ABC DBBHL'li hastalara kıyasla daha iyi bir prognoza sahiptir (41).

DBBHL hastalarında gen ekspresyon profili teknolojisi prognostik açıdan önemli olsa da klinik açıdan uygulanması zordur. Bu nedenle DBBHL tanısı için daha ucuz, kolay ve uygulanabilir olan immunhistokimyasal yöntemler ile CD10, BCL6, IRF-4/MUM-1 ekspresyon paternlerine dayanan Hans algoritması

geliştirilmiştir (42).



Şekil 1. Hans algoritması (42)

GCB ve ABC alt tiplerine ek olarak, MYC, BCL2 ve/veya BCL6 proteinlerini aşırı eksprese etmelerine göre çift / üçlü vuruşlu lenfomalar (DHL/THL) ve/veya çift / üçlü eksprese edici lenfomalar (DEL/TEL) görülmektedir. Bunlar agresif DBBHL'lerdir ve kötü prognozludurlar (43,44). DHL/THL, MYC aşırı ekspresyonu ile sonuçlanan DBBHL'ların %5-10'unu oluşturmaktadır (45).

Moleküler karakterizasyon tekniklerindeki ilerlemeler ve DBBHL'nin spesifik alt tiplerini hedefleyen yeni ajanların geliştirilmesi, moleküler alt tipe dayalı kişiselleştirilmiş DBBHL tedavisi için bir temel sağlamıştır. Yeni hedefe yönelik ajanların standart kemoterapi (R-CHOP) ile kombinasyonlarını değerlendiren bir dizi erken klinik çalışma tamamlanmıştır. Bu nedenle, DBBHL'nin moleküler sınıflandırması yalnızca prognoz için önemli değildir, aynı zamanda DBBHL tedavisinin kişiselleştirilmesi için de önem teşkil etmektedir (43).

2.7.1. MYC arttırıcı düzenlenmesi

Son otuz yılda c-MYC 'nin tüm insan genlerinin %10-15'ini düzenleyen temel bir global transkripsiyon faktörü olduğu gösterilmiştir (46). c-MYC, hücre döngüsü,

hücre büyümesi, hücresel metabolizma ve biyosentez, adhezyon ve mitokondriyal fonksiyon dahil olmak üzere çeşitli hücresel fonksiyonları kontrol eder. İnsan hücrelerindeki merkezi rolü nedeniyle c-MYC, hem transkripsiyonel hem de translasyonel seviyelerde sıkı bir şekilde düzenlenir (47).

8q24 kromozomunda yer alan proto-onkogen c-MYC, ilk olarak Burkitt lenfomada olmak üzere, lenfomalarda tanımlanan ilk tekrarlayan translokasyondur. Daha sonra, MYC'nin, DLBCL dahil olmak üzere birçok B hücreli lenfoma tipinde olabileceği gösterildi (8). MYC nadiren foliküler lenfoma, kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma ve mantle hücreli lenfoma gibi diğer küçük B hücreli lenfomalarda da görülebilmektedir (48).

MYC, hücre döngüsü üzerine etkilerine paradoksal, aşırı eksprese olduğunda genomik dengesizliğe neden olarak, tümör baskılayıcı P53 ve pro-apoptotik protein BIM ekspresyonunu arttırmak suretiyle apoptozisu başlatmaktadır (49). P53'ü inaktive etmek veya BIM'i nötralize eden anti-apoptotik protein BCL2'yi aşırı eksprese etmek, MYC'nin neden olduğu apoptozisden kaçınmak için lenfoma hücreleri tarafından kullanılan iki etkili mekanizmadır (50). MYC mutasyonları BIM aktivasyonunu önleyerek proapoptotik fonksiyonu azaltır ve P53 aktivasyonunun yokluğunda lenfoma ilerlemesini kolaylaştırarak daha agresif lenfomalara yol açarlar (49).

2.7.2. BCL2 aktivasyonu

Proto-onkogen BCL2 insan foliküler lenfomasından sorumlu t(14;18) kromozomal translokasyonunun klonlanmasıyla keşfedildi (51). Bu translokasyon foliküler lenfomada yaygındır, ancak DBBHL'de yaklaşık %30 oranında, özellikle de GCB DBBHL'de görülür (9). t(14;18) keşfi sonrasında hücre ölümü düzenleyicilerinin BCL2 ailesinin diğer üyeleri tanımlanmış ve bunların hücre ölümü, normal lenfoid gelişim ve lenfoid neoplazideki rolleri karakterize edilmiştir. BCL2 ailesi üyeleri, tümörün oluşumu, ilerlemesi ve kemoterapiye yanıtta önemlidir ve çeşitli üyelerin değişen ekspresyon seviyeleri, birçok lenfoid malignitede prognostik belirteçler olarak hizmet eder (51).

BCL2, apoptozisi bloke ederek uzun süreli hücre sağkalımına yol açan bir onkogendir (9). DBBHL'de BCL2 protein aşırı ekspresyonu, kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (52).

Daha sık ABC DBBHL'lerde gözlenen diğer BCL2 deregülasyon mekanizmaları, BCL2 geninin amplifikasyonunu veya nükleer faktör- κ B yolunun yapısal aktivasyonu yoluyla transkripsiyonel upregülasyonunu içerir (53).

Saito ve arkadaşları tarafından, BCL2 promotörünün DBBHL'de anormal bir şekilde hipermutasyona uğrayabileceği ve bunun MIZ1 ve BCL6 tarafından inhibisyonunu önleyebileceği bildirilmiştir. Bunların dışında da BCL2'de çok sayıda mutasyon bulunmuş ve açıklanan mutasyonların somatik hipermutasyonun (SHM) sonucu olduğunu öne sürülmüştür (54).

2.8. Prognoz

Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) ve varyantları, DBBHL'li hastalarda kullanılan ana prognostik değerlendirmelerdir (21).

IPI, doksorubisin içeren kemoterapi rejimleri ile tedaviyi takiben agresif NHL'li hastalarda sağkalımı öngören tedavi öncesi özellikleri değerlendirmek için geliştirilmiştir (4). Genel sağkalımın yaş, LDH, ECOG, klinik evre ve ektranodal bölge tutulumunun varlığı ile önemli ölçüde ilişkili olduğu saptanmıştır. IPI skarlama sistemi ve sağkalım ile ilişkisi tablo 3 ve 4'de verilmiştir (21,55).

Tablo 3. IPI skarlama sistemi(21)

Özellik	Risk Faktörleri	Puan
Yaş	>60	1
Klinik evre	Evre III-IV	1
LDH düzeyi	Normalin üzerinde	1
ECOG (PS)	≥ 2	1
Ekstranodal tutulum	>1	1

Tablo 4. IPI'ye göre prognostik değerlendirme (55)

Risk grubu	Olumsuz IPI faktörü sayısı	Hastaları (%)	4 yıllık OS(%)
Düşük	0-1	28	86
Düşük-orta	2	27	81
Yüksek-orta	3	21	54
Yüksek	4-5	24	58

2.9. Tedavi

CHOP kemoterapi protokolü ilk kez 1976 yılında uygulamaya girmiştir (56). Tedaviye CD20 monoklonal antikoru olan rituksimab eklendikten sonra genel ve progresyonsuz sağkalımın belirgin olarak arttığı gözlemlenmiştir (57).

Erken evre DBBHL'da (evre I-II) 3 kür R-CHOP ve tutulum olan alana radyoterapi (RT) verilebilir veya kemoterapi 6-8 küre tamamlanabilir. Her iki tedavinin etkisi benzerdir (58). Kitleli hastalıkta ise 6-8 kür R-CHOP ve/veya RT uygulanmalıdır. İleri evre hastalıkta (evre III-IV) 6-8 kür R-CHOP verilmesi önerilmektedir (57).

Komorbiditesi olan veya 75 yaş üstü hastalarda azaltılmış dozda R-CHOP veya R-COP uygulanabilir (59).

Komorbiditesi olmayan ve 70 yaş altı relaps / refrakter hastalıkta 3 kür DHAP, ICE, GDP gibi kemoterapi rejimleri ve ardından otolog kök hücre nakli yapılabilir (16,60)

Tedaviye yanıtı olmayan veya refrakter olgularda palyatif RT ve destek tedavileri uygulanmaktadır. Aynı zamanda bu hastalar klinik çalışmalara da yönlendirilebilir. (13).

Testis tutulumu olan DBBHL hastalarında SSS tutulumu sık görüldüğünden SSS profilaksisi önerilmektedir (61). Paranasal sinüs, testis, epidural, kemik iliği tutulumları, HIV pozitifliği, ≥ 2 ektranodal tutulum ve yüksek LDH seviyeleri olan hastalarda SSS tutulum riski yüksektir (62).

Tedavi tamamlandıktan sonra ilk 2 yıl 3 ayda bir, sonraki 3 yıl 6 ayda bir, sonrasında yılda bir izlem yapılmalıdır. Hastanın tedavi sonrası bulgularına dayalı olarak öykü, fizik muayene, laboratuvar testleri ve gerekirse görüntüleme yapılır (63).

2.10. Apoptozis

Apoptozis, programlı hücre ölümüdür. Tüm çok hücreli organizmalar için hücre proliferasyonunun kontrolünü sağlamak ve doku homeostazını korumak, zararlı veya gereksiz hücreleri ortadan kaldırmak için önemli olan bir mekanizmadır (5). Apoptozisin mekanizmasının anlaşılması, birçok hastalığın patogenezinde rol oynaması dolayısıyla önemlidir. Dejeneratif hastalıklar gibi bazı hastalıklarda sorun, çok fazla apoptozis iken, diğer başka hastalıklarda çok az apoptozisin mevcut olması olabilir (64).

Apoptozis genellikle kaspazlar (sisteinil, aspartat spesifik proteazlar) olarak bilinen proteaz ailesi tarafından yönetilir (6). Kaspazlar, hücre ölümünün hem başlatıcıları hem de yürütücüleri oldukları için apoptozis mekanizmasının merkezinde yer alırlar (7).

2.10.1.P53 ve Apoptozis

DLBCL'nin yaklaşık %20'sinde TP53 tümör baskılayıcı genin mutasyonları veya delesyonları görülmektedir (10). TP53 ekspresyonunun azaltıcı düzenlemesi veya mutant P53 proteininin ekspresyonu, bu genin büyümeyi sınırlayıcı etkisinin kaybı ile sonuçlanır (65). TP53 geni tarafından kodlanan tümör baskılayıcı P53,

kanserde en yaygın mutasyona uğramış gendir ve insan kanserlerinin %50 ila %55'inde wild tip P53 aktivitesinin kaybı görülmektedir (66).

DNA hasarının varlığı, onkogen aktivasyonu ve hipoksi gibi stres durumları, P53 proteinini stabilize eder ve post-translasyonel modifikasyonlarla P53 seviyesini indükler. Aktive edilmiş P53, apoptozise ve çeşitli tepkilere neden olur, böylece tümör gelişimine karşı önemli bir bariyer oluşturur (67).

Çoğu P53 mutasyonları, P53'ün inaktivasyonu veya işlev bozukluğu ile sonuçlanmasına rağmen, P53'teki bazı mutasyonlar, hücre döngüsü durmasını indükleme yeteneğini korurken, apoptotik fonksiyonların seçici kaybına yol açar (68). P53'teki somatik mutasyonlar kanserlerde yaygın görülmekte ve kötü prognoz ve kemoterapiye düşük yanıt ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (69).

2.10.2. PUMA ve Apoptozis

PUMA (P53 upregulated modulator of apoptosis), BCL2 ailesinin tek subgrubu olan BH3'ün (BCL2 homoloji 3) proapoptotik bir üyesidir (70). Genotoksik stres, düzensiz onkogen ekspresyonu, toksinler, değiştirilmiş redoks durumu, büyüme faktörü/sitokin çekilmesi ve enfeksiyon dahil olmak üzere çok çeşitli uyarıların neden olduğu P53'e bağımlı ve bağımsız apoptozisa aracılık etmektedir. PUMA P53'ün tüm proapoptotik aktivitelere katkıda bulunur (11). PUMA geni, çok sayıda insan kanserinde sıklıkla silinen bir bölge olan kromozom 19'un uzun kolunda yerleşmiştir (71).

PUMA, ölüm sinyallerini öncelikle mitokondriye iletir, burada antiapoptotik üyeler tarafından indüklenen inhibisyonu hafifleterek BCL2 ailesi üyeleri Bax ve/veya Bak üzerinde dolaylı olarak etki eder. Mitokondriyal disfonksiyon ve kaspaz aktivasyonunu indüklemek için bilinen tüm antiapoptotik BCL2 ailesi üyelerini doğrudan bağlar ve antagonize eder (11). PUMA, P53'ün tüm proapoptotik aktivitelere katkı sağlar (72). Sitoplazmik P53'ün antiapoptotik Bcl-XL'den ayrılmasını sağlar, P53'ün proapoptotik Bax'ı aktive etmesine ve mitokondri dış membran permeabilitesini arttırmakla apoptozisi gerçekleştirmesine yardımcı olur (11).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta seçimi

Retrospektif olarak yaptığımız çalışmaya 2005-2019 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Hematoloji kliniğine başvuran DBBHL tanısı alan hastalar dahil edildi. DBBHL hastaları içinden immunhistokimyasal olarak BCL2 boyanmış preparatları olanlar ile takipleri KTÜ Farabi Hastanesi Hematoloji Bölümü tarafından yapılan 100 hasta seçildi. Bu hastalar arasından patoloji preparatları tekrar boyama için uygun olan 46 DBBHL hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışma protokolü Karadeniz Teknik Üniversitesi Etik Kurulunca onaylandıktan sonra başlatıldı (04.10.2019 tarih ve 24237859-678 sayılı dosya numarası ile).

3.2. Çalışma protokolü

Çalışmaya dahil etme kriterlerine uyan 46 hastanın tanı anındaki klinik ve laboratuvar bulgularına hastane elektronik kayıtlarından, geriye dönük olarak ulaşıldı. Hastaların tanı anındaki preparatları patoloji bölümünden elde edildi. Her bir patoloji preparatı immunohistokimyasal olarak P53 ve PUMA ile boyandı.

3.3. DBBHL hastalarının klinik ve laboratuvar değerlendirilmesi

Hastaların klinik bilgilerine hastaneye başvuru anında oluşturulan anamnezlerden ulaşıldı. Laboratuvar verilerine, Karadeniz Teknik Üniversitesinde kullanılan Hastane Bilgi Yönetim Sisteminden, Oracle veri tabanı sistemi aracılığıyla ulaşıldı.

Hastaların geliş anındaki performans durumları ECOG'a göre hesaplandı. Tanı anındaki ECOG skoru Tablo 5'deki kriterlere göre yapıldı ve kayıt edildi (73).

Tablo 5. ECOG değerlendirmesi (75)

Derece	Tanımı
0	Tamamen aktif ve performans kısıtlaması yok
1	Yorucu fiziksel aktivite kısıtlanmış, fakat hasta tamamen ayakta ve hafif işleri yapabilmekte
2	Kendi kendine bakabilir fakat herhangi bir aktif iş faaliyetinde bulunamaz. Ayakta olduğu saatler uyanık olduğu zamanın yaklaşık %50'sinden fazla
3	Yalnızca sınırlı özbakım yapabilmekte. Uyumadığı saatlerinin >%50'si yatak veya sandalye ile sınırlı
4	Herhangi bir kişisel bakım gerçekleştiremez; tamamen yatak veya sandalyeye bağımlı
5	Ölüm

Karadeniz Teknik Üniversitesi veri tabanında bulunan BT veya PET/BT raporlarına ulaşıldı. Hastalık evrelemeleri revize Ann Arbor evreleme sistemine göre erken evre (I, II) ve ileri evre (III, IV) olarak sınıflandırıldı.

Hastaların tanı anındaki LDH değeri, yaş, ektranodal tutulum, hastalık evresi ve ECOG skoru kullanılarak IPI prognostik değerlendirme yapıldı.

Tanı konulduktan sonra yaş, hastalık evresi, komorbid hastalık, relaps ve refrakter hastalık durumlarına göre R-CHOP, mini CHOP, R-CEOP, R-DHAP, R-ICE tedavileri verilen hastalar R-CHOP ve R-CHOP dışı tedavi alanlar olarak sınıflandırıldı. Aynı zamanda hastalar RT alanlar ve almayanlar, OKHN olanlar ve olmayanlar olarak da ayrıldı.

Tedavi sonrası çekilen BT ve PET/BT değerlendirilerek hastaların tedaviye yanıt durumları tam yanıt, parsiyel yanıt, yanıtsız ve progresyon olarak belirlendi. Hastalarda yanıt değerlendirmesi için Lugano kriterleri kullanıldı (Tablo 6) (74).

Tablo 6.Lugano gözden geçirilmiş yanıt ölçütleri

Yanıt	
Tam yanıt	Lenf düğümleri veya lenf düğümü kitlelerinin transfers çapının en uzun ölçümü (LDİ) 1.5 cm'den küçük olmalı Lenf nodu dışı alanda hastalık ve ölçülmemiş lezyon olmamalı Organ boyutu normale dönmeli ve yeni gelişen lezyon olmamalı Kemik iliğinde infiltrasyon olmamalı
Parsiyel yanıt	6 adet ölçülebilen lenf düğümü ve lenf düğümü dışı bölgenin dikey çapları toplamının (SPD) $\geq$ %50 küçülme olmalı Ölçülmemiş lezyonlar olmamalı ya da küçülme olmalı Dalak boyutu normalden büyük olmakla birlikte %50'den fazla küçülme olmalı Yeni lezyon olmamalı
Stabil hastalık	6 adet ölçülebilir lenf düğümü ve lenf düğümü dışı bölgenin SPD < %50 küçülme olmalı Ölçülmemiş lezyonlarda progresif hastalık kriterleri olmamalı Organ tutulumunda progresif hastalık kriterleri olmamalı Yeni lezyon olmamalı
Progresif hastalık	Tek lenf düğümü ve lezyon için LDİ>1.5 cm ve LDİ ve dikey çapı çarpımı (PPD) $\geq$ %50 artma olması ve LDİ ve LDİ'ye en kısa dikey çizgide (SDİ) artış olmalı ($\leq$ 2 cm lezyonlar için 0.5 cm, >2 cm lezyonlar için 1 cm) Dalak büyüklüğü durumunda dalak boyutu başlangıçtaki artışına göre >%50 olmalı, dalak büyüklüğü yoksa başlangıca göre en az 2 cm büyümeye olmalı, yeni veya devam eden dalak büyüklüğü olmalı Ölçülmemiş lezyonda yeni ortaya çıkan veya belirgin büyümeye olmalı Daha önce kaybolan lezyonlar tekrar ortaya çıkmalı Yeni gelişen>1.5 cm lenf düğümü olmalı Yeni gelişen >1cm lenf düğümü dışı lezyon olmalı Yeni veya tekrarlayan kemik iliği tutulumu olmalı

Genel sağkalım (OS) tanı anından son duruma kadar geçen süre olarak kabul edildi. Progresyonsuz sağkalım (PFS), progresyon olmayanlarda tedavi tarihinden ölüme veya son görülme tarihine kadarki süre, progresyon olanlarda tedavi tarihinden progresyona kadar geçen süre olarak belirlendi. Hastaların ölüm tarihlerine elektronik sistemden ulaşıldı.

3.4. İmmunohistokimyasal Metot

Tanısal amaçlı lenf nodu eksizyonu yapılmış ve DBBHL tanısı konulmuş 46 hastanın parafin blok halindeki lenf nodu biyopsi kesitlerine immunhistokimyasal

boyama uygulandı. 5 µm doku kesitleri hazırlandı. Kesitler önce deparafinize ve rehidrate edildi. Endojen peroksidaz aktivitesi 15 dk boyunca %80 metanol, % 0.5 hidrojen peroksit içeren solüsyonda bloke edildi. Ardından 10 mmol/L sitrat tampon (pH 6.0) ve mikrodalgada (700 W) 15 dk muamele edildi. Oda ısısında 40 dk soğumaya bırakıldı. İmmunhistokimya işlemi öncesinde fosfat tampon tuzunda (PBS) 5 dk yıkandı. Her bir kesit P53 (phospho S15) antikoru ve PUMA antikoru ile 60 dk inkübe edildi. PBS ile yıkandıktan sonra biotin işaretli sekonder antikor ve ardından streptavidin + peroksidaz uygulandı. Kesitler 3,3'diaminobenzidin ve hematoksilin ile boyandı.

Hazırlanan parafin bloklarda PUMA (cutoff değeri %30) ve P53 (cutoff değeri %50) pozitif veya negatif olarak değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel Metot

İstatistiksel analizlerde SPSS Windows version 22 programı kullanıldı. Sürekli değişkenler normal dağılım açısından histogram, Q-Q grafiği ve değişken sayısı göre Shaphiro-Wilk veya Kolmogorov-Smirnov testleri ile değerlendirildi. Sürekli değişkenlerden normal dağılım gösterenler tüm araştırma boyunca ortalama ± standart deviasyon olarak sunuldu, iki grubun karşılaştırılmasında bağımsız-değişkenler için t testi kullanıldı. Diğer sürekli değişkenler ise ortanca [çeyrekler açıklığı/inter quantile range (IQR)] değerler ile sunuldu, grupların karşılaştırılmasında parametrik olmayan Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenler ise frekans ve yüzde olarak sunuldu, grupların karşılaştırılmasında Pearson Ki-kare testi veya Fischer'in kesin olasılık testi kullanıldı.

Kaplan Meier sağ kalım analizinde Log Rank (Mantel-Cox), Breslow (Generalized Wilcoxon) ve Tarone-Ware istatistikleri kullanıldı. % 95 güven aralığında p değerinin 0.05 ve altında olduğu analizler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalında DBBHL tanısı alan ve tedavi edilen 46 hasta dahil edildi.

Hastaların %52.2'si (n=24) erkek, %47.8'i kadın (n=22) idi. Hastaların tanı anında yaş ortalaması 57.74 ± 15.9 iken, erkek ve kadın cinsiyet arasında ortalama yaş açısından anlamlı istatistiksel fark saptanmadı (p=0.953). Yıllara göre yaş dağılımı Tablo 7'de sunulmuştur.

Tablo 7.Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları (yıl)	n (%)
<40	5 (10.9)
40-60	20 (43.5)
61-75	14 (30.4)
>75	7 (15.2)

Hastaların tanı anındaki laboratuvar değerleri Tablo 8'de sunulmuştur.

Tablo 8. Hastaların tanı anında laboratuvar değerleri

Laboratuvar değerleri	Minimum	Maksimum	Ortalama
WBC	3620	31110	8265.22 ± 4221.36
Hgb	7.3	15.9	12.36 ± 1.96
Plt	32600	756000	270208.7 ± 125258.64
Lenfosit	200	8200	1819.78 ± 1320.89
Nötrofil	2200	24800	5551.96 ± 3628.88
LDH	126	1314	318.2 ± 257.45
Ürik asit	2.4	8	5.16 ± 1.43
Ca	8.1	10.6	9.48 ± 0.63
Cre	0.36	1.54	0.76 ± 0.23
ALT	4	78	20.89 ± 14.32
AST	11	162	27.78 ± 23.87
Sedimantasyon	2	120	33.07 ± 30.86
CRP	0.02	32.56	5.03 ± 6.9

*WBC: lökosit, Hgb: hemoglobin, Plt: trombosit, LDH: Laktat dehidrogenaz, Ca: Kalsiyum, Cre: Kreatinin, ALT: alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, CRP: C-reaktif protein

Tanı anındaki Lugano evreleme sistemine göre 22 hasta (47.8) evre I-II hastalığa, 24 hasta (%52.2) evre III-IV hastalığa sahipti (Tablo 9). Tutulum alanlarına göre 32 (%69.6) hastada nodal tutulum, 14 (%30.4) hastada ektranodal tutulum mevcuttu.

Tablo 9. Hastaların tanı klinik evrelerine göre dağılımı

Lugano Evre	n (%)
Evre I	13 (28.2)
Evre II	9 (19.6)
Evre III	12 (26.1)
Evre IV	12 (26.1)

On dokuz (%41.3) hastanın LDH düzeyi normalin üzerinde bulundu. Tanı anındaki ECOG performans skorları ve LDH düzeyleri Tablo 10’da sunulmuştur.

Tablo 10. Hastaların ECOG skoru ve LDH düzeyleri

ECOG skoru	n (%)
0-1	43 (93.5)
2-3	3 (6.5)
LDH düzeyi	
Normal	27 (58.7)
1-3 kat	16 (34.8)
>3 kat	3 (6.5)

Tanı anındaki IPI skorlamasına göre 32 (%69.6) hasta düşük riskli grupta, 14 (%30.4) hasta yüksek riskli grupta sınıflandırıldı (Tablo 11).

Tablo 11. Hastaların IPI skorlamasına göre dağılımı

Risk	n (%)
Düşük	16 (34.8)
Düşük-orta	16 (34.8)
Yüksek-orta	11 (23.9)
Yüksek	3 (6.5)

Hastaların 34’üne (%73.9) R-CHOP, 12’sine (%26.1) R-CHOP dışı tedavi uygulandı. Beş hastaya (%10.9) OKHN yapıldı. Hataların hiçbirine AHKHN uygulanmamıştı. Hastaların kemoterapi yanıtları Tablo 12’de, relaps durumları Tablo 13’de sunulmuştur.

Tablo 12. Hastaların tedavi sonrası yanıt değerlendirmesi

Yanıt	n (%)
Tam yanıt	32 (69.2)
Parsiyel yanıt	9 (19.6)
Progresif hastalık	2 (4.3)
Yanıtsız	3 (6.5)

Tablo 13. Hastaların relaps oranları

Relaps	n (%)
Var	9 (28)
Yok	23 (72)

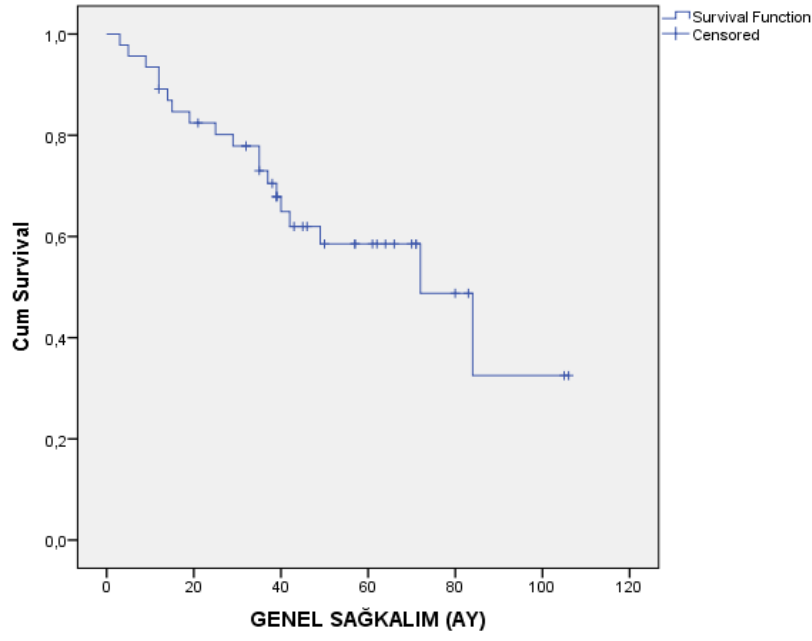
Takip sonunda 19 (%41.3) hastanın kaybedildiği, 27 (%58.7) hastanın sağ olduğu tespit edildi. Ölen hastaların 3'ü primer hastalık nedeniyle, 3 hasta hastalık dışı nedenlerden dolayı öldüğü tespit edildi. 13 hastanın ölüm sebebine ulaşılamadı.

Tanı anındaki patolojik örneklerde BCL2, BCL6, MYC, P53 ve PUMA'nın pozitiflik oranları Tablo 14'da sunulmuştur. 2 hastada (%4.3) BCL6 bilgisine, 22 hastada (%47.8) MYC bilgisine ulaşılamadı.

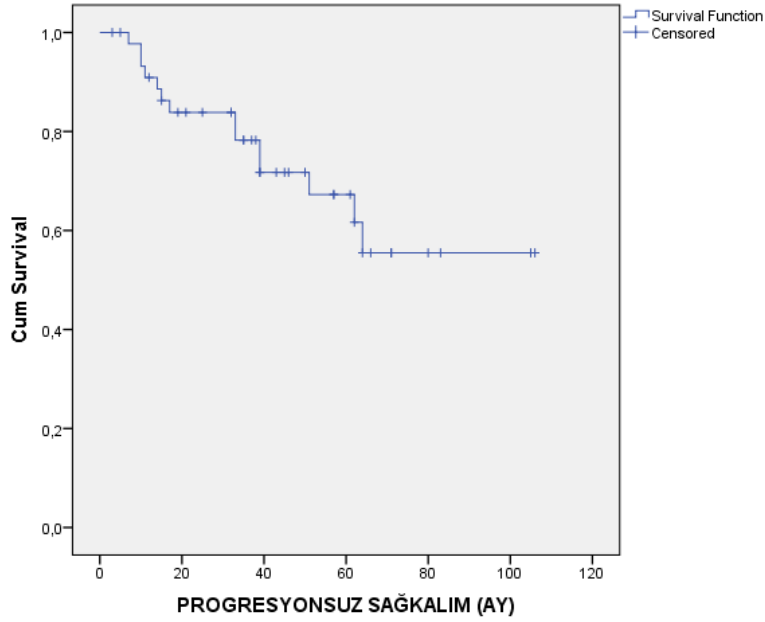
Tablo 14. PUMA, P53, BCL2, BCL6 ve MYC dağılımı

	Pozitif n (%)	Negatif n (%)
PUMA	27 (%58.7)	19 (%41.3)
P53	14 (%30.4)	32 (%69.6)
BCL2	34 (%73.9)	12 (%26.1)
BCL6	22 (%47.8)	22 (%47.8)
MYC	11 (%23.9)	13 (%28.3)

Hastaların yaşam süreleri değerlendirildiğinde genel sağkalım 66.1 ay (%95 CI, 53.2-78.9) ve progresyonsuz sağkalım 74.8 ay (%95 CI, 61.9-87.7) tespit edildi (Şekil 2, 3).

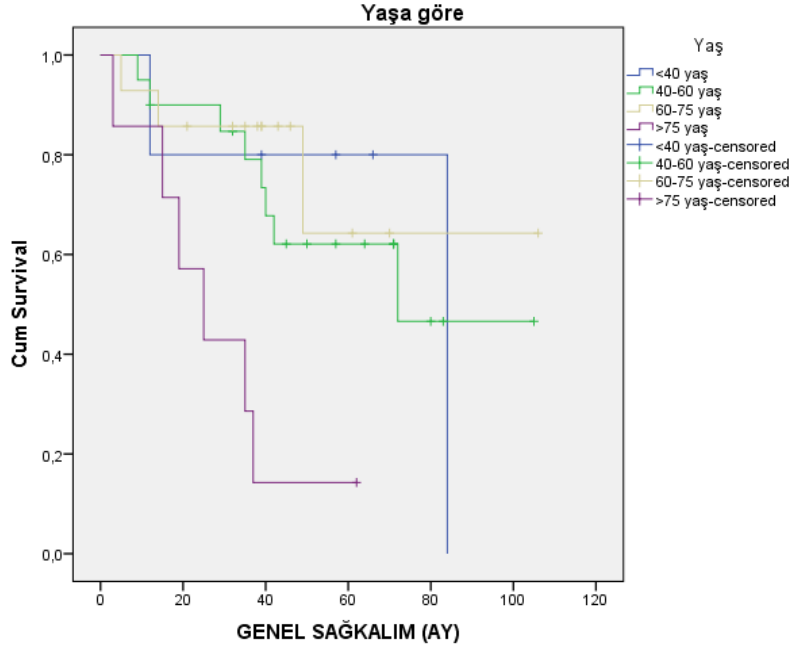


Şekil 2. Tüm olgulara genel sağkalım

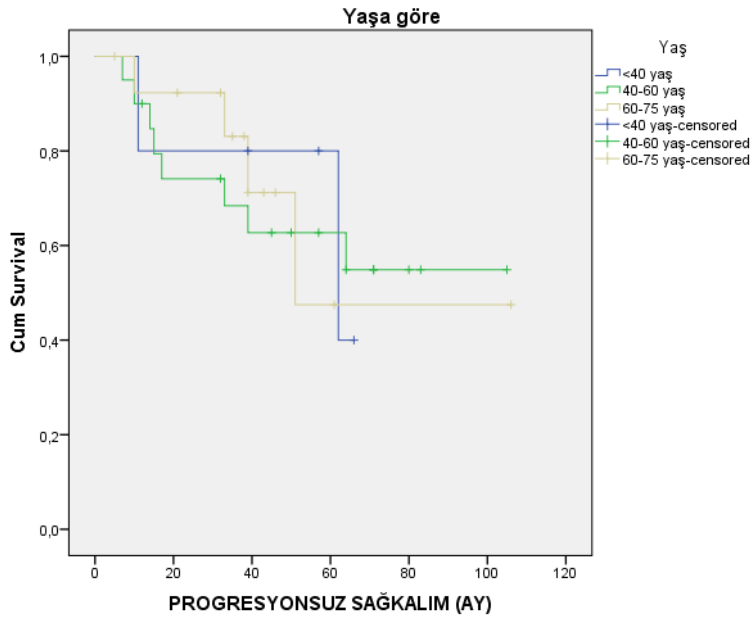


Şekil 3. Tüm olgulara progresyonsuz sağkalım

Yaş arttıkça genel sağkalım istatistiksel anlamlı oranda azalmaktaydı ($p=0.008$). Yaş progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etki göstermedi (Tablo 15, Şekil 4,5).

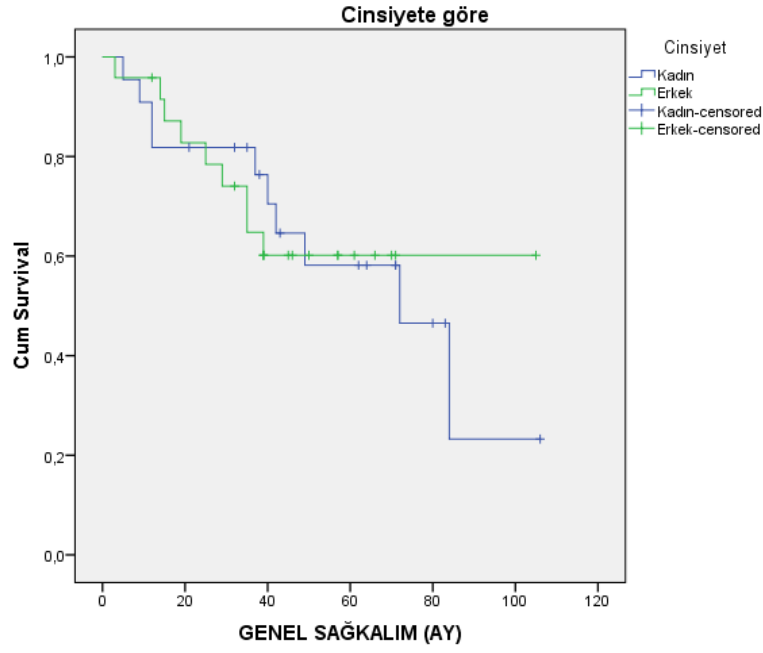


Şekil 4. Yaş gruplarına göre genel sağkalım

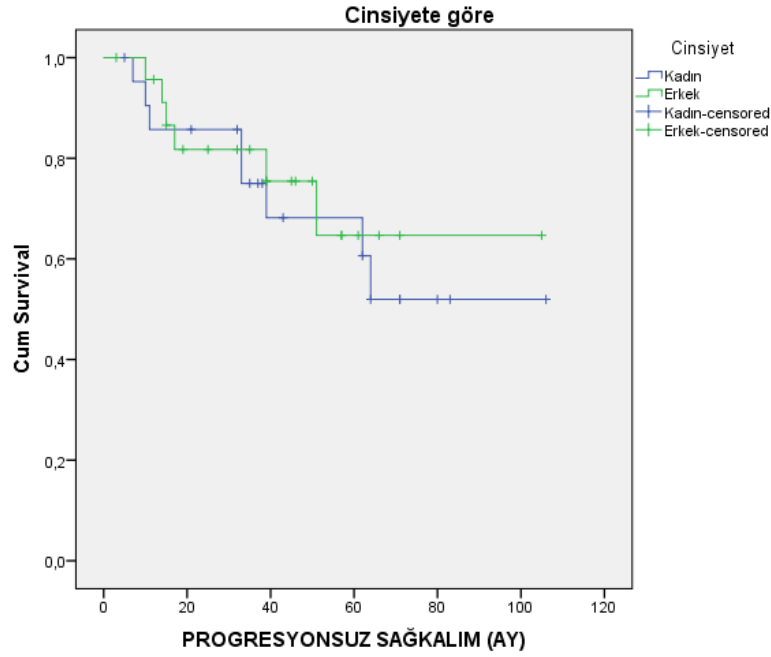


Şekil 5. Yaş gruplarına göre progresyonsuz sağkalım

Cinsiyetin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 15, Şekil 6,7).

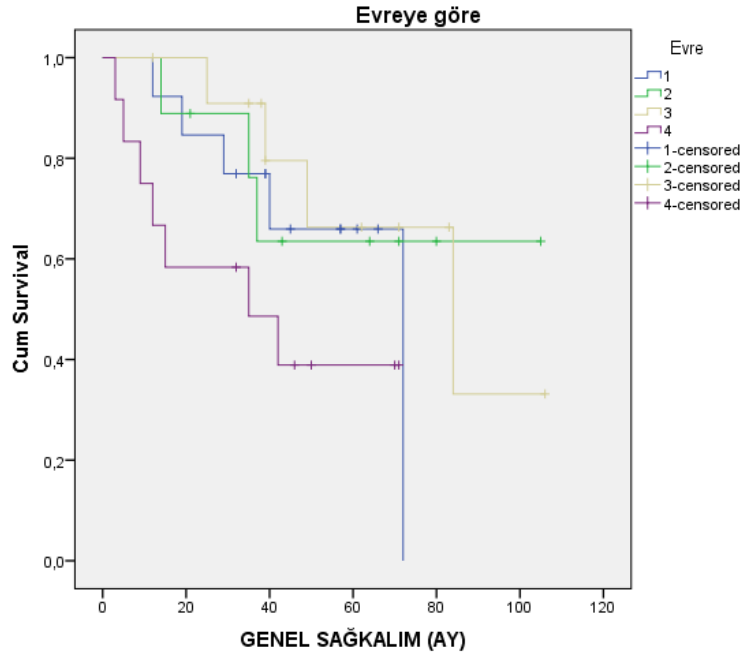


Şekil 6.Cinsiyete göre genel sağkalım

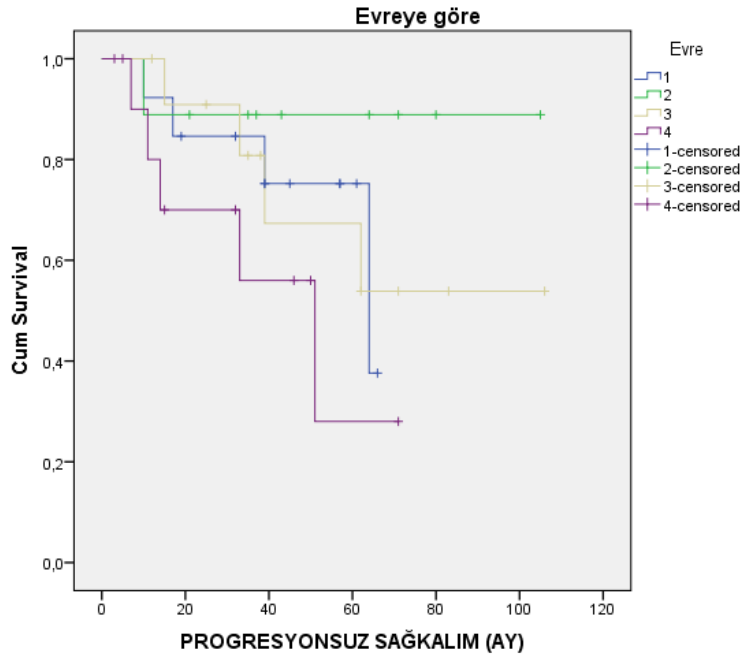


Şekil 7. Cinsiyete göre progresyonsuz sağkalım

Evrenin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 15, Şekil 8,9).

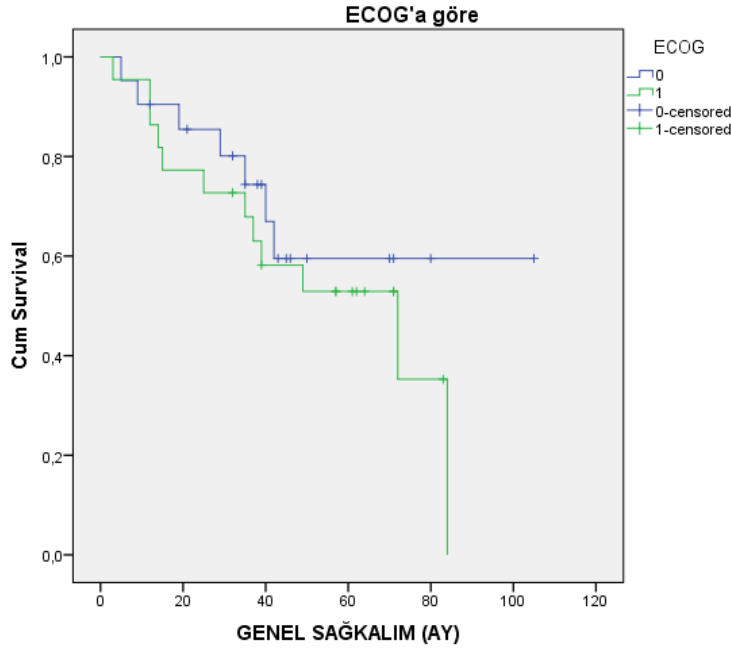


Şekil 8. Klinik evreye göre genel sağkalım

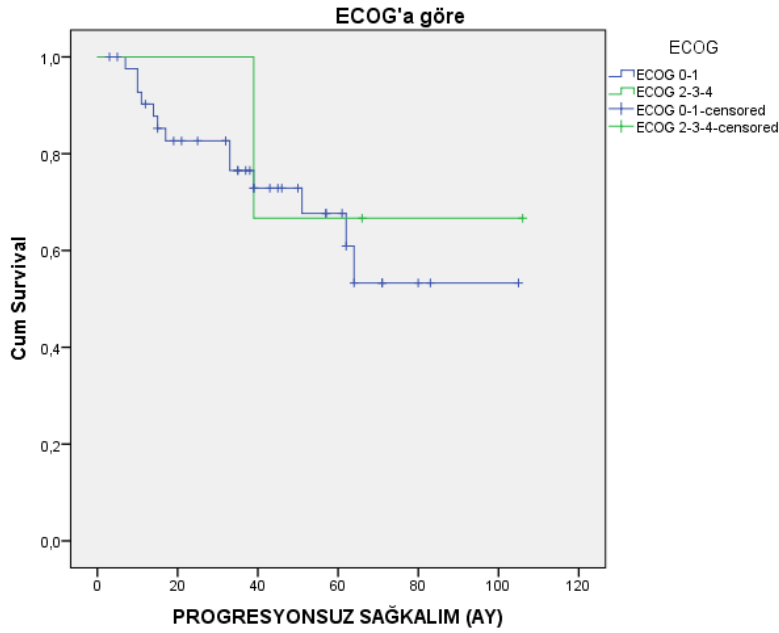


Şekil 9. Klinik evreye göre progresyonsuz sağkalım

ECOG'un genel sağkalıma etkisi incelendiğinde, ECOG 2 -3 olan sadece 3 hasta olup, bu hastalarda da mortalite izlenmediğinden Kaplan-Meier analizi yapılamadı. ECOG progresyonsuz sağkalımı anlamlı düzeyde etkilemiyordu (Tablo 15, Şekil 10,11).

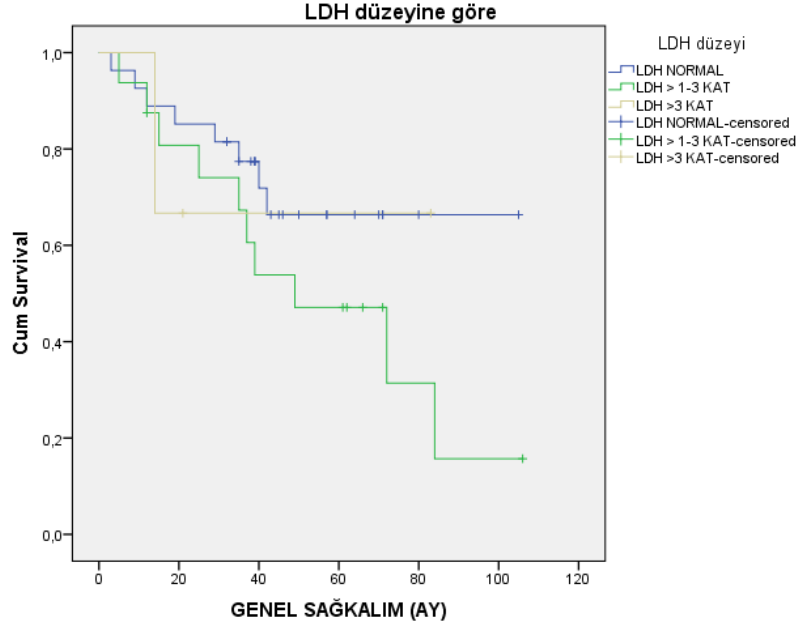


Şekil 10.ECOG'a göre genel sağkalım

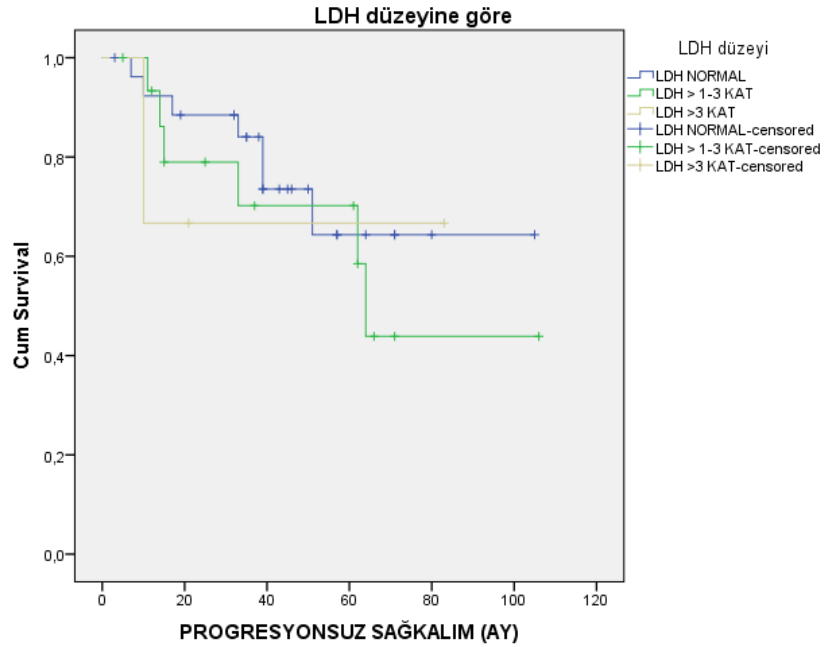


Şekil 11. ECOG'a göre progresyonsuz sağkalım

LDH düzeyinin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 15, Şekil 12,13).

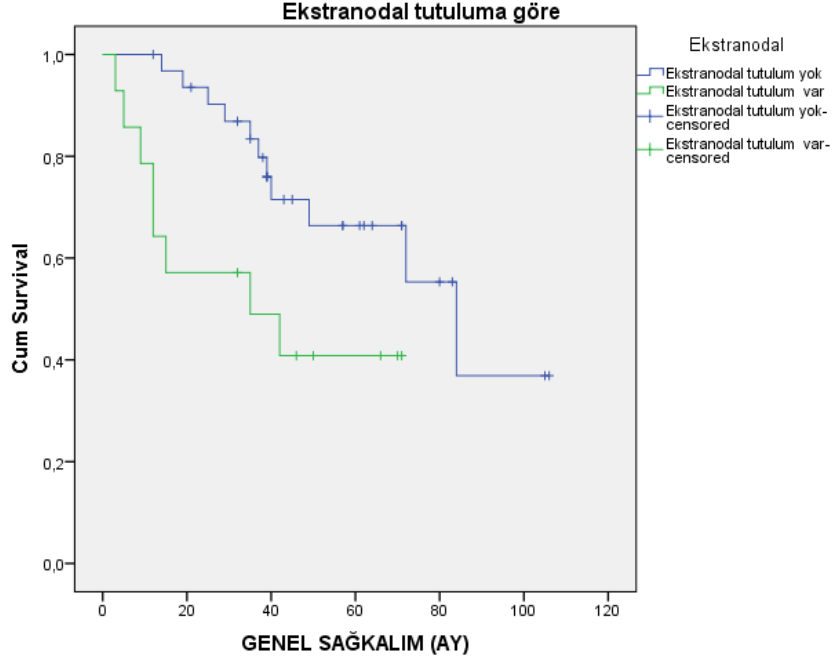


Şekil 12.LDH'a göre genel sağkalım

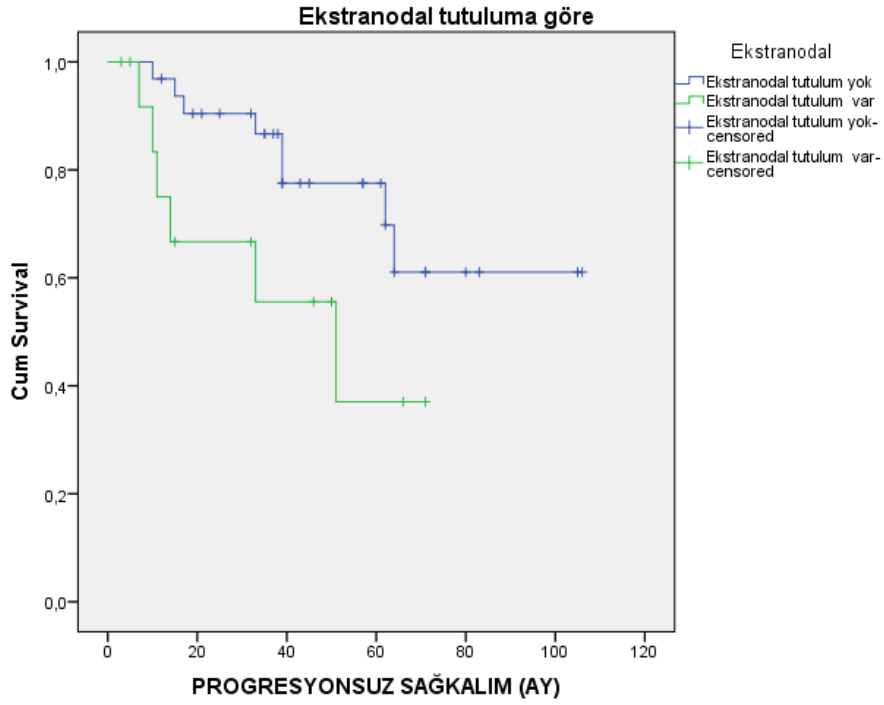


Şekil 13.LDH'a göre progresyonsuz sağkalım

Ekstranodal tutulumu olanlarda genel sağkalım istatistiksel anlamlı düzeyde daha düşüktü ($p=0.027$) (Tablo 20, Şekil 20-21). Progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 15, Şekil 14,15).



Şekil 14. Ekstranodal tutuluma göre genel sağkalım

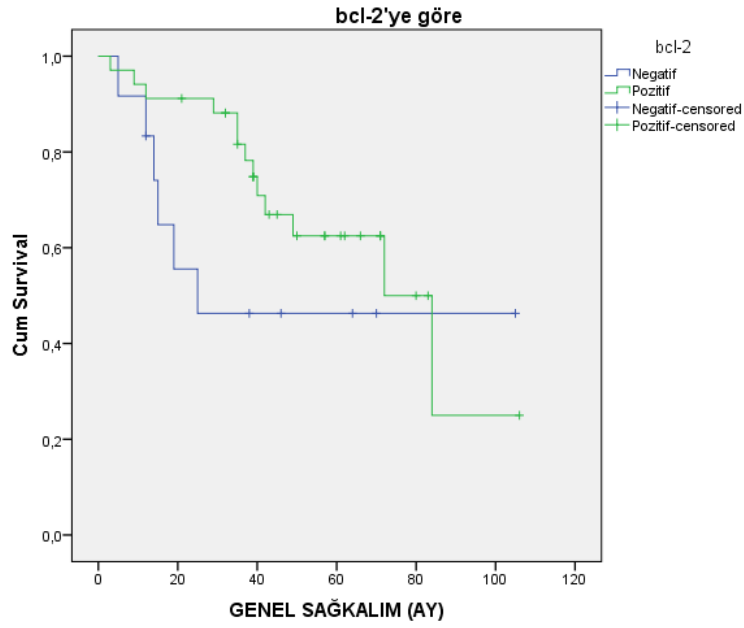


Şekil 15. Ekstranodal tutuluma göre progresyonsuz sağkalım

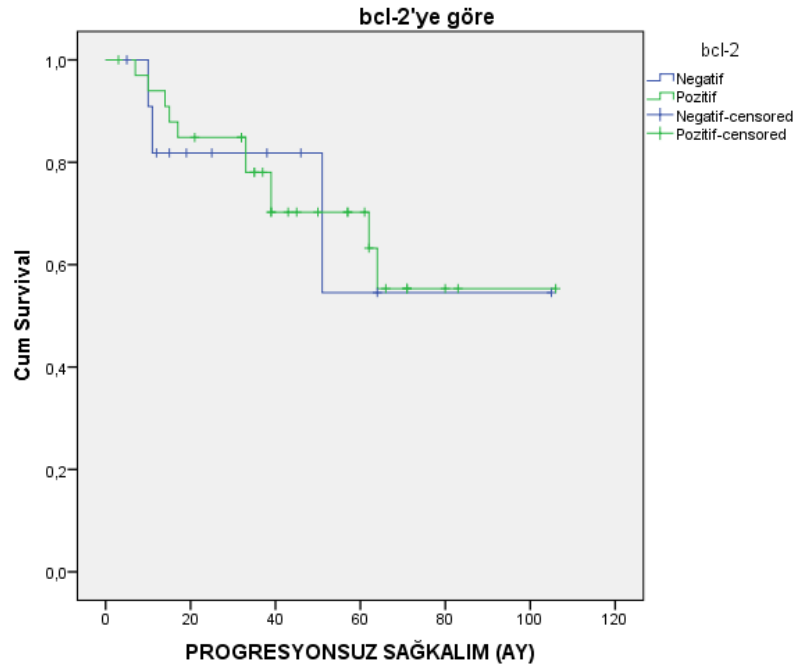
Tablo 15. Klinik özelliklerin ve prognostik faktörlerin genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkisi

Özellik		Hasta sayısı	Genel sağkalım (ay) (%95 CI)	P değeri	Progresyonsuz sağkalım (ay) (%95 CI)	P değeri
Yaş	<40	5	80 (33.8-105.3)	0.008	53.4 (34.6-72.1)	0.985
	40-60	20	71.4 (54-88.9)		70 (51.3-88.7)	
	61-75	14	69.6 (54.3-105.6)		70.8 (44.3-97.4)	
	>75	7	28 (14.9-41)		*	
Cinsiyet	Kadın	22	64.2 (47.5-81)	0.956	72.8 (55.1-90.4)	0.702
	Erkek	24	72.7 (56.2-89.3)		78,4 (60.4-96.3)	
Evre	I	13	56.4 (42.2-70.7)	0.180	54.6 (44-65.2)	0.202
	II	9	77.3 (52.1-102.5)		94.4 (74.9-113.9)	
	III	12	76.1 (55.8-96.5)		75.4 (52.2-98.5)	
	IV	12	38.7 (22.6-54.8)		41,9 (25.5-58.4)	
ECOG	0-1	43	**		73.2 (59.7-86.8)	0.682
	2-4	3			83.6 (47.9-119.4)	
LDH	Normal	27	78.2 (62.8-93.7)	0.351	79.1 (62.9-95.2)	0.760
	x1-3	16	55.6 (38-73.2)		68.8 (47.2-90.3)	
	>3 kat	3	60 (23.1-96.8)		58.6 (19.7-97.6)	
Ekstranodal tutulum	Var	14	39.2 (24.2-54.2)	0.027	42.9 (27.3-58.4)	0.052
	Yok	32	73.7 (59.8-87.6)		81.2 (67-95.4)	
* 75 yaş üstünde progrese hasta olmadığı için Kaplan-Meier analizi yapılamadı.						
** ECOG 2 ve 3 olan hastalarda mortalite izlenmediğinden ötürü Kaplan-Meier analizi yapılamadı.						

BCL2 pozitifliğinin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 16, Şekil 16,17).

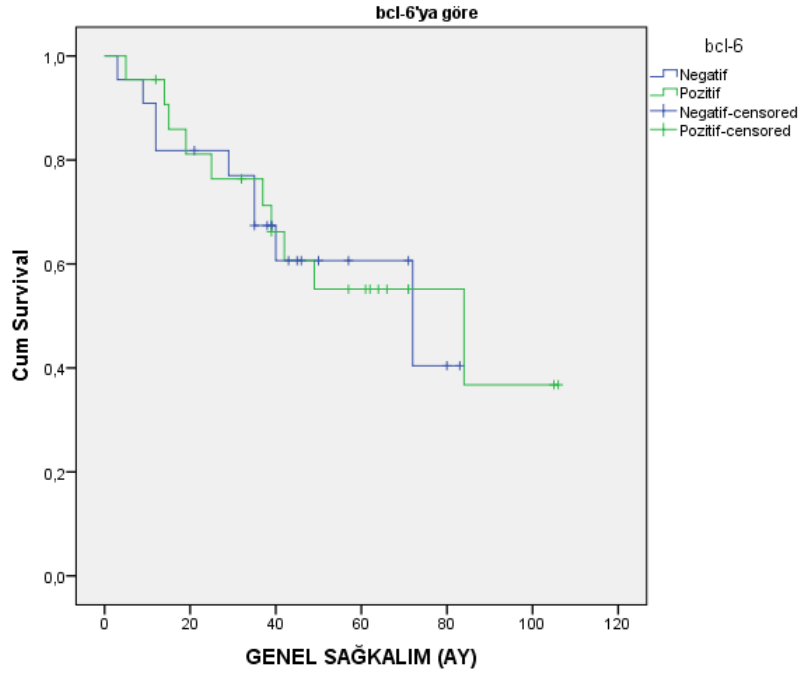


Şekil 16. BCL2'ye göre genel sağkalım

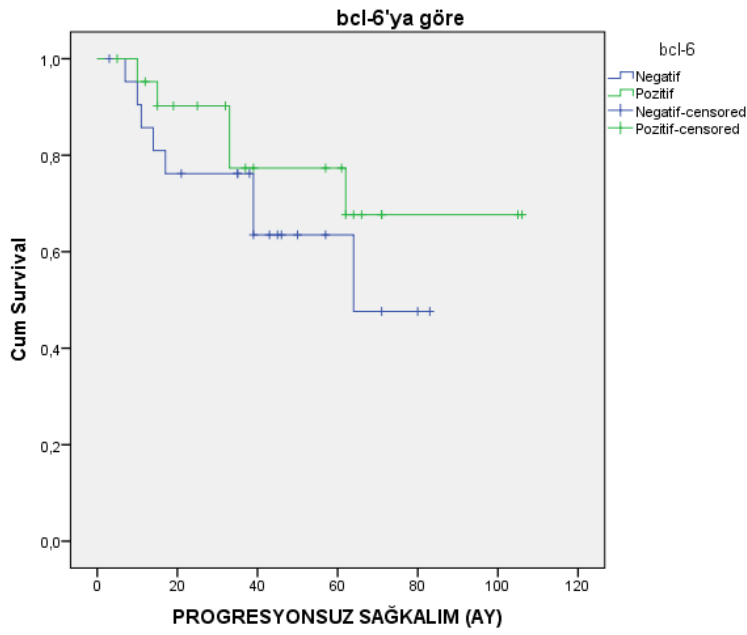


Şekil 17. BCL2'ye göre progresyonsuz sağkalım

BCL6 pozitifliğinin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 16, Şekil 18,19).

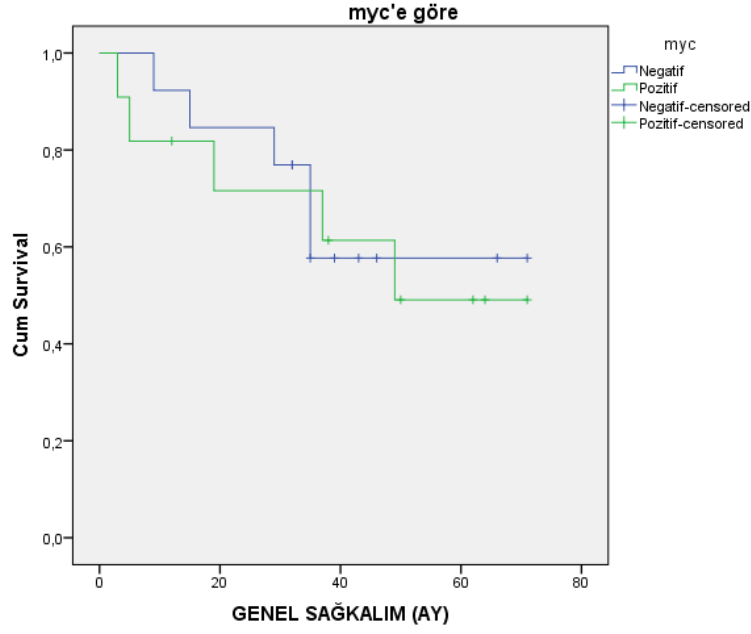


Şekil 18. BCL6'ya göre genel sağkalım

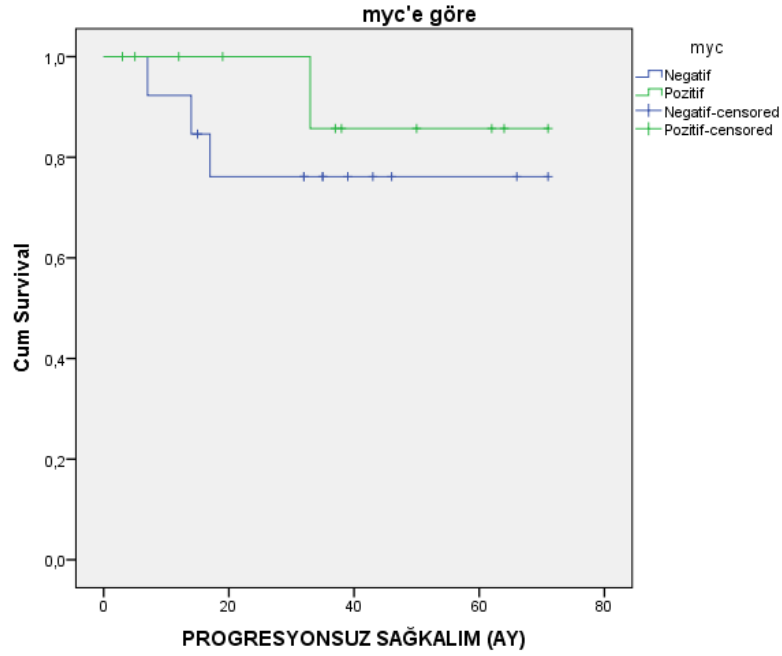


Şekil 19. BCL6'ya göre progresyonsuz sağkalım

MYC pozitifliğinin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 16, Şekil 20,21).

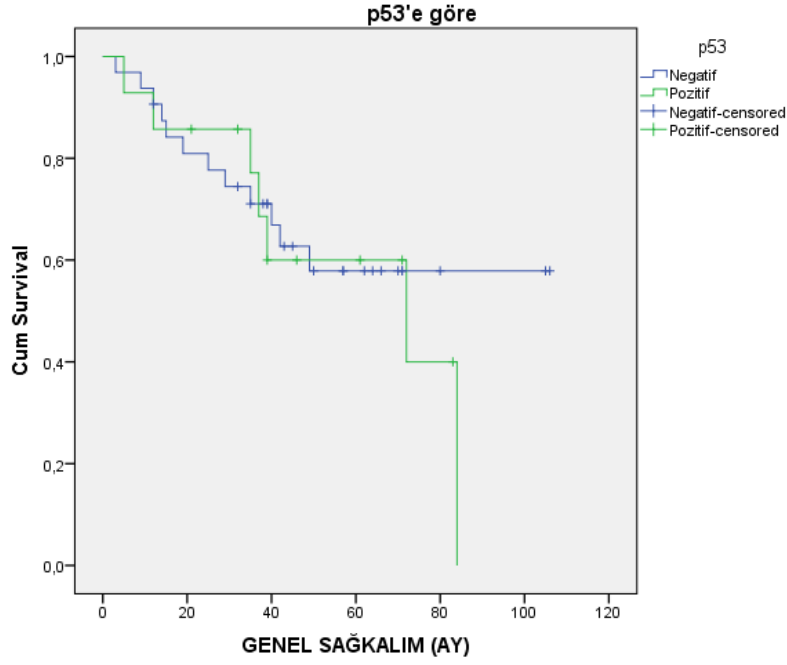


Şekil 20. MYC'ye göre genel sağkalım

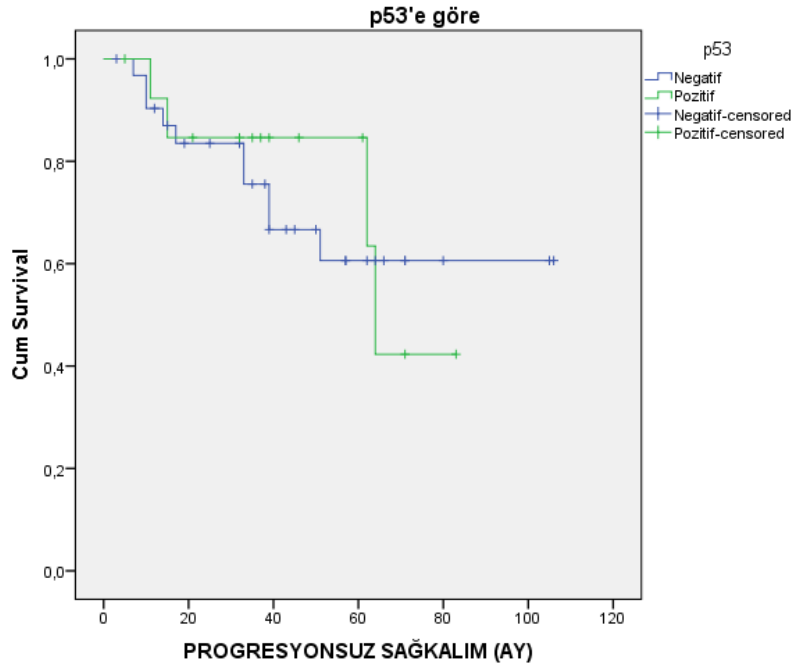


Şekil 21. MYC'ye göre progresyonsuz sağkalım

P53 pozitifliğinin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 16, Şekil 22,23).

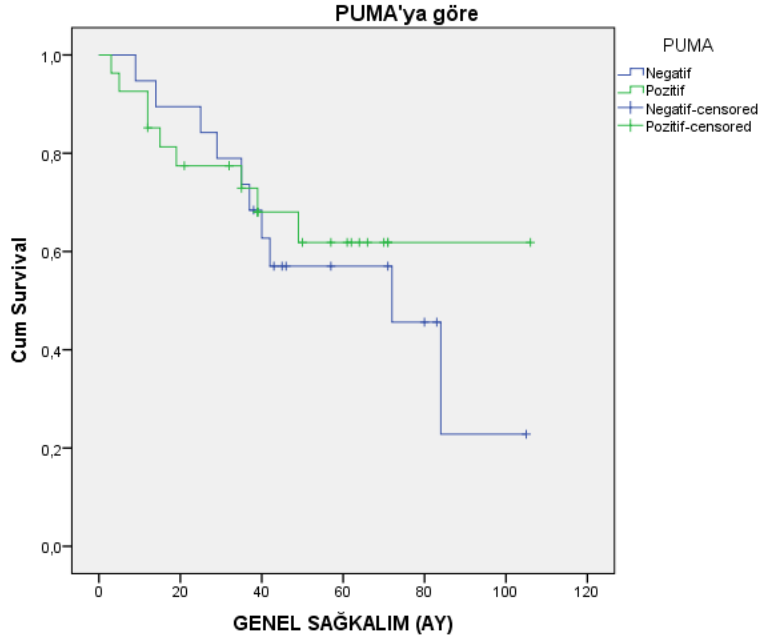


Şekil 22. P53'e göre genel sağkalım

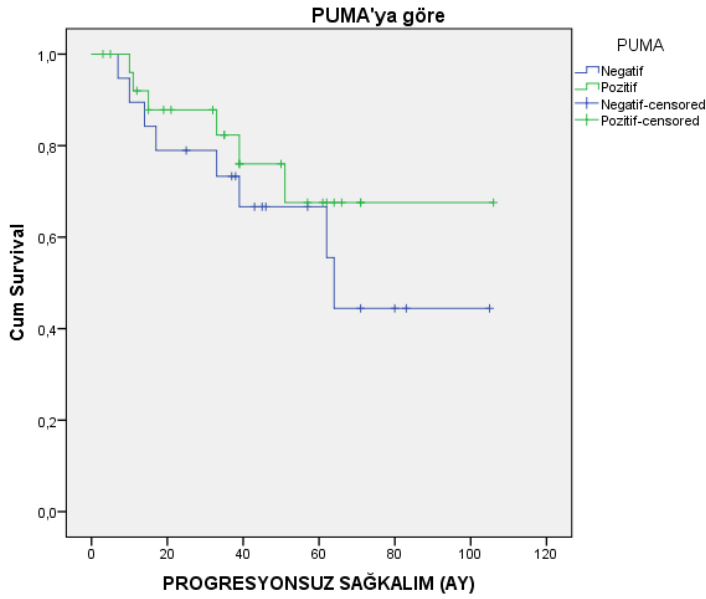


Şekil 23. P53'e göre progresyonsuz sağkalım

PUMA pozitifliğinin genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı (Tablo 16, Şekil 24,25).



Şekil 24.PUMA'ya göre genel sağkalım

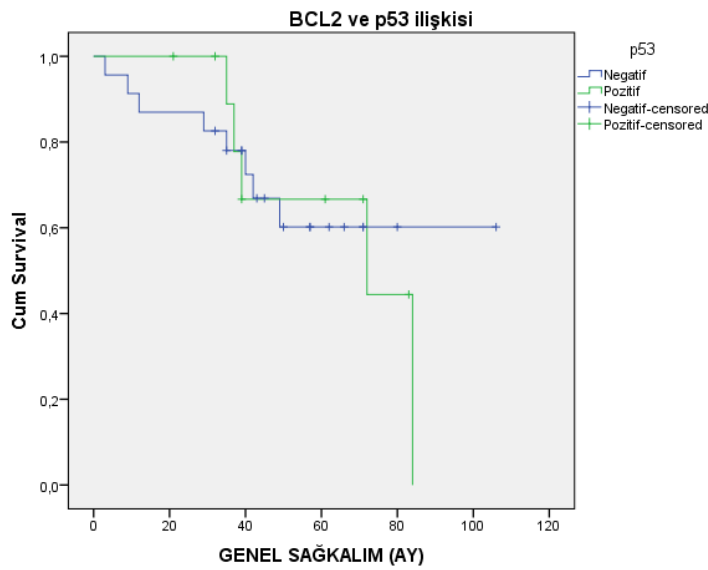


Şekil 25.PUMA'ya göre progresyonsuz sağkalım

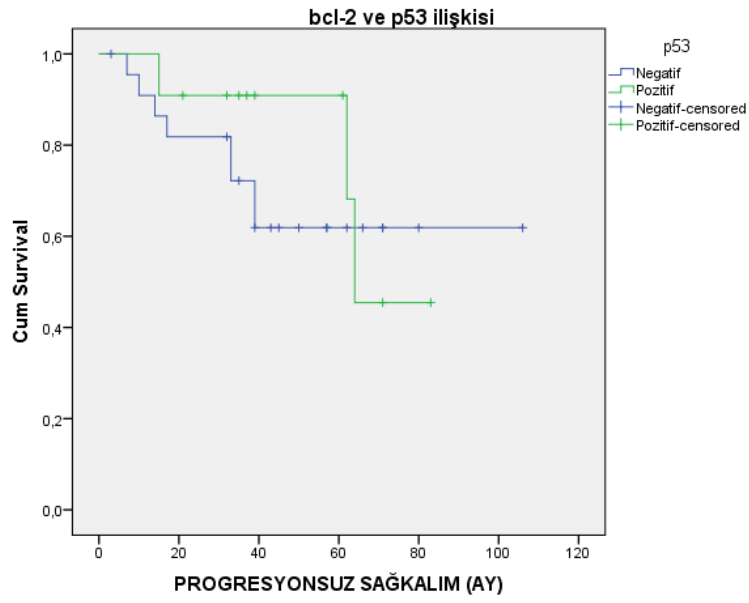
Tablo 16. BCL2, BCL6, MYC, P53 ve PUMA'nın genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım üzerine etkisi

	Sonuç	Hasta sayısı	Genel sağkalım(ay) (%95CI)	P değeri	Progresyonsuz sağkalım(ay) (%95CI)	P değeri
BCL2	Pozitif	34	68.3 (54.2-82.3)	0.219	75.2 (60.8-89.6)	0.912
	Negatif	12	56.7 (30.2-83.3)		73 (43.7-102.4)	
BCL6	Pozitif	22	67 (49.8-84.1)	0.862	83.2 (66.2-100.1)	0.320
	Negatif	22	57.2 (44.2-70.1)		57.4 (43.8-71)	
	Veri yok	2				
MYC	Pozitif	11	47.3 (31-63.5)	0.867	65.5 (55.7-75.4)	0.446
	Negatif	13	51.7 (38.4-65)		57.1 (43.3-70.8)	
	Veri yok	22				
P53	Pozitif	14	58.7 (41.9-75.4)	0.595	63.7 (49.3-78.1)	0.872
	Negatif	32	72.3 (57.4-87.2)		75,3 (60-90,5)	
PUMA	Pozitif	27	74.5 (57.9-91.1)	0.687	81.6 (65.1-98.1)	0.349
	Negatif	19	63.8 (47.6-80)		67.3 (48.8-86.4)	

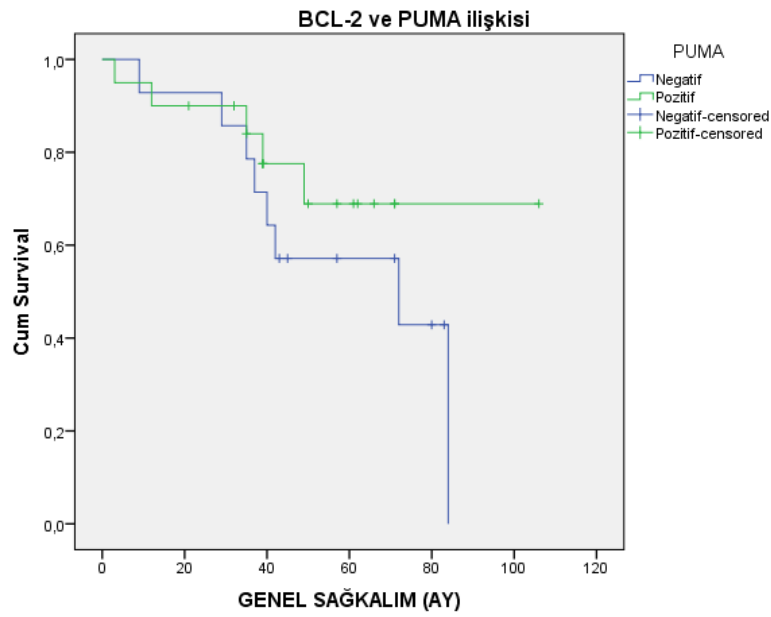
BCL2 pozitif olan hastalarda P53 ve PUMA'nın genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi izlenmedi (Tablo 17, Şekil 26-29).



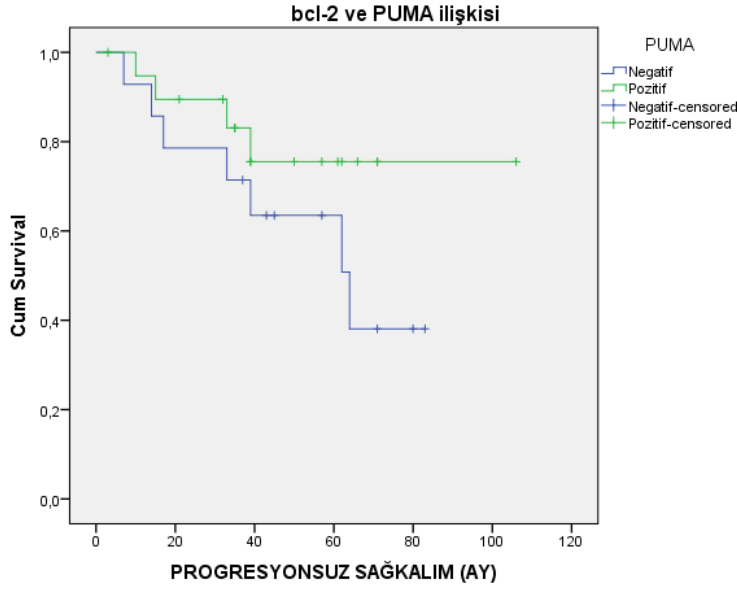
Şekil 26. BCL2 pozitif hastalarda P53'e göre genel sağkalım



Şekil 27. BCL2 pozitif hastalarda P53'e göre progresyonsuz sağkalım

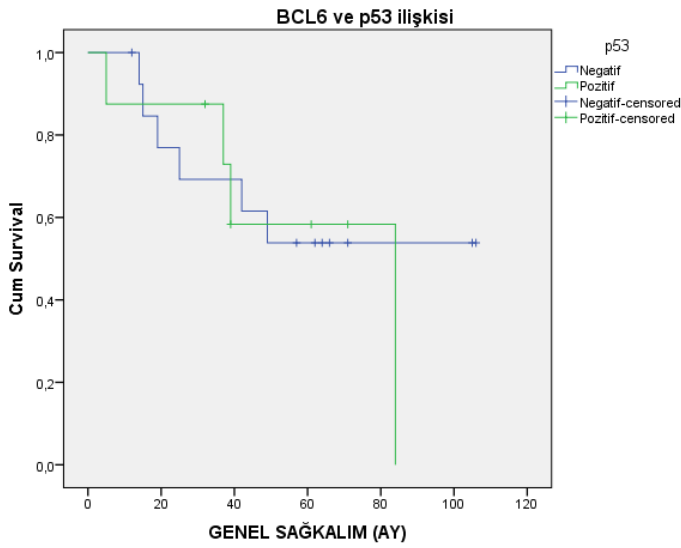


Şekil 28. BCL2 pozitif hastalarda PUMA'ya göre genel sağkalım

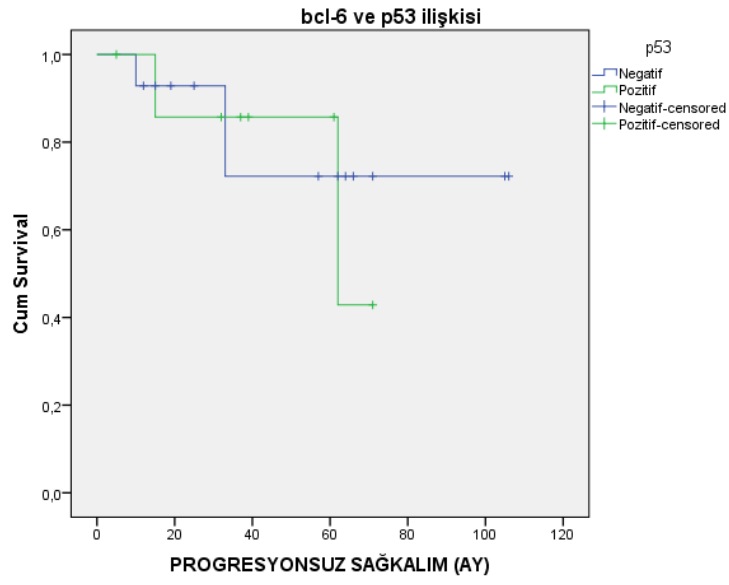


Şekil 29. BCL2 pozitif hastalarda PUMA'ya göre progresyonsuz sağkalım

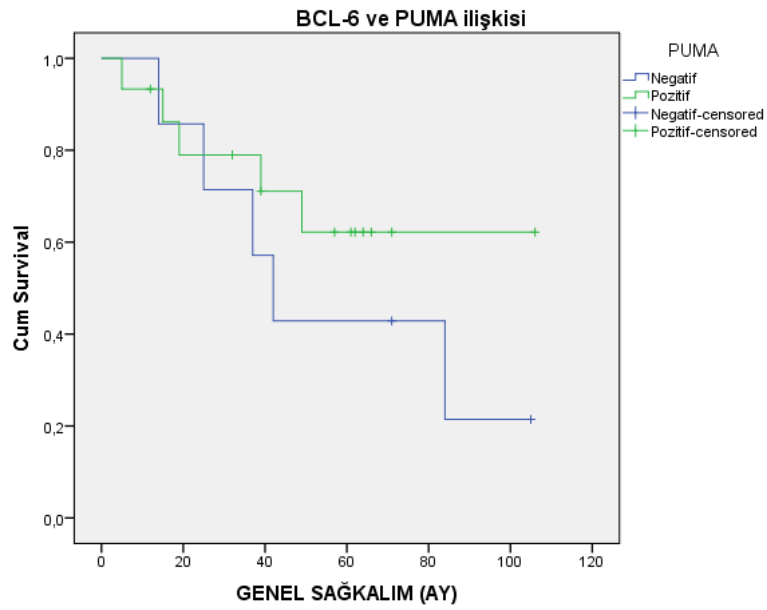
BCL6 pozitif olan hastalarda P53'ün genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etkisi yoktu (Tablo 23, Şekil 44-46). Benzer şekilde PUMA pozitif hastalarda da genel ve progresyonsuz sağkalım üzerine anlamlı etki izlenmedi (Tablo 17, Şekil 30- 33).



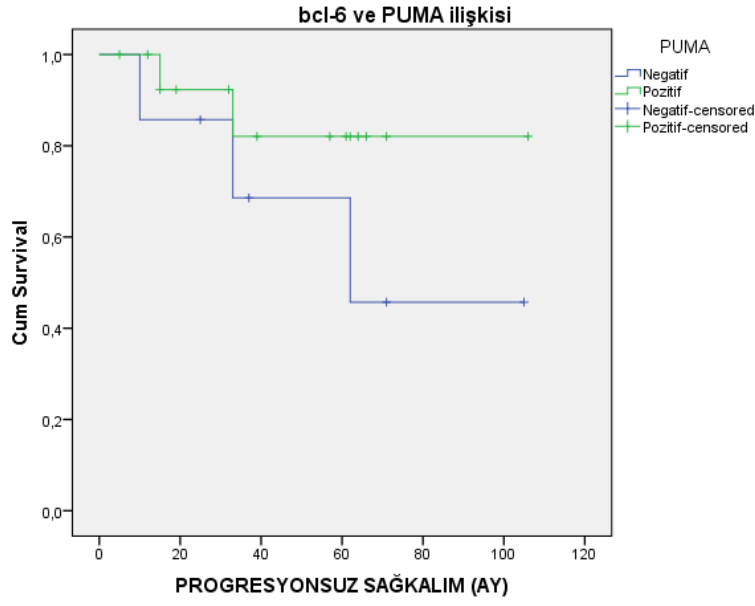
Şekil 30. BCL6 pozitif hastalarda P53'e göre genel sağkalım



Şekil 31. BCL6 pozitif hastalarda P53'e göre progresyonsuz sağkalım

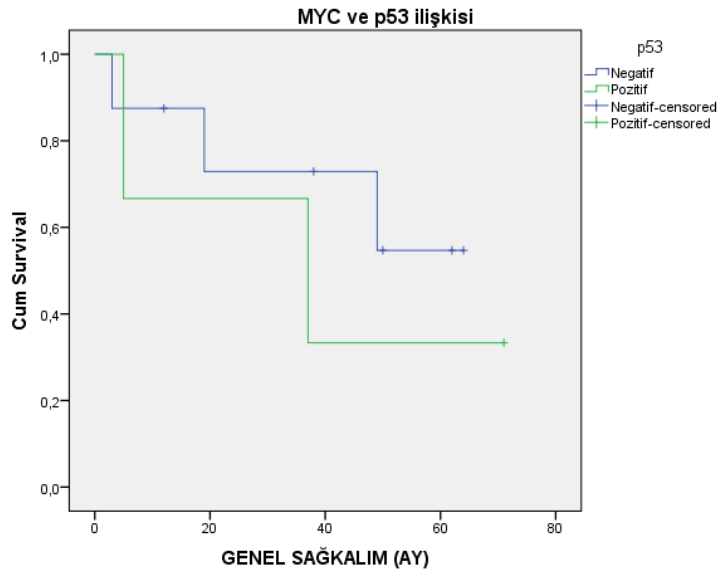


Şekil 32. BCL6 pozitif hastalarda PUMA'ya göre genel sağkalım

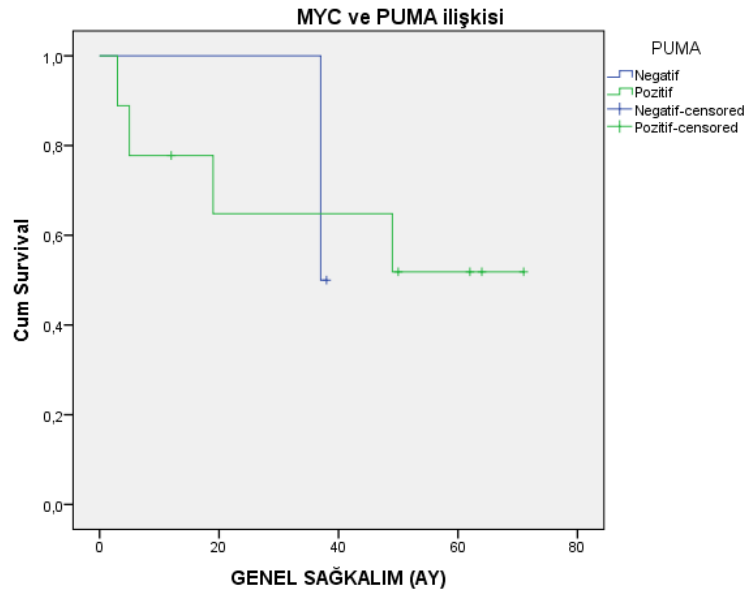


Şekil 33. BCL6 pozitif hastalarda PUMA'ya göre progresyonsuz sağkalım

MYC pozitif olan hastalarda P53'ün genel üzerine anlamlı etkisi yoktu (Tablo 17, Şekil 34). Benzer şekilde PUMA pozitif hastalarda da genel sağkalım üzerine anlamlı etki izlenmedi (Tablo 17, Şekil 35). MYC pozitif olan P53 ve PUMA pozitif hastalarda progrese olan hasta olmadığı için Kaplan-Meier analizi yapılamadı.



Şekil 34. MYC pozitif hastalarda P53'e göre genel sağkalım

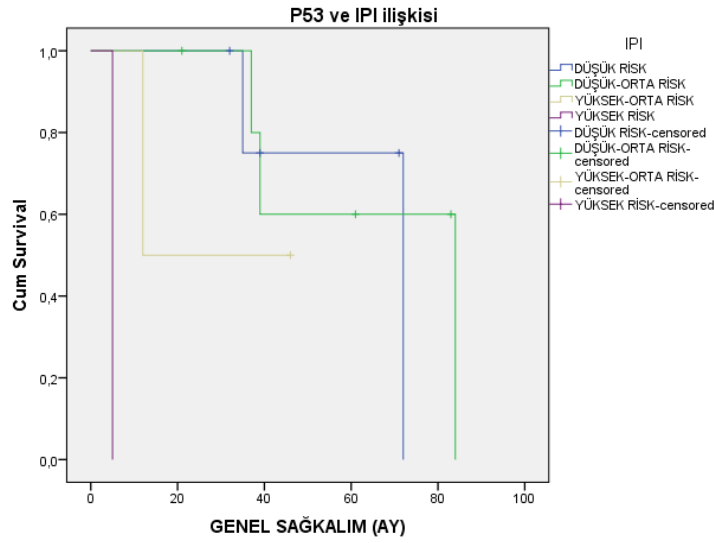


Şekil 35.MYC pozitif hastalarda PUMA'ya göre genel sağkalım

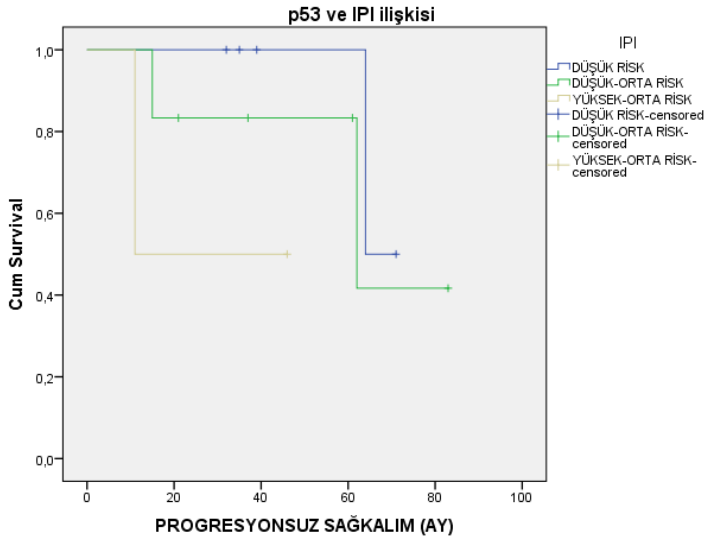
Tablo 17. BCL2, BCL6 ve MYC pozitif olan hastalarda P53 ve PUMA'nın genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalıma etkisi

	P53/ PUMA	Genel sağkalım (ay) (%95 CI)	P değeri	Progresyonsuz sağkalım (ay) (%95CI)	P değeri
BCL2+	P53				
	Pozitif	65.6 (50-81.2)	0.819	67.7 (54.4-81)	0.626
	Negatif	75.5 (58.6-92.4)		74.9 (57.7-92.1)	
	PUMA				
	Pozitif	82.6 (65.2-100)	0.302	86.4 (69.5-103.3)	0.186
	Negatif	60 (45.4-74.5)		55.7 (40.8-70.7)	
BCL6+	P53				
	Pozitif	60.7 (36.3-85)	0.737	59.1 (44.7-73.5)	0.746
	Negatif	69.6 (47.8-91.5)		84 (62.7-105.4)	
	PUMA				
	Pozitif	76.1 (54.9-97.3)	0.330	91.5 (73.1-109.8)	0.228
	Negatif	57.3 (31.9-82.7)		69.2 (39.7-98.7)	
MYC+	P53				
	Pozitif	37.6 (7.1-68.1)	0.480	*	*
	Negatif	47 (30.6-63.5)			
	PUMA				
	Pozitif	46.5 (27.3-65.6)	0.922	*	*
	Negatif	37.5 (36.8-38.1)			
* MYC pozitif olan P53 ve PUMA pozitif hastalarda progrese olan hasta olmadığı için Kaplan-Meier analizi yapılamadı.					

P53 pozitif olan hastalarda IPI risk skoru arttıkça genel sağkalımın azaldığı gözlemlendi (Tablo 18, Şekil 36). Fark düşük risk ile yüksek-orta risk arasında ($p<0,001$) ve düşük risk ile yüksek risk arasında ($p<0,001$) ve anlamlı, diğer gruplar arasında anlamsız idi. Progresyonsuz sağkalım açısından bakıldığında yüksek riskli hastalarda progrese olan hasta olmadığı için analiz yapılamadı fakat diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktu (Tablo 18, Şekil 37).



Şekil 36. P53 pozitif olan hastalarda IPI'ye göre genel sağkalım



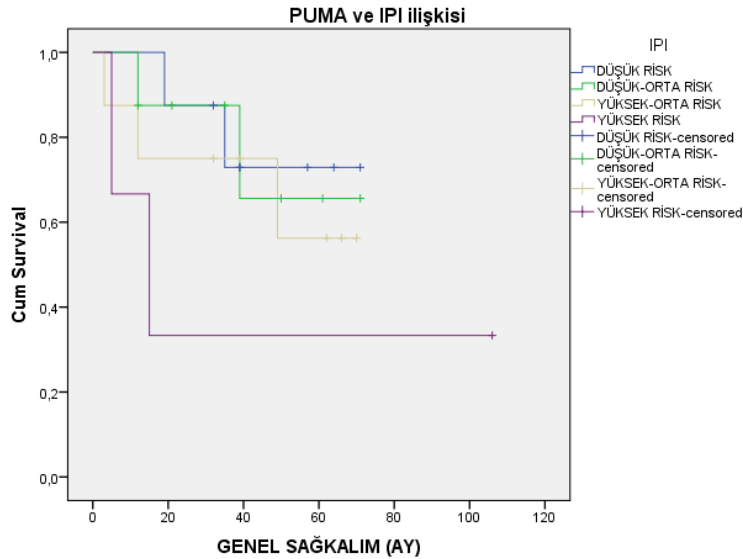
Şekil 37. P53 pozitif olan hastalarda IPI'ye göre progresyonsuz sağkalım

Tablo 18. P53 pozitif hastalarda IPI'ye göre sağkalım

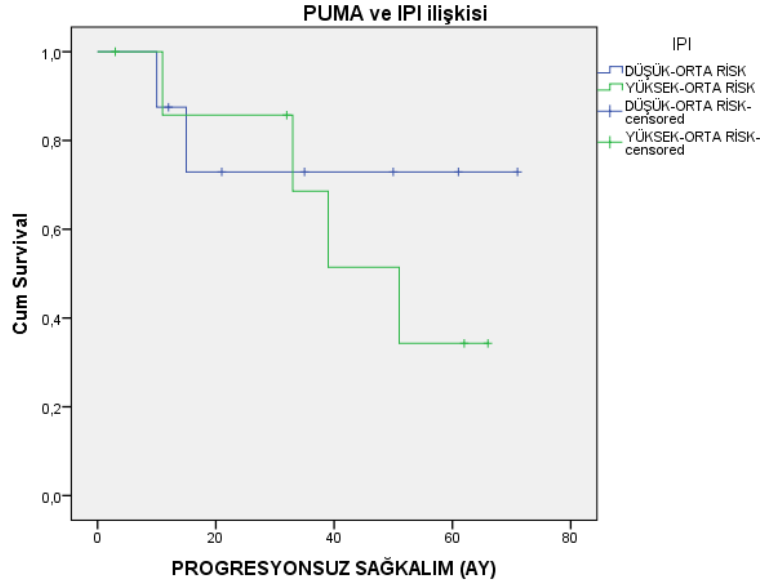
IPI risk	Genel sağkalım (ay) (%95 CI)	P değeri	Progresyonsuz sağkalım (ay) (%95 CI)	P değeri
Düşük	62.7 (40.5-84.9)	0.004	67.5 (62.6-72.3)	0.198
Düşük-orta	65.6 (41.3-89.8)		62.9 (41.9-83.9)	
Yüksek-orta	29 (5.4-52.5)		28.5 (5.4-52.5)	
Yüksek	5 (5-5)		*	

* Yüksek riskli hastalarda progresse hasta olmadığı için Kaplan Meier analizi yapılamadı.

PUMA pozitif olan hastalarda IPI risk skorunun genel üzerine anlamlı etkisi yoktu (Tablo 19, Şekil 38). Progresyonsuz sağkalıma bakıldığında düşük ve yüksek riskli hastalarda progresyon izlenmediğinden analiz yapılamadı fakat düşük-orta ve yüksek-orta riskli hasta grupları arasında istatistik açıdan anlamlı farklılık yoktu (Tablo 19, Şekil 39).



Şekil 38. PUMA pozitif hastalarda IPI'ye göre genel



Şekil 39. PUMA pozitif hastalarda IPI'ye göre progresyonsuz

Tablo 19. PUMA pozitif hastalarda IPI'ye göre sağkalım

IPI risk	Genel sağkalım (ay) (%95 CI)	P değeri	Progresyonsuz sağkalım (ay) (%95 CI)	P değeri
Düşük	59.2 (45.1-73.3)	0.444	*	0.508
Düşük-orta	56.6 (39.9-73.2)		55.2 (36.4-74)	
Yüksek-orta	50.4 (31.9-68.9)		45.2 (30.7-59.8)	
Yüksek	42 (0-93.4)		*	

* Düşük ve yüksek riskli hasta grubunda progrese hasta olmadığı için Kaplan-Meier analizi yapılamadı.

5.TARTIŞMA

Diffüz büyük B hücreli lenfomada, yaş, performans durumu, LDH düzeyi, ektranodal tutulum varlığı ve çeşitli klinik durumlar prognozu etkiler (75). DBBHL'daki prognostik faktörler; hastayla ilgili (yaş ve performans durumu), tümörün kendisiyle ilgili (ektranodal tutulum, evre), saldırganlık göstergeleriyle ilgili (LDH serum düzeyi, 2-mikroglobulin seviyeleri) ve terapötik strateji ile ilişkili olanlar olmak üzere 4 gruba ayrılabilir (76).

İleri yaşın sağkalımı negatif yönde etkilemesinin nedeni, yaşlı hastalarda standart kemoterapi rejimlerinin uygun dozda kullanılamaması ve mevcut ek komorbid hastalıklardır (77). Örneğin, yüksek doz kemoterapi ve OKHT relaps sonrasında iyileşme açısından en iyi seçenek olsa da ilerlemiş yaş ve artmış komorbidite nedeniyle yaşlı hastaların yaklaşık tümü transplanta uygun değildir (78). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sağkalım süresi 60 yaş üzeri hastalarda daha kısa olarak saptanmıştır (79). Antic ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada yaş arttıkça genel sağkalım süresinin azaldığı ve yaş grupları arasında (≤ 40 , $>40-60$, $>60-75$ ve >75) istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu gösterilmiştir (80). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde, yaşın genel sağkalım üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı idi ve yaş arttıkça genel sağkalım azalmaktaydı. PFS ile yaş arasında istatistik açıdan anlamlı farklılık tespit edilemedi.

Bir diğer prognostik skorlama parametresi olan ECOG'un değerlendirildiği çalışmada Peng ve ark, ECOG skoru yüksek 48 hastanın genel sağkalımlarının daha kötü olduğunu saptamışlar (81). Bizim çalışmamızda ise ECOG 2-3 olan hastalarda mortalite görülmediğinden OS analizi yapılamadı. ECOG ile PFS arasında ilişki izlenmedi. Bu durum, çalışmamıza dahil edebildiğimiz örneklemin boyutunun yetersiz olmasına bağlandı.

Nodal ve ektranodal DBBHL arasında moleküler farklılıklar saptanmıştır. Bu da bu tümör tiplerinin genetik köken bakımından farklılık gösterdiğini ve hatta ayrı hastalık olabileceklerini düşündürmektedir (82). Örneğin, MYC, BCL6, REL ve FAS genlerindeki değişikliklerin, nodal DBBHL'ya göre ektranodalda daha sık

meydana geldiği bildirilmiştir (83). Nair ve ark., 177 DBBHL hastasında %52 ektranodal tutulum tespit etmişler ve 2 veya daha fazla ektranodal tutulum olan hastalar, 0 veya 1 tutulumu olan hastalarla karşılaştırıldığında hem PFS hem OS’de anlamlı azalma gözlenmiş (84). Bizim çalışmamızda ektranodal tutulumu olanlarda olmayanlara göre, OS istatistik olarak anlamlı oranda düşük saptandı, fakat PFS’de istatistik olarak anlamlı farklılık gözlenmedi. OS sürelerinin ektranodal tutulum ile ilişkisinin literatür ile uyumlu olduğu görüldü.

Lenfomada LDH’nin, daha yüksek tümör DNA seviyeleri ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu ve dolaşımdaki tümör hücre yükünün bir belirteci olabileceği gösterilmiştir (85). Buna ek olarak, tümör mikroçevresindeki yüksek laktat seviyelerinin, T hücresi fonksiyonunun önemli ölçüde inhibisyonuna neden olduğuna ve immün tedaviye karşı olası bir direnç mekanizması geliştirdiğine dair kanıtlar vardır (86). LDH düzeyi yüksekliğinin genel sağkalımı azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterildiğinden LDH düzeyi prognostik skorlama sistemlerinin içerisinde yer almıştır (87, 88). Bizim çalışmamızda LDH düzeyleri ile OS ve PFS arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Çalışmaya alınan hastalar LDH gruplarına dağıtıldığında (normal, x3kat, >3 kat) hastaların sayının az olması nedeniyle hasta sayının büyük çoğunluğunun tek grupta toplandığı görüldü. Hasta sayımızın yetersiz olması, LDH grupları arasındaki karşılaştırmanın anlamlı sonuçlanmamasına yol açmış olabilir.

Apoptozis, normal hücre döngüsü, bağışıklık sisteminin normal gelişimi ve fonksiyonu, embriyonik gelişim ve kimyasallar tarafından uyarılmış hücre ölümü gibi çeşitli süreçlerin önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir (89). Apoptozisin mekanizmasının anlaşılması, birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığı için önemlidir. Apoptozisten sorumlu genlerin tanımlanması, kanser hücrelerinin apoptozis duyarlılığını artırabilen veya apoptotik eşiklerini sıfırlayabilen yeni ajanları keşfetmek ve geliştirmek için yeni bir fırsat sağlamıştır. Bu yeni hedefe yönelik tedaviler, anti-apoptotik BCL2 ailesi üyelerini, P53’ü, ekstrensek yolak, FLICE-inhibitör proteini (c-FLIP), apoptozis inhibitörü proteinlerini (IAP) ve kaspazları hedeflemektedir (90).

Memeli hücrelerinde iki ana apoptotik yolak tanımlanmıştır. Ekstrinsik yolak, proteinlerin ölüm reseptörü ailesi tarafından yönetilir. Hücre yüzeyindeki reseptöre

ligand bağlanması üzerine, adaptör moleküllerinin alınması, kaspaz 8 aktivasyonu ve ardından diğer kaspazların aktivasyonu ile sonuçlanır (91). İntrensek yolak, hücreler strese maruz kaldığında devreye girer ve bu yolak mitokondri aracılığı ile gerçekleşir. BCL2 ailesi proteinleri, bu yolağın ana düzenleyicilerdir (92). P53, transkripsiyona bağlı mekanizmalar yoluyla ekstrensek ve intrensek yollardaki genleri aktive edebilir veya transkripsiyondan bağımsız mekanizmalar aracılığıyla apoptozisi indükleyebilir. PUMA ve Noxa gibi birkaç proapoptotik BCL2 ailesi proteininin, P53 ile ilişkili apoptozisin önemli araçları olduğu bilinmektedir (93).

Xuan ve ark., MYC, BCL2 ve P53 pozitif olan hastalarda OS'yi daha düşük saptadılar. Ayrıca P53 ve MYC birlikte pozitif olması P53 ve MYC'in tek başına pozitif olmasına göre daha kötü prognozlu olduğunu gösterdiler (94).

Bizim yaptığımız çalışmada BCL2, BCL6, MYC, PUMA ve P53 pozitif ve negatif hastalar arasında OS ve PFS beklentisi açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. Aynı zamanda BCL2, BCL6, MYC, PUMA ve P53 ayrı ayrı pozitif olmaları durumu ile birlikte pozitif olma durumu arasında genel sağkalıma olan etki değişmemektedir. Literatürde BCL2, BCL6, MYC ve P53 DBBHL hastalarında kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada istatistiğin anlamsız sonuçlanması nedeni hasta sayının az olması ile ilişkilendirildi. Çalışmamızda, PUMA'nın potent öldürücü rolü göz önünde bulundurularak, pozitif hastalarda OS'nin daha iyi olacağını düşünmekteydik. Fakat elde ettiğimiz veriler doğrultusunda hipotezimiz doğrulanamadı. Yeterli sayıda hasta ile çalışmanın tekrarlanması, sonuçların daha farklı olmasını sağlayabilir.

Ding ve ark., MYC ve BCL2 eksprese eden DBBHL hastalarında P53 ekspresyonu olanlar ile olmayanları karşılaştırdıklarında, P53 ekspresyonu olanlarda daha kötü OS tespit etmişlerdir. MYC ve P53'ün birlikte eksprese olan hastalar MYC ve P53'ün tek başına pozitif olan hastalara göre daha kötü OS sahip bulunmuş. MYC/P53 pozitifliğinde 3 yıllık OS %31.6 iken, olan BCL2/P53 pozitifliğinde %46.2 saptanmış (95). Çalışmamızda MYC çalışılmamış önemli sayıda hasta olmakla birlikte, yaptığımız analizde MYC ve BCL2 tek başına pozitifliği veya P53 ile birlikteliği veya tek P53 pozitifliği OS ve PFS ile ilişkili bulunmadı.

P53 genetik olarak hasara uğramış hücrelerin çoğalmasını ve hücre proliferasyonunu engelleyerek hücre döngüsünün düzenlenmesinde ve apoptozisda önemli rol oynayan bir fosfoproteindir (96). Hücre mutajen bir etkenle karşılaştığında, P53 stabilize olup hücre çekirdeğinde toplanır. Hücre çekirdeğinde biriken P53 hücre döngüsünün G1 fazında durmasına neden olur (97,98). P53 geni radyasyon, UV ışını, X-ray gibi fiziksel faktörler, kimyasal karsinojenler ve tümör virüslerinin hedefidir ve bahsi geçen etkenler bu gende mutasyona neden olduklarında P53 hücre proliferasyonunu engelleyemez ve apoptozise katkıda bulunamaz. Bu nedenle P53 geninin inaktif olması durumunda hücre transformasyonu ve tümör gelişimi engellenemiyor (96,99,100). P53 geninin mutasyonu veya tümör hücrelerinde mutant P53 proteini birikimi, çeşitli kanser türlerinde prognoz ile ilişkilendirilmiştir (101)

Yang ve ark., 163 DBBHL hastası ile yaptıkları çalışmada P53 ve BCL2 pozitifliğinin IPI skoru 3-5 olan hastalarda OS'da bağımsız risk faktörü olduğu saptanmışlardır (102). Zenz ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada agresif B hücreli lenfomalı 263 hastadan 63'ünde (%23.8) P53 mutasyonu saptamıştır. P53 mutasyonu yüksek IPI ile ilişkili olduğu görülmüştür. P53 mutasyonların varlığında yıllık OS %50 olarak hesaplanmıştır (103).

Bizim çalışmamızda P53 pozitif olanlarda IPI'ye göre OS de istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı. IPI skoru yükseldikçe OS sürelerinin kısaldığı ve bu sonucun literatür ile uyumlu olduğu görüldü.

P53, hücre döngüsü durması, DNA onarımı ve hücre onarım mekanizmaları başarısız olması durumunda pro-apoptotik mekanizmanın aktivasyonu dahil olmak üzere birçok hücre işlevinde yer almaktadır. Bu nedenle P53 genindeki mutasyondan dolayı P53, apoptoza, hücre döngüsünün engellenmesine ve aynı zamanda DNA onarımına katkıda bulunamayacaktır. Önceki çalışmalar, P53'ün aşırı ekspresyonunun, P53 mutasyonu ile ilgili olduğunu ve bu durumun DBBHL'da daha kötü prognoz ile ilişkisini göstermiştir (94). Bizim çalışmamızda P53 pozitifliğinin IPI ile olan ilişkisi, yani sağkalım sürelerini negatif yönde etkilemesi P53'ün apoptozdaki rolüyle ilgili olabileceği gibi, P53'ün hücre döngüsü ve DNA onarımı mekanizmaları üzerinden de sağkalıma etki edebileceği düşünüldü.

Yine PUMA pozitifliği olan hastalarda IPI değerlendirildiğinde OS ve PFS’de istatistiksel açıdan anlamlı sonuç elde edilemedi. Total hasta sayının az olması ve IPI alt gruplarının bazılarında hasta olmaması nedeniyle istatistiksel açıdan anlamlı sonuğlar elde edilemediği düşünüldü.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1.Yaptığımız çalışmada P53 pozitif olduğu durumlarda IPI'ye göre OS'de istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı. P53 pozitif olan hastalarda IPI skoru arttıkça hastalarda OS süreleri kısalmaktaydı.
2. PUMA ve DBBHL arasındaki ilişkiye dair literatürde insanlarla yapılan herhangi bir çalışma bulunamadı. Yaptığımız çalışma DBBHL'de PUMA ekspresyonunu değerlendiren ilk çalışmadır. Sonuçlarımız Os ve PFS'ı öngöremedi, ancak bu durum örneklem sayısının az olmasına bağlı olabilir.
3. Tüm gruplar için genel sağkalım açısından PUMA ve P53 pozitif olan hastalarda anlamlı sonuca ulaşılamadı. Bu da çalışma yaptığımız kısıtlı hasta sayısı ile ilişkilendirilebilir.

7. KAYNAKÇA

1. Binder AF, Brody JD. Non-Hodgkin Lymphoma. *Oncology* . 2022 May 1; 342–53.
2. Pasqualucci L, Dalla-Favera R. The Genetic Landscape of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Semin Hematol*. 2015 Apr 1;52(2):67–76.
3. 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 Jan 1;107(1):265.
4. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. AU International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project SO N Engl J Med. 1993;329(14):987.
5. Goldar S, Khaniani MS, Derakhshan SM, Baradaran B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015 ;16(6):2129–44.
6. Li J, Yuan J. Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene* 2008 2748. 2008 Oct 20; 27(48):6194–206.
7. Nancy A. Thornberry and Yuri Lazebnik. Caspases: Enemies Within. *Science*, 281(5381), 1312–1316.
8. Klapproth K, Wirth T. Advances in the understanding of MYC-induced lymphomagenesis. *Br J Haematol*. 2010; 149(4):484-497.
9. Rowley JD , J Clin Chromosome studies in the non-Hodgkin's lymphomas: the role of the 14;18 translocation. *Oncol*. 1988;6(5):919.
10. Koduru PRK, Raju K, Vadmal V, Menezes G, Shah S, Susin M, et al. Correlation Between Mutation in P53, p53 Expression, Cytogenetics, Histologic Type, and Survival in Patients With B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood*. 1997 Nov 15;90(10):4078–91.
11. Yu J, Zhang L. PUMA, a potent killer with or without p53. *Oncogene*. 2008 Dec; 27(Suppl 1): S71–S83.
12. Sehn LH, Salles G. Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Longo DL, editor. *N Engl J Med*. 2021 Mar 3; 384(9):842.
13. Martelli M, Ferreri AJM, Agostinelli C, Di Rocco A, Pfreundschuh M, Pileri SA. Diffuse large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013 Aug 1;87(2):146–71.
14. Chang ET, Smedby KE, Hjalgrim H, et al. Family history of hematopoietic malignancy and risk of lymphoma. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97: 1466-74.

15. Morton L.M, Slager SL, Cerhan JR, Wang SS, Vajdic CM, Skibola CF et al. E, Lymphoma heterogeneity among non-H lymphoma subtypes: the I non-H, 2014;2014(48):130-44
16. Armitage J.O. My Treatment Approach to Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Mayo Clin Proc. 2012 ;87(2):161.
17. Armitage J.O. How I treat patients with diffuse large B-cell lymphoma. Blood TJ of, 2007;110(1):29-36
18. Sanjose S, Benavente Y, Vajdic CM et al. Hepatitis C and nonHodgkin lymphoma among 4784 cases and 6269 controls from the International Lymphoma Epidemiology Consortium. Clin Gastroenterol Hepatol 2008; 6:451-8
19. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. Blood. 2010 Nov 11;116(19):3724–34.
20. Shenoy P.J, Malik N, Nooka A, Sinha R, Ward KC, Brawley OW, et al. Racial differences in the presentation and outcomes of diffuse large B-cell lymphoma in the United States. Cancer. 2011 Jun 1;117(11):2530–40.
21. Shipp M.A et al. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. N Engl J Med.1993;329:987–994
22. Goldin L.R, Björkholm M, Kristinsson SY, Turesson I, Landgren O. Highly increased familial risks for specific lymphoma subtypes. Br J Haematol . 2009 Jul ;146(1):91–4.
23. Goldin L.R, Landgren O, McMaster ML, Gridley G, Hemminki K, Li X, et al. Familial aggregation and heterogeneity of non-Hodgkin lymphoma in population-based samples. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev . 2005 Oct;14(10):2402–6.
24. Yi Xie, Stefania Pittaluga and Elaine S. Jaffe The Histological Classification of Diffuse Large B-cell Lymphomas. Semin Hematol. 2015 Apr; 52(2): 57–66.
25. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IB de O, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leuk 2022 367 . 2022 Jun 22; 36(7):1720–48.
26. Carbone P.P, Kaplan HS, Musshoff K, et al. Report of the committee on Hodgkin's disease staging. Cancer Res 1971;31:1860-1.
27. Smith M.R. Non-Hodgkin's lymphoma. Curr Probl Cancer. 1996 Jan 1;20(1):6–77.
28. Cheson B.D, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. J Clin Oncol 2014;32:3059-68.

29. Barrington S.F, Mikhaeel NG, Kostakoglu L, Meignan M, Hutchings M, Müller SP, et al. Role of Imaging in the Staging and Response Assessment of Lymphoma: Consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol* . 2014 Sep 9 ;32(27):3048.
30. Miao Y, Medeiros LJ, Li Y, Li J, Young KH. Genetic alterations and their clinical implications in DLBCL. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019 Oct 1;16(10):634–52.
31. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, Johnson CA, Phelan JD, Wang JQ, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2018 Apr 12;378(15):1396.
32. Lenz G, Staudt L.M. Aggressive lymphomas. *N Engl J Med*. 2010 Apr 15;362(15):1417–29.
33. Overview of the pathobiology of the non-Hodgkin lymphomas - UpToDate -. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-pathobiology-of-the-non-hodgkin-lymphomas?search=b cell lymphoma patogenesis&source=search_result&selectedTitle=3~150&usage_type=default&display_rank=3](https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-pathobiology-of-the-non-hodgkin-lymphomas?search=b%20cell%20lymphoma%20pathogenesis&source=search_result&selectedTitle=3~150&usage_type=default&display_rank=3)
34. Stevenson F, Sahota S, Zhu D, Ottensmeier C, Chapman C, Oscier D, et al. Insight into the origin and clonal history of B-cell tumors as revealed by analysis of immunoglobulin variable region genes. *Immunol Rev*. 1998 Apr;162:247–59.
35. Ngo V.N, Young RM, Schmitz R, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature* 2011;470:115-9.
36. Lim K.H, Yang Y, Staudt LM. Pathogenetic importance and therapeutic implications of NF- κ B in lymphoid malignancies. *Immunol Rev*. 2012;246(1):359–378.
37. R.E. Davis, K.D. Brown, U. Siebenlist, L.M. Staudt Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells *J. Exp. Med.*, 194 (12) (2001), pp. 1861-1874.
38. Close W.H. Wilson, R.M. Young, R. Schmitz, Y. Yang, S. Pittaluga, G. Wright, C.J. Lih, P.M. Williams, A.L. Shaffer, J. Gerecitano, S. DeVos, A. Goy, V.P. Kenkre, P.M. Barr, K.A. Blum, A. Shustov, R. Advani, N.H. Fowler, J.M. Vose, R.L. Elstrom, T.M. Habermann LMS. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma *Nat. Med.*, 21 (8) (2015), pp. 922-926.
39. A. Rosenwald, G. Wright, W.C. Chan, J.M. Connors, E. Campo, R.I. Fisher, R.D. Gascoyne, H.K. Muller-Hermelink, E.B. Smeland, J.M. Giltner, E.M. Hurt, H. Zhao, L. Averett, L. Yang, W.H. Wilson, E.S. Jaffe, R. Simon, R.D. Klausner, J. Powell, P.L. Duffey, LMS. Lymphoma/Leukemia molecular profiling project: the use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma *N. Engl. J. Med.*, 346 (25) (2002), pp. 1937-1947.

40. 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: 1937–1947.
41. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures. a Rep from Int DLBCL Rituximab-CHOP Consort Program *Blood* 2013;1214021-31;
42. Hans C.P, 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;103:275-282.
43. Nowakowski G.S, Czuczman MS. ABC, GCB, and Double-Hit Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Does Subtype Make a Difference in Therapy Selection? *Am Soc Clin Oncol Educ B*. 2015 May 14;(35):e449–57.
44. Riedell P.A, Smith SM. Double hit and double expressors in lymphoma: Definition and treatment. *Cancer*. 2018 Dec 15 ;124(24):4622–32.
45. Li W, Gupta S.K, Han W, Kundson RA, Nelson S, Knutson D, et al. Targeting MYC activity in double-hit lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements with epigenetic bromodomain inhibitors. *J Hematol Oncol*. 2019 Jul 9; 12(1).
46. Knoepfler P.S. Myc goes global: New tricks for an old oncogene. *Cancer Res*. 2007;67:5061–5063.
47. Dang C.V., O'Donnell K.A., Zeller K.I., Nguyen T., Osthus R.C., Li F. The c-Myc target gene network. *Semin. Cancer Biol*. 2006;16:253–264.
48. Nguyen L, Papenhausen P, Shao H. The Role of c-MYC in B-Cell Lymphomas: Diagnostic and Molecular Aspects. *Genes (Basel)*. 2017 Apr 5; 8(4):2–22.
49. Hemann M.T, Bric A, Teruya-Feldstein J, et al. Evasion of the p53 tumour surveillance network by tumour-derived MYC mutants. *Nature* 2005;436:807-11.
50. Schmitt C.A, Lowe SW. Bcl-2 mediates chemoresistance in matched pairs of primary E(mu)-myc lymphomas in vivo. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:206-16.
51. Wei M.C. Bcl-2-related genes in lymphoid neoplasia. *Int J Hematol*. 2004 Oct;80(3):205–9.
52. Hermine O, Haioun C, Lepage E, d'Agay MF, Briere J LC et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood* 1996; 87: 265–272.
53. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G, Dave BJ, Horsman DE, Rosenwald A et al. BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 961–968.

54. Saito M, Novak U, Piovan E, Basso K, Sumazin P, Schneider C et al. BCL6 suppression of BCL2 via Miz1 and its disruption in diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 11294–11299.
55. Laurie H. Sehn MD, MPH , Mukesh Chhanabhai MD , Catherine Fitzgerald MD , Karamjit Gill MD , Paul Hoskins MD , Richard Klasa MD , Kerry Savage MD , Tamara Shenkier MD , Judy Sutherland MD , Kenneth Wilson MD , Randy D. Gascoyne MD , Joseph M. Connors MD . Revised International Prognostic Index (R-IPI) Is a Better Predictor of Outcome Than the Standard IPI for Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) Treated with Rituximab and CHOP (R-CHOP). *Blood* (2007) 109 (5): 1857–1861.
56. Fisher R.I, Gaynor E.R., Dahlberg S., Oken M.M., Grogan T.M., Mize E.M. et al. Comparison Of A Standard Regimen (CHOP) With Three Intensive Chemotherapy Regimens For Advanced Non-Hodgkin's Lymphoma, *N Engl J Med* (1993), 328, 1002–6
57. Niitsu N, Current Treatment Strategy Of Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *Int J Hematol* (2010), 92, 231–37
58. Persky D.O, Unger JM, Spier CM, et al. Phase II Study of Rituximab Plus Three Cycles of CHOP and Involved-Field Radiotherapy for Patients With Limited Stage Aggressive B-Cell Lymphoma: Southwest Oncology Group Study 0014. *J Clin Oncol* 2008;26:2258-63
59. Meguro A., Ozaki K, Sato K, et al. Rituximab plus 70% cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone for Japanese patients with diffuse large B-cell lymphoma aged 70 years and older. *Leuk lymphoma* 2012;53:43- 9
60. Aviles A., Nambo MJ, Neri N, et al. Dose dense (CEOP-14) vs dose dense and rituximab (CEOP-14 +R) in high-risk diffuse large cell lymphoma. *Med Oncol* 2007;24:85-9
61. Vitolo U., Chiappella A, Ferreri AJ, et al. First-line treatment for primary testicular diffuse large B-cell lymphoma with rituximab-CHOP, CNS prophylaxis, and contralateral testis irradiation: final results of an International phase II trial. *J Clin Oncol* 2011;29:2766-72
62. National Comprehensive Cancer Network-NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Non-Hodgkin's Lymphomas version 1.2013. 2013. p. available at http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nhl.pdf
63. Liedtke M, Hamlin P.A, Moskowitz CH, et al. Surveillance imaging during remission identifies a group of patients with more favorable aggressive NHL at time of relapse: a retrospective analysis of a uniformly-treated patient population. *Ann Oncol* 2006; 17:909-13.
64. Wong R.S.Y. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res* . 2011 ; 30(1):87.

65. Tsushi A., Chikawa I, Omohiro T, Inoshita K, Akashi T, Atanabe W, et al. Mutations of the p53 Gene as a Prognostic Factor in Aggressive B-Cell Lymphoma. 1997 Aug 21; 337(8):529–34.
66. Vousden K.H, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer* 2002;2:594–604.
67. Vogelstein B., Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature* 2000;408:307–10.
68. Rowan S., Ludwig RL, Haupt Y, Bates S, Lu X, Oren M, et al Specific loss of apoptotic but not cell-cycle arrest function in a human tumor derived p53 mutant. *EMBO J* 1996;15:827–38.
69. Coutant C., Rouzier R, Qi Y, Lehmann-Che J, Bianchini G, Iwamoto T, et al Distinct p53 gene signatures are needed to predict prognosis and response to chemotherapy in ER-positive and ER-negative breast cancers. *Clin Cancer Res* 2011;17:2591–601.
70. Li M. The role of P53 up-regulated modulator of apoptosis (PUMA) in ovarian development, cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Apoptosis*. 2021 Jun;26(5–6):235.
71. Hikisz P., Kiliańska ZM. Puma, a critical mediator of cell death — one decade on from its discovery. *Cell Mol Biol Lett*. 2012;17(4):646.
72. Haupt S., Alsheich-Bartok O, Clues from worms: a Slug at Puma promotes the survival of blood progenitors. *Cell Death Differ* 2006; 13: 913-915
73. Oken M.M, Creech R.H, Tormey D.C. et al.Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982; 5: 649- 655
74. Fields P.A, Townsend W, Webb A, Counsell N, Pocock C, Smith P, Jack A, El-Mehidi N, Johnson PW, Radford J, Linch DC, Cunnningham D. De novo treatment of diffuse large B-cell lymphoma with rituximab, cyclophosphamide, vincristine, gemcitabine, and prednisolone in patients with cardiac comorbidity: a United Kingdom National Cancer Research Institute trial. *J Clin Oncol* 2014;32:282-287.
75. 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 epidemiology*. 2015;39(6):1103-12.
76. Maurizio Martelli , Andrés J M Ferreri, Claudio Agostinelli, Alice Di Rocco, Michael Pfreundschuh, Stefano A Pileri. Diffuse large B-cell lymphoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Volume 87, Issue 2, August 2013, Pages 146-171.

77. The NHL Classification Project. Effect of age on the characteristics and clinical behavior of non-Hodgkins lymphoma patients. *Ann Oncol* 1997;8:973-8
78. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive nonHodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1995;333(23):1540-1545.
79. Zhang A, Ohshima K, Sato K, Kanda M, Suzumiya J, Shimazaki K, Kawasaki C, Kikuchi M. Prognostic clinicopathologic factors, including immunologic expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Pathol Int* 1999; 49:1043–1052.
80. Antic D, Jelacic J, Trajkovic G, Balint MT, Bila J, Markovic O, et al. Is it possible to improve Prognostic value of NCCN-IPI in patients with diffuse large B cell lymphoma? The Prognostic significance of comorbidities. *Annals of hematology.* 2018;97(2):267-76.
81. Peng F, Guo L, Yao W-K, Zheng Y, Liu Y, Duan X-M, et al. Identification of Prognostic factors in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Indian Journal of Pathology and Microbiology.* 2017;60(1):87.
82. Krieken JH, Raffeld M, Raghoebier S, et al. Molecular genetics of gastrointestinal non-Hodgkin's lymphomas: unusual prevalence and pattern of c-myc rearrangements in aggressive lymphomas. *Blood* 1990; 76:797-800
83. Yoshida S, Nakamura N, Sasaki Y, et al. Primary breast diffuse large B-cell lymphoma shows a non-germinal center B-cell phenotype. *Mod Pathol* 2005; 18:398-405
84. Chandran K.Nair, Anju R Kurup , A Manuprasad, Praveen Kumar Shenoy , Vineetha Raghavan. Pattern of extranodal involvement and its impact on survival in diffuse large B-cell lymphoma from a tertiary cancer center in rural India. *JCRT.* 2021. Page: 938-942.
85. Kurtz D.M, Green MR, Bratman SV, Scherer F, Liu CL, Kunder CA, Takahashi K, Glover C, Keane C, Kihira S, Visser B, Callahan J, Kong KA, et al. Noninvasive monitoring of diffuse large B-cell lymphoma by immunoglobulin high-throughput sequencing. *Blood.* 2015;125:3679–87
86. Colegio O.R, Chu NQ, Szabo AL, Chu T, Rhebergen AM, Jairam V, Cyrus N, Brokowski CE, Eisenbarth SC, Phillips GM, Cline GW, Phillips AJ, Medzhitov R. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature.* 2014;513:559–63
87. Zhou Z, Sehn L.H, Rademaker AW, Gordon LI, LaCasce AS, Crosby-Thompson A, et al. An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood.* 2014;123(6):837-42.

88. Huang Y-C, Liu C-Y, Lu H-J, Liu H-T, Hung M-H, Hong Y-C, et al. Comparison of prognostic models for patients with diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. *Annals of hematology*. 2013;92(11):1513-20.
89. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*. 2007 ; 35(4):495.
90. Samira Goldar^{1, 2} MSK, Derakhshan¹ SM, Baradaran² B. Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;2129.
91. Adams J.M, Cory S. Apoptosomes: engines for caspase activation. *Curr Opin Cell Biol*. 2002 Dec 1;14(6):715–20.
92. Korsmeyer S.J. BCL-2 gene family and the regulation of programmed cell death. *Cancer Res*. 1999 Apr 1;59(7 Suppl):1693s-1700s.
93. Yu J, Zhang L. The transcriptional targets of p53 in apoptosis control. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Jun 10;331(3):851–8.
94. Wang X.J, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE, Tang G, Wang S, Oki Y, et al. P53 expression correlates with poorer survival and augments the negative prognostic effect of MYC rearrangement, expression or concurrent MYC/BCL2 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol* 2017 302 . 2016 Oct 14;30(2):194–203.
95. Ding X, Hou SL, Li YQ, Li X, Li L, Lian K, et al. Effect of P53 Expression on Prognosis of Patients with Double Expressor Lymphoma. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi*. 2019 Oct 1 ; 27(5):1504–14.
96. Chang F, Syrjanen S, Tervahauta A, Syrjanen K. Tumorigenesis associated with the P53 tumour suppressor gene. *Br J Cancer* 1993; 68: 653-661.
97. Baker S, Fearson E. Chromosome 17 deletions and P53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989; 261: 3099-3103
98. Wu G, Kreating A. Biomarkers of potential prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer* 2006 Jan 15; 106(2): 247-57.
99. Villuendas R, Piris MA, Algara P, et al. The expression of P53 protein in nonhodgkin's Lymphomas is not always dependent on P53 gene mutations. *Blood* 1993; 82: 3151-3156
100. Soini Y, Paakko P, Alavaikko M, Vahakangas K. P53 expression in lymphatic malignancies. *J Clin Pathol* 1992; 45: 1011-1014.
101. A Ichikawa, T Kinoshita, T Watanabe, H Kato, H Nagai, K Tsushita, H Saito, T Hotta. Mutations of the p53 gene as a prognostic factor in aggressive B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1997 Aug 21;337(8):529-34.)

102. Yang X, Chen S, Qi Y, Xu XY, Guan X, Yang YC, et al. Research of prognostic immunophenotypes in 163 patients of diffuse large B-cell lymphoma. *Chinese J Hematol*. 2021 Jun 14;42(06):487–94.
103. Zenz T, Kreuz M, Fuge M, Klapper W, Horn H, Staiger AM, et al. TP53 mutation and survival in aggressive B cell lymphoma. *Int J Cancer*. 2017 Oct 1; 141(7):1381–8.

