

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

**NODAL DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS'LARDA
BCL2, MYC, P53, CD5 ve CD30 İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
BELİRTEÇLERİNİN PROGNOZA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Necmettin Can ÖZKANBAŞ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Aydın İŞİSAĞ

Manisa, 2024

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

**NODAL DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS'LARDA
BCL2, MYC, P53, CD5 ve CD30 İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
BELİRTEÇLERİNİN PROGNOZA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Necmettin Can ÖZKANBAŞ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Aydın İŞİSAĞ

Manisa, 2024

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca hoşgörüsü, sabrı ve anlayışıyla her konuda desteğini esirgemeyen, meslek hayatımdaki katkılarını asla unutamayacağım tez danışmanım Prof. Dr. Aydın İşisağ'a, pratiklik ve hızlı düşünmenin patolojideki önemini bize öğreten, teknolojinin tüm olanaklarını bize sunan, bilimsel bakış açısıyla eğitimime yön veren Prof. Dr. Ali Rıza Kandiloğlu'na, bilgisi, enerjisi ve titizliği ile bana çok şey katan, bilgi aktarımına hayran olduğum Prof. Dr. Semin Ayhan'a, bilgisi, birikimi ve deneyimleri ile bana yol gösterici olan, titiz, disiplinli ve azimli çalışma konusunda çok şey öğrendiğim, her zaman ufkumu açan Prof. Dr. Nalan Neşe'ye, şefkati, bilgisi, deneyimleri ve öğretmedeki sabrıyla kendisinden çok şey öğrendiğim Prof. Dr. Peyker Temiz'e, güler yüzü ve öğretme hevesi ile bilgilerinden faydalandığım Doç. Dr. Gamze Erkılıç'a, bilgilerinden çok şey öğrendiğim, neşesi ve çalışkanlığı ile örnek tablo oluşturan Öğr. Gör. Dr. Ayça Tan'a, titizliği ve patolojiye olan sevgisiyle örnek olan Öğr. Gör. Dr. Seda Mavili'ye, öğreticiliği ve yardımseverliği ile desteğini hissettiğim Öğr. Gör. Dr. Ömer Atmış'a, tezimin istatistiksel değerlendirmesinde emeği geçen Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Erhan Eser'e, birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum, asistanlık hayatımda önemli, güzel dostluklar edindiğim asistan arkadaşlarıma, eğitim ve tez sürecindeki yardımlarından dolayı laboratuvar teknisyenlerimiz, arşiv çalışanlarımız, sekreterlerimiz ve personelimize ve tüm eğitim hayatım boyunca bana her zaman destek olan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Necmettin Can Özkanbaş

İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ	1
II.	GENEL BİLGİLER	4
II.1.	Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS	4
II.1.1.	Epidemiyoloji	6
II.1.2.	Etiyoloji	7
II.1.3.	Lokalizasyon	8
II.1.4.	Klinik Özellikler	8
II.1.5.	Morfolojik Özellikler	9
II.1.6.	İmmunfenotipik Özellikler	10
II.1.7.	Hücre kökeni	13
II.1.8.	Genetik Özellikler	14
II.1.9.	Prognostik Faktörler	16
II.1.10.	Tedavi	22
II.2.	Çalışmada Kullanılan Belirteçler	23
II.2.1.	BCL2	23
II.2.2.	MYC	25
II.2.3.	CD5	26
II.2.4.	CD30	27
II.2.5.	P53	28
III.	GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
III.1.	Etik kurul	30
III.2.	Olgular	30
III.3.	İmmünohistokimyasal inceleme	31
III.4.	İmmünohistokimyasal sonuçların değerlendirilmesi	32
III.5.	İstatistiksel değerlendirme	33
IV.	BULGULAR	34
IV.1.	Yaş, Cinsiyet Dağılımı ve Klinikopatolojik Özellikler	34
IV.2.	Morfolojik ve İmmunfenotipik Özellikler	37
IV.3.	İstatistiksel Analiz	40
V.	TARTIŞMA	75
VI.	SONUÇ VE ÖNERİLER	94
VII.	ÖZET	97
VIII.	İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	99
IX.	KAYNAKLAR	101

KISALTMALAR

ABC: Aktive B hücre tipi

BCR: B hücre antijen reseptörü

CHOP: Siklofosfamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizolon

COO: Hücre kökeni

DBBHL: Diffüz büyük B hücreli lenfoma

DE: Double ekspresör

DHL: Double hit lenfoma

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EBV: Epstein-Barr virüs

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

FDG: Fluorodeoksiglukoz

GCB: Germinal merkez B hücre tipi

GEP: Gen ekspresyon profili

HCV: Hepatit C virüsü

HE: Hematoksilen eozin

HHV8: İnsan herpes virüsü 8

HIV: İnsan immün yetmezlik virüsü

HRS: Hodgkin Reed-Sternberg

HTLV-1: İnsan T lenfotropik virüsü-1

IG: İmmünglobulin

IL: İnterlökin

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks

İHK: İmmünohistokimya

KDa: Kilodalton

KLL/SLL: Kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma

KSHV: Kaposi sarkomu herpes virüsü

KT: Kemoterapi

LDH: Laktat dehidrogenaz

LM oranı: Lenfosit-monosit oranı

MALT lenfoma: Mukoza ilişkili ektranodal marjinal zon lenfoma

MHC: Majör doku uygunluk kompleksi

MPV: Ortalama platelet hacmi

NCCN-IPI: Ulusal Genel Kanser Örgütü-Uluslararası Prognostik İndeks

NHL: Non-Hodgkin lenfoma

NOS: Başka türlü sınıflandırılmayan

PET: Pozitron emisyon tomografisi

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

PE-NHL: Primer ektranodal non-Hodgkin lenfoma

R-IPI: Revize Uluslararası Prognostik İndeks

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

SSS: Santral sinir sistemi

T-ALL: T hücreli akut lenfoblastik lösemi

TH: Yardımcı T hücresi

TNF-R: Tümör nekroz faktörü reseptörü

I.GİRİŞ

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), yeni tanı alan non-Hodgkin lenfomaların (NHL) %25-40'ını oluşturan, en sık görülen histolojik tipidir (1). Çeşitli patogenetik mekanizmalar, klinik bulgular ve prognostik özellikler gösteren, oldukça heterojen bir antitedir. Standart tedavi olarak siklofosamid, doksorubisin, vinkristin, prednizon ve rituksimab (R-CHOP) rejiminin kullanılmaya başlanmasıyla hastaların %60'ında kür elde edilirken diğerleri için hastalık genellikle ilerleyici ve ölümcül seyreder (1,2).

Bu hastaların tedavisinde daha yoğun kemoterapi (KT) rejimleri, hedefe yönelik yeni ajanlarının tedaviye eklenmesi, hematopoetik kök hücre nakli gibi yöntemler ile sonuç alınmaya çalışılmaktadır (3). Bu tedavilere kimi olgularda yanıt alınamadığı gibi, bazı olgularda önemli morbidite hatta mortaliteye yol açabilen yan etkiler izlenmektedir (4). Bu nedenle, olguları prognostik olarak sınıflandırmak kadar R-CHOP tedavisi ile kür elde edilebilecek olguları belirlemek ve kür elde edilemeyen olgularda yeni tedavi ajanlarından fayda görecektiklerini tahmin etmek de oldukça önemlidir (1).

Son on yılda DBBHL'ların patogeneziindeki temel onkojenik yollar, olguların moleküler genetiği ve biyolojik çeşitliliğine dair çalışmalar artmıştır (1,3). Olguların yaklaşık %40'ında R-CHOP tedavisi ile istenen sonuç alınamaması nedeniyle, özellikle moleküler yollar ve hücre kökenine dair bilgiler esas alınarak yeni tedaviler geliştirilmektedir (1,4). Günümüzde, çoğu merkezde Uluslararası prognostik indeks (IPI) ve yeni versiyonları kullanılarak prognostik tahmin yapılmaya devam etmektedir (1). Buna karşın, IPI değerlendirmesinin olguların moleküler/biyolojik özelliklerine ilişkin bilgi içermemesi, bir ölçüde subjektif olması ve özellikle yüksek riskli hastaları öngörmekteki yetersizliği nedeniyle daha güçlü prognostik belirleyicilere

ihtiyaç vardır (4). Bu amaçla birçok çalışmada, olguların moleküler özelliklerini gösteren ve hücre kökeni alt tiplendirmesinde kullanılabilen gen ekspresyon profili (GEP) ve sekanslama teknikleri ile prognoz belirlemek hedeflenmiştir (5). Çalışmalarda bu yöntemlerin prognostik değeri gösterilmiştir (5,6). Ancak, DBBHL'lardaki genetik heterojenite nedeniyle geniş sekanslama yapılsa bile olguların yarısından fazlasının herhangi bir moleküler alt grup içinde yer almadığı bildirilmiştir (5). Ayrıca bu tekniklerin rutin pratikte kullanılmaya uygun olmamaları ve yüksek maliyetleri nedeniyle alternatif yöntemlere yönelinmiştir (4).

İmmünohistokimya (İHK), morfolojik ve genetik özellikler ve sınıflamalar arasında köprü oluşturan, rutin pratikte kullanımı ve erişilebilirliği kolay, maliyeti düşük bir yöntemdir (1,4). DBBHL tanısı verilmesinde ve geliştirilen çeşitli algoritmalar (en sık kullanılan Hans algoritması gibi) aracılığı ile hücre kökeni alt tiplendirmesi yapılmasında önemli bir destekleyicidir (4). Standart tedavi protokolü olan R-CHOP kemoterapisi verilen hastalarda prognostik değeri olan immünohistokimyasal belirteçleri belirlemek birçok çalışmanın konusu olmuştur (1). Günümüzde, İHK belirteçleri ile R-CHOP tedavisinden yanıt alınamayacak yüksek riskli hastaları öngörmek de önemli bir hedef haline gelmiştir (3). DBBHL'lardaki CD5 ve P53 pozitifliğinin birçok çalışmada kötü prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (6,7). MYC ve BCL2 aşırı ekspresyonunun izlendiği "double ekspresör" (DE) lenfoma olgularının, çoğunlukla ABC alt tipinde ve kötü prognozlu olduğu bildirilmiştir (2,4). Ayrıca, geliştirilen yeni, spesifik tedavi ajanlarına yanıt verecek olguları saptama konusunda da İHK'nın yol gösterici olabileceği düşünülmektedir (1). Örneğin, nüks eden veya standart tedaviye dirençli, CD30 pozitifliği gösteren DBBHL hastaları için anti-CD30 monoklonal antikor ilaç konjugatı olan brentuximab vedotinin fayda sağlayabileceği belirtilmektedir (8). Yakın zamanda geliştirilen selektif BCL2 inhibitörü venetoclax, DBBHL tedavisinde denenmektedir. Bir çalışmada bu tedaviye duyarlılığın, olgudaki BCL2 ekspresyon seviyesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9). Bu immünohistokimyasal belirteçleri içeren, var olan algoritmalara göre GEP ile

uyumluluğu daha yüksek, yeni algoritmalar üretmeye yönelik araştırmalar da artmaktadır.

Bu çalışmada nodal DBBHL,NOS olgularında BCL2, MYC, CD5, CD30 ve P53 ekspresyonlarının birbirleriyle, diğer histopatolojik bulgularla, diğer immünohistokimyasal belirteçlerle, klinik verilerle ve genel sağ kalım ile ilişkisinin incelenip bulguların literatür verileri ile karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Ayrıca, bu İHK belirteçlerini içeren, olguları moleküler biyolojilerine ve prognozlarına göre daha spesifik ve homojen gruplara ayıran, kolay uygulanabilen, yeni bir algoritma/sınıflandırma sistemi nerisi geliştirmek de hedeflenmiştir.



II. GENEL BİLGİLER

II.1. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS

DBBHL, dünya genelinde en sık görülen lenfoma tipidir (10). Diffüz gelişim paterni gösteren, normal lenfosit boyutunun iki katından daha büyük, orta ya da büyük boy B lenfoid hücrelerin neoplazmidir (11). NHL'ler için 2001 yılında REAL sınıflaması temel alınarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflaması oluşturulmuştur (12). 2008, 2016 ve 2022 yıllarında lenfoid sistem tümörleri için kullanılan DSÖ sınıflamaları güncellenmiş olup günümüzde 2022'de güncellenen DSÖ sınıflaması kullanılmaktadır (Tablo 1) (11).

Büyük B hücreli lenfoma grubu, çeşitli morfolojik ve genetik özelliklere sahip, farklı klinik davranış sergileyen tümörlerden oluşan geniş bir spektrumu kapsar (3). DSÖ 2022 sınıflamasında, spesifik genetik ve klinik özellikleri yanı sıra özel yerleşim yerlerine göre DBBHL,NOS'lar dışında 17 adet büyük B hücreli lenfoma alt grubu yer almaktadır (11). Bu sınıflamada da bir önceki sınıflamaya benzer şekilde, yalnızca daha spesifik bir antite için kriterleri karşılamayan büyük B hücreli lenfomalar "DBBHL,NOS" olarak sınıflandırılmıştır (11). DBBHL,NOS'lar kendi içerisinde heterojen özellikler gösterir ve tüm büyük B hücreli lenfoma olgularının yaklaşık %70'ini oluşturur (11). DSÖ, 2022 sınıflamasına göre DBBHL,NOS'lar; "germinal merkez B hücre tipi (GCB)" ve "aktive B hücre tipi (ABC)" olmak üzere iki moleküler alt tiptedir (11). Morfolojik alt tipler ise sık görülen sentroblastik, immünoblastik ve anaplastik alt tipler ve diğer nadir izlenen alt tiplerden oluşur (11). Genetik alt tip olarak ise "MYC ve BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren DBBHL" olgularını içerir (11).

2016 DSÖ sınıflamasında yer alan “MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma” grubu 2022 DSÖ sınıflamasında yalnızca MYC ve BCL2 yeniden düzenlenimi gösteren olguları içerecek şekilde daraltılmıştır (11,13). Yakın tarihli çalışmalarda, MYC ve BCL2 yeniden düzenlenimi gösteren olguların kendi içerisinde homojen morfolojik ve genetik özelliklere sahip olduğu görülmüştür (11). Buna karşın, MYC ve BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren olgular, farklı morfolojik ve genetik özellikleri ile daha geniş bir spektrumu temsil eder (11). Bu nedenle günümüzde bu olgular genellikle DBBHL,NOS grubu veya nadiren yüksek dereceli B hücreli lenfoma, NOS grubu içerisinde değerlendirilmektedir (11).

Tablo 1: DSÖ, 2022 sınıflamasına göre matür B hücre neoplazmları

Matür B hücre Neoplazmları
Preneoplastik ve neoplastik küçük lenfositik proliferasyonlar
Kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma (KLL/SLL)
Monoklonal B hücre lenfositozu
Splenik B hücreli lösemi ve lenfomalar
Splenik marjinal zon lenfoma
‘Hairy cell’ lösemi (Tüylü hücreli lösemi)
Belirgin nükleollü splenik B hücreli lösemi/lenfoma
Splenik diffüz kırmızı pulpa küçük B hücreli lenfoması
Lenfoplazmasitik lenfoma
Marjinal zon lenfoma
Mukoza ilişkili ektranodal marjinal zon lenfoma (MALT lenfoma)
Nodal marjinal zon lenfoma
Primer kutanöz marjinal zon lenfoma
Pediyatrik nodal marjinal zon lenfoma
Foliküler lenfoma
İn situ folliküler B hücreli neoplazi
Foliküler lenfoma
Pediyatrik tip folliküler lenfoma
Primer kutanöz follikül merkez lenfoması
“Mantle” hücreli lenfoma
İn situ “mantle” hücreli neoplazi
“Mantle” hücreli lenfoma
Lösemik, ektranodal “mantle” hücreli lenfoma
İndolan B hücreli lenfomaların transformasyonu
Büyük B hücreli lenfomalar
Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL),NOS

Tablo 1: DSÖ, 2022 sınıflamasına göre matür B hücre neoplazmları (DEVAM)
T hücre/histiositten zengin büyük B hücreli lenfoma
MYC ve BCL2 yeniden düzenlenimi gösteren DBBHL/ yüksek dereceli B hücreli lenfoma
ALK pozitif büyük B hücreli lenfoma
IRF4 yeniden düzenlenimi gösteren büyük B hücreli lenfoma
11q aberasyonu gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma
Lenfomatoid granülomatozis
EBV pozitif DBBHL
Kronik yangı ilişkili DBBHL
Fibrin ilişkili büyük B hücreli lenfoma
Sıvı yüklenmesi ilişkili büyük B hücreli lenfoma
Plazmablastik lenfoma
İmmün ayrıcalıklı bölgelerin primer büyük B hücreli lenfoması
Primer kutanöz DBBHL, bacak tipi
İntravasküler büyük B hücreli lenfoma
Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma
Mediastinal gri zon lenfoma
Yüksek dereceli B hücreli lenfoma, NOS
Burkitt lenfoma
KSHV-HHV8 ilişkili B hücre lenfoid proliferasyon ve lenfomaları
Primer efüzyon lenfoması
KSHV-HHV8 pozitif DBBHL
KSHV-HHV8 pozitif germinotrofik lenfoproliferatif hastalık
İmmün yetmezlik/disregülasyonu ilişkili lenfoid proliferasyonlar ve lenfomalar
İmmün yetmezlik/disregülasyon zemininde gelişen hiperplaziler
İmmün yetmezlik/disregülasyon zemininde gelişen polimorfik lenfoproliferatif hastalıklar
EBV pozitif mukokutanöz ülser
İmmün yetmezlik/disregülasyon zemininde gelişen lenfomalar
Kalıtsal immün yetmezlikler ile ilişkili lenfoid proliferasyonlar ve lenfomalar

II.1.1. Epidemiyoloji:

Non-Hodgkin lenfoma (NHL) dünyada kanser tanısı ve kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %3'ünü oluşturan, yıllık 150000 yeni tanı alan olgu sayısı ile en sık görülen hematolojik malignitedir (14,15). İnsidansı 1975 yılından bu yana %168 artmıştır (14). NHL'lerin yaklaşık %85-90'ı B hücre, kalanı T hücre ve NK hücresi kökenlidir (16). Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), erişkin yaştaki tüm NHL'lerin %25-40'ını oluşturan ve en sık görülen alt tipidir (1). Tanı anında ortalama hasta yaşı 67 olup olguların %57'si 65 yaş üstüdür (14). Erkeklerde kadınlara oranla hafifçe daha sık görülür (17,18). DBBHL

olgularının %15-20'si spesifik bir alt gruba aitken kalan %80-85 olgu DBBHL, NOS olarak sınıflandırılır (3).

II.1.2. Etiyoloji:

DBBHL olgularının çoğunda etiyoloji bilinmez (19). Genellikle de novo (primer) olgular görülmekle birlikte kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma (Richter transformasyonu), folliküler lenfoma, marjinal zon lenfoma ya da nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma gibi daha az agresif lenfomalardan transformasyon sonucu sekonder olarak gelişebilirler (2). Ailede lenfoma öyküsü bulunması, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, obezite ve bazı çevresel maruziyetler DBBHL'lar için risk faktörüdür (19). Kemoterapi, radyoterapi öyküsü, transplant hastalarında kullanılan immünsüpresif ilaçlar da DBBHL gelişimi riskini artırır (14).

Son yıllarda DBBHL ve virüsler arasındaki ilişkileri inceleyen çalışma sayısı artmıştır. DBBHL ile hepatit C virüsünün (HCV) ilişki olduğu bildirilmektedir (20). HCV prevalansının yüksek olduğu bölgelerde düşük olanlara göre DBBHL görülme sıklığının daha yüksek olması bu ilişkiyi desteklemektedir (21). 206 DBBHL olgusunu içeren bir çalışmada %10,7 olguda HCV pozitifliği bildirilmiştir (22).

EBV enfeksiyonu, neoplazi gelişiminde anahtar role sahip olan immünsüpresyon ve kronik antijenik aktivasyon ile ilişkili olup DBBHL dahil olmak üzere geniş bir lenfoproliferatif hastalık spektrumu ile ilişkilidir (23). İmmün yetmezliği bulunmayan DBBHL olgularında EBV enfeksiyonu prevalansı Batı ülkelerinde %5, Asya ve Güney Amerika ülkelerinde %10-15 dolayında bildirilmiştir (24,25). İmmünsüpresif hastalarda izlenen DBBHL'larda EBV pozitifliği sporadik olgulara oranla daha fazladır (23). Tümör hücrelerinde EBV pozitifliği görülen olgularda EBV-pozitif DBBHL, kronik inflamasyon ilişkili DBBHL veya lenfomatoid granülomatozis gibi tanılar düşünülmelidir (2).

II.1.3. Lokalizasyon:

Primer ektranodal non-Hodgkin lenfoma (PE-NHL), özellikle nodal ve ektranodal tutulumun birlikte görüldüğü olgular için çelişkili tanımlara sahiptir (26,27). Bazı çalışmalarda yalnızca ektranodal tutulumun izlendiği ve görüntülemelerde lenfadenopati tespit edilmeyen olgular şeklinde tanımlanırken diğer çalışmalarda bölgesel veya uzak lenf nodu tutulumu olan olgular da tanıma dahil edilmiştir (28,29). DBBHL nodal ya da ektranodal hastalık şeklinde görülebilir. Primer ektranodal DBBHL'lar tüm DBBHL olgularının yaklaşık %40'ını oluştururlar (30). Bunlar en sık gastrointestinal sistemde görülmekle birlikte daha nadiren santral sinir sistemi (SSS), tiroid, meme, kadın genital sistemi, testis, deri, sürrenal, pankreas, kemik ve diğer organlarda da izlenebilir (31). DBBHL'larda periferik kan tutulumu nadirdir (2).

DBBHL olgularının yaklaşık üçte birinde kemik iliği tutulumu saptanır (32). Bu tutulum uyumsuz (kemik iliğinde düşük dereceli lenfoma) veya uyumlu (kemik iliğinde büyük hücreli lenfoma) şekilde izlenebilir (33). Flow sitometri, immünohistokimyasal çalışmalar ve moleküler genetik yardımcı tekniklerin kullanımı minimal kemik iliği tutulumu gösteren olguların saptanmasını kolaylaştırılabilir (34,35). PET-BT, kemik iliği tutulumu konusunda DBBHL olgularının %6'sında yanlış negatiflik gösterir (32). Çalışmalar PET-BT'nin uyumlu kemik iliği tutulumunu göstermede sensitif olduğunu, fakat uyumsuz tutulumu göstermede her zaman yeterli olmadığını göstermiştir (36-38). Lugano sınıflamasında PET-BT'nin kemik iliği tutulumunu saptamak için yeterli olduğu, gerekli görülmesi durumunda tutulumun biyopsi ile konfirme edilebileceği belirtilmiştir (39).

II.1.4. Klinik Özellikler:

Olgular sıklıkla nodal ve/veya ektranodal yerleşimli, hızlı büyüyen kitle ya da kitleler şeklinde prezente olur (3). Tanı anında %43 olgu evre I-II'dir (15). Tanı anındaki evrelemede PET-BT'nin kullanılmaya başlanması, erken

evrede saptanan olgu oranında düşüşe neden olmuştur (2). Hastaların çoğu tanı anında asemptomatiktir, ancak yaklaşık üçte birinde B semptomları (ateş, gece terlemesi, kilo kaybı) görülebilir (40). Ekstranodal tutulumlu olgularda tutulan yerleşime bağlı semptomlar görülebilir (17,18).

II.1.5. Morfolojik Özellikler:

Lenfoma hücreleri büyük boyutlu olup normal nodal veya ekstranodal yapıyı tamamen veya parsiyel olarak yok eden, diffüz gelişim paternine sahiptir (41). Parsiyel nodal tutulum interfolliküler ve/veya daha az sıklıkla sinüzoidal olabilir (2). Nodal tutulumlu olgularda sıklıkla perinodal infiltrasyon da saptanır (2). Büyük hücreler histiosit boyutunda veya rezidü normal lenfositin iki katından büyük boyutlu hücreler şeklinde tanımlanır (4). Lenfoma hücreleri fibrotik bantlar ile gruplara ayrılmış şekilde izlenebilir veya daha geniş sklerotik alanlar görülebilir (4). Coğrafi nekroz alanları izlenebilir (3). Bazı olgularda apoptotik hücreler belirgin, mitotik oran yüksek olabilir (3). Olguların yaklaşık %10'unda "yıldızlı gökyüzü" manzarası görülebilir (3). Tüm olgularda zeminde değişen oranlarda reaktif T hücreleri ve histiositler bulunur (4).

DBBHL'ların sitolojik özellikleri çeşitlilik gösterir. Morfolojideki çeşitlilik, bazı olguların orta boyutlu hücrelerden baskın olabilmesi ve ayırıcı tanıya giren çok sayıda antitenin bulunması nedeniyle tanı verilirken ek incelemelerin de yapılması gerekir (2). Birçok morfolojik varyant tanımlanmış olup bunlardan en sık görülenler sentroblastik, immünoblastik ve anaplastik varyantlardır (42).

Sık görülen morfolojik varyantlar:

a. Sentroblastik varyant: Sentroblastlar; orta-iri boyutlu, oval ya da yuvarlak, veziküle nükleuslu, genellikle nükleer membrana bitişik 2-4 nükleolü bulunan hücrelerdir (4). Bazofilik ya da amfofilik, dar sitoplazmaya sahiptir. Sentroblastik varyant en sık görülen (tüm olguların yaklaşık %80'i) varyanttır (4). Bazı olgular monomorfik

morfolojide olup %90'dan fazla sentroblast içerirken bazıları sentroblast, sentrosit ve immünoblastları beraber içerecek şekilde polimorfik özelliktedir (3). Sentroblastik olgular genellikle GCB alt tipindedir (43).

b. İmmünoblastik varyant: Klasik olarak neoplastik hücrelerin %90'dan fazlasının immünoblastlardan oluştuğu varyant olarak tanımlanır (44).

Tüm olguların yaklaşık %8-10'unu oluşturur (3). İmmünoblastlar, santral yerleşim gösteren tek nükleollü, orta-geniş bazofilik sitoplazmalı, iri hücrelerdir (4). İmmünoblastlar bazen plazmasitoid diferansiasyon gösterebilir (2). İmmünoblastik ve sentroblastik varyant ayrımının gözlemler/gözlemciler arasında tekrarlanabilirliği düşüktür (45,46).

c. Anaplastik varyant: Daha nadir (yaklaşık %3 oranında) görülen varyanttır (3). Düzensiz konturlu, pleomorfik ya da bizar nükleuslu, iri/çok iri hücrelerden oluşur (4). Bu hücreler Hodgkin Reed-Sternberg (HRS) hücrelerini, anaplastik büyük hücreli lenfoma hücrelerini veya indifferansiye bir karsinomun hücrelerini taklit edebilir (2,4). Sinüzoidal ve/veya koheziv gelişim paterninin sık görülmesi nedeniyle indifferansiye karsinom ile benzer morfoloji sergileyebilir (47).

Nadir görülen morfolojik varyantlar:

Miksoid stroma ya da fibriler matriks içeren, psödorozet formasyonu oluşturan nadir DBBHL olguları bulunmaktadır (2). Bazı olgularda hücreler içi görünümlü (sarkom benzeri) veya taşlı yüzük morfolojisinde (gastrik karsinom benzeri) izlenebilir (3).

II.1.6. İmmünofenotipik Özellikler:

DBBHL'lardaki neoplastik hücrelerde tipik olarak CD19, CD20, CD22, CD79a gibi pan-B hücre belirteçlerinin ve PAX5, OCT2, BOB1 gibi B hücre transkripsiyon faktörlerinin birlikte ekspresyonu görülür (41,48). Bazı olgularda bu belirteçlerin bir ya da birden fazlasında ekspresyon kaybı izlenebilmektedir (2). Özellikle anti-CD20 (rituximab) ya da anti-CD22

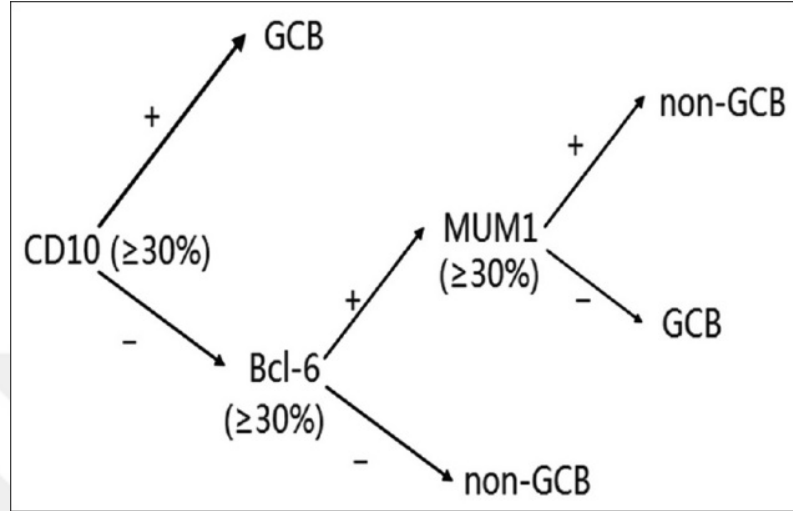
antikorları ile tedavi edilen olgularda ve rekürren hastalıklarda CD20 veya CD22 ekspresyon kaybı daha sık görülür (49). Olguların %50-75'inde yüzey ve sitoplazmik immünglobulin (en sık IgM, daha az sıklıkla IgG ve IgA) ekspresyonu gözlenebilir (50). Sitoplazmik immünglobulin varlığı CD38 ve CD138 gibi plazma hücre belirteçlerinin ekspresyonu ile ilişkili değildir (50). Fakat nadiren CD20 pozitif hücrelerde CD38 ve CD138 pozitifliği de saptanabilir (2).

DBBHL vakalarının yaklaşık %10-15'i (özellikle anaplastik varyant) CD30 pozitifdir ve standart tedavi ile başarı sağlanamayan bu tip olgularda tedavide anti-CD30 ajanların rolü olabilir (51,52). Neoplastik hücrelerin çoğunluğunda EBV pozitifliği görülen olgularda EBV pozitif DBBHL tanısı düşünülmelidir (2). Bu olguların çoğunda CD30 pozitifliği görülür (2). DBBHL olgularının %5-10'unda CD5 ekspresyonu gözlenir (53,54). DBBHL'larda CD5 pozitifliği çoğunlukla de novo olgularda görülmekte olup nadiren kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfomadan (KLL/SLL) gelişen olgularda da görülebilmektedir (6). CD5 pozitif DBBHL, 'mantle' hücreli lenfomanın blastoid veya pleomorfik varyantından Siklin D1 ve SOX11 negatifliği ile ayrılabilir (55).

DBBHL'larda MYC ve BCL2 ekspresyon oranları, pozitifliği tanımlamak için kullanılan eşik değere bağlı olarak değişkenlik gösterir (56). Çoğu çalışmaya göre tümör hücrelerinde BCL2 ile $\geq$ %50, MYC ile $\geq$ %40 oranında boyanma pozitif olarak kabul edilmektedir (57,58). BCL2'nin farklı çalışmalarda %47-84 arasında değişen pozitiflik oranları bildirilmiştir (59-62). Bu farklılığın pozitiflik için kullanılan eşik değer yanı sıra kullanılan antikora bağlı olabileceği düşünülmektedir (63). Yaklaşık %20-35 olguda BCL2 ve MYC'in birlikte aşırı ekspresyonu görülür (1). "Double ekspresör" olarak adlandırılan bu olgular genellikle ABC alt tipindedir (57,64).

DBBHL'larda CD10 ekspresyonu %30-50, BCL6 ekspresyonu %60-90, MUM1 ekspresyonu %35-65 oranında bildirilmektedir (65-68). Normalde germinal merkez B hücrelerinde BCL6 ve MUM1'in birlikte ekspresyonu beklenmezken DBBHL'ların %50'sinde bu iki belirteç birlikte eksprese edilir (69). Olgular CD10, BCL6 ve MUM1 belirteçlerinin kullanıldığı Hans

algoritması ile GCB ve non-GCB alt tiplerine ayrılmaktadır (70). Bu algoritmaya göre tümör hücrelerinde boyanma oranı $\geq 30\%$ ise belirteç pozitif olarak kabul edilmektedir (Şekil 1) (70).



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

Günümüzde en sık kullanılan Hans algoritması dışında, Choi ve Tally algoritmaları ile de olguların immünohistokimyasal belirteçler ile gen ekspresyon profillerine en uyumlu şekilde sınıflandırılmaları hedeflenmiştir (71). Bu iki algoritma klasik belirteçler yanı sıra GCET1, LMO2, FOXP1 gibi belirteçleri de içermektedir (71). FOXP1 ekspresyonu DBBHL'ların %20'sinde görülmekte olup germinal merkez fenotipinde olmayan olgularda izlenir (72). GCET1, GCB alt tipi ile yüksek oranda korelasyon gösteren bir germinal merkez belirteçidir (71). Farklı çalışmalarda tüm olguların %20-50'sinde eksprese edildiği bildirilmiştir (73,74). LMO2 ise DBBHL'ların %40-55'inde eksprese edilen ve diğer germinal merkez belirteçleri ile yüksek oranda korelasyon gösteren bir belirteçtir (73-75).

Ki67 proliferasyon indeksi genellikle %40'ın üzerinde olup bazı olgularda %90'ın üzerine çıkabilmektedir (76,77). P53 pozitifliği %20-60 olguda görülmekte olup mutasyon oranına göre immünohistokimyasal pozitiflik oranı daha yüksektir (78,79).

II.1.7. Hücre Kökeni:

DBBHL'lar germinal merkez kökenli periferik matür B hücrelerden (GCB alt tipi) veya germinal merkez dışı/erken plazmablastik-postgerminal merkez kökenli hücrelerden (ABC alt tipi) gelişirler (2). Bu iki hücre kökeni gen ekspresyon profillerindeki (GEP) farklılıklara dayanarak belirlenmiştir (80). Bu iki grubun R-CHOP tedavisi sonrası sağ kalım oranları da farklılık gösterir ve bu nedenle prediktif öneme sahiptirler (1).

Hücre kökeni alt tiplendirmesi:

Alizadeh ve arkadaşları tarafından yaklaşık 20 yıl önce yapılan kapsamlı GEP çalışmasında GCB, ABC ve sınıflandırılmayan olmak üzere üç farklı biyolojik alt tip tanımlanmıştır (81). GCB ve ABC alt tiplerinin birbirine göre oranı coğrafi konuma, ortalama yaş grubuna ve belirlemede kullanılan methoda göre değişmekle birlikte sırasıyla %60 ve %40 civarındadır (64). Yaklaşık %10-15 olgu ise sınıflandırılmayan gruptadır (81,82). Klinik pratikte kullanılmak üzere birçok immünohistokimyasal algoritma geliştirilmiştir (71). Fakat bunlar çoğunlukla olguları iki gruba ayırır (83,84). En sık kullanılan Hans algoritması ile de olgular germinal merkez ve germinal merkez dışı olmak üzere iki alt gruba ayrılmakta olup sınıflandırılmayan gruptaki olgular tanımlanmaz (70). Rutin pratikte yaygın kullanılmalarına karşın, immünohistokimyasal algoritmalar tekrarlanabilirlikleri ve GEP ile korelasyonları konusunda yeterli olmayabilmektedir (1,84). Örneğin Hans algoritması orijinal yayına göre GEP ile yalnızca %76 uyumluluk göstermiştir (70). Yakın zamanda yürütülen çalışmaların faz I/II verileri, özellikle ABC alt tipindeki olguların R-CHOP tedavisine bortezomib, lenalidomid ve ibrutinib eklenmesinden fayda gördüklerini göstermektedir (85-87). Bu nedenle, 2008 DSÖ sınıflamasında kabul edilen hücre kökenine göre tiplendirme, 2016 DSÖ sınıflamasında zorunlu hale getirilmiştir (1,2). GEP'e göre sınıflandırma için teknik imkânlar

yeterli değilse, immünohistokimyasal algoritmaların alternatif yöntem olarak kullanılabileceği ve kullanılan algoritmanın raporda belirtilmesi gerektiği bildirilmiştir (2).

II.1.8. Genetik özellikler:

Antijen reseptör genleri:

İmmünglobulin ağır ve hafif zincir genlerinde yeniden düzenlenimler ve değişik bölgelerde somatik hipermutasyonlar saptanabilir (88).

Mutasyon bölgeleri:

DBBHL'larda klinik önemi olan birçok mutasyon tanımlanmış olup bunlar hücre kökenine göre yapılan sınıflama ile kısmen korelasyon gösterir (89). ABC alt tipinde aberran B hücre antijen reseptör (BCR) sinyali ve MYD88 aktivasyonu aracılığıyla gelişen NF- κ B yolağı aktivasyonu oldukça tipiktir (90). Bu yolakta bulunan CD79A/B (%20), CARD11 (%10) ve MYD88 (%30-40) genlerinde görülen mutasyonlar bu alt tip için karakteristiktir (91-93). MYD88 mutasyonları kötü klinik seyir ve prognoz ile ilişkilidir (94-96).

GCB alt tipi ise histon modifikasyon ve asetilasyonlarını içeren mutasyonlar ile ilişkilidir (89). EZH2'yi etkileyen heterozigot somatik fonksiyon kazanım nokta mutasyonları GCB alt tipine özgü olup %30 olguda izlenir (89). Ayrıca hücre motilite düzenleyicisi GNA13 mutasyonu da GCB alt tipinde siktir (44).

GCB ve ABC alt tipinde ortak izlenen bazı somatik mutasyonlara TP53'ü inaktive edici mutasyonlar, immünsürveyansta rol oynayan genlerdeki (B2M, CD58) mutasyonlar ve BCL6'nın onkogenik aktivasyonu örnek verilebilir (44). Epigenetik düzenleyicilerdeki (CREBBP/EP300, KMT2D/C [MLL2/3], MEF2B) mutasyonlar yanı sıra MYC lokusundaki kopya sayısı kazanımları ve amplifikasyonlar her iki alt tipte görülebilmekle birlikte, GCB alt tipinde biraz daha sık izlenir (1,44,64,97,98).

DBBHL'larda kromozom kazanımları ve delesyonları da sıkça görülmekte olup bunlar da hücre kökenine göre farklılıklar gösterir (99,100). GCB alt tipinde 2p16 ve 8q24 kazanımı veya amplifikasyonu ile 1p36 ve 10q23 delesyonları sık izlenir (2). ABC alt tipinde ise 3q27, 11q23-4, 18q21 kazanımları ile 6q21, 9p21 delesyonları sıktır (2).

Literatürde ayrıca, ektranodal DBBHL olgularının yerleşim yeri ve alt tiplerine göre ortak genetik mutasyonlarını saptamayı hedefleyen birçok çalışma bulunmaktadır (2).

Kromozomal translokasyonlar:

DBBHL'larda BCL2 ve MYC'i içeren translokasyonlar sırasıyla %20 ve %5-10 olguda bulunur (89). MYC translokasyonları Burkitt lenfomadan farklı olarak karmaşık bir karyotip ile ilişkilidir (101,102). Çoğunlukla immünglobulin lokuslarından biriyledir, ancak BCL6 lokusu veya PAX5 geni yakınındaki 9p13'teki bir kromozomal bölge gibi diğer lokuslar ile de olabilmektedir (103). MYC translokasyonları ABC ve GCB alt tiplerinde benzer oranda izlenir (2). Folliküler lenfomaların ayırıcı özelliği olan BCL2 translokasyonu, t(14;18), olguların yaklaşık %20-30'unda izlenmekte olup BCL2 ve CD10 protein ekspresyonları ile yakın ilişkilidir (89). BCL2 translokasyonu GCB alt tipinde daha sık (yaklaşık %40 olguda) izlenir (64,96,104-107).

MYC translokasyonuna sahip DBBHL olgularının yaklaşık yarısında BCL2 ve/veya BCL6 translokasyonu da gözlenir (64). Bu olgular DSÖ, 2016 sınıflamasında 'MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfomalar' başlığı altında ayrı bir tip olarak tanımlanmıştır (64,108-110). MYC translokasyonu içeren çoğu DBBHL olgusunda hem MYC hem BCL2 protein aşırı ekspresyonu birlikte görülür ve bu olgular "double ekspresör" olarak adlandırılır (57,64,111).

En yaygın translokasyon olan BCL6 translokasyonları ABC alt tipinde daha sık olup %30 olguda bulunur (89,112). BCL6 translokasyonları birçok farklı partner ile izlenebilir ve %5-10 olguda immünglobulin (IG) ilişkilidir (113,114).

DBBHL'larda IG ile ilişkili, diğer partner genleri (BCL3, BCL8, BCL11A, CCNE1, CCND3, EBF1, FOXP1, IRF8, NFKB2, RCK, SPIB ve TNFSF13) içeren ve daha nadir görülen birçok translokasyon daha bulunmaktadır (89). Diğer nadir translokasyonlar ise GCB alt tipinde izlenen TBL1XR1 translokasyonu ile primer testiküler DBBHL'larda sık görülen CD274 (PDCD1LG1 ya da PD- L1) ve PDCD1LG2 (PD-L2) yeniden düzenlenimleridir (115,116).

II.1.9. Prognostik Faktörler:

Klinik özellikler:

DBBHL tedavisinde R-CHOP kullanılmaya başlanması sonrası 5 yıllık hastalıksız ve genel sağ kalım oranları yaklaşık %70 olmuştur (64,117,118). Buna karşın, hastaların yaklaşık %30-40'ında nüks saptanmaktadır (3). Hasta yaşı ve hastalığın evresi sağ kalımı etkileyen en önemli faktörlerdendir. Uluslararası prognostik indeks (IPI skoru), 1993 yılından beri agresif Non-Hodgkin lenfomaların prognozunu tahmin etmede kullanılan bir skorum sistemi (119) (Tablo 2). Yaş, serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans durumu (Tablo 3), Ann-Arbor evresi (Tablo 4) ve ektranodal tutulum varlığı olmak üzere beş klinik parametreyi içerir (120).

IPI skorlamasında her bir faktörün varlığı için 1, yokluğu için 0 puan verilmekte olup beş parametreden elde edilen toplam sonuç; 0-1 puan arası: düşük risk, 2 puan: düşük-orta risk, 3 puan: orta-yüksek risk ve 4-5 puan: yüksek risk grubu olarak sınıflandırılır (120). IPI skoru 0-1, 2, 3 ve 4-5 olan olgularda 3 yıllık genel sağ kalım oranı sırasıyla %91, %81, %65 ve %59 olarak bildirilmiştir (121).

Revize IPI skorlamasında (R-IPI) aynı faktörler ve puanlama sistemi kullanılmakla birlikte, prognostik gruplar farklılık göstermektedir. R-IPI skorlamasına göre risk skoru 0 olan hastalar 'çok iyi', 1 ve 2 olanlar 'iyi', 3, 4 ve 5 olanlar ise 'kötü' gidişat gösteren prognostik grup olarak sınıflandırılır (122). R-IPI skorum sistemine göre 'çok iyi' prognostik gruptaki hastalarda

progresyonsuz sağ kalım oranı %94, 'iyi' prognostik grupta %80, 'kötü' prognostik grupta ise %53 olarak bildirilmiştir (122).

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)	
Birden 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 (Revize-IPI)	
0	Çok iyi
1-2	İyi
3-4-5	Kötü

LDH: Laktat dehidrogenaz, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

Tablo 3: ECOG performans durumu skalası

0	Asemptomatik, normal aktivite
1	Semptomatik, ancak hastanın günlük işlerini etkilemiyor
2	Semptomatik, günün %50'den azını yatakta geçiriyor, kendi bakımını yapabilir, ancak düzenli bir işte çalışamaz
3	Semptomatik, günün %50'sinden fazlasını yatakta geçiriyor, kendi bakımını yapamıyor
4	Yatağa bağımlı hasta

Tablo 4: 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 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'dan fazlasının kaybı	

Bazı yazarlarca bu iki IPI skorum sisteminin, daha agresif seyretme eğiliminde olan ve bu yüzden ek tedavi düşünülmesi gereken olguların ayırımında yetersiz olduğu düşünülmüştür (123). Bu duruma çözüm getirmek amacıyla "National Comprehensive Cancer Network (NCCN)-IPI" skoru geliştirilmiştir (Tablo 5) (124). Bu skorlamada artan yaş ve LDH değerleri, artan skorlar ile değerlendirilir ve spesifik yüksek riskli ektranodal tutulum yerleri belirtilir (124).

Tablo 5: National Comprehensive Cancer Network (NCCN) IPI Skoru

Yaş, yıl	
>40-≤60	1
>60-≤75	2
>75	3
LDH oranı (LDH seviyesi/normal LDH seviyesi üst limiti)	
>1-≤3	1
>3	2
Yüksek Ann Arbor evresi (Evre III-IV)	1
Ektranodal bölge tutulumu*	1
ECOG performans durumu ≥ 2	1

* Kemik iliği, SSS, karaciğer/GI sistem veya akciğer

Çok merkezli bir çalışmada, R-CHOP tedavisi alan agresif B lenfoma olgularında (%86'sı DDBHL); IPI, R-IPI ve NCCN-IPI'nin genel sağ kalımı tahmin edebilme oranları kıyaslanmıştır (125). En yüksek ve en düşük riskli gruplar arasında genel sağ kalım açısından en belirgin, anlamlı fark NCCN-IPI skorlaması ile bulunmuş, ancak değerlerin IPI skorlaması ile bulunan değerlere oldukça yakın olduğu belirtilmiştir (125).

Erkek cinsiyet, büyük tümör kitlesi (≥ 10 cm), D vitamini eksikliği, düşük vücut kitle indeksi, serum serbest hafif zincirlerin yüksekliği, monoklonal serum IgM proteinleri, düşük mutlak lenfosit-monosit oranı ve uyumlu kemik iliği tutulumu kötü prognozla ilişkili diğer faktörler olarak kabul edilmektedir (126-134). Uyumlu kemik iliği tutulumu ve çok sayıda ektranodal tutulumun görülmesinin artmış SSS yayılım riski ile ilişkili olup SSS profilaksisi için endikasyon oluşturduğu belirtilmiştir (11).

Morfoloji:

Bazı çalışmalarda immünohistokimyasal varyantların kötü prognozla ilişkili olduğu (46,135,136), buna karşın birçok çalışmada prognostik farklılığın bulunmadığı bildirilmiştir (11).

Hücre kökeni:

Çalışmaların büyük çoğunluğunda, standart tedavi verilen olgularda ABC alt tipi DBBHL'lar, GCB alt tipi DBBHL'lara göre daha kötü prognoza sahiptir (11). Hücre kökenini belirlemede GEP ile Hans algoritmasını kıyaslayan birçok çalışmada, GEP'in genel sağ kalımı öngörmeye daha başarılı olduğu sonucuna varılmıştır (137,138).

İmmünofenotip:

DBBHL'larda bazı immünohistokimyasal belirteçlerin prognostik etkisinin olduğu bildirilmiş, ancak birçoğu için farklı çalışmalarda tutarlı sonuçlar elde edilememiştir (139-141). CD5 ekspresyonu, özellikle Asyalı hastalarda kötü prognoz ile ilişkilendirilmiş olup ABC alt tipinde daha sık görülmektedir

(142,143). Bazı yayınlarda BCL2 için bildirilen kötü ve BCL6 için bildirilen iyi prognostik etki, CHOP KT rejimine rituksimab eklenmesi sonrası değişmiştir (144,145). Tüm DBBHL olgularının yaklaşık %30'unu oluşturan "double ekspresör" immünprofilindeki olgular, çalışmaların çoğunluğunda daha kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (146,147). Bazı çalışmalarda ise bağımsız bir kötü prognostik risk faktörü olmadığı bildirilmiştir (148). DE fenotipteki olgularda SSS tutulumu riskinin arttığı da belirtilmiştir (149). Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma olguları haricindeki EBV negatif DBBHL'larda, CD30 ekspresyonunun (%10-20 olguda izlenir) iyi prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır (51,52). Anti-CD30 ajanların bulunması nedeniyle CD30 pozitifliğinin saptanmasının tedavi belirlemede de önemi vardır (52). Literatürde DBBHL'larda Siklin D1 pozitifliğinin kötü prognozla ilişkili olduğunu bildiren yayınlar yanı sıra prognostik etkisinin olmadığını bildiren çalışmalar yer almaktadır (150).

Bu tip belirteçlerin tümörün biyolojisini yansıttığı, fakat prediktif olmadıkları söylenmektedir (2). Günümüzde prediktif önemi olan ve tedavi için yol gösterici belirteçleri tespit etmek esas hedef haline gelmiştir (2). Read ve arkadaşlarının yaptığı meta-analizde, GEP ile belirlenen hücresel kökenin (GCB ve ABC subtipleri) prognostik öneminin olduğu, immünohistokimyasal algoritmaya dayanan yöntemin (Hans algoritması, GCB ve non-GCB alt grupları) ise prognozu yansıtmadığı bildirilmiştir (151). Bu çalışmaya göre GEP ile belirlenen GCB alt tipindeki olguların sağ kalımlarının ABC alt tipindekilere göre anlamlı derecede daha iyi olduğu saptanmıştır (151).

Proliferasyon:

Ki67 proliferasyon indeksinin prognozla ilişkisini inceleyen farklı çalışmalarda birbiri ile çelişen sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmalarda prognozu etkileyen hasta yaşı, ECOG performans durumu, ektranodal tutulum gibi klinik bulgular ve olguların hücre kökenleri standardize edilmediğinden değerlendirmeler sağlıklı yapılamamıştır (152,153).

Genetik:

Bazı çalışmalarda, R-CHOP ile tedavi edilen GCB alt tipindeki DBBHL olgularında BCL2 translokasyonunun varlığı kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur (96,104,106). ABC alt tipindeki olgularda BCL2 kopya sayısı artışı görülmesi kötü prognozu öngörür (97). BCL6 translokasyonu ABC alt tipinde daha sık izlenir ve bazı çalışmalarda daha yüksek sağ kalım ile ilişkisi gösterilmiştir (112,154,155). Yaklaşık %20 olguda izlenen MYC kopya sayısı artışı veya amplifikasyonu bazı çalışmalarda kötü prognozla ilişkilendirilmiş olmakla birlikte, çalışmaların çoğunda prognostik öneminin olmadığı bildirilmiştir (97,156,157). MYC translokasyonları olguların %8-14'ünde görülür ve düşük sağ kalım göstergesidir (102,109,158). MYC yanı sıra BCL2 veya BCL6 gen yeniden düzenlenimine sahip olgular "double hit" lenfomalar (DHL) olarak adlandırılır (2). MYC ve BCL2 DHL'lar GCB alt tipinde daha sık görülür ve düşük sağ kalım ile ilişkilidir (64,102,110,159). MYC ve BCL6 translokasyonlarının birlikteliği ise ABC alt tipinde daha sık görülmekte olup prognostik önemi tartışmalıdır (160-162). DSÖ'nün 2016 sınıflaması ile "double hit" ve "triple hit" lenfomalar DBBHL,NOS'lardan ayrılarak "MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfomalar" olarak sınıflandırılmaya başlanmıştır (11). TP53 kaybı ve/veya mutasyonları izlenen olgularda sağ kalım düşüktür (163,164). Ayrıca, kromozom 9p21 üzerindeki CDKN2A lokusunun delesyonu ve trizomi 3'ün de düşük sağ kalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (91,165).

Mikroçevre:

Gen ekspresyon profili çalışmalarında, DBBHL'nın tümör mikroçevresindeki non-neoplastik hücreler ve hücre dışı matriks bileşenlerinin prognostik rolü olduğunu gösterilmiştir (166). "Stromal-1" (hücre dışı matriks ve histiositik infiltrasyon) ve "stromal-2" (tümördeki kan damarı yoğunluğu/anjiyogenez) imzalarının prognostik öneminin olduğu bildirilmiştir (117). Mikroçevreyi temsil eden bir gen olan TNFRSF9 ekspresyonunun da iyi prognozu öngördüğü gösterilmiştir (167). Ayrıca majör doku uygunluk kompleksi sınıf II (MHC II) kaybının tümörü infiltre

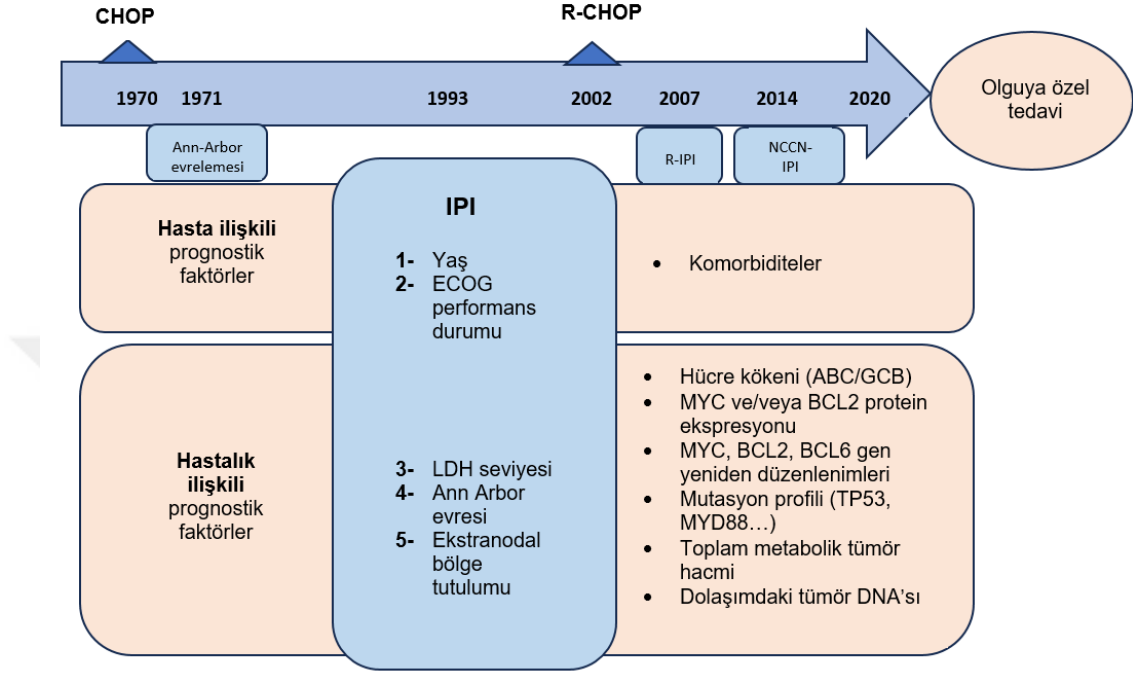
eden CD8+ T lenfositlerin azalmasıyla ve kötü prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır (168). İmmün sistemden kaçış mekanizmalarından olan PD-L1'in fazla ekspresyonu ABC alt tipinde daha sık görülmektedir ve düşük sağ kalım ile ilişkilidir (56,169).

II.1.10. Tedavi

Geçmişten beri DBBHL,NOS tedavisinin dayanak noktası olan CHOP kemoterapi rejimine, anti-CD20 antikoru olan rituksimabın eklenmesi ile sağ kalım süreleri önemli ölçüde uzamıştır (170). Standart tedavi haline gelen R-CHOP rejiminin kür yoğunluğunun artırılmasıyla, hematopoetik kök hücre transplantasyonu ve hedefe yönelik geliştirilen yeni tedavi ajanlarının eklenmesiyle standart tedavi güçlendirilmeye çalışılmaktadır (171) (Şekil 2). Günümüzde hücre kökeni ve tümör gelişimindeki mutasyon yolları, yeni tedavi geliştirme çalışmalarının odak noktası haline gelmiştir (172). DBBHL,NOS'ların ABC alt tipinde izlenen aşırı aktif NF-κB sinyalizasyonuna etki ederek bu alt tipteki kötü prognostik sonuçları değiştirmek amacıyla birçok çalışma yapılmış ve yeni ajanlar geliştirilmiştir (172).

Bortezomib, NF-κB inhibitörü IκBα'nın parçalanmasını önleyen bir proteazom inhibitörüdür (173). Tedavisinde R-CHOP'a ek olarak bortezomib kullanılan GCB dışı olgularda, GCB hastaları ile benzer hastalıksız ve genel sağ kalım bildirilmiştir (174). Bruton tirozin kinaz inhibitörü olan ibrutinib, BCR sinyalizasyonu ve NF-κB aktivasyonu üzerinde etkili bir diğer ajandır (175). Lenalidomid, IRF4/MUM1'i aşağı regüle eden ve BCR'ye bağımlı NF-κB aktivitesini azaltan, immünomodülatör bir ajandır (176). 60 DBBHL olgusunu içeren bir çalışmada R-CHOP yanı sıra lenalidomid tedavisi verilen hastalardaki 2 yıllık genel sağ kalım GCB ve non-GCB olgular için sırasıyla %75 ve %83 olarak bulunmuştur. Kontrol grubundaki, yalnızca R-CHOP tedavisi verilen GCB ve non-GCB olgularda ise bu oran sırasıyla %78 ve %46 olarak bulunmuş ve anlamlı bir sonuç elde edilmiştir (177). Günümüzde yeni tanı alan DBBHL,NOS olgularının rutin tedavi rejimi R-CHOP'tur. Yeni tedavi geliştirmeye yönelik çalışmalar çoğunlukla hücre kökeni, tümör

patogenezi ve moleküler özellikleri üzerinden yürütülmektedir (1). Özellikle ABC alt tipi için yeni ajanlar geliştirilmesi konusunda hala birçok çalışma yapılmaktadır (3,4).



Şekil 2: DBBHL prognostik gösterge ve tedavilerinde geçmişten günümüze kadar olan gelişmeler

CHOP: Siklofosamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizolon, R-CHOP: Rituksimab, siklofosamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizolon, IPI: Uluslararası Prognostik İndeks, R-IPI: Revize-IPI, NCCN-IPI: National Comprehensive Cancer Network-IPI, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group, LDH: Laktat dehidrogenaz, ABC: Aktive B hücre tipi, GCB: Germinal merkez B hücre tipi

II.2. Çalışmada Kullanılan Belirteçler

II.2.1. BCL2:

BCL2 protein ailesi mitokondrial (intrinsik) apoptotik yolağın ana düzenleyicisidir (178). En çok mitokondri membranında, ayrıca endoplazmik retikulum ve nükleolde yerleşim gösterirler (179). Bu proteinler hücre proliferasyonu ve ölümü arasındaki dengenin düzenlenmesi ve korunması, normal ve neoplastik doku homeostazı için kritik öneme sahiptir. Proteinlerin bazıları (Bad, Bax, Bid gibi) pro-apoptotikken, diğerleri (BCL2, BCL-XL gibi) anti-apoptotiktir. Pro-apoptotik ve anti-apoptotik BCL2 proteinleri arasındaki

denge, hücrelerin apoptotik uyarılara duyarlılığını belirler (179). BCL2 onkoproteininin apoptozu inhibe etmesi nedeniyle hücrelerin ömrü uzar. Bu yüzden hücrelerin kromozomal anormallikler, DNA'ya hasar veren ajanlar ve viral enfeksiyon gibi malign transformasyona neden olabilecek değişikliklere maruziyeti artar (180).

BCL2 T hücrelerinde, pro-B hücrelerinde ve matür B-hücrelerinde (hücre ömrünün uzadığı) yüksek oranda eksprese edilirken germinal merkez B hücrelerinde (apoptozun yüksek olduğu) ekspresyonu düşüktür (179). BCL2 geni kromozom 18q21 üzerinde yer alır (180). İlk olarak folliküler lenfomalardaki t(14;18)(q32;q21) kromozom translokasyonunda rol oynayan protoonkogen olarak keşfedilmiştir (181). Artmış BCL2 protein ekspresyonu yalnızca kromozom translokasyon ve amplifikasyonları ile değil, transkripsiyonel veya posttranskripsiyonel mekanizmalar ile gelişen diğer onkogenik yollar aracılığıyla da görülebilir (182,183). BCL2 aşırı ekspresyonu birçok kanserde (meme, prostat, akciğer, gastrointestinal sistem gibi) ve çeşitli sarkomlarda görülür ve kemoterapiye direnç ile ilişkilidir (62,180,182).

İHK ile BCL2 aşırı ekspresyonunu belirlemek için eşik değer olarak genellikle %50 kullanılır (57,58). DBBHL olgularında BCL2 aşırı ekspresyonunun sağ kalım ile ilişkisi tartışmalı olup çalışmalar genel sağ kalımda farkın olmadığı (184,185) veya BCL2 aşırı ekspresyonuna sahip olgularda genel sağ kalımın azaldığı yönündedir (58). Geniş hasta serileri ile yapılan birkaç çalışma, BCL2 aşırı ekspresyonunun hastalıksız sağ kalım ile ters orantılı olduğunu, ancak genel sağ kalım ile ilişkili olmadığını göstermiştir (186,187). Bazı çalışmalarda BCL2 ekspresyonunun prognoza etkisinin hücre kökeni alt tipi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (62). ABC alt tipi için kötü prognostik, GCB alt tipi için ise prognoz üzerinde etkisiz olduğu bildirilmiştir (62).

Yakın zamanda geliştirilen selektif BCL2 inhibitörü venetoclaxın birçok hematolojik neoplazinin tedavisi için efektif olduğu bildirilmiştir (9,188). DBBHL'larda yapılan in vitro çalışmada BCL2 ekspresyonu ile venetoclax duyarlılığının korelasyon gösterdiği görülmüştür (9,189).

II.2.2. MYC:

MYC, kromozom 8q24'te yerleşim gösteren bir protoonkojendir. Hücre büyümesi, farklılaşması ve metabolizmasını düzenleyen, transkripsiyon faktörü özelliği gösteren nükleer bir fosfoproteini kodlar (190). Ayrıca, P53 ekspresyonunu artırarak apoptotik yolların amplifikasyonunu sağlayabilir (57). Tüm genlerin yaklaşık %10'unun ekspresyonunu direkt veya indirekt olarak kontrol eder ve birçok fizyolojik fonksiyonda görev alır (190,191).

MYC, kemik iliğinde erken B hücre gelişimi için de gerekli olup ekspresyonunda bozukluk olması durumunda B hücreli lenfoma gelişimine yol açan onkogenik olayların gerçekleşme riski artar (191). C-MYC geninin mutasyonları, amplifikasyonu, yeniden düzenlenmesi ve translokasyonu Burkitt lenfoma başta olmak üzere çeşitli lösemi ve lenfomalar yanı sıra çeşitli karsinomlar (tiroid, meme, endometrium gibi) ve gliomlarla da ilişkilendirilmiştir. Genel olarak tüm kanserlerin %20'sinde rol oynadığı belirtilmektedir (56).

İHK ile MYC aşırı ekspresyonunu belirlemek için eşik değer konusunda birlik olmasa da çoğu çalışmada %40 eşik değeri kullanılır (57,58). DBBHL'ların %29-47'sinde İHK ile saptanan MYC aşırı ekspresyonu izlenir (1). Aşırı ekspresyon, bazen MYC gen yeniden düzenlenimine sekonder görülürken çoğu zaman bundan bağımsız gözlenir (192,193). Bazı merkezler, İHK ile saptanan MYC aşırı ekspresyonunu, olguları c-MYC gen yeniden düzenlenimi varlığı açısından taramak için kriter olarak kullanır. Bu sayede, "double hit lenfomaları" yakalamak ve DBBHL,NOS'tan ayırt etmek hedeflenir (192).

DBBHL'larda MYC aşırı ekspresyonu birçok çalışmada düşük sağ kalım ile ilişkilendirilmişse de bu konuda literatürde fikir birliği yoktur (192,194). Bazı çalışmalar prognostik etkinin eş zamanlı izlenen BCL2 ekspresyonu ile ilişkili (double ekspresör fenotip) olduğunu, çok değişkenli analizlerde anlamlı bir prognostik etkinin gösterilmediğini ifade etmektedir (195). Literatürde, MYC aşırı ekspresyonu değerlendirilirken farklı eşik değerlerin kullanılması

da çalışmalar arasında karşılaştırma yapılmasını zorlaştırmaktadır (192,194,195).

II.2.3. CD5:

CD5 antijeni, hemen hemen tüm matür T hücrelerinin (CD4 pozitif T hücrelerin yaklaşık % 10'u CD5 negatiftir) yüzeyinde eksprese edilen, 67 kilodaltonluk (kDa) bir transmembran glikoproteindir (196). Pan-T hücre belirteci olan CD5, immatür T hücrelerinde zayıf eksprese edilirken ekspresyon yoğunluğu matürasyon arttıkça artar. CD5 ayrıca periferik kandaki B hücrelerinin %20'sinde ve lenf düğümlerinin manşon bölgesindeki saçılmış hücrelerde, T hücrelerinden daha zayıf olarak eksprese edilir (197,198).

CD5, B hücre reseptör sinyallerini inhibe eder ve intrasellüler kalsiyum mobilizasyonunu düzenlemede rol oynar (196). İnterlökin-2 (IL-2) salınımını baskılayarak antiinflamatuvar etkiye sahip olan ve B hücrelerinin ömrünü devam ettirmesinde rol oynayan interlökin-10 (IL-10) retiminin artmasına yol açar (196). Ayrıca, CD5 pozitif B hücrelerde ERK1/2, PI3K, STAT3 ve NFAT2 sinyal yolaklarının aktivasyonu artar (198,199). CD5 pozitif B hücrelerde, negatif olanlara kıyasla otoantikor üretimi daha fazla olup CD5 pozitifliğinin bazı otoimmün hastalıklar ile ilişkisi de bildirilmiştir (200).

CD5, periferik T hücreli lenfomaların % 75'i ve T hücreli akut lenfoblastik lösemi (T-ALL) vakalarının %85'inde olmak üzere çoğu T hücreli lenfoma ve lösemide eksprese edilir (201). B hücreli lenfomalardan küçük lenfositik lenfoma ve mantle hücreli lenfoma CD5 pozitif iken, folliküler lenfoma, marjinal zon lenfoma ve lenfoplazmasitik lenfoma CD5 negatiftir (201). Büyük B hücreli lenfomalarda ekspresyonu görülebilir. Bunlar bazen KLL veya manşon hücreli lenfomanın transformasyonu ile gelişen olgular, çoğu zaman ise de novo olgulardır (202). CD5 bazı timik karsinom ve atipik timoma olgularında da pozitif olabilmektedir.

CD5 pozitif DBBHL, 2008 DSÖ sınıflamasında DBBHL'ların agresif bir immnfenotipik alt grubu olarak tanımlanmıştı (6). Fakat 2016 DSÖ

sınıflamasından itibaren alt grup listesinden çıkarılıp tekrar DBBHL,NOS grubu içerisine dahil edilmiştir (6). Yeni tanı koyulan DBBHL'larda CD5 pozitiflik oranı %5-10 civarındadır (6,197). DBBHL'larda, CD5 ekspresyonu ile GCB/ABC fenotipi arasındaki ilişki üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır (203,204). Genomik analiz ile yapılan birçok çalışmada CD5 pozitif DBBHL olgularının genellikle ABC tipinde olduğu gösterilmiştir (203,205). CD5 ekspresyonu, BCL2 ve MYC ekspresyonu yanı sıra Ki-67 proliferasyon indeksi ile pozitif korelasyon gösterir (6). Bazı çalışmalarda DE immünofenotipin CD5 pozitif DBBHL'larda daha sık izlendiği, CD5 pozitifliğinin DBBHL'lar için kötü prognostik bir faktör olduğu belirtilmiştir (6).

II.2.4. CD30:

CD30 (Ki-1 veya TNFRSF8 olarak da bilinir), tümör nekroz faktörü reseptörü (TNF-R) ailesinin bir üyesi olan transmembran glikoprotein reseptörüdür (206). Bu proteinler yangı, apoptoz ve hücre proliferasyonunda rol oynar, fakat etki mekanizmaları netleşmiş değildir (206). CD30 başlıca aktive B ve T hücrelerinde eksprese edilir (207). Ayrıca nötrofiller, makrofajlar ve monositler üzerinde bulunan bir ligand molekülüne (CD30L veya CD153 olarak adlandırılır) sahiptir (207). EBV, HIV ve insan T lenfotropik virüsü-1 (HTLV-1) genomlarını taşıyan lenfoid hücrelerde CD30 yüksek düzeyde eksprese edilir (208). Yüksek ekspresyonun viral transaktivasyona veya izlenen artmış hücre proliferasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (207). CD30'un NF-κB aktivasyonuna yol açan sinyal transdüksiyonunda ve yardımcı T hücre (TH1/TH2) yanıtları arasındaki dengenin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (209).

CD30, aktive B ve T lenfositler yanı sıra plazma hücrelerinde, dendritik hücrelerde, NK hücrelerinde, monositlerde, timusta, desiduada bulunur (210). İlk olarak klasik Hodgkin lenfomanın Reed-Sternberg hücrelerine ait bir belirteç olarak ortaya çıkmıştır (8). Lenfoid neoplazilerden klasik Hodgkin lenfomada, anaplastik büyük hücreli lenfomada, primer efüzyon lenfomasında, Castleman hastalığında, primer mediastinal büyük B hücreli

lenfomada, EBV ilişkili lenfoproliferatif hastalıklarda ve bazı kutanöz lenfoproliferatif hastalıklarda CD30 ekspresyonu görülür (8). Ayrıca testisin germ hücreli neoplazilerinden embriyonel karsinomda da CD30 pozitifliği görülebilir.

DBBHL'larda CD30 ekspresyonu yaklaşık %10-20 olguda izlenir (211). ABC ve GCB alt tiplerinde benzer oranda görülür (211). Çalışmalar arasında farklılıklar bulunsa da CD30 pozitifliği genellikle iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir (52). CD30 pozitif olguların anti-CD30 monoklonal antikor ilaç konjugatı brentuximab vedotin tedavisinden fayda görmesi nedeniyle DBBHL'larda CD30 pozitifliğinin araştırılması önemlidir (52).

II.2.5. P53:

P53 geni 17. kromozomun kısa kolu (17p13.1) üzerinde bulunan bir tümör baskılayıcı gendir (212). P53 proteini, tüm normal hücrelerin nükleusunda bulunur, fakat oldukça kısa yarı ömre (10-20 dakika) sahip olması nedeniyle immünohistokimyasal ekspresyonu çoğunlukla saptanmaz (213). P53, genomun koruyucusu olarak adlandırılır. Normal koşullarda DNA'ya bağlanarak hücre büyümesi ve bölünmesini baskılar (213). DNA hasarı durumunda ise onarım başlayana kadar hücre siklusunu durdurur. Onarımın mümkün olmadığı durumda ise apoptozu tetikler (212). Ayrıca, yangısal reaksiyonun durdurulması ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesi gibi yeni fonksiyonları da keşfedilmiştir (214).

Her iki alleli etkileyen genetik olaylar ile (örneğin bir allelde delesyon, ötekinde nokta mutasyonu) normal (wild tip) P53 kaybedilir (214). Mutasyon sonucu P53'ün DNA'ya bağlanması ve hücre siklusu üzerindeki kontrolü bozulur. Genomik instabilite ve gen amplifikasyonları gelişir (213). Mutant P53'ün yarı ömrü uzar ve immünohistokimyasal olarak ekspresyonu görülür. P53 pozitifliği sıklıkla yüksek dereceli lezyonlar ve kötü prognozla ilişkilidir. Bazı durumlarda reaktif olaylar ile neoplastik lezyonların ayırımında yol gösterici olarak kullanılır (213).

DBBHL'larda İHK ile P53 ekspresyonu değerdendirilirken %50'nin üzerinde hücrede boyanma görölmesi pozitiflik için eşik değerd olarak kullanılır (215). P53 pozitifliğı DBBHL'lar için bağımsız kötü prognostik faktördür (215,216). Ayrıca DBBHL'larda göröllebilen MYC gen yeniden düzenleniminin kötü prognostik etkisini artırdığı da bildirilmiştir (215,216).



III. GEREÇ VE YÖNTEMLER

III.1. Etik Kurul:

1599 numaralı projemiz, 07.12.2022 tarihli toplantıda 20.478.486 karar no ile Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

III.2. Olgular:

Çalışmamızda, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan, 2001-2021 yılları arasında tanı almış, tanı anında bilinen ektranodal tutulumu bulunmayan toplam 77 nodal DBBHL,NOS olgusu değerlendirildi. Bu 77 olgunun tümü insizyonel ya da eksizyonel biopsi ile tanı alan olgular idi. Olguların hematoksilen&eoizin (HE) boyalı preparatları, immünohistokimyasal preparatları ve parafin blokları arşivden çıkarıldıktan sonra tüm preparatlar gözden geçirildi. Uygun blok seçimleri yapıldı ve bloklardaki dokuların yeterliliği kontrol edildi.

DSÖ, 2022 sınıflamasına göre tanıları tekrar değerlendirildi. Bu gözden geçirme sırasında 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 71 olgu çalışmaya alındı.

Olgularda prognoza etkileri incelenecek olan MYC, BCL2, CD5 ve CD30 immünohistokimyasal belirteçlerinden rutin işleyiş sırasında uygulanmamış olanlar tespit edildi. Eksikliği saptanan bu belirteçler ve rutin tanı sürecinde çalışılmayan P53 immünohistokimyasal belirteci Manisa Celal Bayar

Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın rutin işleyişi sırasında bu belirteçler için istem yapılan bloklardan elde edilen kesitlerin yanına kesilerek tamamlandı. Tanı sırasında EBER-ISH yapılmayan olgulara da aynı işlem uygulanarak çalışmaya alınan olguların EBV ilişkili olmadıkları gösterildi.

Hastane kayıtlarından hastalığın evresi (Ann Arbor evreleme sistemine göre), klinik özellikleri (yaş, cinsiyet; LDH, hemoglobin, albumin, periferik kan lenfosit, trombosit ve MPV değerleri), Uluslararası Prognostik İndeks skoru, ECOG skalası, tanı aldığı andan itibaren sağ kalım süresi, mortalite durumu, aldıkları tedaviler (KT alıp almadığı, hangi KT'yi aldığı, radyoterapi alıp almadığı, otolog veya allojenik kök hücre nakli yapılıp yapılmadığı), nüks olup olmadığı öğrenilerek bu bulgular prognostik analizler için kullanıldı. Çalışmaya alınan 71 olgudan 10'unda bu klinik prognostik verilerin tamamına ulaşamadı. Bu nedenle, prognozla alakalı istatistiksel analizler bu olgular dışındaki 61 olgu üzerinde yapıldı.

III.3. İmmünohistokimyasal inceleme:

Formalin ile tespitli ve parafine gömülü dokulardan elde edilen 3,5 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü elektrostatik lamlara (Isotherm Technical Laboratory Glass Materials) alındı, 58°C'lik etüvde 4 saat tutuldu ve ardından barkodları basılarak çalışmaya hazır hale getirildi. Elde edilen tüm kesitler tam otomatik immünohistokimyasal boyama cihazına (BenchMarkUltra automated IHC/ISH slide staining system, Ventana MedicalSystems; BenchMark XT automated IHC/ISH slide staining system, Ventana Medical Systems) yerleştirildi. İmmünohistokimyasal 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.

İmmünohistokimyasal boyama için tavşan monoklonal antihuman c-MYC (Klon Y69, Ventana), fare monoklonal antihuman BCL2 (Klon 124, Dako), tavşan monoklonal antihuman CD5 (Klon SP19, Ventana), fare monoklonal

antihuman CD30 (Klon Ber-H2, Thermo), fare monoklonal antihuman P53 (Klon DO7, Ventana) antikorları uygulandı.

MYC için CC1 (EDTA) (64 dakika), inkübasyon (37°C, 4 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Bluing reagent (4 dakika) uygulandı. BCL2 için CC1 (EDTA) (64 dakika), inkübasyon (36°C, 4 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Bluing reagent (4 dakika) uygulandı. CD5 için CC1 (EDTA) (52 dakika), inkübasyon (37°C, 4 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Bluing reagent (4 dakika) uygulandı. CD30 için CC1 (EDTA) (64 dakika), inkübasyon (37°C, 4 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Bluing reagent (4 dakika) uygulandı. P53 için CC1 (EDTA) (36 dakika), inkübasyon (36°C, 4 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Bluing reagent (4 dakika) uygulandı.

Pozitif kontrol olarak tüm immünohistokimyasal boyalar için tonsil dokusu kullanıldı. Cihazda boyama işlemi tamamlandıktan sonra lamalar ılık deterjanlı su ile yıkanıp alkol serilerinden geçirildi. Şeffaflandırma işlemi için ksilolden geçirildi ve Entellan^R (Merck and Co., Berlin) ile kapatıldı.

III.4. İmmünohistokimyasal sonuçların değerlendirilmesi:

Tüm değerlendirmeler standart ışık mikroskopunda yapıldı. BCL2, CD5 ve CD30 belirteçleri için membranöz/sitoplazmik, MYC ve P53 belirteçleri için nükleer boyanmalar pozitif kabul edildi. Çevre non-neoplastik alanlar, nekroz çevresindeki alanlar değerlendirmeye alınmadı.

Neoplastik alanlar içerisinde bu immünohistokimyasal belirteçler ile boyanma sergileyen hücrelerin en yoğun bulunduğu 5 alan (x200) seçildi ve bu alanlardaki pozitif neoplastik B hücrelerinin tüm neoplastik B hücrelerine oranının ortalaması alınarak boyanma yüzdeleri elde edildi.

MYC İHK belirteci için %40 ve üzerinde, BCL2 İHK belirteci için %50 ve üzerinde, P53 İHK belirteci için %50'nin üzerinde, CD5 İHK belirteci için %50 ve üzerinde saptanan boyanma yüzdeleri pozitif olarak değerlendirildi. CD30 İHK belirteci için %20 ve üzerinde ve %0'ın üzerinde olmak üzere iki ayrı eşik değer kullanılarak pozitiflik değerlendirmeleri yapıldı.

Çalışma immünohistokimyasal belirteçleri yanı sıra, tüm kesitte neoplastik hücrelerdeki Ki67 pozitiflik oranı semikantitatif olarak değerlendirildi. Daha sonra literatürdeki çalışmalara benzer şekilde olgular %80 ve altında neoplastik hücrede boyanma gözlenen ve %80'in üzerinde neoplastik hücrede boyanma gözlenen olmak üzere iki gruba ayrıldı. CD3 pozitifliği değerlendirilirken tüm kesitteki solid neoplastik alanlar içerisinde CD3 pozitif hücrelerin en yoğun bulunduğu 5 alan (x200) seçildi ve pozitif hücrelerin tüm hücrelere oranının ortalaması alınarak semikantitatif bir boyanma yüzdesi elde edildi. Daha sonra olgular boyanma yüzdelerine göre %20'den az boyanma gösterenler ile %20 ve daha fazla oranda boyanma gösterenler olarak iki gruba ayrıldı. Semikantitatif değerlendirmeler sırasında iki gözlemci arasında uyumsuzluk olan olgular tekrar değerlendirilerek görüş birliği sağlandı.

III.5. 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, korelasyonların araştırılmasında Spearman korelasyon analizi, kategorik değişkenlerin anlamlılığının sınanmasında Fischer exact test, sürekli değişkenler ile kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin saptanmasında one-way ANOVA temel alındı. Nicel bağımsız verilerin analizinde bağımsız örneklem t testi, nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare testi kullanıldı. Sağ kalım analizinde kullanılacak uygun kesme değerlerinin belirlenmesinde ROC analizi kullanıldı. Sağ kalım analizi için Kaplan-Meier yöntemi, sağ kalım eğrilerinin istatistiksel karşılaştırılması için log-rank testi kullanıldı. Bağımsız değişkenlerin sağ kalım üzerindeki etkisini incelemek için tek değişkenli ve çok değişkenli Cox regresyon analizleri yapıldı. Sonuçlar $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. P değerinin 0,05 ile 0,10 arasında olması ise sınırda anlamlılık olarak değerlendirildi.

IV. BULGULAR

IV.1. Yaş, Cinsiyet Dağılımı ve Klinikopatolojik Özellikler:

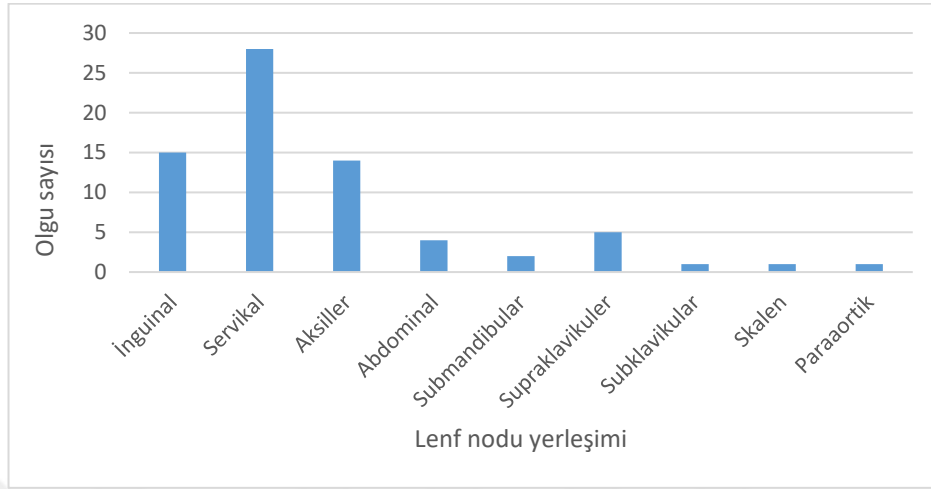
Çalışmaya toplam 71 nodal DBBHL, NOS olgusu alınmış olup olguların 41'i kadın (%57,8), 30'u erkekti (%42,2). Olguların yaşları 28 ile 89 arasında değişmekte olup ortanca değeri 65, ortalama değeri ise 60,6 olarak saptandı. 60 yaşında ya da altında 29 olgu (%40,8) bulunmaktaydı (Tablo 6).

Tablo 6: Olguların yaş aralıklarına göre dağılımı

Yaş (n=71)	Yaş aralıkları	Olgu Sayısı	Oran (%)
	20-29 yaş	3	4,3
	30-39 yaş	5	7
	40-49 yaş	10	14
	50-59 yaş	11	15,5
	60-69 yaş	19	26,8
	70-79 yaş	16	22,6
	80-89 yaş	7	9,8
	Toplam	71	100

Olguların 17'sine (%24) insizyonel biopsi, 54'üne (%76) ise eksizyonel biopsi yapılmıştı. Biyopsi yapılan lenf nodlarının yerleşim yerleri 28'i (%39,4) servikal, 15'i (%21,1) inguinal, 14'ü (%19,7) aksiller, 5'i (%7) supraklavikuler, 4'ü (%5,6) abdominal, 2'si (%2,8) submandibular, 1'i (%1,4) subklaviküler, 1'i

(%1,4) skalen, 1'i (%1,4) paraaortik bölge şeklinde olup dağılımları şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3: Lenf nodu yerleşimlerine göre olguların dağılımları

Çalışmaya dahil edilen 71 olgudan 61'ine (%85,9) ait klinik bilgi ve prognostik verilere ulaşılırken 10 olguya (%14) ait tüm bilgiler elde edilemedi. LDH, olguların 36'sında (%59) yüksek iken 25'inde (%41) normaldi. Olguların 28'i (%45,9) düşük ECOG performans skoruna sahipken 33 olgu (%54,1) kötü performans durumuna sahipti. Olgular R-IPI skorlamasına göre kategorilere ayrıldığında; 6 olgu (%9,8) 'çok iyi', 20 olgu (%32,8) 'iyi', 35 olgu (%57,4) ise 'kötü' kategorisinde yer almaktaydı. 18 olgu (%29,5) evre I-II olarak, 43 olgu (%70,5) ise evre III-IV olarak değerlendirildi.

Kemoterapi (KT) rejimi olarak 38 olguya (%62,3) rituksimab içeren R-CHOP ya da benzeri bir tedavi protokolü; 10 olguya (%16,4) ise rituksimab içermeyen CHOP ve benzeri bir KT rejimi uygulanmıştı. 13 olguda (%21,3) düşük performans durumu ya da tedaviyi reddetme gibi nedenlerle KT uygulanmamıştı. Olguların tedavi yanıtları değerlendirildiğinde ise KT uygulanan 48 hastanın 16'sında tam yanıt, 17'sinde kısmi yanıt saptanırken 15 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 gözlemlendi. Olgulardan 2'sinde (%3,2) nüks saptandı. Olguların IPI

ile NCCN-IPI skorlarına ve evrelerine göre dağılımlarını da içeren klinik bulguları Tablo 7’de özetlenmiştir.

Tablo 7: Klinik bilgileri bulunan 61 olgunun özellikleri

Klinik Özellikler	Değer	Olgu Sayısı (n=61)	Oran (%)
IPI skoru	0	6	9,8
	1	10	16,4
	2	10	16,4
	3	17	27,9
	4	17	27,9
	5	1	1,6
NCCN IPI skoru	1	12	19,7
	2	6	9,8
	3	11	18,1
	4	13	21,3
	5	9	14,6
	6	10	16,5
ECOG skoru	0-1	28	45,9
	≥2	33	54,1
LDH	Normal	25	41
	Yüksek	36	59
Evre	I	5	8,2
	II	13	21,3
	III	20	32,8
	IV	23	37,7
Kemoterapi	Tedavi yok	13	21,3
	CHOP ve benzeri	10	16,4
	R-CHOP	38	62,3
Nüks	Var	2	3,2
	Yok	59	96,8
Mortalite	Ex	37	60,7
	Sağ	24	39,3

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks, NCCN IPI: National Comprehensive Cancer Network Uluslararası Prognostik İndeks, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group, LDH: Laktat dehidrojenaz

Klinik verilerine ulaşılan 61 olgu göz önüne alındığında, takip süresi 1 ay ile 127 ay arasında değişmekteydi. Olgulardan 24'ünün (%39,3) yaşadığı, 37'sinin (%60,7) ise öldüğü tespit edildi. Ölen 37 olgu ele alındığında sağ kalım süreleri 1 ay ile 100 ay arasında dağılım göstermekteydi ve bu olgularda ortalama sağ kalım süresi 14,7 ay olarak saptandı. Takip süresi 6 aydan kısa olan 14 olgudan 12'si ilk 6 ay içerisinde ölen olgular olup 2'si ise daha uzun sağ kalıma sahip, ancak takipten çıkan olgulardı. Yaşayan olguların takip süresi 1 ile 127 ay arasında değişmekteydi. Yaşayan 24 olguda ortalama takip süresi 55,6 ay, ortalama sağ kalım süresi 59,9 ay olarak hesaplandı.

IV.2. Morfolojik ve İmmünofenotipik Özellikler:

Olguların 28'i sentroblastik, 10'u immünoblastik, 8'i anaplastik varyant özellikleri sergilerken 25 olgu sentroblastik ve immünoblastik varyantların morfolojik özelliklerini birlikte (mikst) taşımaktaydı. Olgular Hans algoritması kullanılarak immünofenotipik özelliklerine göre alt tiplere ayrıldı. Buna göre 21 olgu GCB subtipinde iken 50 olgu non-GCB subtipinde değerlendirildi (Tablo 8).

Tablo 8: Olguların morfolojik varyantlarına ve subtiplerine göre dağılımları

Morfolojik varyant ve Subtipler		Olgu Sayısı (n=71)	Oran (%)
Morfolojik varyant	Sentroblastik	28	39,4
	İmmünoblastik	10	14,1
	Mikst	25	35,2
	Anaplastik	8	11,3
Subtip	GCB	21	29,5
	Non-GCB	50	70,5

GCB: Germinal merkez B hücre tipi, non-GCB: Germinal merkez dışı hücre tipi

BCL6 50 olguda (%70,5) pozitif, 21 olguda (%29,5) negatif olarak değerlendirildi. CD10 ile 17 olgu (%24) pozitif, 54 olgu (%76) negatif; MUM1

ile 57 olgu (%80,2) pozitif, 14 olgu (%19,8) negatif olarak değerlendirildi. Siklin D1 ile ise yalnızca 1 olguda (%1,4) boyanma saptandı. 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.

Ki67 proliferasyon indeksi %20 ile %100 arasında değişmekte olup ortanca değer %95, ortalama değer %86,5 idi. Olguların 23'ünde (%32,3) Ki67 proliferasyon indeksi %80 ya da altında iken 48 olguda (%67,7) %80'in üzerindeydi. CD3 pozitif hücrelerin oranı %3 ile %60 arasında değişmekte olup ortalama değer %19,32 idi. Belirlenen kesme değere göre olgular gruplara ayrıldığında; boyanma yüzdeleri 40 olguda (%56,3) %20'nin altında, 31 olguda (%43,7) %20 ve üzerinde olarak saptandı (Tablo 9).

Tablo 9: Rutin olarak uygulanan immünohistokimyasal incelemelere göre olguların dağılımı

İmmünohistokimyasal Özellikler	Değer	Olgu Sayısı (n=71)	Oran (%)
BCL6	Pozitif	50	70,5
	Negatif	21	29,5
CD10	Pozitif	17	24
	Negatif	54	76
MUM1	Pozitif	57	80,2
	Negatif	14	19,8
SiklinD1	Pozitif	1	1,4
	Negatif	70	98,6
CD3	<%20	40	56,3
	≥%20	31	43,7
Ki67	≤%80	23	32,3
	>%80	48	67,7

Olgularda immünohistokimyasal olarak MYC ekspresyonu %0 ile %90 arasında değişmekte iken ortanca değer %25, ortalama değer %29,2 idi. %40 ya da daha fazla hücrede MYC ile boyanma olan olgular pozitif olarak kabul edildi. Buna göre MYC 24 olguda (%33,8) pozitif, 47 olguda (%66,2) negatif olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal BCL2 ekspresyonu %0 ile %100 arasında değişmekte iken ortanca değer %20, ortalama değer %37,7 idi. %50 ya da daha fazla hücrede BCL2 ile boyanma olan olgular pozitif olarak kabul edildi. Buna göre BCL2 30 olguda (%42,2) pozitif, 41 olguda (%57,8) negatif olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal CD5 ekspresyonu %0 ile %100 arasında değişmekte iken ortanca değer %10, ortalama değer %21,9 idi. %50 ya da daha fazla hücrede CD5 ile boyanma olan olgular pozitif olarak kabul edildi. Buna göre CD5 16 olguda (%22,5) pozitif, 55 olguda (%77,5) negatif olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal CD30 ekspresyonu %0 ile %25 arasında değişmekte iken ortanca değer %0, ortalama değer %1,59 idi. Eşik değer olarak sırasıyla %20 ya da daha fazla hücrede ve %0'dan fazla hücrede CD30 ile boyanma olan olgular pozitif olarak kabul edilerek değerlendirme yapıldı. Eşik değer %20 kabul edildiğinde CD30 2 olguda (%2,8) pozitif, 69 olguda (%97,2) negatif olarak değerlendirildi. Eşik değer %0'dan fazla hücrede boyanma kabul edildiğinde ise CD30 18 olguda (%25,4) pozitif, 53 olguda (%74,6) negatif olarak saptandı.

İmmünohistokimyasal P53 ekspresyonu %0 ile %100 arasında değişmekte iken ortanca değer %10, ortalama değer %22 idi. %50 ya da daha fazla hücrede P53 ile boyanma olan olgular pozitif olarak kabul edildi. Buna göre P53 10 olguda (%14,1) pozitif, 61 olguda (%85,9) negatif olarak değerlendirildi (Tablo 10).

Tablo 10: MYC, BCL2, CD5, CD30 ve P53 pozitifliklerinin olgulardaki oranları

İmmünohistokimyasal Özellikler	Değer	Olgu Sayısı (n=71)	Oran (%)
MYC	Pozitif ($\geq\%40$)	24	33,8
	Negatif ($<\%40$)	47	66,2
BCL2	Pozitif ($\geq\%50$)	30	42,2
	Negatif ($<\%50$)	41	57,8
CD5	Pozitif ($\geq\%50$)	16	22,5
	Negatif ($<\%50$)	55	77,5
CD30 (eşik değer $\%20$)	Pozitif ($\geq\%20$)	2	2,8
	Negatif ($<\%20$)	69	97,2
CD30 (eşik değer $\%0$)	Pozitif ($>\%0$)	18	25,4
	Negatif ($\%0$)	53	74,6
P53	Pozitif ($>\%50$)	10	14,1
	Negatif ($\leq\%50$)	61	85,9

IV.3. İstatistiksel analiz:

Klinik parametrelerin birbirleriyle olan ilişkilerini araştırmak üzere korelasyon analizi yapıldığında, bu ilişkilere ait p değerleri ve korelasyonun yönü Tablo 11’de özetlenmiştir. İmmünohistokimyasal 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 12’de özetlenmiştir.

Tablo11: Klinik prognostik parametrelerin birbiri ile ilişkileri

Parametreler	p değeri	Korelasyon Yönü
IPI skoru-Hemoglobin	0,002	Negatif
IPI skoru-Albumin	<0,001	Negatif
IPI skoru-Lenfosit	0,001	Negatif
Evre-Yaş	0,488	Anlamlı korelasyon yok
Evre-Hemoglobin	0,068	Anlamlı korelasyon yok
Evre-Albumin	0,015	Negatif
Evre-LDH	<0,001	Pozitif
Evre-ECOG skoru	0,002	Pozitif
ECOG skoru-Yaş	<0,001	Pozitif
ECOG skoru-Hemoglobin	0,010	Negatif
ECOG skoru-Albumin	<0,001	Negatif
ECOG skoru-LDH	<0,001	Pozitif
ECOG skoru-Lenfosit	0,019	Negatif
LDH-Yaş	0,008	Pozitif
LDH-Albumin	<0,001	Negatif
LDH-Hemoglobin	0,001	Negatif
LDH-Lenfosit	<0,001	Negatif
Albumin-Yaş	0,003	Negatif
Albumin-Hemoglobin	<0,001	Pozitif
Albumin-Lenfosit	0,019	Pozitif
Tedaviye yanıt-Yaş	0,003	Negatif
Tedaviye yanıt-LDH	<0,001	Negatif
Tedaviye yanıt-ECOG	0,001	Negatif
Tedaviye yanıt-Evre	0,030	Negatif
Tedaviye yanıt-IPI skoru	0,002	Negatif

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks, ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group performans durumu,

LDH: Laktat dehidrogenaz

Tablo 12: Arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunan klinik prognostik parametreler ve immünohistokimyasal belirteçler

Parametreler	p değeri	Korelasyon Yönü
MYC-IPI skoru	0,034	Pozitif
Ki67-MYC	0,007	Pozitif
Ki67-CD3	0,017	Negatif
CD5-BCL2	0,005	Pozitif

Ki67 proliferasyon indeksi, sentroblastik varyantta %60 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer %88,2, ortanca değer %90, immünoblastik varyantta ise %20 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer %76,4, ortanca değer %85 olarak saptandı. Anaplastik varyant olarak değerlendirilen olgularda %90 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer %98,5, ortanca değer ise %100'dü. İmmünoblastik ve sentroblastik varyantın özelliklerini bir arada bulunduran mikst olgularda ise %20 ile %100 arasında değişmekte olup ortalama değer %84,75, ortanca değer %95'ti (Tablo 13).

Bu veriler karşılaştırıldığında, immünoblastik varyantta Ki67 proliferasyon indeksinin diğer varyantlara göre daha düşük ($p=0,013$), anaplastik varyantta ise diğer varyantlara göre daha yüksek ($p=0,030$) olduğu görüldü.

Tablo 13: Morfolojik varyantlara göre Ki67 proliferasyon indekslerinin dağılımı

Morfolojik varyantlar	Ki67		
	Aralık	Ortalama	Ortanca
Sentroblastik (n=23)	%60-100	%88,2	%90
İmmünoblastik (n=10)	%20-100	%76,4	%85
Mikst (n=20)	%20-100	%84,75	%95
Anaplastik (n=8)	%90-100	%98,5	%100

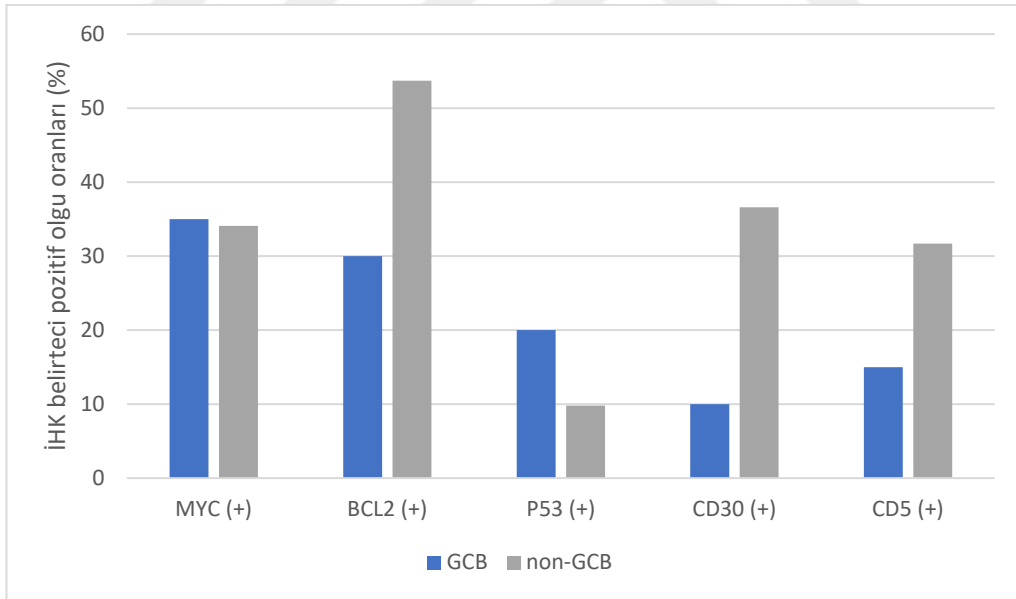
Klinik bilgilerine ulaşılabilen 61 olguda GCB ve non-GCB subtipleri arasında İHK belirteçlerinin boyanma yüzdeleri karşılaştırıldığında BCL2, CD5 ve CD30'un boyanma yüzdelerinin non-GCB subtipinde GCB subtipine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görüldü (Tablo 14). Subtipler arasında İHK belirteçlerinin pozitiflik oranları karşılaştırıldığında ise CD30 pozitif olgular anlamlı düzeyde non-GCB subtipinde fazla bulundu. CD3'ün $\geq$ %20 oranında pozitif olduğu olgular yanı sıra BCL2'nin pozitif olduğu olguların non-GCB alt tipinde daha sık görüldüğüne ilişkin sınırda anlamlılık saptandı (Tablo 15, Şekil 4).

Tablo 14: GCB ve non-GCB subtiplerine göre İHK belirteçlerinin boyanma yüzdelerinin dağılımı

İHK Belirteçleri		GCB (n=20)	non-GCB (n=41)	p değeri
MYC	Aralık	%1-70	%0-90	0,862
	Ortalama	%26,47	%30,38	
BCL2	Aralık	%0-90	%0-100	0,030
	Ortalama	%24,04	%38,60	
P53	Aralık	%0-80	%0-70	0,266
	Ortalama	%24,35	%20,31	
CD30	Aralık	%0-1	%0-20	0,030
	Ortalama	%0,10	%2,24	
CD5	Aralık	%0-100	%0-100	0,006
	Ortalama	%13,5	%27,68	
Ki67	Aralık	%60-100	%20-100	0,246
	Ortalama	%88,71	%85,56	

Tablo 15: GCB ve non-GCB subtiplerine göre İHK belirteçlerinin pozitiflik oranlarının dağılımı

	GCB (n=20)	Non-GCB (n=41)	p değeri
MYC pozitif	7 (%35)	14 (%34,1)	0,947
BCL2 pozitif	6 (%30)	22 (%53,7)	<u>0,082</u>
P53 pozitif	4 (%20)	4 (%9,8)	0,266
CD30 pozitif	2 (%10)	15 (%36,6)	0,030
CD5 pozitif	3 (%15)	13 (%31,7)	0,164
CD3 ≥%20	5 (%25)	21 (%51,2)	<u>0,052</u>
Ki67>%80	14 (%70)	28 (%68,3)	0,892



Şekil 4: GCB ve non-GCB subtiplerine göre İHK belirteçlerinin pozitiflik oranlarının dağılımı

Yaşayan ve ölen hasta gruplarının klinik verilerinin karşılaştırılması sonucunda elde edilen veriler Tablo 16'da özetlenmiştir. Ölen ve yaşayan hastaların evreleri karşılaştırıldığında, evre I olguların 3'ünün (%60) yaşadığı, 2'sinin (%40) öldüğü, evre II olguların 7'sinin (%53,8) yaşadığı, 6'sının (%46,2) ise öldüğü saptanmıştır. Evre III olguların 10'unun (%50) yaşadığı, 10'unun (%50) öldüğü, evre IV olguların ise 4'ünün (%17,4) yaşadığı, 19'unun (%82,6) ise öldüğü görülmüştür. Bekleneceği üzere evre yükseldikçe mortalite oranının arttığı ve bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0,044$).

Yaşayan ve ölen hasta grupları tedavi alıp almamaları ve tedavi yanıtlarına göre gruplara ayrılarak karşılaştırıldığında, herhangi bir tedavi almayan olguların 2'sinin (%15,4) yaşadığı, 11'inin (%84,6) öldüğü; tedaviye yanıt alınmayan olguların 2'sinin (%13,3) yaşadığı, 13'ünün (%86,7) ise öldüğü görülmüştür. Tedaviye kısmi yanıt alınan olguların 7'sinin (%41,2) yaşadığı, 10'unun (%58,8) öldüğü; tedaviye tam yanıt alınan olguların ise 13'ünün (%81,25) yaşadığı, 3'ünün (%18,75) öldüğü izlenmiştir. Artan tedavi yanıtı ile düşük mortalite arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0,001$).

Yaşayan hastalarda ortalama LDH değeri 235,25 U/L iken ölen hastalarda 619,91 U/L olarak bulunmuştur. Serum albümin değerlerinin ortalaması yaşayan olgularda 4,10 g/dL, ölen hastalarda 3,54 g/dL olarak hesaplanmıştır. Yaşayan ve ölen olgu gruplarında bu iki laboratuvar bulgusunun anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Benzer şekilde; yaş ($p=0,005$), IPI skoru ($p<0,001$), ECOG performans skoru ($p<0,001$) değerlerinde de beklenildiği üzere yaşayan ve ölen hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Yaşayan ve ölen olguların hemoglobin değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 16).

Tablo 16: Yaşayan ve ölen hasta gruplarının klinik özelliklerinin dağılımı

Klinik özellikler		Sağ (n=24)	Ex (n=37)	p değeri
Yaş	Ortalama	50,54	65,89	p=0,005
IPI skoru	0	6 (%100)	0 (%0)	p<0,001
	1	8 (%80)	2 (%20)	
	2	4 (%40)	6 (%60)	
	3	4 (%23,5)	13 (%76,5)	
	4	2 (%11,8)	15 (%88,2)	
	5	0 (%0)	1 (%100)	
ECOG Performans Skoru	0	16 (%84,2)	3 (%15,8)	p<0,001
	1	4 (%44,4)	5 (%55,6)	
	2	3 (%17,7)	14 (%82,3)	
	3	1 (%6,7)	14 (93,3)	
	4	0 (%0)	1 (%100)	
Evre	1	3 (%60)	2 (%40)	p=0,044
	2	7 (%53,8)	6 (%46,2)	
	3	10 (%50)	10 (%50)	
	4	4 (%17,4)	19 (%82,6)	
Tedavi Yanıtı	Tedavisiz	2 (%15,4)	11 (%84,6)	p<0,001
	Yanıt yok	2 (%13,3)	13 (%86,7)	
	Kısmi yanıt	7 (%41,2)	10 (%58,8)	
	Tam yanıt	13 (%81,25)	3 (%18,75)	
LDH (U/L)	Ortalama	235,25	619,91	p<0,001
Albumin(g/dL)	Ortalama	4,10	3,54	p=0,001
Hemoglobin(g/dL)	Ortalama	12,61	11,68	p=0,174

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

Yaşayan ve ölen hasta gruplarındaki MYC, BCL2, P53, CD30 ve CD5 pozitifliklerinin karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler Tablo 17’de özetlenmiştir.

MYC pozitif 21 olgunun (%34,4) 16’sının (%76,2) öldüğü, 5’inin (%23,8) ise yaşadığı gözlenirken MYC negatif 40 olgunun (%65,6) 21’inin (%52,5) öldüğü, 19’unun (%47,5) ise yaşadığı tespit edilmiştir. MYC pozitifliği ve yüksek mortalite arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0,042$).

BCL2 pozitif 28 olgunun (%45,9) 21’inin (%75) öldüğü, 7’sinin (%25) ise yaşadığı gözlenirken BCL2 negatif 33 olgunun (%54,1) 16’sının (%48,5) öldüğü, 17’sinin (%51,5) ise yaşadığı gözlenmiştir. Bu bulgular BCL2 pozitifliği ile yüksek mortalite ile arasında anlamlı bir ilişki bulunduğunu göstermiştir ($p=0,035$).

CD30 pozitifliği için eşik değeri %20 ve üzerinde hücrede boyanma kabul edildiğinde mortalite ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Pozitiflik için eşik değeri %0 üzeri hücrede boyanma görülmesi kabul edildiğinde ise, CD30 pozitif olan 17 olgudan (%27,8) 6’sının (%35,3) öldüğü, 11’inin (%64,7) ise yaşadığı gözlenmiştir. CD30 negatif 44 olgudan (%72,2) 31’inin (%70,5) öldüğü ve 13’ünün (%29,5) yaşadığı izlenmiştir. Bulgular CD30 pozitifliği ile düşük mortalitenin istatistiksel olarak anlamlı ilişkisini göstermiştir ($p=0,012$).

P53 pozitif 8 olgunun (%13,1) 6’sının (%75) öldüğü, 2’sinin (%25) ise yaşadığı gözlenirken P53 negatif 53 olgunun (%86,9) 31’inin (%58,5) öldüğü, 22’sinin (%41,5) ise yaşadığı tespit edilmiştir.

CD5 pozitif 16 olgunun (%26,2) 11’inin öldüğü (%68,8), 5’inin yaşadığı (%31,2) izlenmiştir. CD5 negatif 45 olgunun (%73,8) ise 26’sının öldüğü (%57,8), 19’unun yaşadığı (%42,2) görülmüştür. Mortalite ile P53 ve CD5 pozitiflikleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo 17: Yaşayan ve ölen hasta gruplarında MYC, BCL2, P53, CD30 ve CD5 pozitifliklerinin dağılımı

İHK Belirteçleri		Toplam olgu (n=61)(%)	Yaşayan (n=24) (%)	Ölen (n=37) (%)	p değeri
MYC	Pozitif	21 (%34,4)	5 (%23,8)	16 (%76,2)	0,042
	Negatif	40 (%65,6)	19 (%47,5)	21 (%52,5)	
BCL2	Pozitif	28 (%45,9)	7 (%25)	21 (%75)	0,035
	Negatif	33 (%54,1)	17 (%51,5)	16 (%48,5)	
P53	Pozitif	8 (%13,1)	2 (%25)	6 (%75)	0,373
	Negatif	53 (%86,9)	22 (%41,5)	31 (%58,5)	
CD30 (eşik %20)	Pozitif	2 (%3,3)	0 (%0)	2 (%100)	0,247
	Negatif	59 (%96,7)	24 (%40,7)	35 (%59,3)	
CD30 (eşik %0)	Pozitif	17 (%27,8)	11 (%64,7)	6 (%35,3)	0,012
	Negatif	44 (%72,2)	13 (%29,5)	31 (%70,5)	
CD5	Pozitif	16 (%26,2)	5 (%31,2)	11 (%68,8)	0,440
	Negatif	45 (%73,8)	19 (%42,2)	26 (%57,8)	

Yaşayan ve ölen hasta gruplarındaki diğer patolojik parametrelerin karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler Tablo 18’de özetlenmiştir.

BCL6 pozitif ve negatif olgular karşılaştırıldığında, BCL6 pozitif 43 olgunun (%70,5) 22’sinin (%51,2) öldüğü, 21’inin (%48,8) yaşadığı saptanmıştır. BCL6 negatif 18 olgunun (%29,5) ise 15’inin (%83,3) öldüğü, 3’ünün (%16,7) yaşadığı tespit edilmiştir. BCL6 pozitif olgularda mortalite, BCL6 negatif olgulara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (p=0,019).

CD10 pozitifliğine göre ölüm oranları incelendiğinde ise CD10 pozitif olgularda ölüm oranı %43,75, CD10 negatif olgularda ise %66,7 olarak saptanmıştır. CD10 pozitifliği ile düşük mortalite oranları arasında sınırda anlamlı bir ilişki bulunduğu görülmüştür (p=0,095).

Olgular germinal merkez subtipi (GCB) ve germinal merkez dışı subtip (non-GCB) olarak gruplandırıldığında, GCB subtipindeki olgularda ölüm oranı %45, non-GCB subtipindeki olgularda ise %68,3 olarak bulunmuş ve GCB subtipi ile düşük mortalite oranları arasında da sınırda anlamlı ilişki bulunduğu görülmüştür (p=0,080).

CD3 pozitif hücrelerin tüm hücrelere oranı için kesme değeri belirlemeye yönelik uygulanan ROC analizinde en uygun kesme değerin %20 olduğu saptanmıştır (p=0,026). Olgular, CD3 pozitif hücrelerin tüm hücrelere oranına göre %20 ve üzerinde ve %20'den düşük CD3 boyanması gözlenen olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. CD3 $\geq$ %20 olan 26 olgunun (%42,6) 12'sinin (%46,2) öldüğü, 14'ünün (%53,8) ise yaşadığı gözlenirken CD3 <%20 olan 35 olgunun (%57,4) 25'inin (%71,4) öldüğü, 10'unun (%28,6) ise yaşadığı tespit edilmiştir. CD3 pozitifliğinin %20 ve üzerinde olması ile daha düşük mortalite arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (p=0,046).

Mortalite ile MUM1 pozitifliği ve Ki67 proliferasyon indeksi arasında ise anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Tablo 18: Yaşayan ve ölen hastalarda diğer patolojik parametrelerin dağılımı

		Toplam olgu (n=61)(%)	Yaşayan (n=24) (%)	Ölen (n=37) (%)	p değeri
CD10	Pozitif	16 (%26,2)	9 (%56,25)	7 (%43,75)	<u>0,095</u>
	Negatif	45 (%73,8)	15 (%33,3)	30 (%66,7)	
MUM1	Pozitif	48 (%78,7)	19 (%39,6)	29 (%60,4)	0,941
	Negatif	13 (%21,3)	5 (%38,5)	8 (%61,5)	
BCL6	Pozitif	43 (%70,5)	21 (%48,8)	22 (%51,2)	0,019
	Negatif	18 (%29,5)	3 (%16,7)	15 (%83,3)	
Ki67	$\leq$ %80	19 (%31,1)	7 (%36,8)	12 (%63,2)	0,788
	>%80	42 (%68,9)	17 (%40,5)	25 (%59,5)	
CD3	<%20	35 (%57,4)	10 (%28,6)	25 (%71,4)	0,046
	$\geq$ %20	26 (%42,6)	14 (%53,8)	12 (%46,2)	
GCB/non-GCB	GCB	20 (%32,8)	11 (%55)	9 (%45)	<u>0,080</u>
	non-GCB	41 (%67,2)	13 (%31,7)	28 (%68,3)	

LDH değerleri normal olguların ortalama genel sağ kalımı 92,2 ay iken LDH değerleri yüksek olan olgularda ortalama sağ kalım 22,7 ay olarak saptanmıştır. LDH değeri yüksek olguların istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha kısa genel sağ kalıma sahip oldukları görülmüştür ($p<0,001$).

Albuminin sağ kalım üzerindeki etkisini saptamak için kesme değeri belirlemek amacıyla ROC analizi yapıldığında, en uygun kesme değerin 3,95 g/dL olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). Bu kesme değere göre, albumin değeri $>3,95$ g/dL olan olguların anlamlı olarak daha uzun genel sağ kalım gösterdikleri görülmüştür ($p<0,001$).

Hemoglobin için kesme değeri saptamaya yönelik uygulanan ROC analizinde, en uygun kesme değerin 12,35 g/dL olduğu saptanmıştır ($p=0,106$). Bu kesme değere göre sağ kalım analizi yapıldığında, hemoglobin değeri $\geq 12,35$ g/dL olan olguların ortalama genel sağ kalımı 67,3 ay iken hemoglobin değeri $<12,35$ g/dL olan olgularda 38,7 ay olarak bulunmuştur. 12,35 g/dL'den yüksek hemoglobin değerlerine sahip olgularda genel sağ kalımın anlamlı ölçüde uzun olduğu tespit edilmiştir ($p=0,029$).

Periferik kan lenfosit sayısı için kesme değer belirlemeye yönelik yapılan ROC analizinde, en uygun kesme değerin 1515/ μ L olduğu saptanmıştır ($p=0,044$). Buna göre yapılan sağ kalım analizinde periferik kan lenfosit sayısı ≥ 1515 / μ L olan olgularda genel sağ kalımın anlamlı olarak uzadığı gözlenmiştir ($p=0,008$).

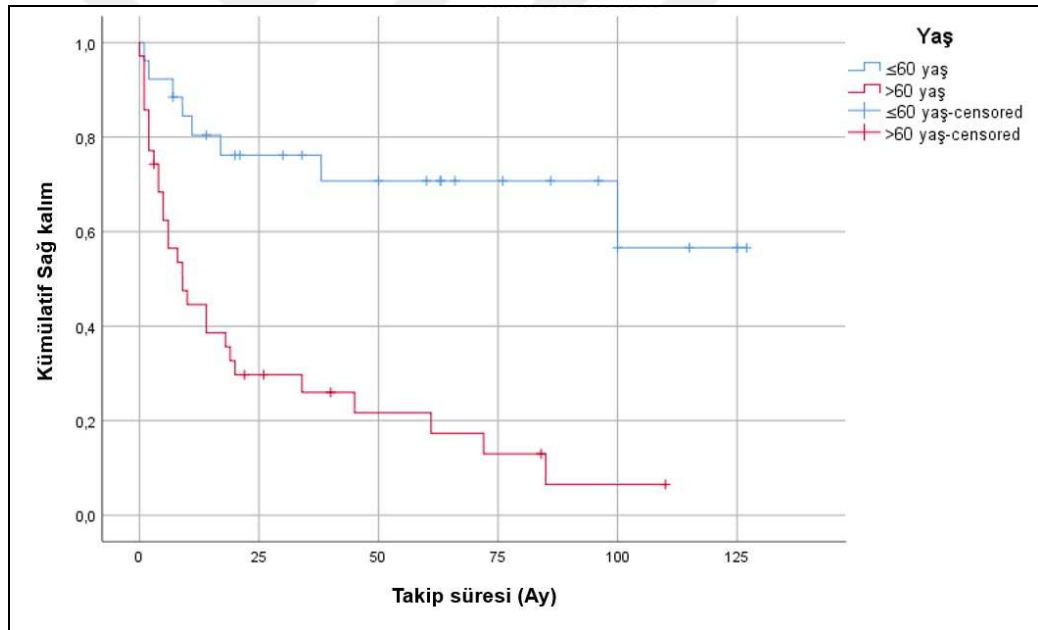
Trombosit ve MPV değerleri için uygun kesme değerleri saptamak için ROC analizi uygulandığında anlamlı bir kesme değer bulunmamıştır. Literatür verileri baz alınarak trombositopeni için $<157 \times 10^9/L$, düşük MPV için $<9,1$ fl kesme değerleri kullanılarak sağ kalım analizi yapılmıştır. Bu kesme değerlere göre trombositopeni ve düşük MPV değerlerinin genel sağ kalım ile anlamlı bir ilişkisi gözlenmemiştir.

Olgular yaşlarına göre 60 yaşının üstündeki hastalar ile 60 yaş ve altındaki hastalar olarak ayrılıp karşılaştırıldığında, 60 yaş ve altındaki 26 olgunun (%42,6) 8'inin (%30,8) ldğ, 18'inin (%69,2) yaşadığı saptanmıştır. 60 yaşının üstündeki 35 olgunun ise (%57,4) 29'unun (%82,9) ldğ, 6'sının (%17,1) ise yaşadığı görülmüştür. 60 yaş ve altındaki grupta

ortalama sağ kalım 90,0 ay olarak bulunurken 60 yaş üstü grupta ortalama sağ kalım 26,5 ay olarak bulunmuştur. Yaşın 60 veya altında olmasının daha düşük mortalite ($p=0,005$) ve daha uzun genel sağ kalım ile anlamlı ilişkisi saptanmıştır ($p<0,001$) (Tablo19, Şekil 5).

Tablo 19: Yaş ile mortalite ve sağ kalım süresinin ilişkisi

Yaş	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ortalama sağ kalım (ay)	p değeri
≤60	26 (%42,6)	18 (%69,2)	8 (%30,8)	0,005	90,0	<0,001
>60	35 (%57,4)	6 (%17,1)	29 (%82,9)		26,5	

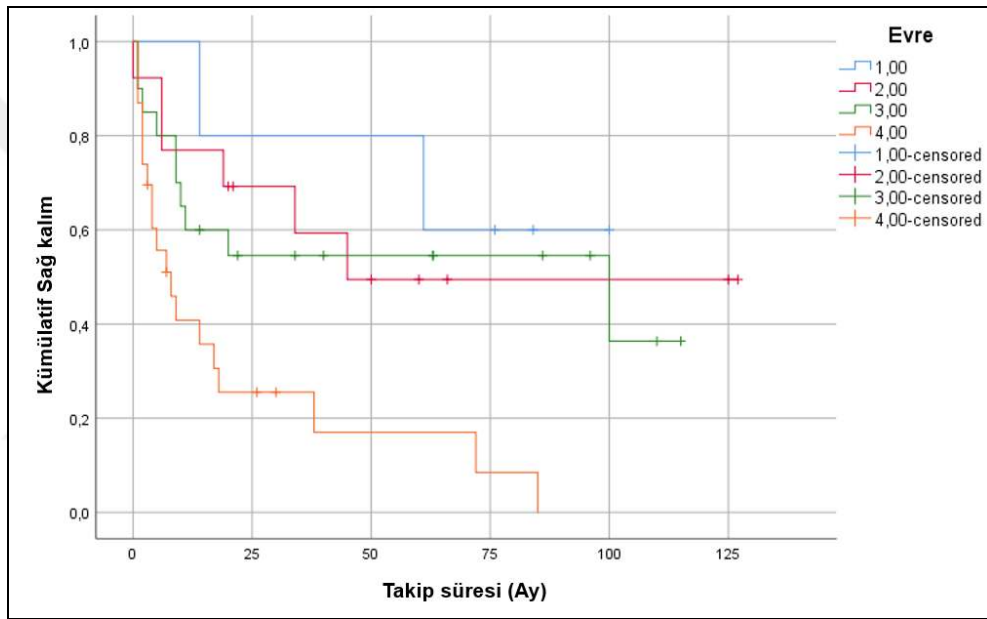


Şekil 5: Yaş ile sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

Evre ile sağ kalım ilişkisi araştırıldığında, ortalama genel sağ kalım evre I olgularda 75 ay, evre II olgularda 73 ay, evre III olgularda 63,5 ay, evre IV olgularda 21,4 ay olarak bulunmuştur. Evre arttıkça olguların istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek mortaliteye ($p=0,044$) ve daha kısa genel sağ kalıma sahip oldukları izlenmiştir ($p=0,002$) (Tablo 20, Şekil 6).

Tablo 20: Evre ile mortalite ve sağ kalım süresinin ilişkisi

Evre	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ortalama sağ kalım (ay)	p değeri
I	5 (%8,2)	3 (%60)	2 (%40)	0,044	75,0	0,002
II	13 (%21,3)	7 (%53,8)	6 (%46,2)		73,0	
III	20 (%32,8)	10 (%50)	10 (%50)		63,5	
IV	23 (%37,7)	4 (%17,4)	19 (%82,6)		21,4	

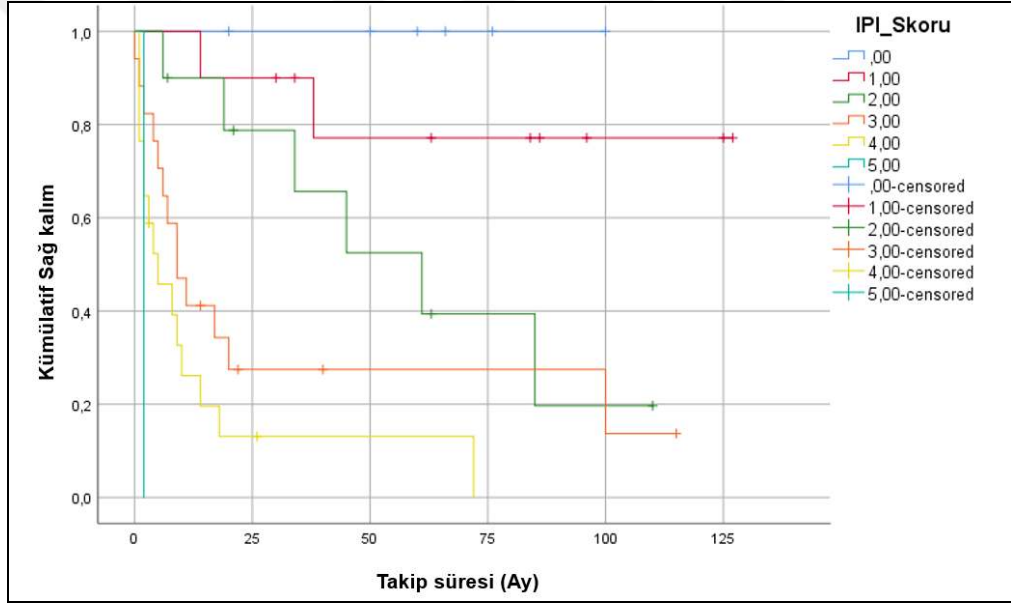


Şekil 6: Evre ile sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

Ortalama sağ kalım IPI skoru 0 olan olgularda 62 ay, 1 olan olgularda 69,7 ay, 2 olan olgularda 45,1 ay, 3 olan olgularda 22,5 ay, 4 olan olgularda 10,7 ay, 5 olan olguda ise 2 ay olarak hesaplanmıştır. Mortalite oranları IPI skoru 0 olan olgularda %0, 1 olan olgularda %20, 2 olan olgularda %60, 3 olan olgularda %76,5, 4 olan olgularda %88,2, 5 olan olguda %100 olarak saptanmıştır. Bu bulgularla artan IPI skorunun yüksek mortalite ($p<0,001$) ve daha kısa sağ genel kalım süreleri ile ($p<0,001$) anlamlı ilişkileri tespit edilmiştir (Tablo 21, Şekil 7).

Tablo 21: IPI skorunun mortalite ve sağ kalım ile ilişkisi

Mortalite					Genel sağ kalım	
IPI skoru	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ort. sağ kalım (ay)	p değeri
0	6 (%9,8)	6 (%100)	0 (%0)	<0,001	62	<0,001
1	10 (%16,4)	8 (%80)	2 (%20)		69,7	
2	10 (%16,4)	4 (%40)	6 (%60)		45,1	
3	17 (%27,9)	4 (%23,5)	13 (%76,5)		22,5	
4	17 (%27,9)	2 (%11,8)	15 (%88,2)		10,7	
5	1 (%1,6)	0 (%0)	1 (%100)		2	



Şekil 7: IPI skoru ile sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

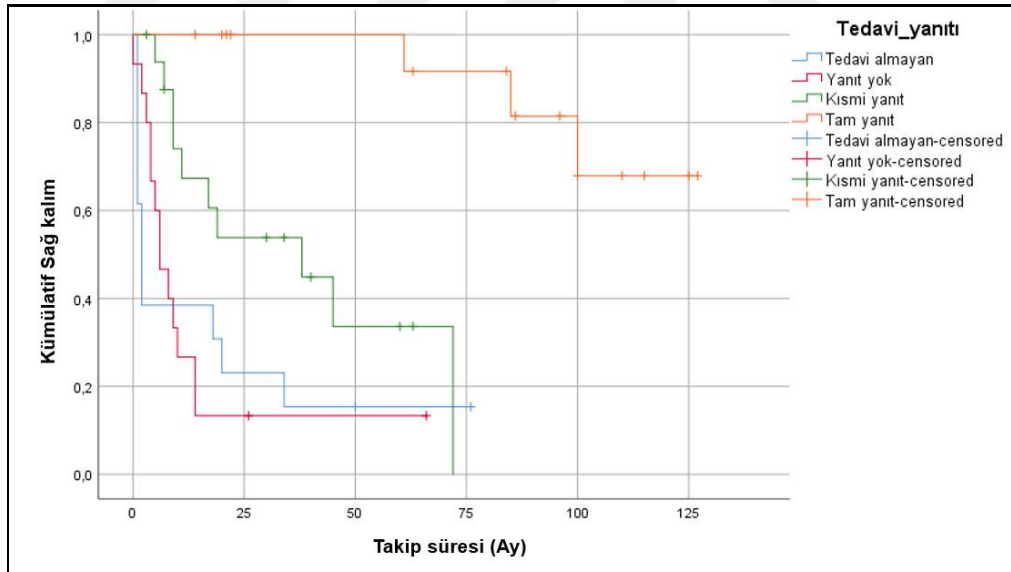
Olgular ECOG performans durumlarına göre gruplara ayrılarak sağ kalım analizi yapıldığında, ECOG performans skoru 0 olan olgularda ortalama sağ kalım 108,9 ay, 1 olanlarda 54,6 ay, 2 olanlarda 28,9 ay, 3 olanlarda 9,9 ay, 4 olanlarda ise 1 ay olarak saptanmıştır. ECOG performans skoru arttıkça genel sağ kalımın anlamlı şekilde düştüğü izlenmiştir ($p<0,001$).

Olguların tedaviye yanıtları ile sağ kalım ilişkisi değerlendirildiğinde, morbiditeleri bulunması veya tedaviyi reddetmesi nedeniyle tedavi almamış

olan hastalarda ortalama genel sağ kalım 18 ay, tedaviye yanıt alınamayan olgularda 14,5 ay olarak hesaplanmıştır. Tedaviye kısmi yanıt alınan olgularda ortalama genel sağ kalım 37,8 ay iken tedaviye tam yanıt veren olgularda ise 113,5 ay olarak hesaplanmıştır. Tedaviye verilen yanıt arttıkça mortalitenin anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,001$), genel sağ kalımın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir ($p<0,001$) (Tablo 22, Şekil 8).

Tablo 22: Tedavi yanıtının mortalite ve sağ kalım ile ilişkisi

Tedavi yanıtı	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu	Yaşayan olgu	Ölen olgu	p değeri	Ort. Sağ kalım (ay)	p değeri
Tedavisiz	13 (%21,3)	2 (%15,4)	11 (%84,6)	<0.001	18,0	<0.001
Yanıt yok	15 (%24,6)	2 (%13,3)	13 (%86,7)		14,5	
Kısmi	17 (%27,9)	7 (%41,2)	10 (%58,8)		37,8	
Tam	16 (%26,2)	13 (%81,2)	3 (%18,8)		113,5	



Şekil 8: Tedavi yanıtı ile sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

Tedavi alan olgular aldıkları KT rejimlerine göre R-CHOP tedavisi alanlar ile CHOP ve benzeri tedavi alanlar olarak ayrıldığında, ilk grupta yer alan 38 olgudan 19'unun (%50) öldüğü gözlenirken ikinci gruptaki 10 olgunun 6'sının

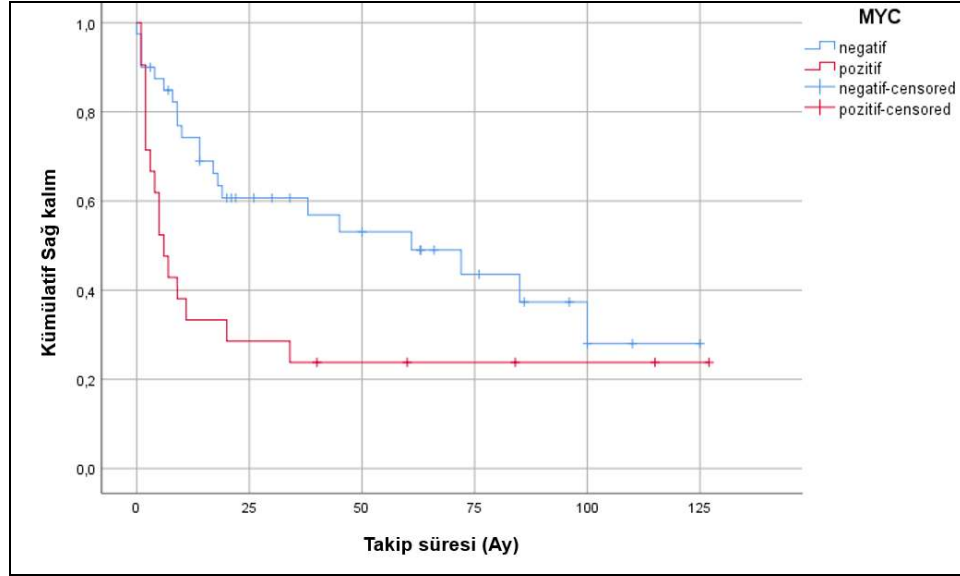
(%60) öldüğü tespit edilmiştir. Ortalama genel sağ kalım süreleri R-CHOP tedavisi alan olgularda 56,1 ay, CHOP ve benzeri tedavi alan olgularda 65,4 ay olarak bulunmuştur. Alınan KT türü ile mortalite ve genel sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

MYC için ≥ 40 kesme değeri pozitiflik için eşik değer olarak belirlendiğinde, MYC pozitif hastalarda ölüm oranı %76,2, MYC negatif hastalarda ise %52,5 olarak saptanmıştır. Ortalama sağ kalım süreleri MYC pozitif grupta 35,6 ay iken negatif grupta 62,7 ay olarak bulunmuştur. MYC pozitifliğinin anlamlı şekilde daha yüksek mortalite ($p=0,042$) ve daha kısa genel sağ kalım ile ilişkili olduğu gözlenmiştir ($p=0,023$) (Tablo23, Şekil 9).

BCL2 için ≥ 50 kesme değeri pozitiflik için eşik değer olarak belirlendiğinde, BCL2 pozitif olgularda ölüm oranı %75, BCL2 negatif olgularda ise %48,5 olarak görülmüştür. Ortalama sağ kalım süreleri BCL2 pozitif grupta 37,9 ay iken negatif grupta 67,8 ay olarak saptanmıştır. Bu bulgular ile BCL2 pozitifliğinin yüksek mortalite ile anlamlı ilişkisi gösterilmiş ($p=0,035$), BCL2 pozitifliği ile daha kısa genel sağ kalım süresi arasında ise sınırda anlamlı ilişki ($p=0,073$) tespit edilmiştir (Tablo24, Şekil 10).

Tablo 23: MYC ekspresyonunun mortaliteye ve sağ kalım süresine etkisi

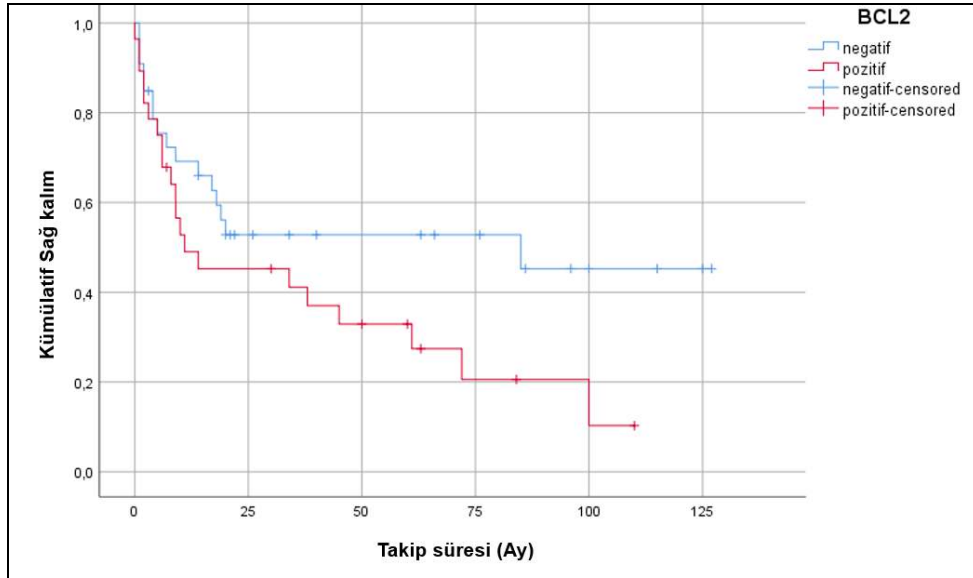
	Mortalite				Genel sağ kalım	
MYC	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ort. sağ kalım (ay)	p değeri
Pozitif	21 (%34,4)	5 (%23,8)	16 (%76,2)	0,042	35,6	0,023
Negatif	40 (%65,6)	19 (%47,5)	21 (%52,5)		62,7	



Şekil 9: MYC ekspresyonu-sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

Tablo 24: BCL2 ekspresyonunun mortaliteye ve sağ kalım süresine etkisi

BCL2	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ort. sağ kalım (ay)	p değeri
Pozitif	28 (%45,9)	7 (%25)	21 (%75)	0,035	37,9	0,073
Negatif	33 (%54,1)	17 (%51,5)	16 (%48,5)		67,8	



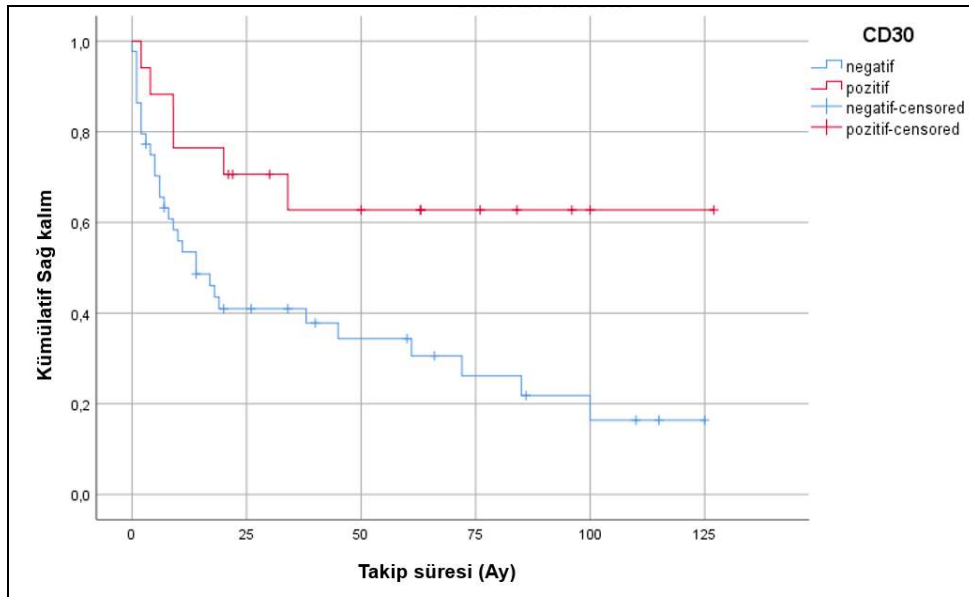
Şekil 10: BCL2 ekspresyonu-sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

MYC ve BCL2 aşırı ekspresyonunun birlikte izlendiği DE fenotip gösteren 10 olgunun (%16,4) 2'sinin (%20) yaşadığı, 8'inin (%80) öldüğü gözlenmiş, kalan 51 olgunun (%83,6) ise 22'sinin (%43,1) yaşadığı, 29'unun (%56,9) öldüğü saptanmıştır. Double ekspresör fenotipe sahip olgularda ortalama genel sağ kalım 24,0 ay, kalan olgularda ise 58,6 ay olarak bulunmuştur. DE fenotipin mortalite ile anlamlı bir ilişkisi bulunmamış ($p=0,171$), düşük sağ kalım ile sınırda anlamlı ilişki gösterdiği görülmüştür ($p=0,083$).

CD30 pozitif olgularda ölüm oranı %35,3, negatif olgularda %70,5 olarak bulunmuştur. Ortalama sağ kalım CD30 pozitif grupta 84,9 ay, CD30 negatif grupta 41,9 ay olarak saptanmıştır. CD30 pozitifliği ile düşük mortalite ($p=0,012$) ve yüksek sağ kalım ($p=0,015$) arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (Tablo 25, Şekil 11).

Tablo 25: CD30 ekspresyonunun mortaliteye ve sağ kalım süresine etkisi

CD30	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ort. sağ kalım (ay)	p değeri
Pozitif	17 (%27,8)	11 (%64,7)	6 (%35,3)	0,012	84,9	0,015
Negatif	44 (%72,2)	13 (%29,5)	31 (%70,5)		41,9	

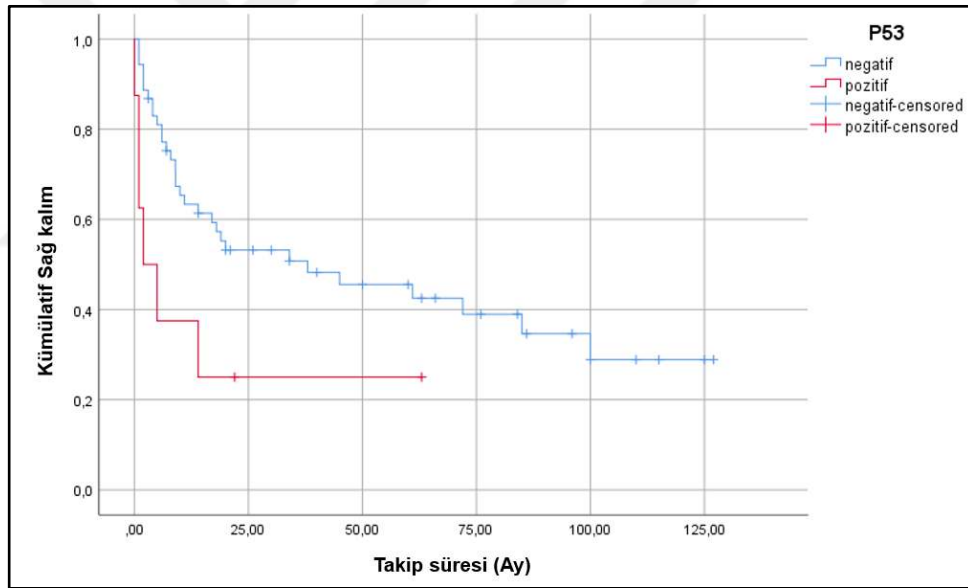


Şekil 11: CD30 ekspresyonu-sağ kalım ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

P53 için $>50\%$ kesme değeri pozitiflik eşik değeri olarak belirlendiğinde, ortalama sağ kalım süreleri P53 pozitif grupta 18,6 ay iken negatif grupta 57,2 ay olarak hesaplanmıştır. P53 pozitifliği ile mortalite arasında anlamlı ilişki gözlenmezken ($p=0,373$) P53 pozitifliğinin daha kısa genel sağ kalım ile anlamlı ilişkisi saptanmıştır ($p=0,042$) (Tablo 26, Şekil 12).

Tablo 26: P53 ekspresyonunun mortaliteye ve sağ kalım süresine etkisi

P53	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ort. sağ kalım (ay)	p değeri
Pozitif	8 (%13,1)	2 (%25)	6 (%75)	0,373	18,6	0,042
Negatif	53 (%86,9)	22 (%41,5)	31 (%58,5)		57,2	



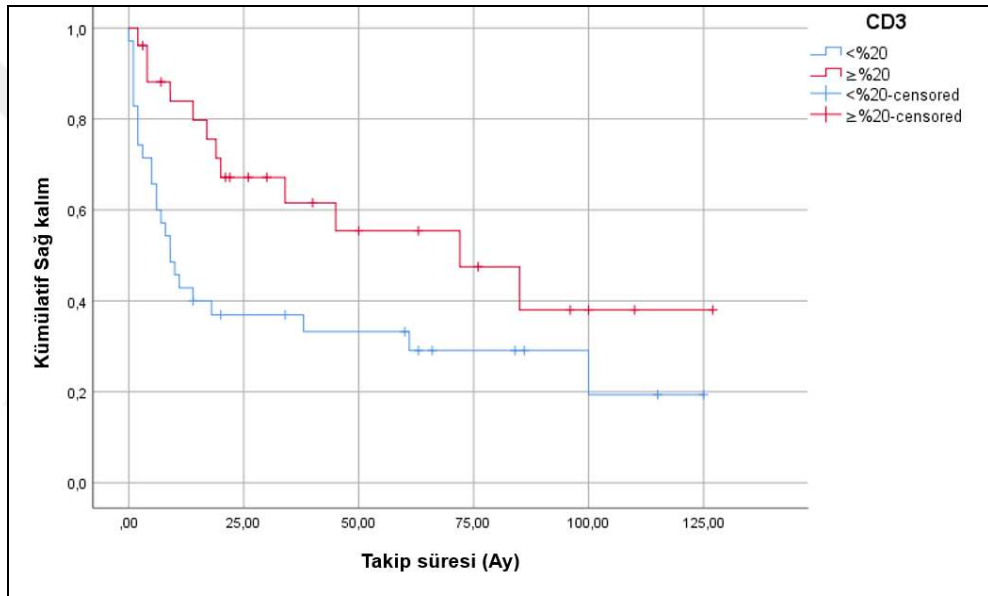
Şekil 12: P53 ekspresyonunun sağ kalımla ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

CD3 için $\geq 20\%$ kesme değeri olarak belirlendiğinde, $\geq 20\%$ CD3 boyanması gözlenen olgularda ölüm oranı $46,2\%$, $< 20\%$ CD3 boyanması gözlenen olgularda ise $71,4\%$ olarak bulunmuştur. CD3 $\geq 20\%$ olan olgularda ortalama genel sağ kalım 70,4 ay iken CD3 $< 20\%$ olan olgularda 41,4 ay olarak saptanmıştır. CD3 $\geq 20\%$ olan olguların anlamlı şekilde daha düşük

mortalite ($p=0,046$) ve daha uzun genel sağ kalım ($p=0,023$) ile ilişkili oldukları gözlenmiştir (Tablo 27, Şekil 13).

Tablo 27: CD3 ekspresyonu yoğunluğunun mortalite ve sağ kalıma etkisi

CD3	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ort. sağ kalım (ay)	p değeri
≥ 20	26 (%42,6)	14 (%53,8)	12 (%46,2)	0,046	70,4	0,023
< 20	35 (%57,4)	10 (%28,6)	25 (%71,4)		41,4	

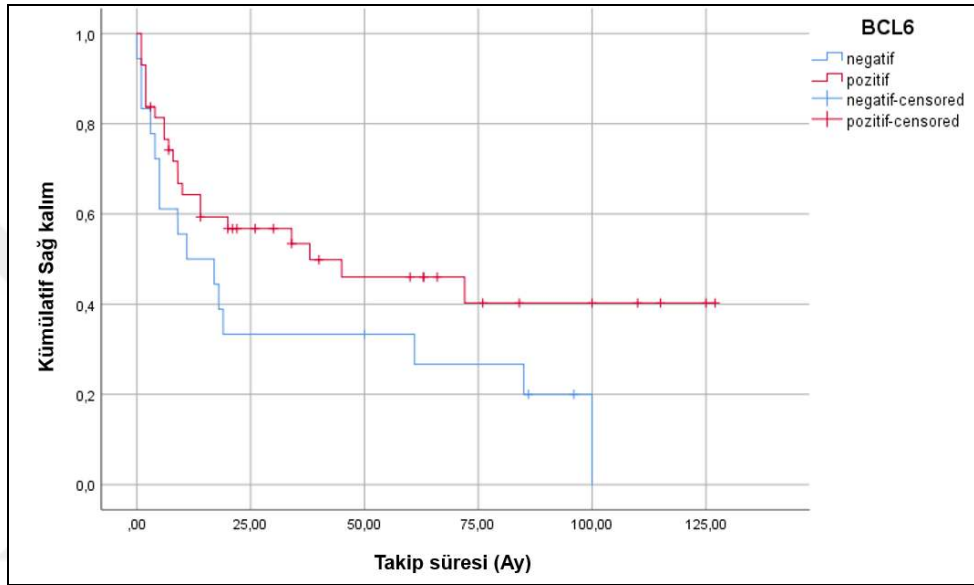


Şekil 13: CD3 ekspresyonu yoğunluğunun sağ kalımla ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

BCL6 pozitif grupta mortalite oranı %51,2, BCL6 negatif grupta %83,3 olarak saptanmıştır. Ortalama genel sağ kalım süresi BCL6 pozitif olgularda 62,4 ay, BCL6 negatif olgularda 34,9 ay olarak hesaplanmıştır. BCL6 pozitif olguların negatif olgularla kıyaslandığında anlamlı ölçüde düşük mortalite gösterdikleri ($p=0,019$), sınırda anlamlı şekilde daha uzun genel sağ kalıma sahip oldukları ($p=0.074$) tespit edilmiştir (Tablo 28, Şekil 14).

Tablo 28: BCL6 ekspresyonunun mortalite ve sağ kalıma etkisi

BCL6	Mortalite				Genel sağ kalım	
	Toplam olgu (%)	Yaşayan olgu (%)	Ölen olgu (%)	p değeri	Ort. sağ kalım (ay)	p değeri
Pozitif	43 (%70,5)	21 (%48,8)	22 (%51,2)	0,019	62,4	0,074
Negatif	18 (%29,5)	3 (%16,7)	15 (%83,3)		34,9	



Şekil 14: BCL6 ekspresyonunun sağ kalımla ilişkisini gösteren Kaplan-Meier eğrisi

CD10, MUM1 ve CD5 immünohistokimyasal belirteçlerinin ve morfolojik varyantların sağ kalıma etkileri araştırıldığında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Farklı eşik değerler kullanılarak Ki67 proliferasyon indeksinin sağ kalıma etkisi analiz edildiğinde de anlamlı bir ilişki görülmemiştir. GCB ve non-GCB subtipleri arasında da sağ kalım açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Olgularda İHK belirteçlerinin pozitifliği ile genel sağ kalım süresi ilişkileri subtiplere göre ayrı ayrı da değerlendirilmiştir (Tablo 29). MYC pozitifliğinin GCB alt tipinde düşük sağ kalım ile sınırda anlamlı ($p=0,073$), non-GCB subtipinde anlamlı düzeyde ($p=0,031$) ilişkili olduğu görülmüştür. P53 pozitifliği GCB alt tipinde sınırda anlamlı ($p=0,081$), non-GCB subtipinde anlamlı düzeyde ($p=0,041$) düşük sağ kalım süresi ile ilişkili bulunmuştur.

BCL2 pozitifliğinin GCB subtipindeki olgularda düşük genel sağ kalım süresiyle anlamlı ilişkisi gözlenirken ($p=0,020$) non-GCB subtipinde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0,716$). CD30 pozitifliğinin non-GCB subtipinde daha uzun genel sağ kalım süresi ile anlamlı ilişkisi saptanmış ($p=0,016$), GCB subtipinde sağ kalım süresi ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir ($p=0,226$).

Tablo 29: Olgu alt tiplerine göre İHK belirteçlerinin sağ kalım süresine etkileri

İHK	Alt tip	Pozitif/ Negatif	Ort. sağ kalım süresi (ay)	p değeri
MYC	GCB	Pozitif	31,6	<u>0,073</u>
		Negatif	76,5	
	Non-GCB	Pozitif	25,1	0,031
		Negatif	55,1	
BCL2	GCB	Pozitif	16,8	0,020
		Negatif	89,3	
	Non-GCB	Pozitif	42,5	0,716
		Negatif	53,8	
P53	GCB	Pozitif	20	<u>0,081</u>
		Negatif	78,4	
	Non-GCB	Pozitif	7	0,041
		Negatif	49,5	
CD30	GCB	Pozitif	81,5	0,226
		Negatif	30,7	
	Non-GCB	Pozitif	78,7	0,016
		Negatif	32,4	
CD5	GCB	Pozitif	44,6	0,461
		Negatif	74,1	
	Non-GCB	Pozitif	53,6	0,563
		Negatif	43,2	

Çalışmamızda klinik verilerine ulaşılan 61 olgudan 13'ü herhangi bir tedavi almamıştır. Tedavi verilen 48 olguda İHK belirteçlerinin pozitiflik durumu ile tedaviye verilen yanıtlar arasındaki ilişkiler araştırılmıştır (Tablo 30). BCL2 pozitifliğinin tedaviye daha az yanıt verilmesi ile sınırda anlamlı ilişkili olduğu görülmüştür ($p=0,080$). CD30 pozitifliğinin ise tedaviye daha iyi yanıt ile sınırda anlamlı ilişkisinin olduğu saptanmıştır ($p=0,091$).

Tablo 30: Tedavi alan 48 olguda İHK belirteçlerinin tedavi yanıtı ile ilişkileri

İHK	Pozitif/ Negatif	Yanıt yok	Kısmi yanıt	Tam yanıt	p değeri
MYC	Pozitif (n=14)	5	6	3	0,529
	Negatif (n=34)	10	11	13	
BCL2	Pozitif (n=23)	9	10	4	<u>0,080</u>
	Negatif (n=25)	6	7	12	
P53	Pozitif (n=10)	3	2	5	0,385
	Negatif (n=38)	12	15	11	
CD30	Pozitif (n=12)	2	3	7	<u>0,091</u>
	Negatif (n=36)	13	14	9	
CD5	Pozitif (n=13)	5	3	5	0,548
	Negatif (n=35)	10	14	11	

Kaplan-meier analizleri sonucunda genel sağ kalım ile anlamlı ilişkileri tespit edilen hemoglobin, mutlak lenfosit sayısı ve albümin değerleri yanı sıra prognostik indeks skorum sistemlerinde yer alan yaş, serum LDH seviyesi, evre ve ECOG performans durumu klinik parametreleri daha güncel olan NCCN-IPI skorum sistemindeki kriterlere göre kategorize edilerek tek değişkenli lojistik regresyon analizi ile incelenmiştir. İncelenen tüm bu klinik parametrelerin istatistiksel anlamlı düzeyde genel sağ kalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra, aynı yedi klinik parametre ile Enter methodu kullanılarak çok değişkenli Cox regresyon analizi yapılmıştır. Çok değişkenli analizde yaş değerinin sınırda anlamlı düzeyde, LDH seviyesi ve ECOG performans durumunun anlamlı düzeyde genel sağ kalım ile bağımsız şekilde

ilişkili olan klinik parametreler oldukları ortaya konulmuştur (Omnibus testi: -2 log-olasılık=207,9, χ^2 =58,5, $p<0,001$) (Tablo 31).

Tablo 31: Genel sağ kalımı etkileyen klinik parametreler, tek değişkenli ve Enter methodu ile çok değişkenli Cox regresyon analizleri

Klinik Parametreler	Tek değişkenli analiz			Çok değişkenli analiz		
	HR	%95 GA	p değeri	HR	%95 GA	p değeri
Yaş						
≤40	-	-	0,001	-	-	<u>0,055</u>
>40-≤60	0,975	0,232-4,097	0,972	1,000	0,203-4,915	1,000
>60-≤75	4,197	1,246-14,142	0,021	3,086	0,814-11,702	<u>0,097</u>
>75	6,994	1,810-27,020	0,005	4,315	0,926-19,352	<u>0,056</u>
LDH oranı						
≤1	-	-	<0,001	-	-	0,004
>1-≤3	5,396	2,321-12,543	<0,001	4,576	1,483-14,120	0,008
>3	21,421	6,783-67,647	<0,001	12,605	2,780-57,154	0,001
ECOG						
≥2	7,612	3,383-17,128	<0,001	7,358	2,407-22,495	<0,001
Evre						
III-IV	2,223	1,010-4,890	0,047	1,434	0,570-3,609	0,443
Hemoglobin						
<12,35 g/dL	0,488	0,251-0,949	0,035	1,726	0,751-3,968	0,199
Lenfosit sayısı						
$1,51 \times 10^9$	2,512	1,237-5,099	0,011	0,608	0,246-1,503	0,281
Albumin						
<3,95 g/dL	4,190	1,986-8,841	<0,001	0,455	0,148-1,398	0,169

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group, LDH: laktat dehidrogenaz, GA: güven aralığı, HR: "hazard ratio" - risk oranı

Çalışmamızda prognostik değerleri araştırılan 5 İHK belirteci yanı sıra Kaplan-meier analizlerinde anlamlı bulunan CD3 ve BCL6 belirteçlerinin genel sağ kalım ile ilişkileri tek değişkenli analizler ile incelenmiştir. MYC ve CD30'un pozitiflik/negatiflik durumu ile CD3 yoğunluğunun genel sağ kalım

ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu görülmüştür. P53, BCL2 ve BCL6 pozitifliklerinin genel sağ kalım ile sınırda anlamlı ilişki gösterdiği, CD5'in ise anlamlı ilişkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

Aynı 7 İHK belirtecinin genel sağ kalım ile ilişkisi Enter methodu kullanılarak çok değişkenli Cox regresyon analizi ile incelenmiştir. MYC, P53 ve BCL6'nın anlamlı düzeyde, CD30'un ise sınırda anlamlı düzeyde, diğer İHK belirteçlerinin etkisinden bağımsız şekilde genel sağ kalımı öngören belirteçler oldukları tespit edilmiştir (Omnibus testi: -2 log-olasılık=240,7, χ^2 =28,1, p=0,001) (Tablo 32).

Tablo 32: Genel sağ kalımı etkileyen immünohistokimyasal belirteçler, Enter methodu ile tek değişkenli ve çok değişkenli Cox regresyon analizleri

İHK	Tek değişkenli analiz			Çok değişkenli analiz		
	HR	%95 GA	p değeri	HR	%95 GA	p değeri
MYC	2,092	1,085-4,034	0,028	2,715	1,287-5,728	0,009
BCL2	1,792	0,931-3,447	<u>0,081</u>	1,830	0,888-3,744	0,102
P53	2,409	0,993-5,845	<u>0,052</u>	3,192	1,263-8,067	0,014
CD5	0,988	0,484-2,018	0,974	0,533	0,231-1,230	0,140
CD30	2,796	1,163-6,721	0,022	2,426	0,914-6,439	<u>0,075</u>
BCL6	1,795	0,929-3,471	<u>0,082</u>	2,193	1,045-4,605	0,038
CD3	2,163	1,083-4,318	0,029	1,123	0,505-2,499	0,776

GA: güven aralığı, HR: "hazard ratio" - risk oranı

Bu analizler sonrasında klinik parametreler ve immünohistokimyasal belirteçlerin çok değişkenli Cox regresyon analizi ile birlikte incelendiği bir model oluşturulması amaçlanmıştır. Tablo 31'de çok değişkenli analiz ile incelenen klinik parametrelerden yalnızca NCCN-IPI skorlamasında yer alan parametrelerin genel sağ kalımı bağımsız şekilde öngören parametreler oldukları tespit edilmiştir. Bu nedenle olgular NCCN-IPI skorlarına göre skor 1-2, skor 3-4 ve skor 5-6 olmak üzere 3 grup halinde kategorize edilerek bu kategoriler ve İHK belirteçlerinin yer aldığı bir model oluşturulmuştur. Enter methodu çok değişkenli Cox regresyon analizleri yapılmıştır.

Çok değişkenli Cox regresyon analizi ile NCCN-IPI skorlamasının İHK belirteçlerinden bağımsız prognostik değeri olduğu görülmüştür. MYC belirtecinin anlamlı, CD3 ve P53 belirteçlerinin ise sınırda anlamlı düzeyde IPI skorundan ve diğer belirteçlerin prognostik etkisinden bağımsız şekilde genel sağ kalım ile ilişkili belirteçler oldukları tespit edilmiştir (Omnibus testi: -2 log-olasılık=204,9, χ^2 =59,6, $p<0,001$) (Tablo 33).

Tablo 33: Genel sağ kalımı etkileyen klinik ve immünohistokimyasal parametrelerin Enter methodu ile yapılan çok değişkenli Cox regresyon analizi

Klinik ve İHK Parametreleri	Tek değişkenli analiz			Çok değişkenli analiz		
	HR	%95 GA	p değeri	HR	%95 GA	p değeri
NCCN-IPI skoru kategorileri						
1-2	-	-	<0,001	-	-	<0,001
3-4	0,027	0,006-0,123	<0,001	0,018	0,003-0,097	<0,001
5-6	0,316	0,156-0,639	0,001	0,334	0,155-0,718	0,005
İHK belirteçleri						
MYC	2,092	1,085-4,034	0,028	2,603	1,199-5,648	0,016
BCL2	1,792	0,931-3,447	<u>0,081</u>	1,053	0,467-2,376	0,901
P53	2,409	0,993-5,845	<u>0,052</u>	2,509	0,963-6,535	<u>0,060</u>
CD5	0,988	0,484-2,018	0,974	0,565	0,220-1,454	0,236
CD30	2,796	1,163-6,721	0,022	0,932	0,348-2,495	0,888
BCL6	1,795	0,929-3,471	<u>0,082</u>	1,280	0,576-2,842	0,545
CD3	2,163	1,083-4,318	0,029	2,309	0,932-5,718	<u>0,071</u>

NCCN-IPI: National Comprehensive Cancer Network Uluslararası Prognostik İndeks, GA: güven aralığı, HR: "hazard ratio" - risk oranı

Klinik pratikte uygulanabilir model geliştirmek amacıyla çok değişkenli analiz ile geriye doğru adımsal olabilirlik oranı ("backward stepwise likelihood ratio") yöntemi kullanılarak modele dahil edilecek parametreler belirlendi. MYC, P53, CD3 ve NCCN-IPI skoru kategorilerinden oluşan risk modeli geliştirildi (Omnibus testi: -2 log-olasılık=206,7; χ^2 =55,2; $p<0,001$) (Tablo 34).

Tablo 34: Genel sağ kalımı etkileyen klinik ve immünohistokimyasal parametrelerin geriye doğru adımsal olabilirlik oranı yöntemi ile yapılan Cox regresyon analizi

Parametreler	β	HR	%95GA	p değeri
İHK belirteçleri				
MYC	0,862	2,369	1,120-5,010	0,024
P53	0,830	2,294	0,890-5,913	<u>0,086</u>
CD3	0,972	2,644	1,226-5,701	0,013
NCCN-IPI skoru kategorileri				
1-2	-	-	-	<0,001
3-4	2,907	18,308	4,017-83,452	<0,001
5-6	3,073	53,164	11,014-256,617	<0,001

NCCN-IPI: National Comprehensive Cancer Network Uluslararası Prognostik İndeks, β : regresyon katsayısı, GA: güven aralığı, HR: "hazard ratio" - tehlike oranı

Modele dahil olan parametrelerin regresyon katsayıları (β) aralarından en düşük olanına bölünerek tam sayıya yuvarlandı. Buna göre, MYC pozitifliği 1 puan, P53 pozitifliği 1 puan, düşük CD3 yoğunluğu 1 puan; NCCN-IPI skoru 3-4 olanlar 3 puan, NCCN-IPI skoru 5-6 olanlar 6 puan olarak skorlandı. Risk parametrelerine sahip olunmaması halinde ise toplam puana her parametre için 0 eklendi.

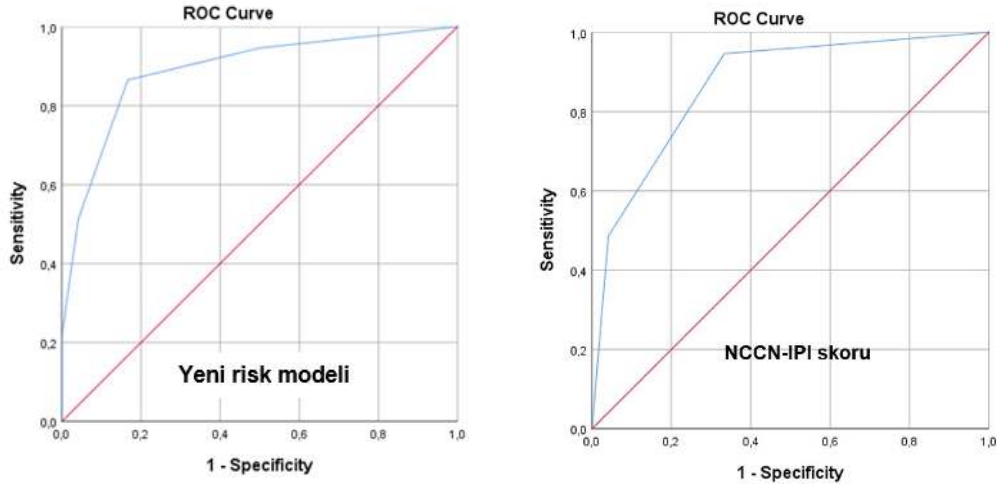
Risk skoru: $1 \times (\text{MYC pozitif ise } 1, \text{ negatif ise } 0) + 1 \times (\text{P53 pozitif ise } 1, \text{ negatif ise } 0) + 1 \times (\text{CD3 düşük yoğunlukta ise } 1, \text{ yüksek yoğunlukta ise } 0) + 3 \times (\text{NCCN-IPI skoru; } 1-2 \text{ ise } 0, 3-4 \text{ ise } 1, 5-6 \text{ ise } 2)$

Ortalama sağ kalım süreleri risk skoru 0 ve 1 olan 15 olguda 65,6 ay, risk skoru 2 ve 3 olan 10 olguda 56,7 ay, risk skoru 4 ve 5 olan 16 olguda 17,8 ay, risk skoru 6 ve 7 olan 12 olguda 13,6 ay, risk skoru 8 ve 9 olan 8 olguda ise 3,1 ay olarak saptandı. Yükselen risk skoru ile düşük sağ kalım arasında anlamlı ilişki gözlemlendi ($p < 0,001$).

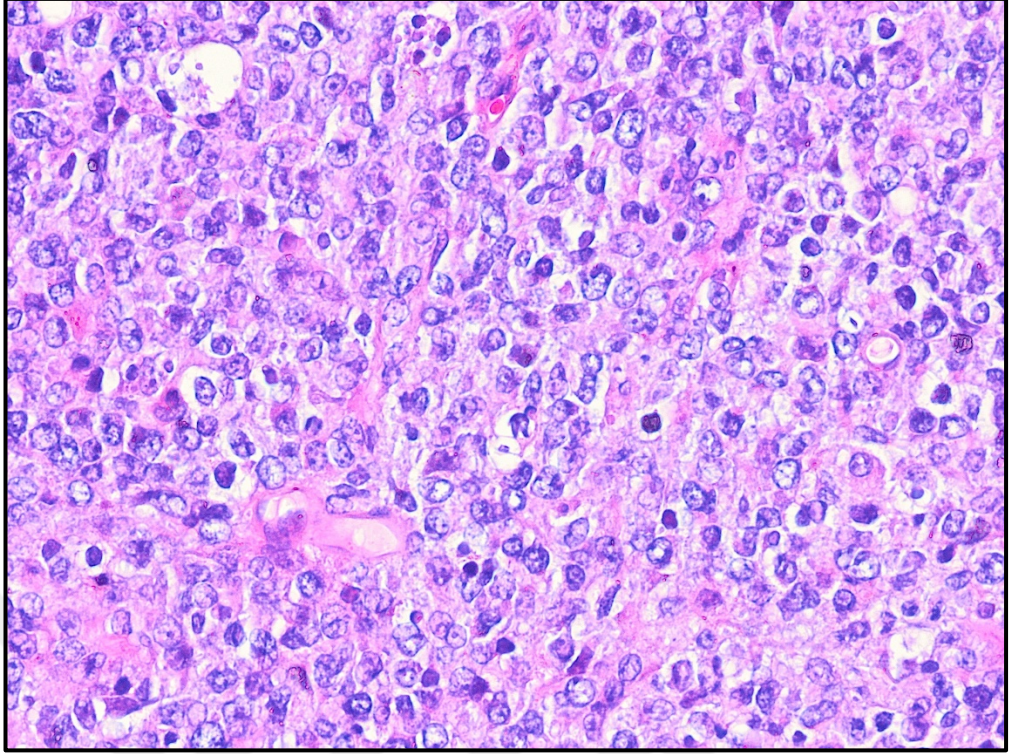
Geliştirilen yeni risk skorlamasının mortaliteyi öngörme özelliği ROC analizi ile incelendi. Eğri altında kalan alan 0,890 (%95 GA: 0,805-0,974) olup modelin anlamlı prediktif özelliğe sahip olduğu gösterildi ($p < 0,001$).

Yüksek risk skorunun mortaliteyi öngörmeye duyarlılığı %86,5, özgüllüğü %83,3 olarak saptandı. NCCN-IPI skorlaması kategorilerinin tek başına mortaliteyi öngörme özelliği ROC analizi ile incelendiğinde ise eğri altında kalan alan 0,868 (%95 GA: 0,773-0,962) olarak hesaplandı ($p<0,001$) (Şekil 15). Yüksek risk skorunun mortaliteyi öngörmeye duyarlılığı %73,6, özgüllüğü %80 olarak saptandı.

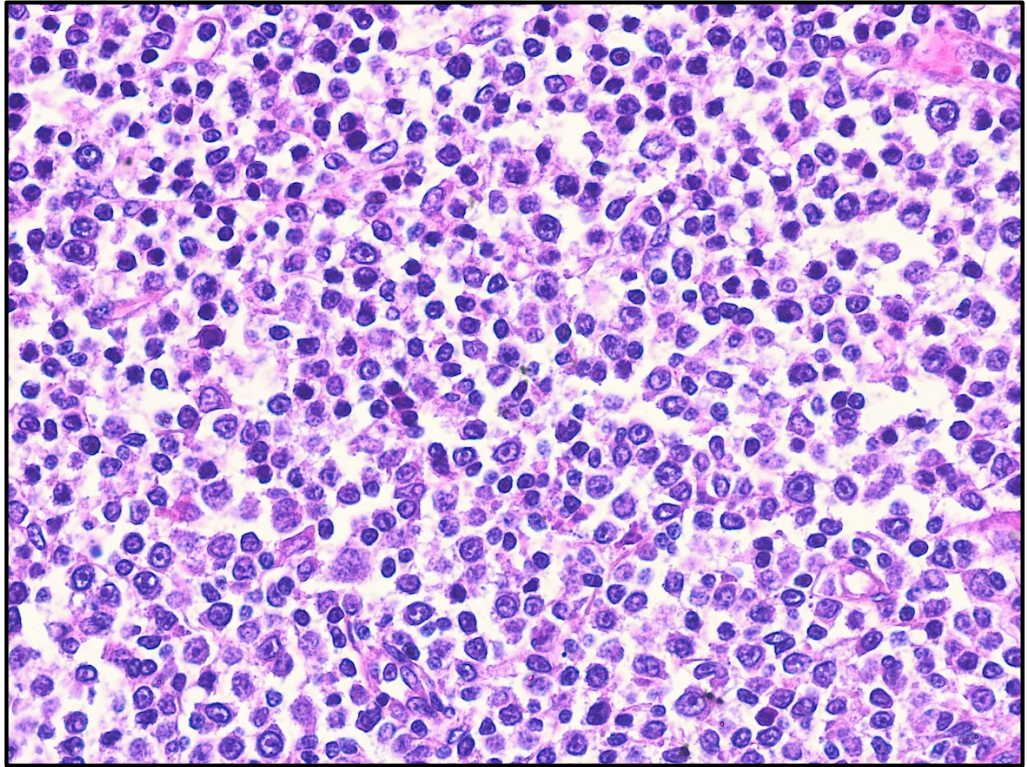
Geliştirilen risk skorlamasının NCCN-IPI skorlamasına göre mortaliteyi öngörmeye duyarlılığının ve özgüllüğünün daha yüksek olduğu sonucuna varıldı.



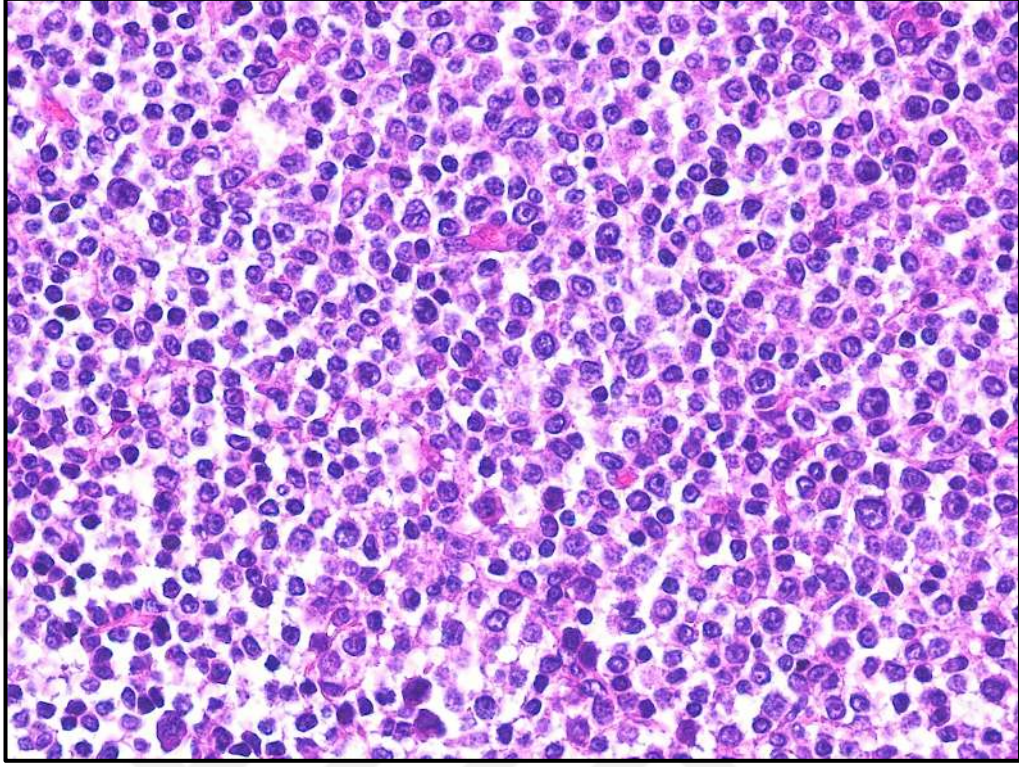
Şekil 15: NCCN-IPI ve yeni geliştirilen risk modelinin ROC analizi ile mortaliteyi öngörme özelliklerinin karşılaştırılması



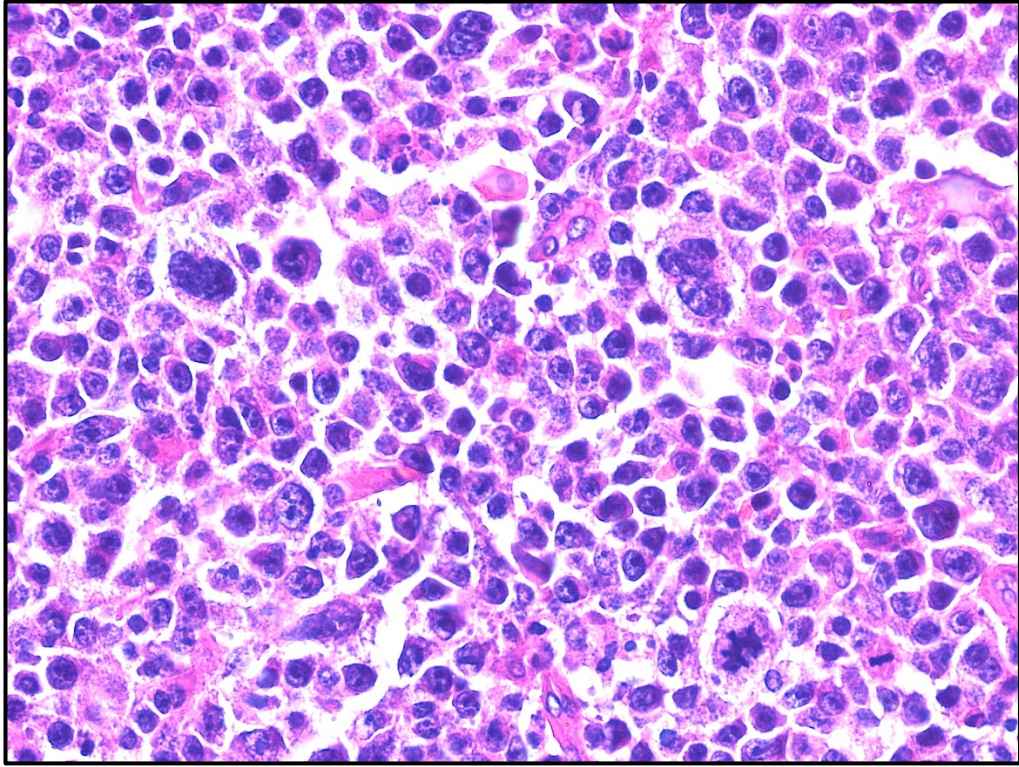
Resim 1: DBBHL'nin sentroblastik varyantı (H&E, x400)



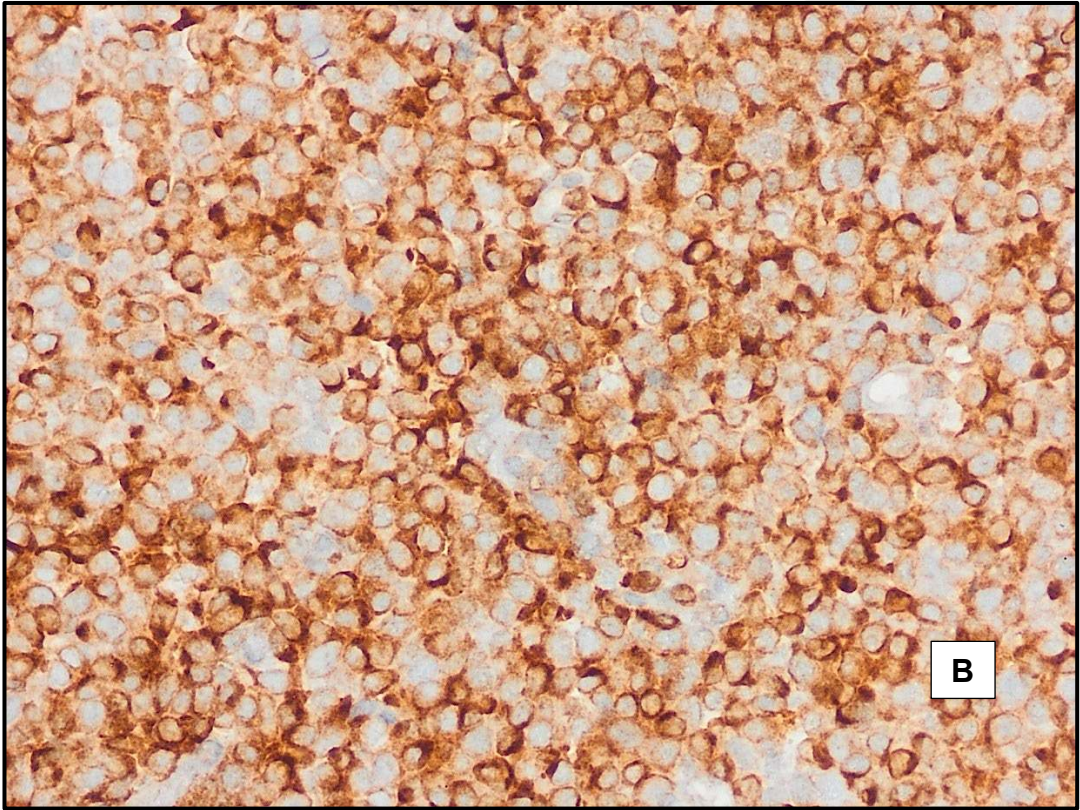
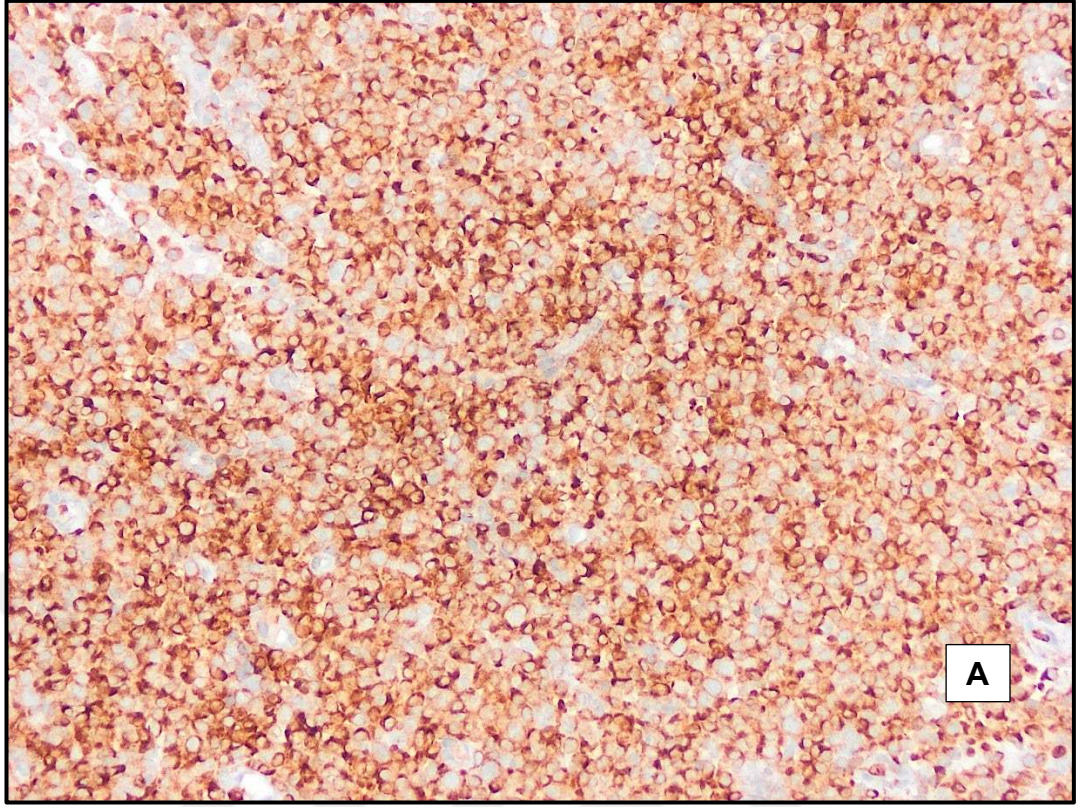
Resim 2: DBBHL'nin imm nobl stik varyantı (H&E, x400)



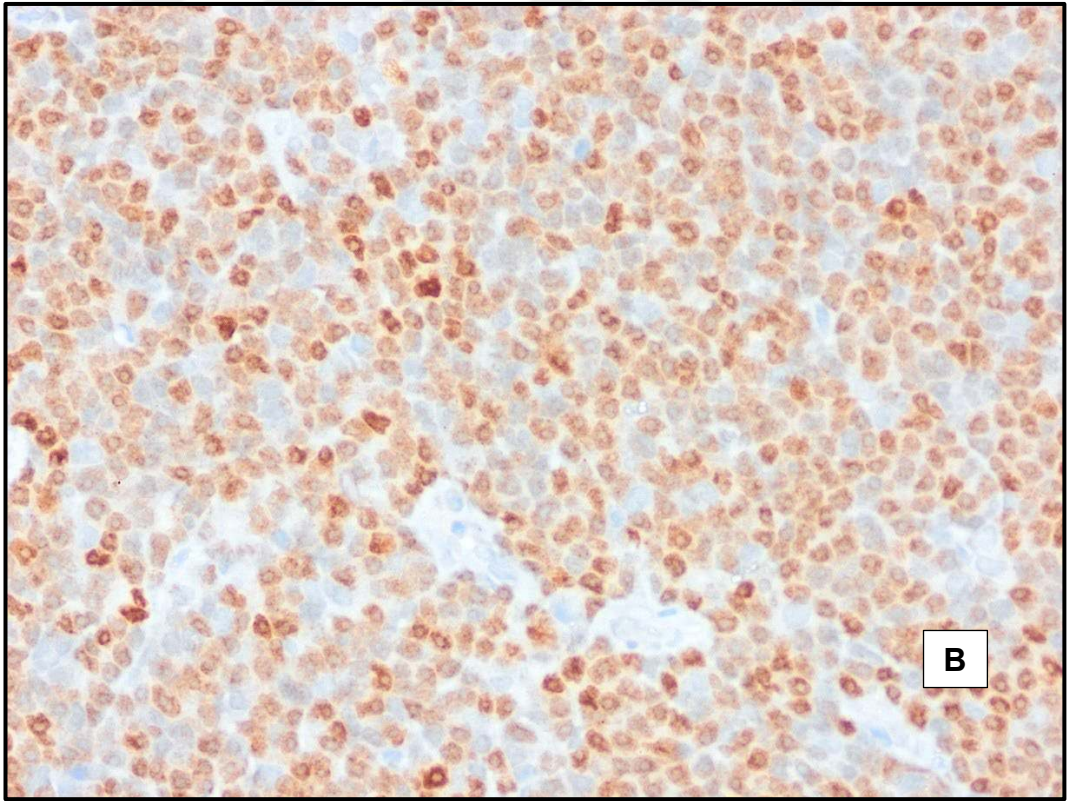
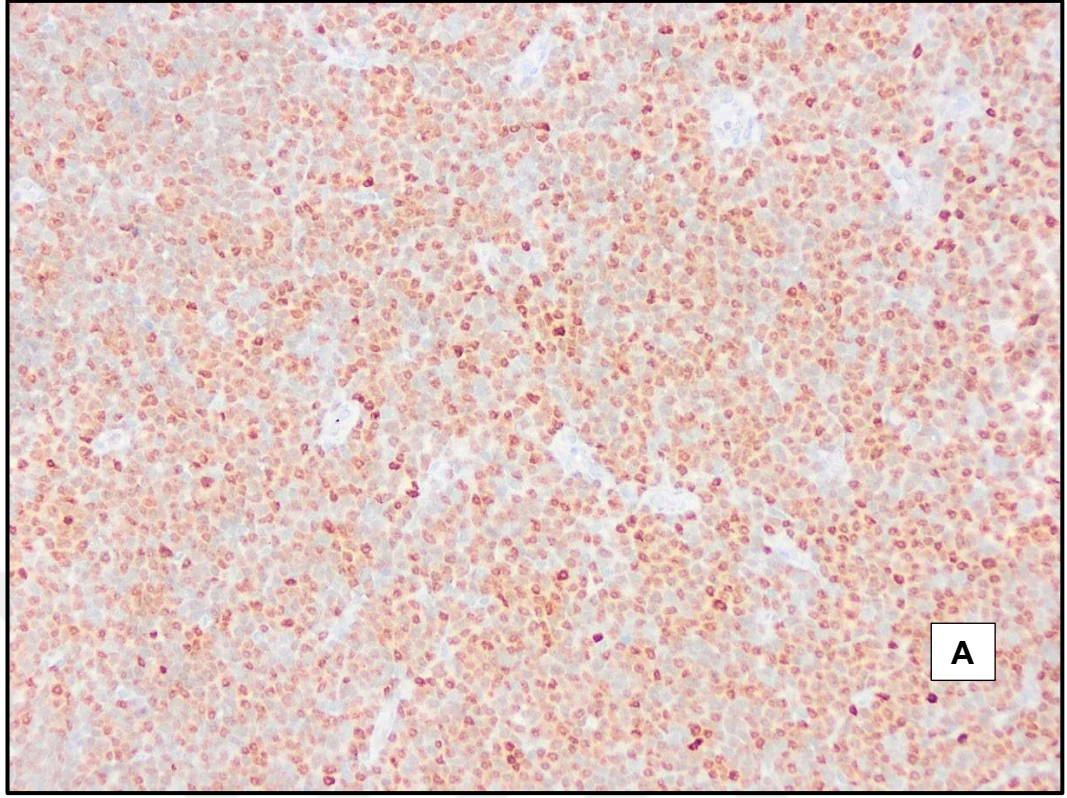
Resim 3: DBBHL'nin mikst varyantı (H&E, x400)



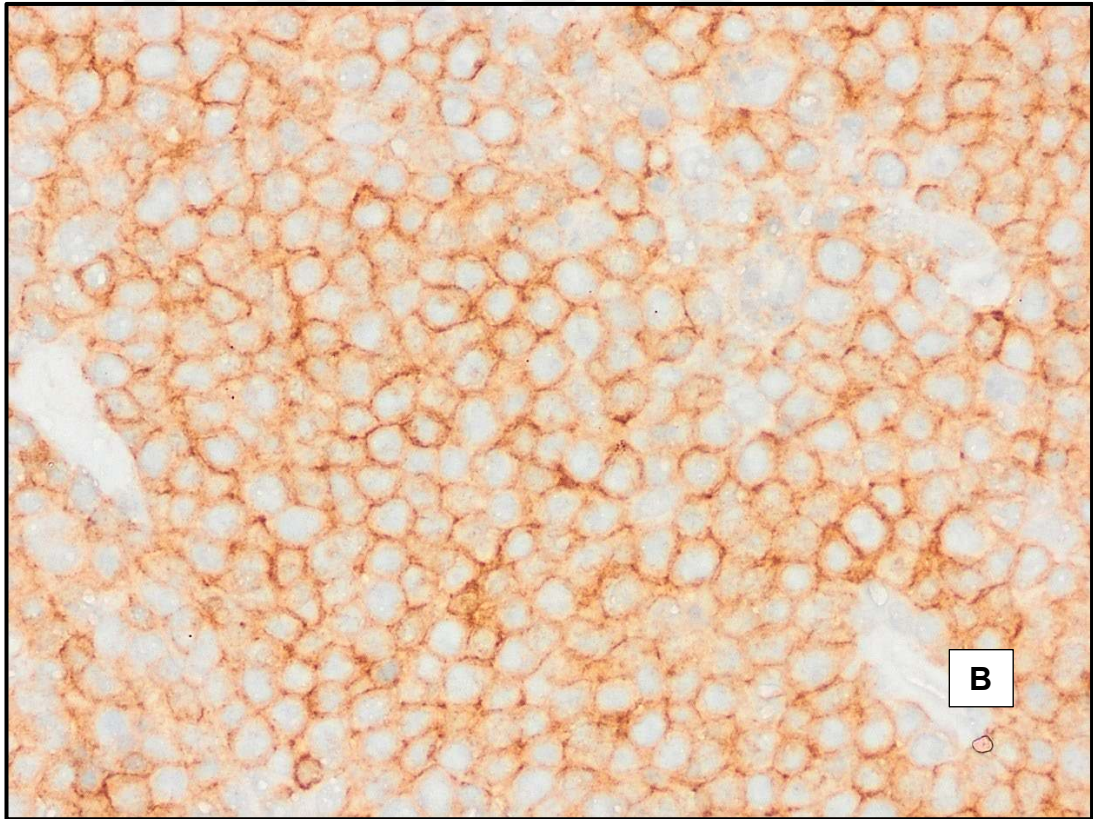
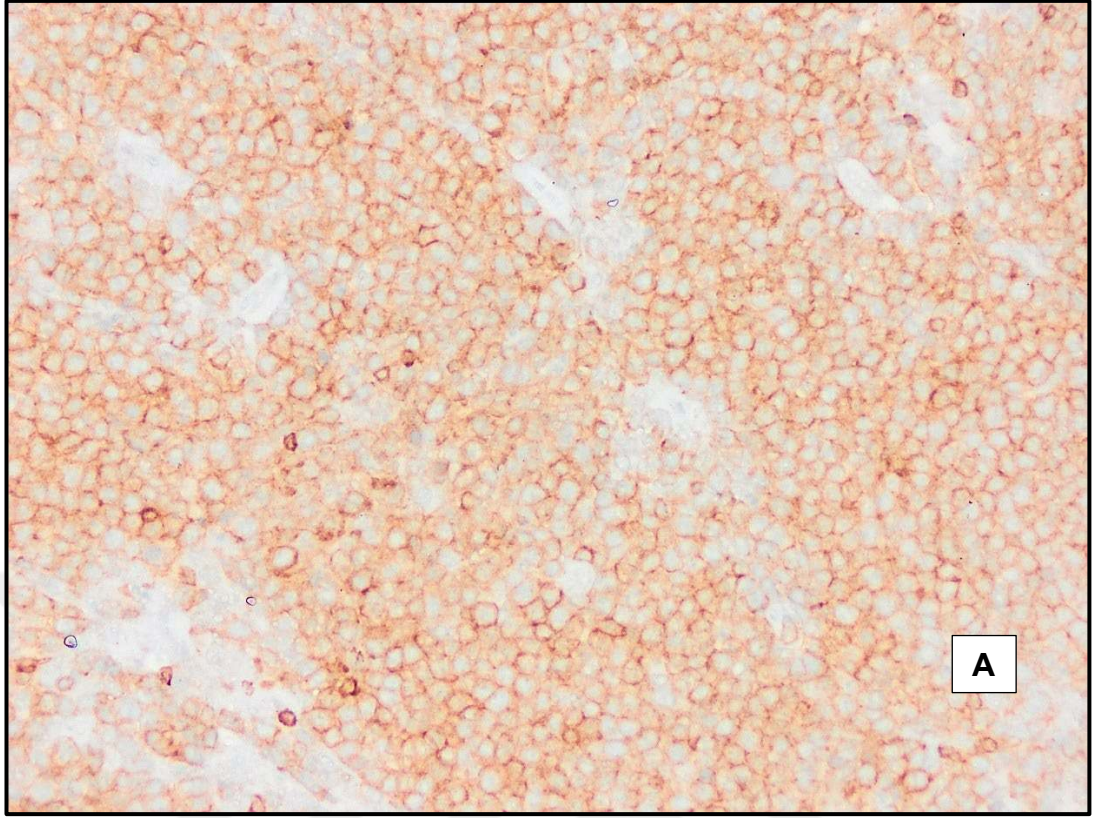
Resim 4: DBBHL'nin anaplastik varyantı (H&E, x400)



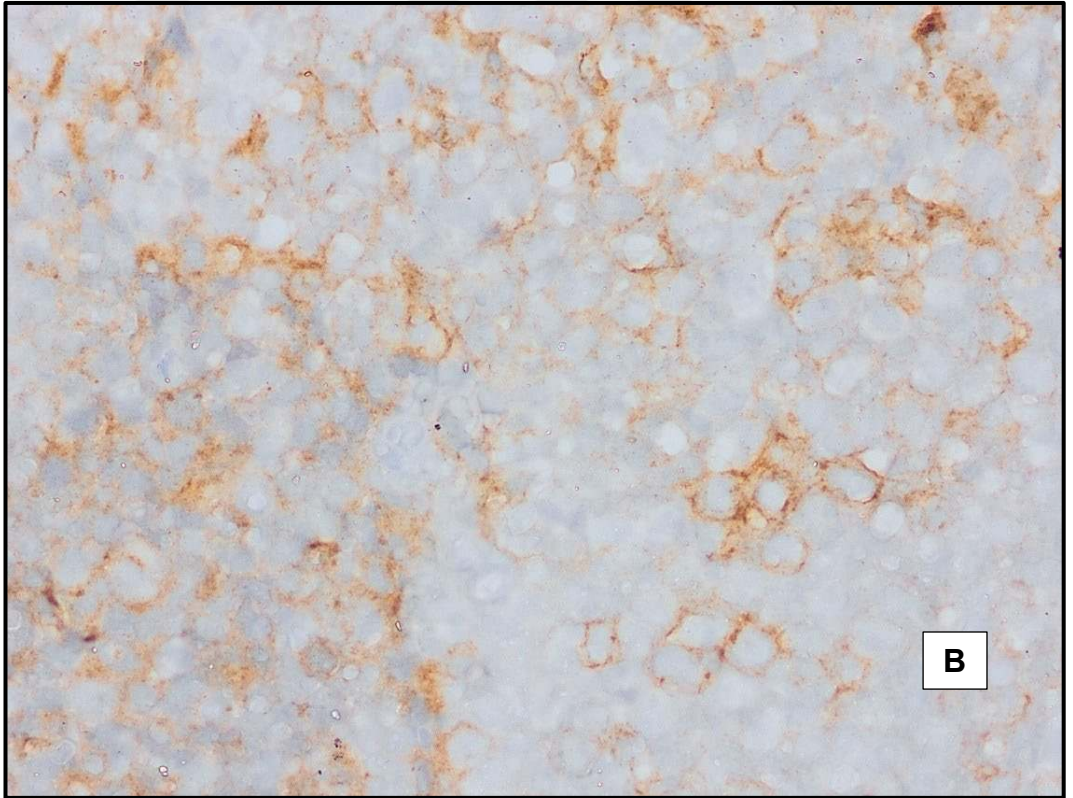
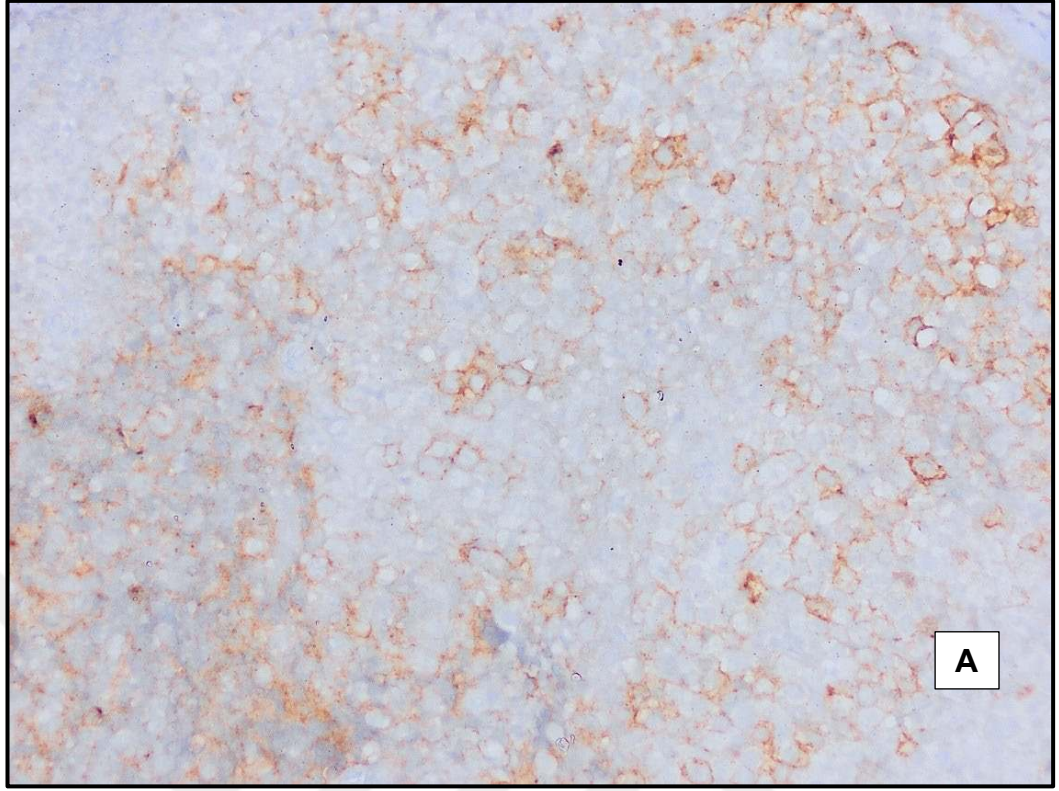
Resim 5: BCL2 pozitif DBBHL,NOS olgusu. **A.** DAB, x200, **B.** DAB, x400



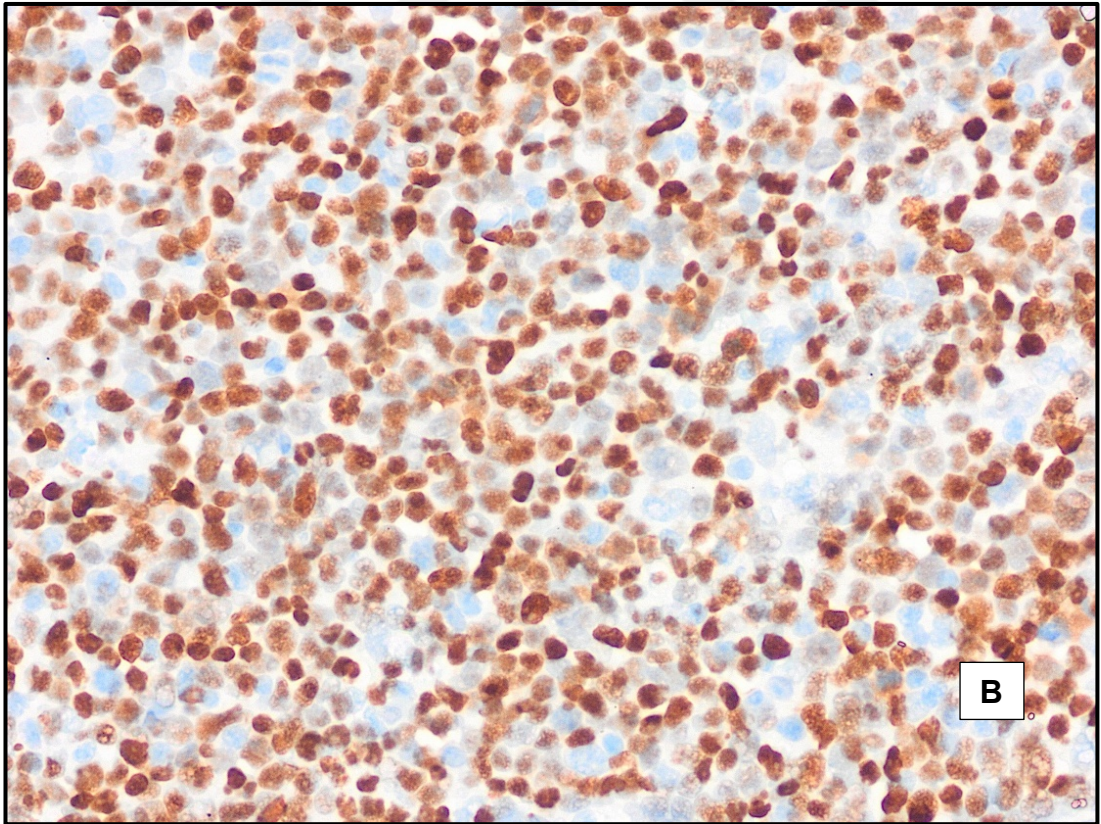
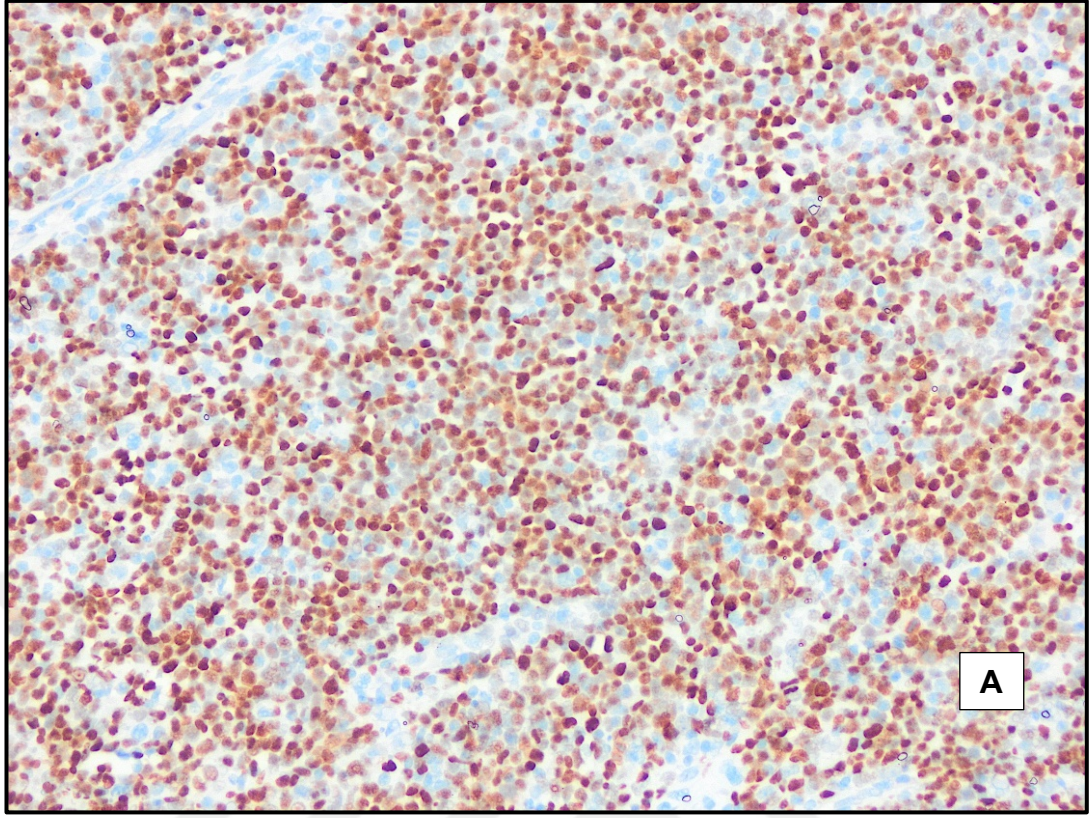
Resim 6: MYC pozitif DBBHL,NOS olgusu. **A.** DAB, x200, **B.** DAB, x400



Resim 7: CD5 pozitif DBBHL,NOS olgusu. **A.** DAB, x200, **B.** DAB, x400



Resim 8: CD30 pozitif DBBHL,NOS olgusu. **A.** DAB, x200, **B.** DAB, x400



Resim 9: P53 pozitif DBBHL,NOS olgusu. **A.** DAB, x200, **B.** DAB, x400

V. TARTIŞMA

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), matür B lenfositlerin agresif malignitesidir (81). Non-Hodgkin lenfomaların (NHL) en sık görülen histolojik alt tipi olup yaklaşık %40'ını oluşturur (81). Tanı anında ortalama hasta yaşı 67'dir (14). Erkeklerde kadınlara oranla hafif daha sık görülür (17,18).

DBBHL'lar klinik, morfolojik ve moleküler özellikleri, tedaviye yanıtları ve prognozları bakımından çeşitli özellikler sergileyebilen, heterojen bir lenfoma grubudur (1,88). En son güncellenen 2022 DSÖ sınıflamasında, primer yerleşim yerine, viral etkenler ve immün yetmezlik durumları ile ilişkisine, spesifik genetik/moleküler değişiklikler göstermesine göre 17 farklı DBBHL alt tipi bulunmaktadır (211). Olgular bu alt tiplere ait özelliklerden herhangi birini içermiyorsa DBBHL,NOS olarak sınıflandırılmaktadır (11). Çalışmamızda 71 DBBHL,NOS olgusu yer almaktadır. Bu olguların 30'u (%42,2) erkek, 41'i (%57,8) kadındır. Olguların yaşları 28 ile 89 arasında değişmekte olup ortanca değeri 65, ortalama değeri ise 60,6 olarak saptanmıştır.

Agresif bir lenfoma olmasına karşın, DBBHL'lar potansiyel olarak multi-ajan KT ile tedavi edilebilir. Günümüzde standart tedavide kullanılan R-CHOP rejimi ile olguların klinik ve biyolojik özelliklerine bağlı olarak %50-70 civarında kür oranı sağlanmıştır (80). Olguların yaklaşık %30'unda R-CHOP tedavisine yanıt alınmaz veya tedavi sonrası nüks izlenir (217).

Çalışmamızda klinik verilerine ulaşılabilen 61 olgudan 38'ine (%62,3) rituksimab içeren R-CHOP KT protokolü uygulanmıştır. 10 olguya (%16,4) rituximab içermeyen CHOP ve benzeri bir KT protokolü uygulanırken kalan 13 olguya (%21,3) düşük performans durumu veya tedaviyi reddetme nedenleri ile herhangi bir KT rejimi uygulanmamıştır. Literatürdeki oranlara

benzer şekilde çalışmamızda tedavi verilen olgulardan %31,2'sinde tedaviye yanıt alınamamıştır.

DBBHL'ların prognostik sınıflamasında ilk olarak 1971 yılında Hodgkin lenfoma evrelemesi için geliştirilen Ann-Arbor evreleme sistemi kullanılmaya başlanmıştır (183). Ancak yazarlar kemik iliği ve ektranodal tutulumların Hodgkin lenfomalara göre daha sık görüldüğü birçok farklı antiteyi içeren NHL'larda bu evrelemenin kullanımının uygun olmadığını belirtmişlerdir (183). 1993 yılında, agresif NHL hastalarında prognozu öngörmek amacıyla, erişimi kolay klinik parametreler ile Ann-Arbor evrelemesini birleştiren IPI skorlama sistemi kullanılmaya başlanmıştır (217). DBBHL'ların standart tedavisine rituximabın eklenmesinden sonra tüm IPI risk gruplarının sağ kalımında dramatik ilerleme görülmüştür (218). Bu nedenle, rituximabın kullanılmaya başlanmasından önce kullanılan IPI skorlama sistemi 2007 yılında revize edilmiş ve R-IPI geliştirilmiştir (211,218). Daha sonra 2014 yılında agresif seyretme eğiliminde olan DBBHL olgularını ayırt etmekte IPI'ye göre daha anlamlı sonuçlar elde edilen NCCN-IPI skorlaması oluşturulmuştur (211).

Çalışmamızda IPI skoru ile genel sağ kalım süresi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur ($p<0,001$). IPI skorlama sistemi parametreleri olan yaş ($p<0,001$), evre ($p=0,002$), ECOG performans durumu ($p<0,001$), LDH düzeyi ($p<0,001$) ayrı ayrı değerlendirildiğinde tümünün genel sağ kalım ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu gözlenmiştir. Çalışmalarda NHL'lar için kullanımı eleştirilen Ann-Arbor evrelemesinin çok değişkenli analizlerde diğer klinik prognostik parametrelerden bağımsız prognostik etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

Günümüzde IPI ve güncellenen formları, DBBHL'larda prognozu öngörmek için standart klinik araç haline gelmiştir. Buna karşın, farklı çalışmalarda IPI skorlamasında kullanılan parametreler dışında birçok klinik bulgunun da DBBHL'ların prognozu üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. DBBHL'larda kemik iliği tutulumu, hastalık evresini ve dolaylı olarak IPI skorunu etkilemektedir. Fakat çok değişkenli analizlerde, kemik iliği tutulumunun, IPI skorundan bağımsız olarak prognozu etkileyen bir faktör

olduğu bildirilmiştir (1). Benzer şekilde, IPI skorlamasında kullanılan parametreler içerisinde yer almayan birçok laboratuvar bulgusunun DBBHL'lardaki prognostik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar yapılmış, birçoğunun prognostik önemi gösterilmiştir (123,218-228).

Periferik kan mutlak lenfosit, monosit, trombosit sayıları; hemoglobin, MPV ve albümin değerleri literatürde DBBHL'larda prognostik etkisi araştırılan başlıca laboratuvar bulguları olup çalışmamızda da prognostik etkileri incelenmiştir. Mutlak lenfosit sayısı için farklı çalışmalarda $0,8 \times 10^9$ ile $1,47 \times 10^9$ arasında değişen eşik değerler kullanılmıştır (123). Çalışmalarda yüksek mutlak lenfosit sayısının IPI'den bağımsız bir iyi prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (219). Wilcox ve arkadaşlarının yapmış olduğu 366 olguyu içeren retrospektif çalışmada, düşük mutlak lenfosit sayısının düşük genel ve hastalıksız sağ kalım ile ilişkisi gösterilmiştir (220). Li ve arkadaşları tarafından 438 DBBHL hastası üzerinde yapılan bir başka retrospektif çalışmada, yüksek mutlak lenfosit sayısına sahip olgularda düşük olanlara kıyasla anlamlı ölçüde yüksek genel ve hastalıksız sağ kalım saptanmıştır (3). Çalışmamızda periferik kan mutlak lenfosit sayısı için en uygun kesme değer $1,51 \times 10^9$ olarak saptanmış, bu kesme değer kullanılarak yapılan analizde yüksek mutlak lenfosit sayısının daha uzun genel sağ kalım ile anlamlı ilişkisi olduğu bulunmuştur ($p=0,008$).

İyi prognozla ilişkisi bildirilen periferik kan mutlak lenfosit sayısının aksine, farklı çalışmalarda yüksek mutlak monosit sayısının kötü prognostik etkisi olduğu gösterilmiştir (123). Wilcox ve Li'nin çalışmalarında yüksek mutlak monosit sayısına sahip olgularda daha kısa hastalıksız ve genel sağ kalım gözlenmiştir (3,220). Çalışmamızda yüksek periferik kan mutlak monosit sayısı ile genel sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Çok sayıda çalışmada trombositopeninin sağ kalım üzerinde olumsuz etkisi bildirilmiştir (218,223,224). Chen ve arkadaşlarının 1007 DBBHL olgusu üzerindeki çalışmalarında, trombositopeni için eşik değer $157 \times 10^9/L$ olarak belirlenmiş, tanı anında trombositopeni izlenen olgularda daha düşük hastalıksız ve genel sağ kalım gözlenmiştir (224,225). Bu çalışmalarda, olumsuz prognostik etkinin kemik iliği tutulumundan bağımsız değerlendirme

yapıldığında da sürdüğü görülmüştür (224,225). Bazı çalışmalarda düşük MPV değerinin de bağımsız kötü prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (226). Zhou ve arkadaşlarının 161 DBBHL olgusundan oluşan çalışmasında, çok değişkenli analizler yapıldığında, tanı anında MPV değeri $<9,1$ fl olan olgularda daha düşük hastalıksız ve genel sağ kalım görülmüştür. Çalışmamızda trombositopeni veya düşük MPV değerlerinin sağ kalım ile anlamlı bir ilişkisi tespit edilmemiştir. Bu durumun çalışmamızda trombosit ve MPV değerleri için anlamlı bir kesme değer elde edilememiş olması, diğer çalışmalarda da kullanılan kesme değerlerin birbirinden farklı olması nedeniyle uygun kesme değerlerin bulunamamasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Nakayama ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, DBBHL'larda tanı anında anemi izlenmesi daha düşük hastalıksız ve genel sağ kalım ile ilişkilendirilmiştir (218). Wei ve arkadaşlarının çalışmasında tanı anında hipoalbuminemi izlenen olgularda daha düşük hastalıksız ve genel sağ kalım izlenmiştir (229). Yamato ve arkadaşları, DBBHL tanısı verildikten sonra kısa süre içerisinde ölçülen yüksek LDH değerinin daha düşük hastalıksız sağ kalımı öngördüğünü bildirilmiştir (230).

Çalışmamızda hemogloblin düşüklüğü için uygun kesme değer $12,35$ g/dL olarak belirlenmiştir. Bu kesme değere göre yapılan analizde tanı anında düşük hemogloblin değeri izlenmesi, daha kısa genel sağ kalım ile anlamlı ilişkili bulunmuştur ($p=0,029$). LDH değeri yüksek saptanan olguların da daha kısa genel sağ kalım ile anlamlı ilişkisi tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Çalışmamızda hipoalbuminemi için uygun kesme değer $<3,95$ g/dL olarak bulunmuştur. Bu kesme değeri kullanılarak yapılan analizde düşük albümin değerine sahip olguların istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük sağ kalım gösterdikleri saptanmıştır ($p<0,001$).

Klinisyenler, IPI skorlamasının pratik olması ve çalışmaların birçoğunda sağ kalımı öngörmede anlamlı sonuçlar vermesi nedeni ile skorlamayı rutin işleymde kullanmaya devam etmektedir. Güncellenen IPI skorlama sistemleri ile günümüzde DBBHL'larda en sık kullanılan tedavi olan R-CHOP KT rejimi alan olgularda prognostik sınıflama yapılabilmektedir. Literatürde IPI

skorlamasının yetersizliğini vurgulayan birçok çalışma da yer almaktadır. Calvani ve arkadaşlarının çalışmalarında IPI skorlamasındaki grupların kendi içerisinde sağ kalım bakımından belirgin heterojenite gösterdiği ifade edilmiştir (211). Bazı çalışmalarda IPI skorlamalarının 5 yıllık sağ kalım şansı %50'nin altında olan olguları öngörme konusunda yetersiz olduğu belirtilmiştir (217). Çalışmalarda IPI skorlamasında kullanılan parametreler arasında yer almayan birçok laboratuvar değerinin ve klinik bulgunun da IPI skorundan bağımsız prognostik etkisinin bildirilmesi, tek başına bu skorlamaya bağlı kalınmasının yeterli olmadığı görüşünü desteklemektedir.

Yeni çalışmaların birçoğunda DBBHL patogeneze yönelik moleküler incelemeler yapılarak hastalık alt gruplarına yönelik, daha spesifik ve kür oranı daha yüksek tedaviler geliştirilmesi amaçlanmaktadır. IPI skorlaması, olguların moleküler/biyolojik özelliklerine ilişkin herhangi bir bilgi içermemesi nedeniyle olguya spesifik tedavilerin belirlenmesi konusunda da yetersiz kalmaktadır (1,222). Hücre kökenine (COO) göre yapılan sınıflandırma DBBHL'ların prognozunu öngörmesi yanı sıra olguların biyolojik özellikleri hakkında da bilgi içermektedir (151). GCB alt tipindeki olgular germinal merkez hücrelerinden, ABC alt tipindeki olgular plazmasitik farklılaşmasını tamamlayamamış post-germinal merkez B hücrelerinden köken alır (227). GEP ile belirlenen alt tiplerden GCB alt tipindeki olguların sağ kalım sürelerinin ABC alt tipindekilere göre anlamlı derecede daha uzun olduğu bildirilmiştir (151).

Klinik pratikte kullanılmak üzere olguları hücre kökenine göre ayırmayı hedefleyen başta Hans algoritması olmak üzere birçok İHK aracılı algoritma geliştirilmiştir (71). Bu algoritmalar ile olgular germinal merkez alt tipi (GCB) ve germinal merkez dışı (non-GCB) alt tip olarak ikiye ayrılır. (70). Daha pratik olması amacıyla geliştirilen Hans algoritması başta olmak üzere tüm İHK aracılı algoritmalar aracılığı ile belirlenen hücre kökenleri ve moleküler yöntemler ile belirlenen hücre kökenleri arasında %15-50 arasında uyumsuzluklar bildirilmiştir (222,227). Read ve arkadaşlarının yaptığı meta-analizde, GEP ile belirlenen hücre kökeni (GCB ve ABC alt tipleri) prognostik öneminin olduğu, immünohistokimyasal algoritmaya dayanan

yöntemin (Hans algoritması, GCB ve non-GCB alt grupları) ise prognozu yansıtmadığı bildirilmiştir (151). Dwivedi ve arkadaşlarının çalışmasında da İHK aracılı yöntemler ile belirlenen alt gruplar arasında hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (228). Gen ekspresyon analizi ile alt tiplerin belirlenmesi ise uygulanması zor ve maliyeti yüksek bir yöntem olduğu için rutin pratikte kullanılmamaktadır.

Çalışmamızda Hans algoritması kullanılarak olgular sınıflandırıldığında %32,8 olgu germinal merkez alt tipinde, %67,2 olgu germinal merkez dışı alt tipinde değerlendirilmiştir. Germinal merkez alt tipindeki olguların germinal merkez dışı alt tipteki olgulardan sınırda anlamlı düzeyde düşük mortalite gösterdiği saptanmıştır ($p=0,080$). Diğer çalışmalara benzer şekilde iki alt grup arasında genel sağ kalım süreleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Önceleri biyobelirteç arayışı standart tedavi olan R-CHOP KT rejimine yanıt öngörmek temelinde sürmüştür (1). Yakın geçmişte heterojen bir antite olan DBBHL'ların moleküler özellikleri ve patogenezi hakkındaki çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmaların ilerlemesiyle R-CHOP tedavisine alternatif, kür oranı daha yüksek, DBBHL olgularının moleküler özelliklerini hedef alan spesifik tedavi ajanları geliştirilmeye başlanmıştır (4). Yeni tedavi ajanlarının standart tedavilere göre daha yüksek maliyetli olduğu ve yan etkilerinin daha fazla olduğu belirtilmektedir (4). Bu nedenle, yeni tedavilerin verileceği olguları seçebilmek için R-CHOP tedavisine yanıt alınmayacak ve yeni tedavi ajanlarına yanıt verecek olguları öngörebilmek önem kazanmıştır (4). Bu gelişmelere bağlı olarak günümüzde biyobelirteç arayışı olguları moleküler ve patogenetik özelliklerine göre GCB ve non-GCB gruplarının ötesinde daha spesifik ve homojen gruplara ayıran, tedavi seçimi için yol gösterici, aynı zamanda prognostik ve prediktif öneme sahip belirteçlerin tespit edilmesi yönünde değişmiştir. DBBHL patogenezinde rol oynadığı bilinen BCL2, MYC, CD5, CD30 ve P53 moleküllerinin immünohistokimyasal ekspresyonlarına göre olguların daha iyi sınıflandırılabileceği bir yöntem geliştirilmesi ve bu belirteçlerin prognostik etkilerinin araştırılması çalışmamızın konusunu oluşturmuştur.

BCL2:

BCL2, DBBHL'ların %40-60'ında aşırı ekspresyonu görülen bir antiapoptotik proteindir (140). DBBHL'larda BCL2 aşırı ekspresyonu için eşik değer, aşırı ekspresyonun görülme oranı ve prognostik önemi hakkında literatürde çelişen veriler bulunmaktadır (57,111,194,231,232). Son DSÖ sınıflamasında, aşırı ekspresyon için %50 üzerinde hücrede boyanma eşik değer olarak kabul edilmektedir (11). BCL2 aşırı ekspresyonu ABC alt tipinde GCB alt tipine göre daha sık izlenir (64). BCL2 aşırı ekspresyonu translokasyonlar, kopya sayısı kazanımları, amplifikasyonlar, transkripsiyonel değişiklikler gibi çeşitli mekanizmalar sonucu görülebilmektedir (211). GCB alt tipinde görülen BCL2 mutasyonları sıklıkla translokasyon ilişkilidir (233,234). Buna karşın, ABC alt tipinde izlenen BCL2 aşırı ekspresyonu sıklıkla translokasyon dışı diğer alternatif mekanizmalar (NF-B aktivasyonu, 18q21 amplifikasyonu gibi) sonucu gelişir (106,107). Tüm DBBHL olgularında BCL2 translokasyonu izlenme oranı %20 iken GCB alt tipinde bu oran %35'tir (106,107).

İqbal ve arkadaşlarının çalışmasında BCL2 aşırı ekspresyonu için %30 eşik değeri kullanılmış, boyanma gücü incelemeye alınmamıştır (62). Değerlendirilen 240 DBBHL olgusunda BCL2 aşırı ekspresyonu ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (62). Fakat, alt tipler ayrı ayrı değerlendirildiğinde GCB alt tipinde BCL2 ekspresyonu ile sağ kalım arasında ilişki görülmezken ABC alt tipindeki olgularda BCL2 ekspresyonu ile genel sağ kalım arasında anlamlı ters korelasyon saptanmıştır (62). Tsuyama ve arkadaşları 456 DBBHL olgusundan oluşan çalışmalarında, BCL2 aşırı ekspresyonunu belirlemek için olguları, İHK ile hücrelerin boyanma yüzdesi ve zayıf/güçlü boyanmaları baz alınarak 0 ile +3 arasında dört dereceye ayırmıştır (231). Retrospektif sağ kalım analizinde skor +3 boyanma izlenen olguların IPI'den ve MYC aşırı ekspresyonu ile yeniden düzenleniminden bağımsız kötü prognozlu seyrettiği saptanmıştır (231). Yazarlar bu çalışmadaki skorlamaya göre tedavide BCL2'yi hedefleyen venetoclax gibi

yeni ajanlardan fayda görecektir olguların belirlenebileceğini de ifade etmiştir (231). Çalışmalarda BCL2 aşırı ekspresyonunun meme, akciğer, prostat kanseri gibi birçok kanserde kemoterapiye direnç ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (62,180,182).

Çalışmamızda BCL2 pozitifliği için %50 ve üzerinde hücrede boyanma eşik değeri kabul edilmiştir. Klinik verileri elde edilebilen 61 olguda BCL2 pozitiflik oranı %45,9 olarak saptanmıştır. BCL2 pozitiflik oranı GCB alt tipinde %30 iken non-GCB alt tipinde %53,6'dır. Olgularda non-GCB alt tipinde BCL2 pozitifliğinin daha sık bulunması literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumluluk göstermiştir. Yine diğer çalışmalar ile uyumlu şekilde BCL2 pozitifliği ile daha kötü tedavi yanıtı arasında sınırda anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($p=0,080$). Yaptığımız analizlerde BCL2 pozitifliği ile düşük sağ kalım arasında da sınırda anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,073$). Alt tipleri ayrı ayrı değerlendirildiğimizde ise GCB alt tipinde BCL2 pozitifliği ile düşük sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmış ($p=0,020$), non-GCB alt tipinde ise BCL2 pozitifliği ile sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Alt tipler arasında görülen bu farklılık Iqbal ve arkadaşlarının çalışması ile çelişki göstermektedir. Yaptığımız analizlerde BCL2'nin IPI skorundan bağımsız prognostik etkisi gösterilememiş, CD3'ün ise bağımsız prognostik etkisi saptanmıştır ($p=0,071$). Yüksek CD3 yoğunluğuna sahip olguların non-GCB alt tipinde daha sık görüldüğü izlenmiştir. IPI skorundan bağımsız prognostik etkisini saptadığımız CD3 yoğunluğunun non-GCB alt tipindeki olguların prognozunda BCL2 pozitifliğinden daha baskın rol oynadığı ve bu nedenle bu alt tipte BCL2'nin prognostik etkisinin daha geri planda kaldığı düşünülmüştür. Ayrıca Iqbal ve arkadaşlarının çalışmasında BCL2 pozitifliği için %30, bizim çalışmamızda ise %50 eşik değerinin kullanılmış olmasının da bu farklılıkta rol oynamış olabileceği düşünülmüştür.

MYC:

MYC hücre büyümesi, farklılaşması ve metabolizmasını düzenleyen, transkripsiyon faktörü özelliği gösteren bir protoonkojendir (190). Çalışmaların çoğunda DBBHL'larda MYC aşırı ekspresyonunun görülmesinin

kötü prognostik etkisi bildirilmiştir (192,235,236). Ancak, kullanılan eşik değer ve MYC aşırı ekspresyonunun bağımsız prognostik önemi konularında çalışmalar arasında farklılıklar bulunmaktadır. Son DSÖ sınıflamasında aşırı ekspresyon için kullanılan eşik değer %40 olarak belirtilmiştir (11). MYC aşırı ekspresyonu tüm DBBHL olgularının yaklaşık %30-40'ında ve daha sık ABC alt tipinde görülür (64). Aşırı ekspresyon, bazen MYC gen yeniden düzenlenimine sekonder, çoğu zaman ise bundan bağımsız gözlenmektedir (192-194).

Çalışmamızda MYC aşırı ekspresyonu için eşik değer %40 ve üzerinde hücrede boyanma gözlenmesi olarak kabul edilmiştir. Klinik verilerine ulaşılan 61 olguda MYC pozitiflik oranının %34,4 olduğu gözlenmiştir. MYC pozitifliği alt tipler arasında benzer oranda bulunmuş, non-GCB alt tipinde %34,2, GCB alt tipinde %35 oranında saptanmıştır.

MYC hücre büyümesi, proliferasyonu ve apoptozunda rol alan gen ekspresyonlarını düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür (190). Agarwal ve arkadaşlarının çalışmasında MYC pozitif DBBHL olgularının daha yüksek Ki67 proliferasyon indeksine sahip oldukları bildirilmiştir (221). Çalışmamızda da benzer şekilde MYC ve Ki67 arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($p=0,007$). Proliferatif aktiviteyi gösteren Ki67 ekspresyonuyla MYC aşırı ekspresyonu arasındaki korelasyonun MYC'in hücre proliferasyonundaki rolüne bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Gupta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, DBBHL'larda MYC aşırı ekspresyonu görülmesinin kötü prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (236). Johnson ve arkadaşlarının 167 DBBHL olgusunu içeren çalışmasında MYC aşırı ekspresyonu %29 olguda izlenmiş, yalnızca BCL2 koekspresyonu gösteren olgularda daha düşük hastalıksız ve genel sağ kalım saptanmıştır. BCL2 aşırı ekspresyonu göstermeyip MYC aşırı ekspresyonuna sahip olgularda ise sağ kalım açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (57). Kluk ve arkadaşlarının 77 DBBHL olgusundan oluşan çalışmasında MYC aşırı ekspresyonu için %50 eşik değeri kullanılmış, 15 olguda aşırı ekspresyon saptanmış ve bu olgularda daha düşük genel sağ kalım bildirilmiştir (192).

Çalışmamızda, literatürdeki çalışmalara benzer şekilde MYC aşırı ekspresyonunun daha düşük genel sağ kalım ile anlamlı ilişkisi gösterilmiştir ($p=0,023$). Alt tipler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, GCB alt tipinde sınırda anlamlı ($p=0,073$), non-GCB alt tipinde anlamlı ($p=0,031$) düzeyde düşük sağ kalım süresi ile ilişkili bulunmuştur. Çok değişkenli analizlerde bu ilişkinin BCL2 koekspresyonu görülmesinden ve diğer immünohistokimyasal belirteçlerinin prognostik etkisinden bağımsız öneme sahip olduğu saptanmıştır ($p=0,009$). MYC aşırı ekspresyonunun prognostik etkisinin IPI skorundan bağımsız şekilde de anlamlılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,016$).

MYC translokasyonları DBBHL'ların %5-15'inde görülür (3). Bazı çalışmalarda MYC yeniden düzenlenimi gösteren DBBHL olgularının daha kötü prognozlu olduğu bildirilmiş olmakla beraber, bazı çalışmalarda farklı sonuçlar da saptanmıştır (102,194). Hansen ve arkadaşlarının yaptığı derlemeye alınan çalışmalardan 7'sinde MYC translokasyonuna sahip olan ve olmayan olgular arasında genel sağ kalım açısından anlamlı fark saptanmamış, çalışmaların 4'ünde ise MYC translokasyonu bulunan olgularda daha düşük genel sağ kalım bildirilmiştir (217). Bu konudaki uyumsuzluğun bir açıklaması olarak translokasyonlardaki diğer partnerlerdeki farklılık gösterilmiştir (3). İmmüoglobulin gen lokusu içeren partner gene sahip translokasyonların, içermeyenlere kıyasla daha kötü prognostik özellikte olduğu bildirilmiştir (109,237). Bir diğer açıklama ise MYC gen yeniden düzenlenimi ile eş zamanlı olarak BCL2 ve/veya BCL6 gen yeniden düzenlenimi varlığı görülebilmesi ve bu olguların (double/triple hit lenfoma) daha kötü prognozlu seyretmesidir (3). Bazı yazarlarca prognoz ve tedavi yaklaşımı bakımından DBBHL,NOS'lardan ayrılan "double hit" lenfomaları tespit edebilmek için, MYC ve BCL2 aşırı ekspresyonu izlenen tüm DBBHL olgularında MYC ve BCL2 gen yeniden düzenlenimlerinin araştırılması önerilmiştir (235).

MYC ve BCL2 aşırı ekspresyonlarının birlikte izlendiği "double ekspresör" fenotip, ABC alt tipinde daha sık olmakla beraber tüm DBBHL'ların %20-30'unda görülür (235). DE fenotipin hastalıksız ve genel sağ kalım açısından

kötü prognostik bir faktör olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir (57,111,194). Johnson ve arkadaşlarının çalışmasında DE fenotipteki DBBHL olgularında 5 yıllık genel sağ kalımın %36, DE fenotip göstermeyen olgularda ise %71 olduğu saptanmıştır (57). Çalışmamızda klinik verilerine ulaşılan 61 olgunun 10'u (%16,4) DE fenotipe sahip olup GCB/non-GCB alt tiplerinde bu fenotipin görülme sıklığında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. DE fenotipteki olguların daha düşük genel sağ kalım ile sınırdan anlamlı ilişki gösterdiği tespit edilmiştir (P=0,083).

CD5:

CD5 pozitif DBBHL'lar, 2008 DSÖ sınıflamasında DBBHL'ların agresif bir alt tipi olarak tanımlanmıştır (6). Fakat 2016 DSÖ sınıflamasından itibaren alt tipler arasından çıkartılıp tekrar DBBHL,NOS grubu içerisine alınmıştır (2). Yeni tanı alan DBBHL'larda CD5 pozitiflik oranı %5-10 civarındadır (6,197). CD5 pozitif DBBHL'lar bazen KLL veya manşon hücreli lenfomanın transformasyonu ile çoğu zaman ise de novo gelişen olgulardır (202).

CD5 ekspresyonunun hücre kökeni ile ilişkisini incelemek amacıyla yapılan genomik analiz çalışmalarında ABC alt tipindeki olgularda CD5 ekspresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (203,205). CD5 ekspresyonunun diğer belirteçler ile ilişkisi de birçok çalışmada araştırılmıştır. Young Na ve arkadaşlarının çalışmasında CD5 pozitifliğinin, BCL2 ve MYC ekspresyonları yanı sıra Ki-67 proliferasyon indeksi ile pozitif korelasyonu bildirilmiştir (6). Ayrıca, double ekspresör (DE) immünofenotipin CD5 pozitif DBBHL'larda daha sık izlendiği saptanmıştır (6).

Çalışmamızda CD5 pozitifliği için eşik değer %50 ve üzerinde hücrede boyanma olarak kabul edilmiş, olguların %26,2'si pozitif olarak değerlendirilmiştir. Diğer çalışmalara benzer şekilde CD5 pozitifliği ile BCL2 aşırı ekspresyonu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (p=0,005). Fakat CD5 pozitifliği ile MYC aşırı ekspresyonu veya Ki-67 proliferasyon indeksi arasında korelasyon görülmemiştir. Çalışmamızda CD5 ekspresyonunun non-GCB alt tipinde GCB alt tipine göre anlamlı ölçüde yüksek görülmesi de diğer çalışmalar ile uyumluluk göstermiştir (p=0,006). DE fenotipteki 10

olgudan 5'i (%50), bu fenotipe sahip olmayan kalan 51 olgudan ise 11'i (%21,5) CD5 pozitif olarak değerlendirilmiştir. Literatür verilerine benzer şekilde, CD5 pozitifliğinin DE fenotipe daha sık görüldüğü sonucuna varılmıştır.

Monette ve arkadaşlarının 879 DBBHL olgusunu içeren çalışmalarında olguların %5,5'inde CD5 pozitifliği izlenmiştir. Çalışmada CD5 pozitif grupta kemik iliği tutulumu, SSS nüksü, >1 ECOG performans durumu skoru, BCL2 aşırı ekspresyonu ve ABC hücre kökeni daha sık görülmüştür (54). CD5 pozitif grupta negatif olanlara kıyasla hastalıksız sağ kalım anlamlı derecede (21,3 ay vs. 85,8 ay) düşük saptanmıştır (54). Young Na ve arkadaşlarının çalışmasında DBBHL'larda izlenen CD5 pozitifliğinin bağımsız bir kötü prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (6). Çalışmada ayrıca CD5 pozitifliği gösteren olgularda kemik iliği tutulumunun, yüksek serum LDH seviyesinin ve ileri Ann-Arbor evresinin anlamlı derecede daha sık izlendiği saptanmıştır (6). Ting ve arkadaşlarının 120 DBBHL olgusundan oluşan çalışmasında, CD5 pozitif DBBHL'larda CD5 ekspresyonu izlenmeyen olgulara göre IPI skorunun, LDH yüksekliğinin, SSS rekürrens oranının, ektranodal tutulumun ve kemik iliği tutulumunun daha fazla olduğu gözlenmiştir (238). Katzenberger ve arkadaşlarının çalışmasında ise CD5 pozitif ve negatif olgu grupları arasında genel sağ kalım süreleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. (239). Çalışmamızda CD5 pozitifliğinin genel sağ kalım süresi veya diğer klinik prognostik parametreler ile anlamlı bir ilişkisi görülmemiştir.

Birçok araştırmacı tarafından CD5 pozitifliğinin DBBHL olgularındaki negatif prognostik etkisi farklı hipotezlerle açıklanmaya çalışılmış, bu konuda henüz görüş birliğine varılmamıştır. Young Na ve arkadaşlarının çalışmasında, CD5 pozitif DBBHL'larda görülen agresif gidişin bu grupta DE fenotipteki olguların daha sık izlenmesine bağlı olabileceği belirtilmiştir (6). Japon bir grup ise CD5 pozitif olgularda MYD88 ve CD79B mutasyonlarının diğer olgulara kıyasla belirgin ölçüde az görüldüğünü ve bu olguların biyolojik özelliklerinin diğer DBBHL'lardan farklı olduğunu belirtmiştir (240). CD5'in etki mekanizması olarak IL-10 üretimini tetiklemesi ve antiapoptotik fonksiyonu ile

B hücre yaşam süresini uzatması da bu olgularda izlenen agresif davranışın açıklaması olarak düşünülmüştür (241)

Çalışmamızda daha düşük genel sağ kalım ile ilişkili saptadığımız DE fenotipe sahip olguların CD5 pozitif grupta daha sık görüldüğü saptanmıştır. Buna karşın CD5 pozitifliğinin genel sağ kalım ile anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır. Diğer birçok çalışma ile çelişen bu sonucun, çalışmalarda CD5 pozitifliği için %10, %30, %50 gibi tutarlılık göstermeyen eşik değerlerin kullanılması ve çalışmamızdaki olgu sayısının düşük olması ile alakalı olabileceği düşünülmüştür (196,198,238).

CD30:

CD30 yangı, apoptoz ve hücre proliferasyonunda rol oynayan TNF reseptörü ailesinin bir üyesidir (206). DBBHL'larda CD30 pozitifliği oranı farklı çalışmalarda kullanılan eşik değerlere göre değişkenlik göstermektedir. Çalışmalarda eşik değer olarak %0'ın üzerinde hücrede boyanma kabul edildiğinde pozitiflik oranı %3,5-%59,1 arasında, %20'nin üzerinde hücrede boyanma kabul edildiğinde ise %2,5-%36,7 arasında bildirilmiştir (210). CD30 pozitifliğinin DBBHL'larda antiproliferatif etkisi olduğu belirtilmekle birlikte, bu durumun moleküler mekanizması netlik kazanmamıştır (52). Gen ekspresyon profili çalışmalarında, CD30 pozitifliğinin DBBHL'larda NF-kB aktivasyonunun negatif düzenleyicisi olan genlerin upregülasyonu, BCR sinyallerinden sorumlu ve B hücre proliferasyonunu uyaran genlerin downregülasyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (52). DBBHL'lardaki CD30 ekspresyonunun hücre kökeni ile ilişkili olup olmadığı tartışmalıdır. Bazı çalışmalar CD30 pozitiflik oranının ABC alt tipindeki olgularda daha sık olduğunu gösterirken diğer çalışmalarda CD30 ekspresyonu ile alt tipler arasında bir ilişki bulunmamıştır (51,52,242,243).

Çalışmamızda CD30 pozitifliği için %0'dan fazla hücrede boyanma ve $\geq$ %20 hücrede boyanma görülmesi eşik değer olarak kabul edilerek incelemeler yapılmıştır. Eşik değer olarak $>$ %0 hücrede boyanma kullanıldığında pozitiflik oranı %27,8, $\geq$ %20 hücrede boyanma kullanıldığında ise pozitiflik oranı %3,3 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda olgu sayısının

yüksek olmadığı da göz önüne alındığında, eşik değerin %20 olarak belirlenmesi durumunda pozitif olgu sayısının prognostik inceleme yapabilmek için yetersiz olacağı öngörülmüştür. Bu nedenle pozitiflik için %0'dan fazla hücrede boyanma görülmesi eşik değeri kabul edilerek istatistiksel analizler yapılmıştır. Olgularımızda literatürdeki çalışmalarda bahsedilen şekilde CD30 pozitifliğinin non-GCB alt tipinde GCB alt tipine göre anlamlı ölçüde sık izlendiği tespit edilmiştir (p=0,030).

Çalışmalarda CD30 pozitifliği ile ileri Ann-Arbor evresi ve IPI skoru arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (244,245,246). Fernandes ve arkadaşları tarafından yapılan bir meta-analiz çalışmasında, CD30 pozitifliğinin ileri Ann-Arbor evresi ile ilişkili olmasına karşın; B semptomlarının bulunmayışı, 2'den az ektranodal tutulum izlenmesi, düşük ECOG performans durumu değeri yanı sıra MYC ve BCL2 mutasyonlarının bulunmaması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (210). Bu meta-analizde farklı eşik değerler kullanılarak CD30 pozitifliği gösteren olgularda prognostik analizler yapılmış ve tümünde CD30 pozitif olguların daha iyi prognozlu olduğu belirtilmiştir (210).

Uluslararası DBBHL R-CHOP konsorsiyum programının yürüttüğü bir çalışmada CD30 ekspresyonu için %20 eşik değeri kullanıldığında, pozitifliğin artmış 5 yıllık genel sağ kalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (52). Bu çalışmada CD30 pozitif olgularda 5 yıllık genel sağ kalım %79, CD30 negatif olgularda ise %59 olarak saptanmıştır (52). Buna karşın, Cleveland Klinik tarafından yapılan ve CD30 pozitifliği için yine %20 eşik değerinin kullanıldığı başka bir çalışmada, DBBHL'lar için CD30 pozitifliğinin azalmış 5 yıllık sağ kalım ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (247). Hao ve arkadaşlarının 146 olgudan oluşan çalışmasında CD30 pozitifliği için eşik değeri olarak %20 kullanılmış ve %15,7 olguda pozitiflik saptanmıştır (244). Çalışmada çok değişkenli analiz ile CD30 pozitifliği gösteren olgularda, CD30 negatif olanlara göre hastalıksız ve genel sağ kalım anlamlı derecede düşük bulunmuştur (244). Gong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DBBHL'lardaki CD30 ekspresyonu ile BCL2 ekspresyonu ve MYC gen rearanjmanı arasında negatif korelasyon bulunmuştur (246). Çalışmada CD30'un prognoza etkisinin BCL2 ve MYC

ekspresyonu ve IPI skoru ile ilişkili olabileceği belirtilmiş, bağımsız bir prognostik faktör olmadığı sonucuna varılmıştır (246).

Çalışmamızda CD30 pozitifliği ile Ann-Arbor evresi arasında anlamlı bir ilişki saptanmazken CD30 pozitifliğinin düşük IPI skoru ile anlamlı ilişki gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,008$). MYC veya BCL2 aşırı ekspresyonu ile CD30 pozitifliği arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. CD30 pozitifliğinin daha uzun genel sağ kalım süresi ile anlamlı ilişkisi gösterilmiştir ($p=0,015$). GCB alt tipindeki olgularda sağ kalım ile anlamlı ilişkisinin bulunmadığı, non-GCB alt tipinde daha uzun sağ kalım süresi ile anlamlı ilişki gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,016$). Çok değişkenli analizlerde CD30 pozitifliğinin diğer İHK belirteçlerinden bağımsız iyi prognostik etkisinin bulunduğu ($p=0,075$), fakat IPI skorundan bağımsız bir prognostik etkiye sahip olmadığı görülmüştür. CD30 pozitifliğinin daha iyi tedavi yanıtı ile de ilişkili olduğu saptanmıştır ($p=0,091$).

Anti-CD30 monoklonal antikor ilaç konjugatı olan brentuximab vedotin, 2011 yılında klasik Hodgkin lenfoma ve anaplastik büyük B hücreli lenfoma tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır (8). Bu tedavinin nüks gösteren veya tedaviye dirençli CD30 pozitif DBBHL olgularında denendiği yeni bir çalışmada umut verici sonuçlar elde edilmiştir (248). Yapılan çalışmaların çoğunda iyi prognoz ile ilişkili bulunması, farklı gen ekspresyon profili sergilemeleri ve brentuximab vedotin tedavisi için hedef olmaları nedeniyle CD30 pozitif DBBHL'ların tespit edilmesinin klinik önemi olduğu vurgulanmaktadır (52).

P53:

TP53, 17. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunan bir tümör süpresör gendir (212). DBBHL'larda TP53 mutasyonu yaklaşık %20 olguda görülür (249). Diğer malignitelere benzer şekilde, TP53 mutasyonunun görülmesi kötü prognozla ilişkilendirilmektedir (140). İzlenen TP53 mutasyonlarının %80'den fazlası, hücrelerin nükleusunda stabil fakat inaktif p53 proteini birikmesine yol açan "missense" mutasyonlardır (212,250). Bu nedenle, tümör hücrelerinde belli bir eşik değerin üzerinde P53 immünohistokimyasal

ekspresyonu görülmesi TP53 mutasyonu varlığı konusunda yol göstericidir (215). Çalışmalarda farklılıklar bulunmakla beraber genellikle %50'nin üzerinde hücrede boyanma görülmesi pozitiflik için eşik değer olarak kullanılmıştır (215).

Birçok çalışmada DBBHL'larda P53 mutasyonu varlığının düşük sağ kalım ile ilişkili olduğu ve bağımsız kötü prognostik faktör olduğu bildirilmiştir (163,215,251,252). Bunun aksine, TP53 delesyonu ve heterozigosite kaybının ise sağ kalım ile ilişkisiz olduğu belirtilmiştir (163). Young ve arkadaşlarının çalışmalarında P53 mutasyonu ile genç hasta yaşı, yüksek LDH seviyesi ve yüksek IPI skoru arasında güçlü ilişki saptanmıştır (164). Ayrıca, P53 mutasyonunun yalnızca GCB alt tipindeki olguların prognostik risk grupları ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (164). Xu-Monette ve arkadaşlarının çalışmasında R-CHOP ile tedavi edilen, yeni tanı almış 506 DBBHL olgusunda ekzon dizilimi ile TP53 gen mutasyonu varlığı incelenmiştir (163). Çalışmada 5 yıllık genel sağ kalım wild tip TP53 izlenen olgularda % 65,9, mutant tip TP53 izlenen olgularda % 47.8 olarak saptanmıştır (163). Bu çalışmada TP53 mutasyonunun hem GCB hem ABC alt tipindeki olgularda sağ kalımı etkilediği belirtilmiştir (163). Ayrıca, olgularda P53 immünohistokimyasal olarak da değerlendirilmiş ve pozitiflik için eşik değer %50 ve üzerinde hücrede boyanma kabul edildiğinde TP53 mutasyon varlığını öngörmeye daha tutarlı sonuç alındığı görülmüştür (163). Gebauer ve arkadaşları, retrospektif çalışmalarında yeni tanı alan double hit lenfoma (DHL) olgularında TP53 mutasyonunu değerlendirmiştir (253). MYC ve BCL2 DHL olgularında TP53 mutasyonu sıklığının artmış, MYC ve BCL6 DHL olgularında ise diğer DBBHL,NOS olguları ile sıklığın benzer düzeyde olduğunu bildirmişlerdir (253).

Literatürde P53 immünohistokimyasal pozitifliğinin DBBHL prognozuna etkilerinin araştırıldığı çalışmaların çoğunda, P53 pozitifliğinin kötü prognostik etkileri bildirilmiştir. Wang ve arkadaşlarının 201 DBBHL olgusundan oluşan çalışmasında pozitiflik için eşik değer %50 ve üzerinde hücrede boyanma kabul edilmiş, olguların %33'ü P53 pozitif olarak değerlendirilmiştir (216). Çalışmada P53 pozitif olguların daha yüksek SSS tutulum oranı ve serum

LDH seviyesine sahip olduğu; MYC aşırı ekspresyonunun ve DE fenotipin P53 pozitif grupta daha sık görüldüğü bildirilmiştir (216). Çalışmada P53 negatif olgular ile kıyaslandığında, P53 pozitif olgularda anlamlı derecede düşük genel sağ kalım saptanmıştır (216). Yazarlar özellikle TP53 mutasyon varlığının bilinmediği durumlarda, P53 ekspresyonunun DBBHL'ların risk sınıflamasında kullanılmasını önermişlerdir (216).

Wang ve arkadaşlarının çalışmasında genomik analizlerde MYC gen yeniden düzenlenimine sahip olgularda (%33), sahip olmayanlara (%15) göre TP53 mutasyonunun daha sık olduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca IPI skoru, MYC gen yeniden düzenlenimi ve P53 ekspresyonunun birbirinden bağımsız prognostik faktörler olduğu saptanmıştır (216). P53 immünohistokimyasal pozitifliğinin, MYC aşırı ekspresyonu ve MYC gen yeniden düzenleniminin DBBHL'lardaki negatif prognostik etkisine ek katkı oluşturduğu belirtilmiştir (216). Buna dayanarak bazı yazarlar MYC gen yeniden düzenlenimi ile TP53 mutasyonu veya P53 immünohistokimyasal aşırı ekspresyonunun birlikte görüldüğü olguların başka bir DHL formu olabileceğini ifade etmiştir (216,254). Bouroumeau ve arkadaşlarının çalışmasında da P53 aşırı ekspresyonunun MYC ekspresyonu ile korelasyon gösterdiği ve kötü prognostik olduğu bildirilmiştir (255).

Bahsedilen bu çalışmaların aksine, diğer bazı çalışmalarda DBBHL'larda P53 pozitifliğinin prognostik etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (212,256). Küçükzeybek ve arkadaşlarının çalışmasında P53 ekspresyonu ile genel sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulunmadığı saptanmıştır (256). Peroja ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada P53 ekspresyonunun ECOG performans durumu, IPI skoru, ektranodal tutulum gibi klasik prognostik faktörler ve genel sağ kalım ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (212).

Çalışmamızda P53 pozitifliği için eşik değeri %50'nin üzerinde hücrede boyanma görülmesi olarak kabul edilmiştir. Klinik verilerine ulaşılan 61 olgunun %13,1'i P53 pozitif olarak değerlendirilmiştir. P53 pozitifliğinin GCB ve non-GCB alt tiplerine göre görülme sıklığında anlamlı farklılık bulunmamıştır. P53 pozitifliği ile MYC ve BCL2 aşırı ekspresyonu veya double ekspresör fenotip arasında da anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

Yaptığımız analizlerde P53 pozitifliği ile IPI skoru ve evre arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Buna karşın P53 pozitifliğinin daha düşük genel sağ kalım ile anlamlı ilişkisi tespit edilmiştir ($p=0,042$). GCB ve non-GCB alt tipleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde de P53 pozitifliği her iki alt tip için düşük sağ kalım ile ilişkili (sırasıyla $p=0,081$ ve $p=0,041$) bulunmuştur. Çalışmamızda yapılan çok değişkenli analizlerde P53'ün düşük genel sağ kalım süresi ile MYC, BCL2 ve diğer immünohistokimyasal belirteçlerden bağımsız şekilde ilişkili olduğu saptanmıştır ($p=0,014$). P53 pozitifliğinin IPI skorundan bağımsız şekilde de sınırda anlamlı düzeyde düşük genel sağ kalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir ($p=0,060$).

CD3:

Tümör mikroçevresinin lenfoma patogenezi ve prognozu açısından öneminin olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (257). Song ve arkadaşlarının çalışmalarında düşük T hücre oranına sahip DBBHL olgularının daha düşük genel sağ kalım gösterdikleri bildirilmiştir (257). Coutinho ve arkadaşlarının çalışmasında da CD3 pozitif hücre yoğunluğunun fazla olduğu DBBHL olgularının daha iyi prognozlu olduğu belirtilmiştir (258). Han ve arkadaşlarının 104 DBBHL olgusunu içeren çalışmasında CD3 yoğunluğu; CD3 pozitif hücrelerin tüm hücrelere oranı, CD3 pozitif hücrelerin B hücrelerine oranı ve 1 milimetrekare alandaki CD3 hücre sayısı olmak üzere üç farklı yöntem ile değerlendirilmiştir (259). Her üç metodun birbiri ile ve diğer parametreler ile ilişkilerinin yüksek oranda uyumlu bulunduğu belirtilmiştir (259). Çalışmada düşük CD3 yoğunluğu izlenen olguların düşük genel ve hastalıksız sağ kalım, yüksek LDH seviyesi, yüksek ECOG skoru (≥ 2), yüksek evre (III-IV) ve yüksek IPI skoru (3-5) ile ilişkili oldukları bildirilmiştir (259).

Bizim çalışmamızda CD3 yoğunluğu CD3 pozitif hücrelerin tüm lenfoid hücrelere oranı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Uygun kesme değeri %20 olarak saptanmış, bu değere göre olgular iki gruba ayrılmıştır. CD3 yoğunluğunun düşük olmasının daha düşük genel sağ kalım ile anlamlı ilişkisi tespit edilmiştir ($p=0,023$). Han ve arkadaşlarının çalışma sonuçlarına benzer

şekilde çalışmamızda da düşük CD3 yoğunluğuna sahip olguların yüksek ECOG skoru ($p=0,035$), yüksek LDH seviyesi ($p=0,045$) ve yüksek IPI skoru ($p=0,091$) ile ilişkili oldukları saptanmıştır. CD3 yoğunluğu ile evre arasında ise anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Yaptığımız çok değişkenli analizlerde CD3 yoğunluğunun diğer İHK belirteçleri ve IPI skorundan bağımsız şekilde, sınırda anlamlı düzeyde genel sağ kalım ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir ($p=0,071$).



VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

DBBHL'ların %30-40'ında klasik tedavi ajanlarına yanıt alınamamaktadır. Kötü prognozlu ve tedaviye az yanıt veren olgular çoğunlukla ABC alt tipindedir. Son yıllarda DBBHL patogenezinde rol oynayan molekülleri hedef alan, R-CHOP tedavisine eklenerek özellikle ABC alt tipindeki olgularda sağ kalımı artıran yeni tedavi ajanları geliştirilmektedir. Çalışmalarda hücre kökenini belirlemeye yönelik kullanılan immünohistokimyasal algoritmaların, GEP ile belirlenen hücre kökenlerinden önemli ölçüde farklılık gösterdiği ve prognostik anlamlılığı olmadığı bildirilmiştir. Ancak GEP ile hücre kökeninin belirlenmesi tanı sürecinde gecikme ve yüksek maliyete sebep olacağından rutin olarak kullanılamamaktadır. Prognostik sınıflandırma için klinik pratikte kullanımına devam edilen IPI skorlaması ise tümör biyolojisi ve patogenezinine ilişkin veri içermemektedir. İmmünohistokimya, moleküler özellikler ve prognostik sınıflamalar arasında köprü oluşturan, rutin pratikte kullanımı kolay, maliyeti düşük bir yöntemdir. Bu nedenle olguları moleküler ve patogenetik özelliklerine göre ayıran, klasik tedavilere dirençli olan ve yeni tedavi ajanlarından fayda görecektir olguları öngören, IPI skorundan bağımsız prognostik önemi olan İHK belirteçlerini saptamaya yönelik çalışmalar önem kazanmıştır.

Literatürdeki çalışmalarda DBBHL'larda BCL2, MYC, CD30, CD5 ve P53'ün prognostik etkileri açısından çelişkili sonuçların bildirildiği görülmektedir. Farklılığın çalışmalarda kullanılan farklı eşik değerler yanı sıra DBBHL'ların heterojen bir lenfoma grubu olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Çalışmalardaki olgu grupları birçok klinik prognostik faktör açısından birbirinden farklılık göstermektedir. Ortak görüşlerin oluşabilmesi için daha geniş hasta gruplarında, çok değişkenli analizler ile klinik prognostik

parametrelerden bağımsız prognostik etkileri olan İHK belirteçlerinin araştırıldığı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Çalışmamızda toplam 71 nodal DBBHL, NOS olgusunda BCL2, MYC, CD30, CD5 ve P53 ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiştir. Prognostik verilerine ve sağ kalım bilgilerine ulaşılabilen 61 olguda bu belirteçlerin birbirleri yanı sıra klinik ve laboratuvar prognostik parametreleri ile ilişkileri araştırılmış, sağ kalım analizleri yapılmıştır. Yaş, ECOG performans skoru, evre, IPI skoru klinik prognostik parametreleri; periferik kan LDH düzeyi, albümin, hemoglobin, trombosit, MPV değerleri, mutlak lenfosit ve monosit sayıları gibi laboratuvar bulgularının da prognostik değerleri incelenmiştir.

Çalışmamızdaki olgu sayısı yüksek olmasa da klinik verilerine ulaşılan, yaşayan olgularda ortalama takip süresi 56,5 aydır. Çalışmamız sonucunda MYC ve P53 aşırı ekspresyonunun anlamlı, BCL2 aşırı ekspresyonunun sınırda anlamlı düzeyde düşük genel sağ kalım ile ilişkisi saptanmıştır. CD30 pozitifliği ve yüksek CD3 yoğunluğunun daha uzun genel sağ kalım süresi ile anlamlı ilişkisi görülmüştür. Çok değişkenli analizlerde MYC ve P53 pozitiflikleri ve düşük CD3 yoğunluğunun düşük genel sağ kalım süresi ile IPI skorundan ve diğer İHK belirteçlerinden bağımsız şekilde de ilişkili oldukları tespit edilmiştir. BCL2 pozitifliğinin daha kötü, CD30 pozitifliğinin daha iyi tedavi yanıtı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca yüksek ECOG performans skoru, evre, IPI skoru ve LDH seviyesi; >60 yaş, <1510/μL mutlak lenfosit sayısı, <12,35 g/dL hemoglobin, <3,95 g/dL albümin değerleri de düşük genel sağ kalım süresi ile anlamlı düzeyde ilişkili saptanmıştır. Çok değişkenli analizlerde IPI skorunun immünohistokimyasal belirteçlerden bağımsız prognostik etkiye sahip olduğu da görülmüştür.

DBBHL'larda MYC ve P53'ün klinik parametrelerden bağımsız şekilde kötü prognozu öngören belirteçler olduğu sonucuna varılmıştır. Bu iki belirtecin hücre kökeni fark etmeksizin tüm olgularda prognostik değerlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu durum, bu iki belirtecin prognozu değerlendirmede hücre kökeni fark etmeksizin tüm olgularda kullanılabilir olması bakımından da avantajlı olduğunu göstermiştir. MYC ve P53

pozitifliklerinin beraber görülmesinin birbirlerinin kötü prognostik etkilerine ek katkı oluşturabileceği düşünülmüştür. Bu tür olgularda translokasyon analizi önerilebileceği, bu olguların agresif bir double-ekspresör fenotip formu şeklinde değerlendirilebileceği ve ek tedavilere aday olabileceği öngörülmüştür. Çalışmamızda klinik verilerine ulaşılabilen 61 olgunun yalnızca 5'i MYC ve P53 aşırı ekspresyonlarının her ikisine sahip olduğu için bu olgu grubu ile ilgili yeterli analiz yapılamamıştır. Daha geniş hasta gruplarında bu özellikte olguların değerlendirildiği çalışmalara gereksinim duyulduğu saptanmıştır.

CD30 ve BCL2'nin prognostik etkilerinin IPI skorundan bağımsız olmadığı ve olguların hücre kökenlerine göre farklılık gösterdiği saptanmıştır. Buna karşın, yeni tedavi ajanlarının hedef noktası olmaları, klasik tedavi ajanlarına verilen yanıt ile ilişkili saptanmaları nedeniyle bu belirteçlerin araştırılması da önem taşımaktadır. MYC ve BCL2 double-ekspresör olguların saptanabilmesi, bu olgularda translokasyon analizi önerilebilmesi için de BCL2 pozitifliğinin araştırılması gerekli bulunmuştur.

Çalışmamızda CD5 pozitifliğinin anlamlı bir prognostik etkisi görülmemiştir. Yapılan çalışmaların çoğunluğunda kötü prognostik etkisi bildirilmiş olsa da çalışmalar arasında pozitiflik için kullanılan eşik değerler farklılık göstermektedir. Daha fazla çalışma yapılarak ortak bir eşik değer belirlenmesinin bu belirtecin prognostik etkisinin daha objektif şekilde değerlendirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızın amaçları arasında yer alması da CD3 yoğunluğunun DBBHL'lardaki prognostik etkisi de araştırılmış, yüksek CD3 yoğunluğunun daha uzun genel sağ kalım süresi ile anlamlı ilişkisi saptanmıştır. Tanı sürecinde tüm olgular için kullanılan bu belirtecin yoğunluğunu değerlendirme konusunda standardizasyonun sağlanması gerekli görülmüştür. Raporlarda CD3 yoğunluğunun yüzdelik değerine yer verilmesinin progostik açıdan fayda sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

Özetle, DBBHL'larda MYC, P53, CD3 ve NCCN-IPI skorundan oluşan risk modeli ile prognostik skorlamanın yapılabileceği düşünülmüştür. Olgularda BCL2 ve CD30'un araştırılmasının da gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

VII. ÖZET

Amaç: Diffüz büyük B hücreli lenfoma, başka türlü sınıflandırılmayan (DBBHL,NOS) olgularında BCL2, MYC, CD30, CD5 ve P53 ekspresyonlarının saptanması, bu belirteçlerin hastaların prognostik verileri ile ilişkilerinin incelenmesi ve DBBHL,NOS olgularındaki prognostik değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 2001-2021 yılları arasında tanı almış, tanı anında ektranodal tutulumu bulunmayan toplam 71 nodal DBBHL,NOS olgusu değerlendirilmiştir. Bu olguların 61'inin klinik prognostik verilerine ulaşılmıştır. Olgularda immünohistokimyasal yöntemle BCL2, MYC, CD30, CD5 ve P53 ekspresyonları çalışılmıştır. Elde edilen bulguların birbirleriyle, klinik ve laboratuvar prognostik parametreleri ile ilişkileri ve sağ kalım süresine etkileri araştırılmıştır.

Bulgular: MYC pozitif ($p=0,023$) ve P53 pozitif olguların ($p=0,042$) anlamlı, BCL2 pozitif olguların ($p=0,073$) sınırda anlamlı düzeyde düşük sağ kalım ile ilişkisi saptanmıştır. CD30 pozitif olgular daha yüksek sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur ($p=0,015$). MYC ve P53'ün kötü prognostik etkilerinin diğer belirteçler ve IPI skorundan bağımsız şekilde de bulunduğu tespit edilmiştir. Yüksek ECOG performans skoru, evre, IPI skoru ve LDH seviyesi; $<1510/\mu\text{L}$ mutlak lenfosit sayısı, $<12,35$ g/dL hemoglobin, $<3,95$ g/dL albümin değerleri, $<20\%$ CD3 pozitif hücrelerin tüm lenfoid hücrelere oranı ve >60 yaş da düşük genel sağ kalım ile anlamlı düzeyde ilişkili saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda MYC ve P53'ün DBBHL,NOS'larda kötü prognozu IPI skorundan bağımsız şekilde öngören belirteçler olarak kullanılabileceği saptanmıştır. Bu iki belirtecin aşırı ekspresyonlarının birlikte görüldüğü olguların daha kötü prognostik ayrı bir grup olarak değerlendirilebileceği öngörülmüştür. MYC ve BCL2'nin aşırı ekspresyonlarının beraber görüldüğü,

kötü prognozlu seyreden double-ekspresör olguların belirlenmesi ve bu olgularda translokasyon analizi önerilebilmesi açısından BCL2 pozitifliğinin de araştırılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca düşük CD3 yoğunluğunun düşük sağ kalım ile IPI skorundan bağımsız ilişkisi saptanmıştır. Prognostik açıdan en anlamlı sonuca ulaşmak için MYC, P53, CD3 ve NCCN-IPI skorundan oluşan yeni bir risk skorlamasının kullanılması önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: Diffüz büyük B hücreli lenfoma, MYC, BCL2, CD5, CD30, P53



VIII. ABSTRACT

PROGNOSTIC IMPACTS OF BCL2, MYC, P53, CD5 AND CD30 EXPRESSIONS IN NODAL DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA, NOS

Aim: It was aimed to determine the expressions of BCL2, MYC, CD30, CD5 and P53 in diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified (DLBCL,NOS) to examine the relationship of these markers with the prognostic data of the patients and to determine their prognostic values in DLBCL,NOS cases.

Material and methods: A total of 71 nodal DLBCL,NOS cases diagnosed between 2001 and 2021 with no known extranodal involvement at the time of diagnosis were evaluated. Clinical prognostic data were obtained in 61 of these cases. BCL2, MYC, CD30, CD5 and P53 expressions were performed by immunohistochemical method. The relationships between immunohistochemical data and clinical prognostic parameters, also their effects on overall survival were investigated.

Results: It was observed that MYC positive ($p=0.023$) and P53 positive cases ($p=0.042$) had significantly worse overall survival (OS). BCL2 positive cases were found to be associated with worse OS than BCL2 negative cases ($p=0.073$). CD30 positive cases had significantly better overall survival ($p=0.015$). It was found that the poor prognostic impacts of MYC and P53 were independent of other markers and IPI score. In addition, cases that are >60 years of age, that have high LDH level, ECOG performance score, stage, IPI score; <3,95 g/dL albumin level, <12,35 g/dL hemoglobin level,

<1510/ μ L peripheral blood lymphocyte count, <%20 CD3 positive cells-all lymphoid cells ratio were found to have worse overall survival.

Conclusion: In our study, it was concluded that MYC and P53 can be used as markers that predict poor prognosis in DLBCL,NOS. Their prognostic impacts were independent of the IPI score. It was thought that cases expressing both of these two markers could be considered as a separate group with worse prognosis. It was concluded that investigating BCL2 is also necessary for identifying double-expressor cases with poor prognosis, in order to recommend translocation analysis. Additionally, lower CD3 density was found to be associated with worse overall survival. It is suggested to use a new risk scoring system consisting of MYC, P53, CD3 and NCCN-IPI score to achieve the most prognostically significant results in DLBCL,NOS.

Keywords: Diffuse large B cell lymphoma, MYC, BCL2, CD5, CD30, P53

IX. KAYNAKLAR

1. Chan A, Dogan A. Prognostic and Predictive Biomarkers in Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Surg Pathol Clin.* 2019;12(3):699-707.
2. 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.
3. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology.* 2018;50(1):74-87.
4. Insuasti-Beltran, G., & D. Hsi, E. (2022). *Diffuse Large B-Cell Lymphomas: From Morphology to Genomic Profiling.* IntechOpen.
5. 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.
6. Na HY, Choe JY, Shin SA, et al. Characteristics of CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma among Koreans: High incidence of BCL2 and MYC double-expressors. *PLoS One.* 2019;14(10):e0224247.
7. Alice Di Rocco, Federico De Angelis, Michela Ansuinelli, Robin Foà & Maurizio Martelli. *Is now the time for molecular driven therapy for diffuse large B-cell lymphoma?*, *Expert Review of Hematology*, 2017; 10:9, 761-774.
8. Jie Xu, Yasuhiro Oki, Annapurna Saksena, Parth Desai, Pei Lin, Guilin Tang, C. Cameron Yin, M. James You, Beenu Thakral, L. Jeffrey Medeiros, Shaoying Li, CD30 expression and prognostic significance in R-EPOCH-treated patients with diffuse large B-cell lymphoma, *Human Pathology.* 2017; 60:160-166.

9. Souers AJ, Levenson JD, Boghaert ER, et al. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat Med*. 2013;19(2):202-208.
10. Sukswai N, Lyapichev K, Khoury JD, Medeiros LJ (2020) Diffuse large B-cell lymphoma variants: an update. *Pathology* 52(1):53– 67.
11. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I. et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: Lymphoid neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720-1748.
12. Gluzman DF. WHO classification of lymphoid malignancies. *Exp Oncol*. 2012; 34:377-8.
13. 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.
14. Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Padala SA, Barsouk A, Rawla P. Epidemiology of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Med Sci (Basel)*. 2021;9(1):5.
15. Nair R, Bhurani D, Rajappa S, et al. Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Clinical Presentation and Treatment Outcomes From the OncoCollectLymphoma Registry. *Front Oncol*. 2022; 11:796962.
16. Shankland KR, Armitage JO, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* 2012; 380:848-57.
17. Armitage JO. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 89:3909-18.
18. 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. *Journal of Clinical Oncology* 1998; 16:2780-95.
19. Morton LM, Slager SL, Cerhan JR, et al. Etiologic heterogeneity among non-Hodgkin lymphoma subtypes: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2014;2014(48):130-144.

20. 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.
21. Visco C, Finotto S. Hepatitis C virus and diffuse large B-cell lymphoma: Pathogenesis, behavior and treatment. *World J Gastroenterol*. 2014;20(32):11054-11061.
22. Tsai YF, Liu YC, Yang CI, et al. Poor Prognosis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma with Hepatitis C Infection. *J Pers Med*. 2021;11(9):844.
23. Beltran BE, Castro D, Paredes S, Miranda RN, Castillo JJ. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2020;95(4):435-445.
24. Hofscheier A, Ponciano A, Bonzheim I, et al. Geographic variation in the prevalence of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly: a comparative analysis of a Mexican and a German population. *Mod Pathol*. 2011;24(8):1046-1054.
25. Hoeller S, Tzankov A, Pileri SA, Went P, Dirnhofer S. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma in elderly patients is rare in Western populations. *Hum Pathol*. 2010;41(3):352-357.
26. Rudders RA, Ross ME and DeLellis RA: Primary extranodal lymphoma: Response to treatment and factors influencing prognosis. *Cancer* 42: 406-416, 1978.
27. Paryani S, Hoppe RT, Burke JS, et al. Extranodal involvement in diffuse non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1: 682-688, 1983.
28. Economopoulos T, Asprou N, Stathakis N, et al. Primary extranodal non-Hodgkin's lymphoma in adults: Clinicopathological and survival characteristics. *Leuk Lymphoma* 21: 131-136, 1996.
29. d'Amore F, Christensen BE, Brincker H, et al. Clinicopathological features and prognostic factors in extranodal non-hodgkin lymphomas. Danish LYFO study group. *Eur J Cancer* 27: 1201-1208, 1991.

30. Møller 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(2):151-159.
31. Shen H, Wei Z, Zhou D, et al. Primary extra-nodal diffuse large B-cell lymphoma: A prognostic analysis of 141 patients. *Oncol Lett*. 2018;16(2):1602-1614.
32. Musa F. Alzahrani, Tarec Christoffer El-Galaly et al. Role of Bone Marrow Biopsy in the Staging of Diffuse Large B-Cell Lymphoma in the PET/CT Era. *Blood*. 2014; 124 (21): 2960.
33. Arber DA, George TI. Bone marrow biopsy involvement by non-Hodgkin's lymphoma: frequency of lymphoma types, patterns, blood involvement, and discordance with other sites in 450 specimens. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(12):1549-1557.
34. Talaulikar D, Dahlstrom JE, Shadbolt B et al. Occult bone marrow involvement in patients with diffuse large B-cell lymphoma: results of a pilot study. *Pathology* 2007; 39:580-5.
35. Talaulikar D, Shadbolt B, Dahlstrom JE et al. Routine use of ancillary investigations in staging diffuse large B-cell lymphoma improves the International Prognostic Index (IPI). *J Hematol Oncol* 2009; 2:49.
36. Adams HJ, Kwee TC, de Keizer B et al. FDG PET/CT for the detection of bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma: systematic review and meta-analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 41:565-74.
37. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L 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; 32:3048-58.
38. Khan AB, Barrington SF, Mikhaeel NG et al. PET-CT staging of DLBCL accurately identifies and provides new insight into the clinical significance of bone marrow involvement. *Blood* 2013; 122:61-7.

39. Cheson BD. Staging and response assessment in lymphomas: the new Lugano classification. *Chin Clin Oncol*. 2015;4(1):5.
40. Hunt KE, Reichard KK. Diffuse large B-cell lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(1):118-124.
41. Korkolopoulou P, Vassilakopoulos T, Milionis V, Ioannou M. Recent advances in aggressive large B-cell lymphomas: a comprehensive review. *Adv Anat Pathol* 2016; 23: 202–43.
42. Xie Y, Pittaluga S, Jaffe ES. The histological classification of diffuse large B-cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2015;52(2):57-66.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. 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.
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; 109:584-91.
48. Brudno J, Tadmor T, Pittaluga S, Nicolae A, Polliack A, Dunleavy K. Discordant bone marrow involvement in non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2016; 127: 965–70.
49. Kennedy GA, Tey SK, Cobcroft R et al. Incidence and nature of CD20-negative relapses following rituximab therapy in aggressive B-cell non-

- Hodgkin's lymphoma: a retrospective review. Br J Haematol* 2002; 119:412-6.
50. Loddenkemper C, Anagnostopoulos I, Hummel M, et al. Differential Eμ enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non- Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. *J Pathol* 2004; 202: 60–9.
 51. 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.
 52. 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.
 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; 99:815-21.
 54. Xu-Monette ZY, Tu M, Jabbar KJ, et al. Clinical and biological significance of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. *Oncotarget*. 2015 Jun 10;6(16):14720.
 55. 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.
 56. Wight JC, Chong G, Grigg AP, Hawkes EA. Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the molecular era: moving beyond the IPI. *Blood Rev*. 2018;32(5):400-415.
 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(28):3452-9.

58. Clark Schneider KM, Banks PM, Collie AM, et al. Dual expression of MYC and BCL2 proteins predicts worse outcomes in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2016;57(7):1640-8.
59. de Leval L, Harris NL. Variability in immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its clinical relevance. *Histopathology* 2003; 43:509-28.
60. Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S et al. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90:244-51.
61. Hermine O, Haioun C, Lepage E 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; 87:265-72.
62. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G, 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(6):961-968.
63. Kendrick SL, Redd L, Muranyi A, et al. BCL2 antibodies targeted at different epitopes detect varying levels of protein expression and correlate with frequent gene amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Hum Pathol*. 2014;45(10):2144-2153.
64. 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.
65. Berglund M, Thunberg U, Amini RM et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol* 2005; 18:1113-20.
66. Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003; 101:78-84.
67. de Leval L, Harris NL. Variability in immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its clinical relevance. *Histopathology* 2003; 43:509-28.

68. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W et al. Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J Pathol* 2006; 208:714-23.
69. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A et al. A monoclonal antibody (MUM1p) detects expression of the MUM1/IRF4 protein in a subset of germinal center B cells, plasma cells, and activated T cells. *Blood* 2000; 95:2084-92.
70. 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.
71. Gualco G, Bacchi LM, Domeny-Duarte P, Natkunam Y, Bacchi CE. The contribution of HGAL/GCET2 in immunohistological algorithms: a comparative study in 424 cases of nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol*. 2012;25(11):1439-1445.
72. Barrans SL, Fenton JA, Banham A et al. Strong expression of FOXP1 identifies a distinct subset of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients with poor outcome. *Blood* 2004; 104:2933-5.
73. Montes-Moreno S, Roncador G, Maestre L, et al. Gcet1 (centerin), a highly restricted marker for a subset of germinal center-derived lymphomas. *Blood* 2008;111: 351–358.
74. Gutierrez-Garcia G, Cardesa-Salzmann T, Climent F, et al. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immuno- chemotherapy. *Blood* 2011; 117:4836–4843.
75. Natkunam Y, Zhao S, Mason DY et al. The oncoprotein LMO2 is expressed in normal germinal-center B cells and in human B-cell lymphomas. *Blood* 2007; 109:1636-42.
76. Grogan TM, Lippman SM, Spier CM, et al. Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell

- lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67. Blood. 1988;71(4):1157-1160.*
- 77.** Miller TP, Grogan TM, Dahlberg S, et al. Prognostic significance of the Ki-67-associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: a prospective Southwest Oncology Group trial. *Blood. 1994;83(6):1460-1466.*
- 78.** Li Y, Gordon MW, Xu-Monette ZY, et al. Single nucleotide variation in the TP53 3' untranslated region in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-CHOP: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood. 2013;121(22):4529-4540.*
- 79.** Cheung KJ, Horsman DE, Gascoyne RD. The significance of TP53 in lymphoid malignancies: mutation prevalence, regulation, prognostic impact and potential as a therapeutic target. *Br J Haematol. 2009;146(3):257-269.*
- 80.** Nyman H, Jerkeman M, Karjalainen-Lindsberg ML, Banham AH, Leppä S. Prognostic impact of activated B-cell focused classification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Mod Pathol. 2009;22(8):1094-1101.*
- 81.** 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.*
- 82.** Lenz G, Staudt LM. Aggressive lymphomas. *N Engl J Med. 2010;362(15):1417-1429.*
- 83.** Choi WW, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res. 2009;15(17):5494-5502.*
- 84.** Coutinho R, Clear AJ, Owen A, et al. Poor concordance among nine immunohistochemistry classifiers of cell-of-origin for diffuse large B-cell lymphoma: implications for therapeutic strategies. *Clin Cancer Res. 2013;19(24):6686-6695.*

85. 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(24):6069-6076.
86. 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(6):2349-2354.
87. 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(12):1877-1881.
88. Stein H, Warnke R, Chan W et al. Diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. (eds): *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France:IARC Press 2008; 233-7.
89. Onaindia A, Medeiros LJ, Patel KP. Clinical utility of recently identified diagnostic, prognostic, and predictive molecular biomarkers in mature B-cell neoplasms. *Mod Pathol*. 2017;30(10):1338-1366.
90. Papageorgiou SG, Thomopoulos TP, Katagas I, Bouchla A, Pappa V. Prognostic molecular biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era and their therapeutic implications. *Ther Adv Hematol*. 2021; 12:20406207211013987.
91. Lenz G, Davis RE, Ngo VN, et al. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science* 2008; 319:1676–1679.
92. Davis RE, Ngo VN, Lenz G, et al. Chronic active B-cell- receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2010; 463:88–92.
93. Compagno M, Lim WK, Grunn A, et al. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF-kappaB in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2009;459: 717–721.
94. Rovira J, Karube K, Valera A, et al. MYD88 L265P mutations, but no other variants, identify a subpopulation of DLBCL patients of activated

- B-cell origin, extranodal involvement, and poor outcome. Clin Cancer Res* 2016; 22:2755–2764.
95. Lam LT, Wright G, Davis RE, et al. Cooperative signaling through the signal transducer and activator of transcription 3 and nuclear factor- κ B pathways in subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2008; 111:3701–3713.
 96. 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; 98:255–263.
 97. Lu TX, Fan L, Wang L, et al. MYC or BCL2 copy number aberration is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*. 2015;6(21):18374-18388.
 98. Yoon SO, Jeon YK, Paik JH, et al. MYC translocation and an increased copy number predict poor prognosis in adult diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), especially in germinal centre-like B cell (GCB) type. *Histopathology*. 2008;53(2):205-217.
 99. Lenz G, Wright GW, Emre NC et al. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105:13520-5.
 100. Monti S, Chapuy B, Takeyama K et al. Integrative analysis reveals an outcome-associated and targetable pattern of p53 and cell cycle deregulation in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell* 2012; 22:359-72.
 101. Akyurek N, Uner A, Benekli M, Barista I. Prognostic significance of MYC, BCL2, and BCL6 rearrangements in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab. *Cancer*. 2012;118(17):4173-4183.
 102. Barrans S, Crouch S, Smith A, et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell

- lymphoma treated in the era of rituximab. J Clin Oncol. 2010;28(20):3360-3365.*
- 103.** Otto C, Scholtysik R, Schmitz R, et al. Novel IGH and MYC translocation partners in diffuse large B-cell lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2016;55: 932–943.
 - 104.** 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; 9:2133-9.
 - 105.** 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; 99:2285-90.
 - 106.** 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.
 - 107.** 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.
 - 108.** Aukema SM, Theil L, Rohde M et al. Sequential karyotyping in Burkitt lymphoma reveals a linear clonal evolution with increase in karyotype complexity and a high frequency of recurrent secondary aberrations. *Br J Haematol* 2015; 170:814-25.
 - 109.** Copie-Bergman C, Cuilliere-Dartigues P, Baia M et al. MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study. *Blood* 2015; 126:2466-74.
 - 110.** Johnson NA, Savage KJ, Ludkovski O et al. Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* 2009; 114:2273-9.
 - 111.** Green TM, Young KH, Visco C et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B- cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012; 30:3460- 7.

- 112.** Iqbal J, Greiner TC, Patel K et al. Distinctive patterns of BCL6 molecular alterations and their functional consequences in different subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2007; 21:2332-43.
- 113.** Weiss LM, Warnke RA, Sklar J, et al. Molecular analysis of the t(14;18) chromosomal translocation in malignant lymphomas. *N Engl J Med* 1987; 317:1185–1189.
- 114.** Klapper W, Stoecklein H, Zeynalova S, et al. Structural aberrations affecting the MYC locus indicate a poor prognosis independent of clinical risk factors in diffuse large B-cell lymphomas treated within randomized trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Leukemia* 2008; 22:2226–2229.
- 115.** Scott DW, Mungall KL, Ben-Neriah S et al. TBL1XR1/TP63: a novel recurrent gene fusion in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2012; 119:4949-52.
- 116.** Twa DD, Mottok A, Chan FC et al. Recurrent genomic rearrangements in primary testicular lymphoma. *J Pathol* 2015; 236:136-41.
- 117.** Lenz G, Wright G, Dave SS, et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med*. 2008;359(22):2313-2323.
- 118.** Nowakowski GS, Chiappella A, Gascoyne RD, et al. ROBUST: A Phase III Study of Lenalidomide Plus R-CHOP Versus Placebo Plus R-CHOP in Previously Untreated Patients With ABC-Type Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2021;39(12):1317-1328.
- 119.** 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.
- 120.** International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1993;329(14):987-994.
- 121.** 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. *J Clin Oncol*. 2010;28(14):2373-2380.
122. 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; 109:1857-61.
 123. Vaidya R, Witzig TE. Prognostic factors for diffuse large B-cell lymphoma in the R(X)CHOP era. *Ann Oncol*. 2014; 25:2124–2133.
 124. Zhou Z, Sehn LH, Rademaker AW, 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):837-842.
 125. Ruppert AS, Dixon JG, Salles GA, et al. Comparison of clinical scoring systems in aggressive B-cell lymphomas (BCL): an individual patient-level analysis across international trials (SEAL). *J Clin Oncol*. 2019; 37:7544.
 126. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M et al. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Oncol* 2011; 29:1452-7.
 127. Carson KR, Bartlett NL, McDonald JR et al. Increased body mass index is associated with improved survival in United States veterans with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30:3217-22.
 128. Cox MC, Nofroni I, Ruco L et al. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic factor in diffuse-large-B-cell-lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2008; 49:1745-51.
 129. Drake MT, Maurer MJ, Link BK et al. Vitamin D insufficiency and prognosis in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28:4191-8.
 130. Hong F, Habermann TM, Gordon LI et al. The role of body mass index in survival outcome for lymphoma patients: US intergroup experience. *Ann Oncol* 2014; 25:669-74.
 131. Maurer MJ, Micallef IN, Cerhan JR et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two

- independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol* 2011; 29:1620-6.
- 132.** Muller C, Murawski N, Wiesen MH et al. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. *Blood* 2012; 119:3276-84.
- 133.** Pfreundschuh M, Ho AD, Cavallin-Stahl E et al. Prognostic significance of maximum tumour (bulk) diameter in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: an exploratory analysis of the MabThera International Trial Group (MInT) study. *Lancet Oncol* 2008; 9:435-44.
- 134.** Porrata LF, Ristow KM, Habermann TM et al. Peripheral blood absolute lymphocyte/monocyte ratio during rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone treatment cycles predicts clinical outcomes in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2014; 55:2728-38.
- 135.** Bernd HW, Ziepert M, Thorns C, et al. Loss of HLA-DR expression and immunoblastic morphology predict adverse outcome in diffuse large B-cell lymphoma - analyses of cases from two prospective randomized clinical trials. *Haematologica*. 2009;94(11):1569-1580.
- 136.** Li M, Liu Y, Wang Y, et al. Anaplastic Variant of Diffuse Large B-cell Lymphoma Displays Intricate Genetic Alterations and Distinct Biological Features. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(10):1322-1332.
- 137.** 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.
- 138.** Staiger AM, Ziepert M, Horn H, et al. Clinical Impact of the Cell-of-Origin Classification and the MYC/ BCL2 Dual Expresser Status in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated Within Prospective Clinical Trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol*. 2017;35(22):2515-2526.

- 139.** Bachy E, Salles G. Treatment approach to newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. *Semin Hematol* 2015; 52:107-18.
- 140.** Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24:995-1007.
- 141.** O'Malley DP, Auerbach A, Weiss LM. Practical Applications in Immunohistochemistry: Evaluation of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Related Large B-Cell Lymphomas. *Arch Pathol Lab Med* 2015; 139:1094-107.
- 142.** 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.
- 143.** Niitsu N, Okamoto M, Tamaru JI, et al. Clinicopathologic characteristics and treatment outcome of the addition of rituximab to chemotherapy for CD5-positive in comparison with CD5-negative diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2010;21(10):2069-2074.
- 144.** Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2--associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood* 2003; 101:4279-84.
- 145.** Winter JN, Weller EA, Horning SJ et al. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* 2006; 107:4207-13.
- 146.** Molina TJ, Canioni D, Copie-Bergman C, et al. Young patients with non-germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma benefit from intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab compared with CHOP plus rituximab: analysis of data from the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte/lymphoma study association phase III trial LNH 03-2B. *J Clin Oncol*. 2014;32(35):3996-4003.
- 147.** Sarkozy C, Traverse-Glehen A, Coiffier B. Double-hit and double-protein-expression lymphomas: aggressive and refractory lymphomas. *Lancet Oncol*. 2015;16(15):e555-e567.

- 148.** Meriranta L, Pasanen A, Alkodsí A, Haukka J, Karjalainen-Lindsberg ML, Leppä S. Molecular background delineates outcome of double protein expressor diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv.* 2020;4(15):3742-3753.
- 149.** Savage KJ, Slack GW, Mottok A, et al. Impact of dual expression of MYC and BCL2 by immunohistochemistry on the risk of CNS relapse in DLBCL. *Blood.* 2016;127(18):2182-2188.
- 150.** Jiang C, Shi X, Fan C. A cyclin D1-positive diffuse large B-cell lymphoma of germinal center B-cell-like subtype in the right tonsil: A rare case report. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96:e6311.
- 151.** Read JA, Koff JL, Nastoupil LJ et al. Evaluating cell-of-origin subtype methods for predicting diffuse large B-cell lymphoma survival: a meta-analysis of gene expression profiling and immunohistochemistry algorithms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2014; 14:460-7.e2.
- 152.** Koh YW, Hwang HS, Park CS, Yoon DH, Suh C, Huh J. Prognostic effect of Ki-67 expression in rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone-treated diffuse large B-cell lymphoma is limited to non-germinal center B-cell-like subtype in late-elderly patients. *Leuk Lymphoma.* 2015;56(9):2630-2636.
- 153.** Obermann EC, Csato M, Dirnhofer S, Tzankov A. Aberrations of the MYC gene in unselected cases of diffuse large B-cell lymphoma are rare and unpredictable by morphological or immunohistochemical assessment. *J Clin Pathol.* 2009;62(8):754-756.
- 154.** Barrans SL, O'Connor SJ, Evans PA et al. Rearrangement of the BCL6 locus at 3q27 is an independent poor prognostic factor in nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2002; 117:322-32.
- 155.** Shustik J, Han G, Farinha P et al. Correlations between BCL6 rearrangement and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP or R-CHOP. *Haematologica* 2010; 95:96-101.

- 156.** Stasik CJ, Nitta H, Zhang W, et al. Increased MYC gene copy number correlates with increased mRNA levels in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica*. 2010;95(4):597-603.
- 157.** Valentino C, Kendrick S, Johnson N, et al. Colorimetric in situ hybridization identifies MYC gene signal clusters correlating with increased copy number, mRNA, and protein in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2013;139(2):242-254.
- 158.** Tzankov A, Xu-Monette ZY, Gerhard M et al. Rearrangements of MYC gene facilitate risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab-CHOP. *Mod Pathol* 2014; 27:958-71.
- 159.** Aukema SM, Siebert R, Schuurin E et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* 2011; 117:2319-31.
- 160.** Ye Q, Xu-Monette ZY, Tzankov A et al. Prognostic impact of concurrent MYC and BCL6 rearrangements and expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget* 2016; 7:2401-16.
- 161.** Li S, Desai P, Lin P et al. MYC/BCL6 double-hit lymphoma (DHL): a tumour associated with an aggressive clinical course and poor prognosis. *Histopathology* 2016; 68:1090-8.
- 162.** Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB et al. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2013; 37:323-32.
- 163.** Xu-Monette ZY, Wu L, Visco C et al. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood* 2012; 120:3986.
- 164.** Young KH, Leroy K, Moller MB et al. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. *Blood* 2008; 112:3088-98.
- 165.** Jardin F, Jais JP, Molina TJ et al. Diffuse large B-cell lymphomas with CDKN2A deletion have a distinct gene expression signature and a poor

- prognosis under R-CHOP treatment: a GELA study. Blood* 2010; 116:1092-104.
- 166.** Scott DW, Gascoyne RD. The tumour microenvironment in B cell lymphomas. *Nat Rev Cancer* 2014; 14:517-34.
 - 167.** Alizadeh AA, Gentles AJ, Alencar AJ et al. Prediction of survival in diffuse large B-cell lymphoma based on the expression of 2 genes reflecting tumor and microenvironment. *Blood* 2011; 118:1350-8.
 - 168.** Rimsza LM, Roberts RA, Miller TP et al. Loss of MHC class II gene and protein expression in diffuse large B-cell lymphoma is related to decreased tumor immunosurveillance and poor patient survival regardless of other prognostic factors: a follow-up study from the Leukemia and Lymphoma Molecular Profiling Project. *Blood* 2004; 103:4251-8.
 - 169.** Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2015; 126:2193-201.
 - 170.** Coiffier B. Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene* 2007; 26:3603-13.
 - 171.** Abraham Jacob, L., & Gupta, A. et al. DLBCL Subtypes and Prognosis Based on Immunophenotyping. *IntechOpen*. 2023.
 - 172.** Nowakowski GS, Feldman T, Rimsza LM, Westin JR, Witzig TE, Zinzani PL. Integrating precision medicine through evaluation of cell of origin in treatment planning for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Cancer J*. 2019;9(6):48.
 - 173.** de Jong D, Balagué Ponz O. The molecular background of aggressive B cell lymphomas as a basis for targeted therapy. *J Pathol*. 2011;223(2):274-282.
 - 174.** Ruan J, Martin P, Furman RR, et al. Bortezomib plus CHOP-rituximab for previously untreated diffuse large B-cell lymphoma and mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2011;29(6):690-697.
 - 175.** Novero A, Ravella PM, Chen Y, Dous G, Liu D. Ibrutinib for B cell malignancies. *Exp Hematol Oncol*. 2014;3(1):4. Published 2014 Jan 28.

176. Zhang, L. H. et al. Lenalidomide efficacy in activated B-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. *Br. J. Haematol.* 160, 487–502 (2013).
177. 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(3):251-257.
178. Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, Adams JM. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(1):49-63.
179. Siddiqui WA, Ahad A, Ahsan H. The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Arch Toxicol.* 2015;89(3):289-317.
180. Saleh HA, Jackson H, Banerjee M. Immunohistochemical expression of bcl-2 and p53 oncoproteins: correlation with Ki67 proliferation index and prognostic histopathologic parameters in colorectal neoplasia. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2000;8(3):175-182.
181. Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science.* 1985;228(4706):1440-1443.
182. Delbridge AR, Grabow S, Strasser A, Vaux DL. Thirty years of BCL-2: translating cell death discoveries into novel cancer therapies. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(2):99-109.
183. Jamil MO, Mehta A. Diffuse Large B-cell lymphoma: Prognostic markers and their impact on therapy. *Expert Rev Hematol.* 2016;9(5):471-477.
184. Piris MA, Pezzella F, Martinez-Montero JC, et al. p53 and bcl-2 expression in high-grade B-cell lymphomas: correlation with survival time [published correction appears in *Br J Cancer* 1994 May;69(5):978]. *Br J Cancer.* 1994;69(2):337-341.
185. Wilson WH, Teruya-Feldstein J, Fest T, et al. Relationship of p53, bcl-2, and tumor proliferation to clinical drug resistance in non-Hodgkin's lymphomas. *Blood.* 1997;89(2):601-609.

186. 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.
187. Hermine O, Haioun C, Lepage E, 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(1):265-272.
188. de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol*. 2007;25(7):805-812.
189. Klanova M, Andera L, Brazina J, et al. Targeting of BCL2 Family Proteins with ABT-199 and Homoharringtonine Reveals BCL2- and MCL1-Dependent Subgroups of Diffuse Large B-Cell Lymphoma [published correction appears in *Clin Cancer Res*. 2016 Aug 1;22(15):3984]. *Clin Cancer Res*. 2016;22(5):1138-1149.
190. Nie Z, Hu G, Wei G, et al. c-Myc is a universal amplifier of expressed genes in lymphocytes and embryonic stem cells. *Cell* 2012; 151: 68–79.
191. Nguyen L, Papenhausen P, Shao H. The role of c-MYC in B-cell lymphomas: diagnostic and molecular aspects. *Genes (Basel)* 2017; 8.
192. Kluk MJ, Chapuy B, Sinha P, et al. Immunohistochemical detection of MYC-driven diffuse large B-cell lymphomas. *PLoS One*. 2012;7(4):e33813.
193. Karube K, Campo E. MYC alterations in diffuse large B-cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2015;52(2):97–106.
194. Horn H, Ziepert M, Becher C, et al. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2013;121(12):2253–2263.
195. 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 report from The International DLBCL

- Rituximab-CHOP Consortium Program. Blood. 2013;121(20):4021–4031.*
- 196.** Demirci, U., Kırkırlar, H. O., Ümit, E.G., et al. CD5 as a prognostic marker in patients with diffuse large B-cell lymphoma: A multicenter study. *Journal of Hematopathology*, 2022;15(4), 203-213.
 - 197.** Ennishi D, Takeuchi K, Yokoyama M, et al. CD5 expression is potentially predictive of poor outcome among biomarkers in patients with diffuse large B-cell lymphoma receiving rituximab plus CHOP therapy. *Ann Oncol.* 2008;19(11):1921-1926.
 - 198.** Tang H, Zhou H, Wei J et al (2019) Clinicopathologic significance and therapeutic implication of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology* 24(1):446–454.
 - 199.** Xu Y, Sun W, Li F (2020) De Novo CD5+ Diffuse large B-cell lymphoma: biology, mechanism, and treatment advances. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 20(10):e782–e790.
 - 200.** Jain P, Fayad LE, Rosenwald A et al (2013) Recent advances in de novo CD5+ diffuse large B cell lymphoma. *Am J Hematol* 88(9):798–802.
 - 201.** Butmarc J, Kourea HP, Kadin ME. CD5 immunostaining of lymphoid neoplasms in paraffin sections. *Am J Clin Pathol.* 1997;107(4):496-497.
 - 202.** Kroft SH, Howard MS, Picker LJ, Ansari MQ, Aquino DB, McKenna RW. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphomas. A heterogeneous group containing an unusual form of splenic lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2000;114(4):523-533.
 - 203.** Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S et al. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2005; 106: 1770–1777.
 - 204.** Kume M, Suzuki R, Yatabe Y et al. Somatic hypermutations in the VH segment of immunoglobulin genes of CD5-positive diffuse large B-cell lymphomas. *Jpn J Cancer Res* 1997; 88: 1087–1093.
 - 205.** Durani U, Ansell SM. CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a narrative review. *Leuk Lymphoma.* 2021;62(13):3078-3086.

206. Gru AA, Lim MS, Dogan A, et al. Best Practices in CD30 Immunohistochemistry Testing, Interpretation, and Reporting: An Expert Panel Consensus. *Arch Pathol Lab Med.* 2023;147(1):79-86.
207. Dürkop H, Foss HD, Eitelbach F, et al. Expression of the CD30 antigen in non-lymphoid tissues and cells. *J Pathol.* 2000;190(5):613-618.
208. Xu ML, Gabali A, Hsi ED, et al. Practical approaches on CD30 detection and reporting in lymphoma diagnosis. *Am J Surg Pathol.* 2020;44(2):e1–e14.
209. Mirzakhani M, Shahbazi M, Akbari R, et al. Soluble CD30, the immune response, and acute rejection in human kidney transplantation: A Systematic review and meta-analysis. *Front Immunol* 2020;11:295.
210. Rodrigues-Fernandes CI, Abreu LG, Radhakrishnan R, et al. Prognostic significance of CD30 expression in diffuse large B-cell lymphoma: A systematic review with meta-analysis. *J Oral Pathol Med.* 2021;50(6):587-593.
211. Calvani J, Meignin V, Vercellino L, Thieblemont C. Prognostic factors in diffuse large B-cell lymphoma at diagnosis (excluding the International Prognostic Index). *Hématologie* 2022; xx(x): 1-13.
212. Peroja P, Pedersen M, Mantere T, et al. Mutation of TP53, translocation analysis and immunohistochemical expression of MYC, BCL-2 and BCL-6 in patients with DLBCL treated with R-CHOP. *Sci Rep.* 2018;8(1):14814.
213. Kato S, Han SY, Liu W, et al. Understanding the function-structure and function-mutation relationships of p53 tumor suppressor protein by high-resolution missense mutation analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(14):8424-8429.
214. Gottlieb E, Vousden KH. p53 regulation of metabolic pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010;2(4):a001040.
215. Xie Y, Bulbul MA, Ji L, et al. p53 expression is a strong marker of inferior survival in de novo diffuse large B-cell lymphoma and may have

- enhanced negative effect with MYC coexpression: a single institutional clinicopathologic study. Am J Clin Pathol. 2014;141(4):593–604.*
- 216.** Wang XJ, L Jeffrey Medeiros, Bueso-Ramos CE, 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;30(2):194-203.
 - 217.** Schmidt-Hansen M, Berendse S, Marafioti T, McNamara C. Does cell-of-origin or MYC, BCL2 or BCL6 translocation status provide prognostic information beyond the International Prognostic Index score in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab and chemotherapy? A systematic review. *Leuk Lymphoma.* 2017;58(10):2403-2418.
 - 218.** 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.* 2019;30(5):637-645.
 - 219.** Kharroubi DM, Nsouli G, Haroun Z. Potential Prognostic and Predictive Role of Monocyte and Lymphocyte Counts on Presentation in Patients Diagnosed With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Cureus.* 2023;15(3):e35654.
 - 220.** Wilcox RA, Ristow K, Habermann TM, et al.: The absolute monocyte and lymphocyte prognostic score predicts survival and identifies high-risk patients in diffuse large-B-cell lymphoma. *Leukemia.* 2011, 25:1502-9.
 - 221.** Agarwal R, Lade S, Liew D et al. Role of immunohistochemistry in the era of genetic testing in MYC-positive aggressive B-cell lymphomas: a study of 209 cases. *J Clin Pathol* 2016; 69:266-70.
 - 222.** El Hussein S, Shaw KRM, Vega F. Evolving insights into the genomic complexity and immune landscape of diffuse large B-cell lymphoma: opportunities for novel biomarkers. *Mod Pathol.* 2020 Dec;33(12):2422-2436

223. 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):1-8.
224. Chen LP, Lin SJ, Yu MS. Prognostic value of platelet count in diffuse large B-cell lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2012;12(1):32-37.
225. Chen H, Zhong Q, Zhou Y, et al. Enhancement of the International prognostic index with β 2-microglobulin, platelet count and red blood cell distribution width: a new prognostic model for diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. *BMC Cancer.* 2022;22(1):583.
226. Zhou S, Ma Y, Shi Y, et al. Mean platelet volume predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Hematol Oncol.* 2018;36(1):104-109.
227. Ennishi D, Hsi ED, Steidl C, Scott DW. Toward a New Molecular Taxonomy of Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Cancer Discov.* 2020 Sep;10(9):1267-1281.
228. Dwivedi, Anamika; Mehta, Anurag¹; Solanki, Poonam¹. Evaluation of immunohistochemical subtypes in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on survival. *Indian Journal of Pathology and Microbiology* 58(4):p 453-458, Oct–Dec 2015.
229. Wei X, Zheng J, Zhang Z, et al. Consecutive Hypoalbuminemia Predicts Inferior Outcome in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Front Oncol.* 2021; 10:610681.
230. Yamamoto M, Watanabe K, Fukuda T, Miura O. Prediction of Prognosis for Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma Refractory to or in First Relapse After Initial R-CHOP Therapy: A Single-Institution Study. *Anticancer Res.* 2017;37(5):2655-2662.
231. Tsuyama N, Sakata S, Baba S, et al. BCL2 expression in DLBCL: reappraisal of immunohistochemistry with new criteria for therapeutic biomarker evaluation. *Blood.* 2017;130(4):489-500.

232. Valera A, Lopez-Guillermo A, Cardesa- Salzmann T, et al. MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica* 2013;98 (10): 1554- 62.
233. 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.
234. Schuetz JM, Johnson NA, Morin RD, et al. BCL2 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2012;26(6):1383-1390.
235. Sesques P, Johnson NA. Approach to the diagnosis and treatment of high-grade B-cell lymphomas with MYC and BCL2 and/ or BCL6 rearrangements. *Blood* 2017;129 (3): 280-8.
236. Gupta M, Maurer MJ, Wellik LE et al. Expression of Myc, but not pSTAT3, is an adverse prognostic factor for diffuse large B-cell lymphoma treated with epratuzumab/R-CHOP. *Blood* 2012; 120: 4400–4406.
237. Pedersen MO, Gang AO, Poulsen TS, et al. MYC translocation partner gene determines survival of patients with large B-cell lymphoma with MYC- or double-hit MYC/BCL2 translocations. *Eur J Haematol* 2014; 92: 42 – 8.
238. Ting CY, Chang KM, Kuan JW, et al. Clinical Significance of BCL2, C-MYC, and BCL6 Genetic Abnormalities, Epstein-Barr Virus Infection, CD5 Protein Expression, Germinal Center B Cell/Non-Germinal Center B-Cell Subtypes, Co-expression of MYC/BCL2 Proteins and Co-expression of MYC/BCL2/BCL6 Proteins in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Clinical and Pathological Correlation Study of 120 Patients. *Int J Med Sci*. 2019;16(4):556-566. Published 2019 Apr 20.
239. 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.

- 240.** Takeuchi T, Yamaguchi M, Kobayashi et al. MYD88, CD79B, and CARD11 gene mutations in CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer*. 2017; 123(7):1166– 73.
- 241.** Gary-Gouy H, Harriague J, Bismuth G, Platzer C, Schmitt C, Dalloul AH. Human CD5 promotes B-cell survival through stimulation of autocrine IL-10 production. *Blood*. 2002; 100(13):4537–43. Epub 2002/10/24.
- 242.** Campuzano-Zuluaga G, Cioffi-Lavina M, Lossos IS, Chapman-Fredricks JR, Frequency and extent of CD30 expression in diffuse large B-cell lymphoma and its relation to clinical and biologic factors: a retrospective study of 167 cases, *Leukemia & lymphoma* 2013;54:2405-11.
- 243.** Wang XJ, Seegmiller AC, Reddy NM, Li S, CD30 expression and its correlation with MYC rearrangement in de novo diffuse large B-cell lymphoma, *European journal of haematology* 2016;97:39- 47.
- 244.** Hao X, Wei X, Huang F, et al. The expression of CD30 based on immunohistochemistry predicts inferior outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126615.
- 245.** Salas MQ, Climent F, Tapia G, et al. Clinicopathologic features and prognostic significance of CD30 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): results in a homogeneous series from a single institution. *Biomarkers* 2020;25:69-75.
- 246.** Gong QX, Wang Z, Liu C, et al. CD30 expression and its correlation with MYC and BCL2 in de novo diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Pathol*. 2018;71(9):795-801.
- 247.** Collie AM, Manilich EA, Smith MR et al. CD30 immunohistochemical expression in diffuse large B- cell lymphoma is associated with decreased overall survival and the non-germinal center molecular subtype. *Blood* 2013; 122:4318.
- 248.** Jacobsen ED, Sharman JP, Oki Y et al, Brentuximab vedotin demonstrates objective responses in a phase 2 study of

- relapsed/refractory DLBCL with variable CD30 expression, Blood. 2015; 125:1394-402.*
- 249.** Young KH, Weisenburger DD, Dave BJ, et al. Mutations in the DNA-binding codons of TP53, which are associated with decreased expression of TRAILreceptor-2, predict for poor survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2007;110(13):4396-4405.
 - 250.** Soussi T, Bérout C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. *Nat Rev Cancer.* 2001;1(3):233-240.
 - 251.** Zainuddin N, Berglund M, Wanders A, et al. TP53 mutations predict for poor survival in de novo diffuse large B-cell lymphoma of germinal center subtype. *Leuk Res.* 2009; 33:60–66.
 - 252.** Leroy K, Haioun C, Lepage E, et al. P53 gene mutations are associated with poor survival in low and low-intermediate risk diffuse large B-cell lymphomas. *Ann Oncol.* 2002;13(7):1108–1115.
 - 253.** Gebauer N, Bernard V, Gebauer W, et al. TP53 mutations are frequent events in double-hit B-cell lymphomas with MYC and BCL2 but not MYC and BCL6 translocations. *Leuk Lymphoma.* 2015;56:179–185.
 - 254.** Clipson A, Barrans S, Zeng N, et al. The prognosis of MYC translocation positive diffuse large B-cell lymphoma depends on the second hit. *J Pathol Clin Res* 2015; 1: 125 – 33.
 - 255.** Bouroumeau A, Bussot L, Bonnefoix T, et al. c-MYC and p53 expression highlight starry-sky pattern as a favourable prognostic feature in R-CHOP-treated diffuse large B-cell lymphoma. *J Pathol Clin Res.* 2021;7(6):604-615.
 - 256.** Küçükzeybek BB, Bener S, Çallı AO, Paksoy TD, Payzin B. Prognostic Significance of Bcl-2 and p53 Protein Expressions and Ki67 Proliferative Index in Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Turk J Haematol.* 2013;30(3):275-282.
 - 257.** Song JY, Nwangwu M, He TF, et al. Low T-cell proportion in the tumor microenvironment is associated with immune escape and poor survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica.* 2023;108(8):2167-2177.

- 258.** Coutinho R, Clear AJ, Mazzola E, et al. Revisiting the immune microenvironment of diffuse large B-cell lymphoma using a tissue microarray and immunohistochemistry: robust semi-automated analysis reveals CD3 and FoxP3 as potential predictors of response to R-CHOP. *Haematologica*. 2015;100(3):363-369.
- 259.** Han B, Yim J, Lim S, et al. Low Density of CD3+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes Is Predictive of a Poor Prognosis in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Independently of MYC and BCL2 Double Expression Status: A Potential Utility of Immunoscore Based on Whole-Slide Image Analysis. *Blood*. 2021;138(1):2523.

