

TC.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

NODAL VE EKSTRANODAL
YÜKSEK DERECELİ B- HÜCRELİ LENFOMALARDA
İMMÜN KONTROL NOKTASI İNHİBİTÖRLERİ EKSPRESYONU VE
SAĞKALIM ANALİZİ

UZMANLIK TEZİ
DR. SELCEN YONAT İŞGÜDER

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. NALAN AKYÜREK

ANKARA
EKİM 2021

TC.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**NODAL VE EKSTRANODAL
YÜKSEK DERECELİ B- HÜCRELİ LENFOMALARDA
İMMÜN KONTROL NOKTASI İNHİBİTÖRLERİ EKSPRESYONU VE
SAĞKALIM ANALİZİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. SELCEN YONAT İŞGÜDER**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. NALAN AKYÜREK**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 01/2020-37 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
EKİM 2021**

TEŞEKKÜRLER

Öncelikle tüm asistanlık hayatım boyunca bilgi, deneyimlerini benimle paylaşan, bugünlere gelmemde ve bu tezi hazırlamamda sayısız desteğini sunan başta danışman hocam Prof. Dr. Nalan Akyürek'e, sonrasında patolojiyi öğrenmemde büyük emeği ve desteği olan hocalarım Prof. Dr. Ayşe Dursun'a, Prof. Dr. Gülen Akyol'a, Prof. Dr. Aylar Poyraz'a, Prof. Dr. Özlem Erdem'e, Prof. Dr. İpek Işık Gönül'e, Doç. Dr. Güldal Esendağlı'ya, Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün'e ve Doç. Dr. Özgür Ekinci'ye tek tek teşekkür ederim. Ayrıca uzaklarda bile olsa sevgisini ve desteğini her daim hissettiğim Prof. Dr. Leyla Memiş hocama teşekkürü borç bilirim.

Birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım ve hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen sevgili uzmanlarım Öğr. Gör. Dr. Betül Öğüt, Öğr. Gör. Dr. Mehmet Arda İnan'a ve birlikte çalışırken zamanın nasıl geçtiğini anlamadığım sevgili çalışma arkadaşlarım ve kendilerinden çok şey öğrendiğim Dr. Elif Acar başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca tezimin teknik aşamasında emeği geçen tüm laboratuvar personeline teşekkür ederim.

Her gün varlıklarına daha da çok minnettar olduğum, tüm koşullarda yanımda olan, beni ben yapan canım anne ve babama ve sevgili kardeşime çok teşekkür ederim.

Son olarak her günümü ayrı güzelleştiren, varlığıyla hayatımı anlamlı kılan bir tanecik eşim Murat Şerif İşgüder'e teşekkür ederim.



**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı**

Adı ve Soyadı •	Selcen Yonat İşgüder
Baba Adı	Abdürrazik
Doğum Yeri/Tarihi	
Diploma Tarihi / Diploma No	02/07/2015-18201 O
Mezun Olduğu Fakülte	Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay:5
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI:

Nodal ve Ekstranodal Yüksek Dereceli B Hücreli Lenfomalarda İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri Ekspresyonu ve Sağkalım Analizi

JÜRİ KARARI: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Selcen Yonat İşgüder "Nodal ve Ekstranodal Yüksek Dereceli B Hücreli Lenfomalarda immün Kontrol Noktası inhibitörleri Ekspresyonu ve Sağkalım Analizi" konulu tezi, bölümümüz araştırma görevlilerinden Dr. Selcen Yonat İşgüder tarafından sunulmuştur. Tez sınavında başarılı bulunmuştur. Uzmanlık sınavına girmesi uygundur. Gereğini bilgilerinize saygılarımızla arz ederiz.

JÜRİ ÜYELERİ

İÇİNDEKİLER

Teşekkürler	i
Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	i
Kısaltmalar.....	v
Tablolar Dizini.....	vii
Şekiller Dizini.....	ix
Resim Dizini	x
1.Giriş	1
2.Genel Bilgiler	5
2.1.Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma.....	5
2.1.1.Epidemiyoloji	5
2.1.2.Diffüz büyük B- hücreli lenfoma sınıflaması.....	5
2.1.3.Etiyoloji.....	6
2.1.4.Lokalizasyon.....	7
2.1.5.Klinik özellikler.....	7
2.1.6.Histopatoloji	8
2.1.6.1.Morfolojik varyantlar	9
2.1.6.1.1.Sentroblastik varyant.....	9
2.1.6.1.2.İmmünoblastik varyant	9
2.1.6.1.3.Anaplastik varyant.....	9
2.1.6.1.4.Diğer varyantlar.....	10
2.1.7.İmmünofenotip.....	10
2.1.8. Hücre orijini ve moleküler özellikler	11
2.1.9. Prognoz ve Prediktif Faktörler	13

2.1.10.T- Hücre ve Histiyosit Zengin Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma (THZDBHL)	14
2.1.11.ALK Pozitif Büyük B- Hücreli Lenfoma.....	14
2.1.12.Plazmablastik Lenfoma.....	15
2.1.13.İntravasküler Büyük B- Hücreli Lenfoma	16
2.1.14.IRF4 Rearanjmanı Gösteren Büyük B- Hücreli Lenfoma	17
2.1.15.Primer Mediastinal (Timik) Büyük B- hücreli Lenfoma.....	18
2.1.16.Primer Kutanöz Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma- Bacak Tipi....	19
2.1.17.Primer Santral Sinir Sisteminin Diffüz Büyük B- hücreli Lenfoması	19
2.1.18.Kronik İnflamasyon ile İlişkili Diffüz Büyük B- hücreli Lenfoma ..	20
2.1.19.Lenfomatoid Grranüloatozis.....	21
2.1.20.Primer Efüzyon Lenfoması.....	22
2.1.21.HHV-8 (+) Diffüz Büyük B- hücreli Lenfoma	22
2.1.22.EBV (+) Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma, Başka Türli Sınıflanamayan	23
2.1.23.EBV (+) Mukokutanöz Ülser	24
2.2.Burkitt Lenfoma	24
2.2.1.Epidemiyoloji, Etiyoloji ve Lokalizasyon	25
2.2.2.Klinik	26
2.2.3.Histopatoloji ve İmmünhistokimyasal Profil	26
2.2.4.Moleküler özellikler	27
2.2.5.Prognostik ve Prediktif Faktörler	28
2.3.Yüksek Dereceli B- Hücreli Lenfomalar	28
2.3.1.MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 Rearanjmanı İçeren Yüksek Dereceli B- Hücreli Lenfoma	29
2.3.1.1.Epidemiyoloji, Etyoloji, Klinik ve Lokalizasyon.....	29

2.3.1.2.Histopatoloji ve İmmünohistokimya	29
2.3.1.3.Moleküler Özellikler	31
2.3.1.4.Prognoz ve Prediktif faktörler	31
2.3.2.Yüksek Dereceli B- Hücreli Lenfoma, Daha İleri Sınıflanamayan	31
2.3.2.1.Epidemiyoloji.....	32
2.3.2.2.Histopatoloji ve İmmünohistokimya	32
2.3.2.3.Moleküler özellikler	33
2.3.2.4.Prognoz ve Prediktif Faktörler	33
2.4.Foliküler Lenfoma.....	33
2.4.1.Epidemiyoloji ve Etyoloji	33
2.4.2.Lokalizasyon ve Klinik	34
2.4.3.Histopatoloji ve İmmünohistokimya.....	34
2.4.4.Moleküler Özellikler.....	35
2.4.5.Prognoz ve Prediktif Faktörler.....	36
2.5.İmmünoterapi ve İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri.....	36
2.5.1.PD-1 ve PD-L1.....	40
2.5.2.CTLA-4.....	43
2.5.3.LAG-3	45
2.5.4.TIM-3.....	47
2.5.5.FOXP3	49
2.5.6.VISTA	51
3.Gereç ve Yöntem	52
3.1.İmmünohistokimyasal Boyama.....	52
3.1.1.PD-1 immünohistokimyasal boyama yöntemi.....	53
3.1.2.PD-L1 immünohistokimyasal boyama yöntemi.....	54

3.1.3. CTLA-4 immünohistokimyasal boyama yöntemi.....	55
3.1.4. LAG-3 immünohistokimyasal boyama yöntemi	56
3.1.5. TIM-3 immünohistokimyasal boyama yöntemi.....	57
3.1.6. FOXP3 immünohistokimyasal boyama yöntemi	58
3.1.7. VISTA immünohistokimyasal boyama yöntemi	59
3.2.İmmünohistokimyasal Boyanmanın değerlendirilmesi	60
3.3. İstatiksel Analiz	60
4.Bulgular.....	61
5.Tartışma	95
5.1.PD-1 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması	96
5.2.PD-L1 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	100
5.3.CTLA-4 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	104
5.4.LAG-3 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması	106
5.5.TIM-3 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	108
5.6.FOXP3 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması	110
5.7.VISTA ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	113
6.Sonuçlar.....	116
7.Kaynaklar.....	118
8. Özet	128
9.Summary	130
10.Özgeçmiş.....	132

KISALTMALAR

DBBHL	Diffüz büyük B- hücreli lenfoma
NHL	Hodgkin lenfoma dışı
GMB	Germinal merkez benzeri
ABH	Aktive B- hücre
non-GMB	Germinal merkez dışı
BL	Burkitt lenfoma
FL	Foliküler lenfoma
TMÇ	Tümör mikroçevresi
RS	Reed Sternberg
PD-1	Programlanmış hücre ölümü-1 PD-L1
PD-L1	Programlanmış hücre ölümü ligandı-1
CTLA-4	Sitotoksik T- hücre ilişkili antijen 4
LAG-3	Lenfosit aktivasyon gen-3
TIM-3	T- hücre immünglobulin-3
FOXP3	Fork head box- 3
VISTA	Ig V- domain içeren T- hücre aktivasyon supressörü
YDBHL	Yüksek dereceli B- hücreli lenfoma
NOS	Başka türlü sınıflanamayan
IPi	Uluslararası Prognostik İndeks
EBV	Epstein–Barr virüsü
GEP	Gen ekspresyon profili
R- CHOP	Rituksimab, Siklofosamid, Doksorubisin, Vinkristin, Prednizon
THZDBHL	T- hücre ve histiyosit zengin diffüz büyük B- hücreli lenfoma
PMBHL	Primer Mediastinal (Timik) Büyük B- hücreli Lenfoma
PAL	Piyotoraks ilişkili lenfoma
PEL	Primer efüzyon lenfoması
EBER	Epstein–Barr virüsü kodlayan küçük RNA
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
FISH	Floresan in situ hibridizasyon
BBA	Büyük büyütme alanı
ASH	Antijen sunan hücre
MHC- I	Majör histokompatibilite kompleksi-I
MHC- II	Majör histokompatibilite kompleksi-II
NK	Doğal öldürücü
Treg	T- regülatuar hücre
Th	T- yardımcı hücre
Tc	T- sitotoksik hücre
ITIM	İmmün reseptör Tirozin bazlı İnhibitör Motif
ITSM	İmmün reseptör Tirozin bazlı Anahtar Motif
SHP2	Src homoloji 2 alanı içeren protein tirozin fosfataz- 2
SYK	“spleen” tirozin kinaz
Gal-3	Galektin- 3

LSEctin	Lenf düğümü sinüzoidal endotel hücresi C tipi lektin'i
HAVCR-2	Hepatit A virüs Selüler Reseptör- 2
DAB	Diaminobenzidin
EDTA	Etilenediamin tetraasetik asit
H&E	Hematoksilen eozin
DHL	Çift vuruş lenfoma
DEL	Çift ekspresör lenfoma
R/R	Relaps/ refrakter



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma, NOS morfolojik varyantlar ve moleküler alt-tipler	6
Tablo 2: Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma DSÖ 2017 alt-tipler	6
Tablo 3: Uluslararası Prognostik İndeks	8
Tablo 4: Ann Arbor Evreleme Sistemi	8
Tablo 5: Demografik bilgiler, biyopsi bilgileri, sağkalım	62
Tablo 6: Olguların yaş bilgileri ve takip süresi	62
Tablo 7: Yerleşim yerleri	71
Tablo 8: DBBHL; NOS GMB ve non-GMB tipi demografik bilgiler ve sağkalım	74
Tablo 9: DBBHL, NOS GMB ve non-GMB tipi yaş ve takip süresi.....	74
Tablo 10: DBBHL, NOS GMB fenotip ve non-GMB fenotip immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları	79
Tablo 11: DBBHL, NOS GMB ve non-GMB fenotipler immün belirteç ekspresyonları yüzde oranlarının karşılaştırılması	79
Tablo 12: DBBHL, NOS GMB fenotip ve non-GMB fenotip immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları	81
Tablo 13: DBBHL ve BL demografik bilgiler ve sağkalım karşılaştırma.....	81
Tablo 14: DBBHL ve BL yaş ve takip süresi karşılaştırma	82
Tablo 15: DBBHL ve BL immün belirteç ekspresyonları yüzde oranlarının karşılaştırılması	82
Tablo 16: DBBHL ve BL immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları.....	83
Tablo 17: DBBHL ve BL immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları.....	84
Tablo 18: DBBHL ve FL demografik bilgiler ve sağkalım verileri karşılaştırma	85
Tablo 19: DBBHL ve FL yaş ve takip süresi karşılaştırma.....	85

Tablo 20: DBBHL ve FL immün belirteç ekspresyonları yüzde oranlarının karşılaştırılması	86
Tablo 21: DBBHL ve FL immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları.....	87
Tablo 22: DBBHL ve FL immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları.....	91
Tablo 23: Eksitus olan ve yaşayan hasta grubunda demografik bilgiler ve sağkalım verilerinin karşılaştırması.....	91
Tablo 24: Eksitus olan ve yaşayan gruplarda immünbelirteçlerin yüzde ekspresyonlarının karşılaştırılması	92
Tablo 25: Eksitus olan ve yaşayan hasta gruplarında immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları	92
Tablo 26: Eksitus olan ve yaşayan hasta gruplarında immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları	93
Tablo 27: Cox Regresyon Analizi.....	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Hans Algoritması	12
Şekil 2: Tümör mikroçevresinde bulunan immün hücreler (53)	38
Şekil 3: İmmün yeniden düzenlemede 3 aşama: Eliminasyon, Denge ve Kaçış (52).....	40
Şekil 4: PD-1, PD-L1 etkileşimi sonucu TIL’de meydana gelen değişiklikler (56)	42
Şekil 5: CTLA-4 ve Ligandları CD80 ve CD86 (59).....	44
Şekil 6: CTLA-4 etki mekanizması ve blokajı (58)	45
Şekil 7: LAG-3 ve Ligandları (60).....	46
Şekil 8: TIM-3 Ligandları ve Etki Mekanizması (65)	48
Şekil 9: FOXP3’ün etki mekanizması (54)	50
Şekil 10: Çalışmaya dahil edilen olguların oranları.....	71
Şekil 11: DBBHL olguların DSÖ 2017 sınıflaması alt-tiplere göre dağılımları.....	73
Şekil 12: PD-L1 ekspresyonunun hücre içi düzenlenmesi(94)	102

RESİM DİZİNİ

Resim 1: DBBHL (H&E, x200).....	63
Resim 2: DBBHL, mikroçevrede yoğun eozinofil lökositler (H&E, x400).....	63
Resim 3: DBBHL, tümörde %100 PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200).....	64
Resim 4: DBBHL, tümör hücrelerinde %80 oranında PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200)	64
Resim 5:DBBHL, tümörde %50, tümör mikroçevresinde %50 oranında PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200)	65
Resim 6: DBBHL, tümörde %60, tümör mikroçevresinde %5 oranında PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200)	65
Resim 7: DBBHL, mikroçevrede %20 oranında PD-1 ekspresyonu (DAB, x200)	66
Resim 8: DBBHL, mikroçevrede %50 oranında PD-1 ekspresyonu (DAB, x200)	66
Resim 9: DBBHL, tümör hücrelerinde %70 oranında LAG-3 ekspresyonu (DAB, x400)	67
Resim 10: DBBHL, tümörde %30, tümör mikroçevresinde %10 LAG-3 ekspresyonu (DAB, x400).....	67
Resim 11: DBBHL, tümör mikroçevresinde %20 oranında LAG-3 ekspresyonu (DAB, x400).....	68
Resim 12: DBBHL, tümör mikroçevresinde %10 oranında TIM-3 ekspresyonu (DAB, X400).....	68
Resim 13: DBBHL, tümör hücrelerinde %40, tümör mikroçevresinde %10 oranında TIM-3 ekspresyonu (DAB, x400).....	69
Resim 14: DBBHL, tümör hücrelerinde ve tümör mikroçevresinde %40 oranında CTLA-4 ekspresyonu (DAB, x400).....	69
Resim 15: DBBHL, tümör mikroçevresinde %10 oranında FOXP3 ekspresyonu (DAB, x200).....	70
Resim 16: DBBHL, tümör hücreleri ve tümör mikroçevresinde %70 oranında VISTA ekspresyonu (DAB, x200)	70

1. GİRİŞ

Diffüz büyük B- hücreli lenfomalar (DBBHL), Hodgkin dışı lenfomalar arasında en sık görülen agresif gidişli neoplazmlardır. Coğrafik bölgelere göre dağılımı farklılık göstermekle birlikte tüm lenfoma vakalarının yaklaşık %30-40'ını oluşturmaktadır. Hastalık genellikle hızlı büyüyen soliter ya da multipl kitle şeklinde ortaya çıkmakla birlikte nodal ya da ektranodal yerleşim görülebilir. Yaklaşık %80 oranında en sık görülen alt-tip DBBHL, başka türlü sınıflanamayan (DBBHL, NOS)'dur. DBBHL, NOS klinik prezentasyon, genetik özellikler, tedaviye yanıt ve prognoz açısından oldukça heterojen bir gruptur. Bu heterojeniteyi açıklığa kavuşturmak için gen ekspresyon profili yapılarak alt gruplara ayrılmaya çalışılmaktadır. DBBHL olgularını gruplamak için en yaygın kullanılan sistem hücre orijinine göre yapılan sınıflama olup, başlıca 3 gruptan oluşmaktadır. Bu gruplar aktive B- hücre benzeri alt-tipi, germinal merkez benzeri alt-tip (GMB) ve sınıflanamayan gruptan oluşmaktadır. GMB grubu ABH grubuna göre daha iyi prognozlu olup bu gruplar prognoz açısından kendi içinde de heterojenite göstermektedir (1).

Foliküler lenfomalar (FL)en sık görülen indolen lenfoma olup DBBHL'den sonra ikinci sıklıkta izlenen Hodgkin dışı lenfoma grubudur. Germinal merkez B- hücre orijinli sentrosit ve sentroblastlardan meydana gelir. Grade 3B olgular klinik ve biyolojik olarak DBBHL gibi davranış gösterir ve DBBHL gibi tedavi edilmektedir. Histolojik olarak transformasyon genellikle DBBHL şeklinde olup nadiren Burkitt lenfomaya (2) transformasyon bildirilmiştir. Histolojik

transformasyon hastaların rebiyopsi veya otopsi olgularına göre değişmekle birlikte sıklığı %16- 60 arasında geniş bir aralığa sahiptir (3-5).

BL en hızlı büyüyen insan tümörü olup tümörü meydana getiren neoplastik hücreler karakteristik olarak *c-MYC* mutasyonu göstermektedir. Tarihsel olarak tümörögenезin anlaşılmasında önemli bir lenfoma grubudur. Üç klinik varyantı bulunur. Bunlar endemik, sporadik ve immün yetmezlik ilişkili varyantlardır. Bu varyantlar genetik, histopatolojik ve immünofenotipik olarak benzer özellikler göstermektedir.

Son yıllarda tümörler, kanser hücreleri ve stromasıyla birlikte var olan kaotik ve disorganize yapılar olarak tanımlanmaya başlamıştır. Bu görüş tümörün onkojenik ve otonom özelliklerini anlamaya çalışan “kanser hücresi temelli” yaklaşımı etkilemiştir. Kanser hücrelerinin, stromal hücrelerle iç içe bir ortamda birlikte var olduğu ve büyümeleri ve yayılmaları için tümör mikro çevresi (TMÇ) bileşenleriyle dinamik bir iletişimde olduğu fark edilmiştir. Bu iletişim direkt ya da dolaylı (sitokinler, kemokinler, büyüme ya da inflamatuvar faktörleri, lipid mediatörler ve matriks “remodeling” enzimleri aracılığı ile) olarak gerçekleşir (6).

Tümör mikroçevresi başlıca lenfoid hücreler, fibroblastlar, perisitik hücreler ve vasküler yapıları döşeyen endotelial hücrelerden oluşmaktadır. Tümör mikroçevresinde bulunan lenfoid hücreler kanser hücrelerini çeşitli mekanizmalar (tümör ilişkili antijen ya da stres nedeni ile eksprese edilen moleküller) ile tanır ve bu hücreleri elimine eder. Bu hipotez “tümör immün gözetimi” (immün sürveyans) olarak adlandırılır. Ancak kanser hücreleri “tümör immün gözetimi” olsa bile

immün sistemden kaçma için çeşitli yollar geliştirmiştir. Bu hipoteze ise “tümör immün düzenleme” (immünoediting) adı verilir.

Tümör immün düzenlemesi başlıca 3 fazdan oluşmaktadır: Eliminasyon, denge ve kaçış. Eliminasyon fazında kanser hücreleri doğal ve kazanılmış immün sistem hücreleri tarafından yok edilir. Denge fazında ise tümör hücreleri immün sistem tarafından işlevsel bir uyku halindedirler. Bu faz esnasında tümör hücreleri sonunda immünrezistan varyantların sağlam kalacağı immünselektif bir etkiye maruz kalır. Son olarak kaçış aşamasında tümör hücreleri immün baskılayıcı etkiden kurtulur (Şekil.1) (7).

Kanser immünoterapisi immün sistemden kaçan tümör hücrelerine karşı T-lenfosit yanıtını arttırarak terapötik yanıt alınmasını amaçlamaktadır. T- hücreleri üzerindeki belirli reseptörlere (immün kontrol noktası) karşı geliştirilen immün kontrol noktası inhibitörleri son yıllarda melanom, akciğer kanseri gibi solid organ tümörlerinde yüz güldürücü sonuçlar vermektedir.

İmmün kontrol noktası inhibitörlerinden günümüzde üzerinde en çok çalışılan moleküller PD-1 (programlanmış hücre ölümü-1), PD-L1 (programlanmış hücre ölümü ligandı-1) ve CTLA-4 (sitotoksik T- hücre ilişkili antijen 4)’ tür. Bu moleküllere ek olarak tümör spesifik T- hücrelerinde sentezlenen diğer reseptörler LAG-3 (lenfosit aktivasyon gen-3), TIM-3 (T- hücre immünglobulin-3), FOXP3(fork head box- 3) ve VISTA (Ig V- domain içeren T- hücre aktivasyon supressörü)’dır (8, 9).

Bu reseptörler ile ilgili karsinomlar üzerinde çok sayıda çalışma yapılmakta ve tedavilerinde tümörlerdeki ekspresyon oranlarına göre immün kontrol noktası inhibitörleri kullanılmaktadır. Bu çalışmalar immün kontrol noktası inhibitörlerinin tekli ya da diğer kemoterapi ilaçları ile kombine kullanımda sağkalımı arttırdığını göstermektedir. (10)

Çalışmamızda B- hücreli lenfomaların büyük bölümünü oluşturan DBBHL, FL, BL ve YDBHL olgularında son zamanlarda solid tümörler üzerinde en çok çalışılan immün kontrol noktası inhibitörlerinin (PD-1, PD-L1, CTLA-4 LAG-3, TIM-3, FOXP3 ve VISTA) tümör ve tümör mikroçevresindeki ekspresyon dağılımı belirlenerek, ekspresyonlar arasındaki ilişki değerlendirilecektir. Bu bulguların immün kontrol noktası inhibitörlerine yönelik geliştirilen tedavilerin planlanmasında katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma

Büyük B- lenfoid hücrelerden oluşan diffüz morfolojide lenfomadır. En sık görülen Hodgkin dışı lenfoma grubudur. Morfolojik, immünohistokimyasal ve klinik olarak heterojen özellikler göstermektedir (11).

2.1.1. Epidemiyoloji

DBBHL dünya genelinde en sık görülen lenfomadır. Lenfoma vakalarının yaklaşık 1/3'ünü oluşturmaktadır. DBBHL vakalarının %80'ini “daha ileri sınıflanamayan” olgu grubu oluşturmakta olup, %20'si spesifik alt tip DBBHL olgularından oluşmaktadır. Vakalar genellikle yaşlılarda (ortalama 60 yaş) görülmekle birlikte çocuklarda ve genç erişkinlerde de görülmektedir (12, 13).

2.1.2. Diffüz büyük B- hücreli lenfoma sınıflaması

DSÖ 2016 sınıflamasında DBBHL, başka türlü sınıflanamayan (DBBHL, NOS) olgular morfolojik ve moleküler özelliklerine göre çeşitli varyantları tanımlanmıştır. Bu varyantlar Tablo 1’ de belirtilmiştir. DBBHL, NOS dışında kalan büyük B- hücreli lenfomaların farklı morfolojik ve immünofenotipik özelliklerine ve farklı klinik- biyolojik davranış özelliklerine göre spesifik alt-tip belirlenmiştir (12). (Tablo 1 ve Tablo 2)

Tablo 1: Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma, NOS morfolojik varyantlar ve moleküler alt-tipler

Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma, NOS
Morfolojik varyantlar Sentroblastik İmmünoblastik Anaplastik Diğer
Moleküler alt tipler Germinal merkez benzeri alt tip Aktive B- hücre benzeri alt tipi

Tablo 2: Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma DSÖ 2017 alt-tipler

Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma, NOS
T- hücre/ histiyositten zengin büyük B- hücreli lenfoma Santral sinir sisteminin diffüz büyük B- hücreli lenfoması Primer kutanöz diffüz büyük B- hücreli lenfoma, bacak tipi Kronik inflamasyon ilişkili diffüz büyük B- hücreli lenfoma EBV (+) diffüz büyük hücreli lenfoma, NOS Lenfomatooid granüloamatözis IRF4 reearanjmanı gösteren büyük B- hücreli lenfoma Primer mediastinal (timik) büyük B- hücreli lenfoma İntravasküler büyük B- hücreli lenfoma ALK (+) büyük B- hücreli lenfoma Plazmablastik lenfoma HHV8 (+)diffüz büyük hücreli lenfoma Primer efüzyon lenfoması

2.1.3. Etiyoloji

Diffüz büyük B- hücreli lenfoma etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte olguların de novo ya da düşük dereceli B- hücreli lenfomalardan agresif

transformasyonu ile gelişim gösterebildiği bilinmektedir. Aynı zamanda immünsupresyon, Epstein Barr Virüs zemininde büyük B- hücreli lenfoma gelişiminde önemli bir etiyolojik faktördür.

2.1.4. Lokalizasyon

Nodal ve ektranodal tutulum görülebilir. Ekstranodal tutulum yaklaşık %40 olguda izlenir. Ekstranodal hastalığın en sık lokalizasyonu gastrointestinal sistemdir (1, 14).

2.1.5. Klinik özellikler

Hastalar hızlı büyüyen nodal ya da ektranodal yerleşimli tek ya da çoklu tümör nodülü ile ortaya çıkar. Olguların yarısı evre I- II, diğer yarısı evre III-IV'tür. Kemik iliği tutulumu yaklaşık %10 olguda mevcuttur.

Evreleme klinik olarak yapılmaktadır. Evrelemede Hodgkin Lenfoma'da da kullanılan Ann-Arbor Evreleme sistemi (Tablo 4) ve Uluslararası Prognostik indeks (IPI) kullanılmaktadır. Başvuru sırasındaki histoloji ve klinik parametreler en önemli prognostik belirteçlerdir. Bu nedenle IPI kliniğin en iyi göstergesidir (1, 15). (Tablo 3)

Tablo 3: Uluslararası Prognostik İndeks

Uluslararası Prognostik İndeks (IPI)
Yaş $\geq$ 60 yaş
Artmış serum LDH seviyesi
Performans seviyesi ECOG $\geq$ 2 Karnofsky $\leq$ 70
Ann Arbor evresi III ve ya IV
>1 ektranodal tutulum
DBBHL için
0-1: düşük risk; 5 yıllık sağkalım %35
2: düşük- orta risk risk; 5 yıllık sağkalım %27
3: orta- yüksek risk; 5 yıllık sağkalım %22
4-5 yüksek risk; 5 yıllık sağkalım %16

Tablo 4: Ann Arbor Evreleme Sistemi

Ann Arbor Evreleme
I. Tümör tek lenf nodu bölgesine lokalize
II. Tümör diyaframın bir tarafında ancak iki ya da fazla odakta
III. Tümör diyaframın iki tarafında da mevcut
IV. Lenf nodu tutulumu olsun ya da olmasın bir ve ya daha fazla ektranodal bölge tutulumu
Ek bulgular
A. B semptomu eşlik etmiyor
B. B semptomu eşlik ediyor (ateş, gece terlemesi, kilo kaybı)
E. Lokalize ektranodal tutulum
X. Bulky tutulum

2.1.6. Histopatoloji

Lenf nodu yapısını parsiyel ya da bütünüyle ortadan kaldıran diffüz infiltrasyon yapan orta- büyük lenfoid hücrelerden oluşur. Parsiyel nodal tutulum nadiren sinüzoidal ya da interfolliküler olabilir. Perinodal tutulum görülebilir. Coğrafi nekroz, tek hücre apoptozu ve yüksek mitotik aktivite izlenebilir. Bazı

olgularda yıldızlı gök yüzü manzarası görülebilir. Zeminde değişken miktarda reaktif T- lenfositler ve histiyositler bulunabilir.

Sitolojik olarak farklı özellikler gösteren gruplar mevcuttur. Sentroblastik, immünoblastik ve anaplastik varyantlar en sık görülen varyantlardır (1).

2.1.6.1. **Morfolojik varyantlar**

2.1.6.1.1. ***Sentroblastik varyant***

En sık görülen varyant olup, tüm DBBHL vakalarının %80'ini oluşturur. Sentroblastlar orta- büyük boyutta sitoplazmalı, yuvarlak- oval veziküler nükleus, veziküler kromatin paterni ve nükleer membranın periferinde lokalize 2-3 adet nükleol içeren hücrelerdir. Monomorfik tümörler %90'ın üzerinde sentroblasttan oluşmaktadır. Polimorfik tümörler ise %90'dan az sentroblast ve sentroblastlara eşlik eden immünoblastlar ve sentrositlerden meydana gelir (1).

2.1.6.1.2. ***İmmünoblastik varyant***

Bu varyant DBBHL'lerin %8-10'unu oluşturmaktadır. İmmünoblastik varyant için tümörün %90' dan fazla oranda immünoblastik hücrelerden oluşması gerekir. İmmünoblastlar orta- büyük bazofilik sitoplazmalı, santralde lokalize belirgin nükleol içeren büyük lenfoid hücrelerdir. Bu hücrelerde plazmositoid diferansiasyon görülebilir.

2.1.6.1.3. ***Anaplastik varyant***

Anaplastik varyant DBBHL olgularının yaklaşık %3'ünü oluşturmaktadır. Anaplastik varyanT- hücreleri Reed- Sternberg benzeri ya da anaplastik büyük

hücreli lenfoma benzeri morfolojide bizar, pleomorfik nükleuslar içeren büyük- çok büyük lenfoid hücrelerdir.

2.1.6.1.4. Diğer varyantlar

Nadir görülen bazı varyantlar ise küçük hücreli (küçük hücreli sentroblastik varyant), iğsi hücreli varyant, taşlı yüzük hücreli varyanttır (1).

2.1.7. İmmünofenotip

Mikroskopik olarak DBBHL tanısı koymak için immünohistokimyasal ya da akım sitometrik çalışma yapılması gerekmektedir. Neoplastik hücreler tüm B- hücre antijenlerini eksprese ederler. Bu antijenler B- hücre yüzey antijenleri CD19, CD20, CD22, CD79a ve B- hücre transkripsiyon faktörleri BOB1, OCT2 ve PAX5' tir. Sitoplazmik ve yüzeyel IG (IgM, IgG ve IgA) ekspresyonu genellikle mevcuttur. Ancak bazı vakalarda IG ekspresyonu ve B- hücre antijenlerinden bir kaçında kayıp izlenebilir (1).

Olguların yaklaşık %20'sinde CD30 ekspresyonu izlenir. CD30 ekspresyonu genellikle anaplastik varyant ve EBV pozitif DBBHL, NOS vakalarında görülmektedir (16) .

Neoplastik hücreler %5-10 olguda CD5 ekspresyonu gösterir. Bu olgular genellikle de novo gelişen olgular olmakla birlikte olguların az bir kısmının kronik lenfositik lösemi/ küçük lenfositik lenfomadan transforme olduğu bilinmektedir (17). CD5 ekspresyonu gösteren olgular mantle hücreli lenfoma, blastik ve pleomorfik varyant ile ayırıcı tanı yapılması gerekmektedir. Ancak DBBHL olguları genellikle SiklinD1 ve Sox11 negatiftir (17, 18).

Germinal merkez orijini gösteren CD10, BCL6, GCET1 ve LMO2 DBBHL olgularında değişken oranlarda pozitiflik göstermektedir (18-20).

Bcl6 ve MUM1 germinal merkez B- hücrelerinde “mutually exclusive” olarak eksprese olmaktadır. Ancak bazı DBBHL olgularında birlikte eksprese oldukları bildirilmiştir (21). MUM1 ekspresyonunu pozitif kabul edebilmek için ≥ 30 tümör hücresinde boyanma izlenmesi gerekmektedir (22).

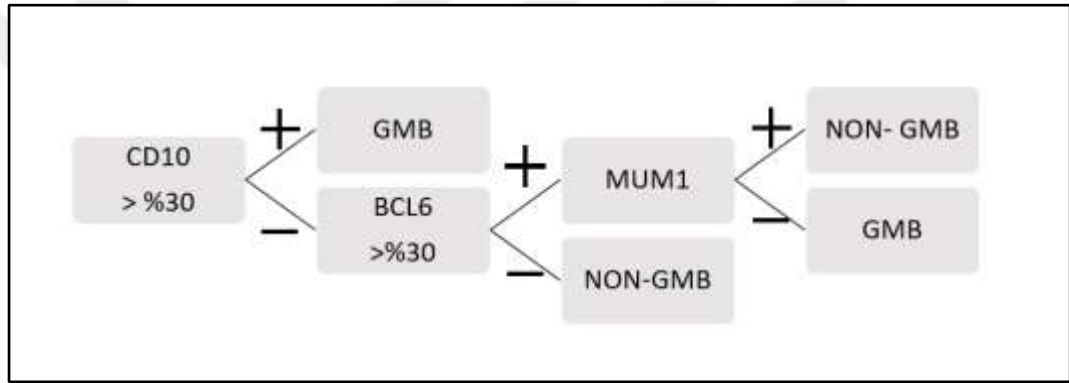
Bcl2 ve MYC ekspresyonu değişkenlik göstermektedir. Birçok çalışmada her iki antikor için belirli bir ekspresyon oranı pozitif olarak kabul edilmektedir. Bu oranlar sırasıyla ≥ 50 ve ≥ 40 ’tır. Her iki proteinin ekspresyonu varlığında tanı çift ekspresör DBBHL olarak verilmektedir. (11, 23).

DBBHL olgularında Ki67 proliferasyon indeksinin genellikle > 40 olmakla birlikte olguların bir kısmında > 90 ’dan fazla proliferatif aktivite mevcuttur. Toplam sağkalımın bağımsız bir göstergesi olduğu klinik çalışmalarda ortaya konmuştur (1, 24). p53 ekspresyonu ise genellikle “wild type” izlenmekle birlikte TP53 gen mutasyonu yaklaşık %20 olguda görülmektedir (1).

2.1.8. Hücre orijini ve moleküler özellikler

2000 yılında Alizadeh ve ark. yaptığı bir çalışma ile DBBHL olguları gen ekspresyon profillerine (GEP) göre 3 alt-tipe ayrılmıştır (25). Bunlar normal germinal merkez B- hücreleri sentrositlerin moleküler özelliklerini gösteren germinal merkez B- hücresi alt-tipi (GMB ~ 40 -50), post germinal merkez ya da erken plazmablastik orijin gösteren aktive B- hücre alt-tipi (ABH ~ 50 -60) ve bu iki kategoriye dahil edilemeyen sınıflanamayan (~ 10 -15) alt-tipten

oluşmaktadır. Ancak GEP yapılabilmesi için taze donmuş doku ya da sirkülatuar DNA'ya ihtiyaç vardır. Ancak depolama ve uygulamadan kaynaklanan sorunlar nedeniyle GEP uygulaması yapmak oldukça zordur. Bu nedenle GEP ön görebilen immünohistokimyasal algoritmalar (Hans, Choi, Tally gibi) geliştirilmiştir. Bu algoritmalar klinik olarak en sık kullanılan “Hans Algoritması”dır. (Şekil 1) Bu algoritmalar olguları GMB ve GMB dışı olarak sınıflamaktadır. (1, 22, 26-29).



Şekil 1: Hans Algoritması

DBBHL moleküler olarak heterojen bir grubu temsil etmektedir. Ancak IG gen ağır zincir rearranjmanlarına ek olarak çeşitli mutasyonlar, kopya sayı değişiklikleri görülmektedir. İzlenen sürücü mutasyonlar fenotipik, immünoterapotik ve sağkalım oranları göz önüne alınarak dört gruba ayrılmıştır. Bu gruplar; *CD79B* ve *MYD88* mutasyonunu içeren MCD grubu, *Bcl2* ve *EZH2* mutasyonunu içeren EZB grubu, *NOTCH2* mutasyonu ve bu mutasyona eşlik eden *Bcl6* mutasyonunu içeren BN2 grubu ve son olarak *NOTCH1* mutasyonunu içeren N1 grubudur. ABH alt-tipinde bu gruplardan MCD, BN2 ve N1 grubu mutasyonları sıklıkla görülürken GMB alt-tipinde EZB grubu mutasyonları sıklıkla eşlik etmektedir (28, 30).

2.1.9. Prognoz ve Prediktif Faktörler

R-CHOP tedavisi ile 5 yıllık hastalıksız sağkalım ve toplam sağkalım oranları sırasıyla %60 ve %65'tir. Hastalığın evresi ve hastanın tanı yaşı sağkalım üzerine oldukça etkilidir. IPI çeşitli klinik faktörleri inceleyerek hastalığın prognozunu öngörebilmektedir. Klinik olarak tümör boyutunun 10 cm'den büyük olması, erkek cinsiyet, vitamin D eksikliği, düşük vücut kitle indeksi, serumda serbest hafif zincir yüksekliği, serumda monoklonal IgM yüksekliği, düşük lenfosit/monosit oranı ve eş zamanlı kemik iliği tutulumu olması kötü prognozla ilişkilendirilmiştir.

Yapılan çalışmalarda immünohistokimyasal morfoloji prognoz ile ilişkisi konusunda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

De novo CD5 (+) DBBHL prognostik öneme sahiptir ve özellikle Asya ülkelerinde görülmektedir. Vakalar genellikle ABH alt-tipi özelliklerini taşımakla birlikte yüksek riskli klinik özellikler gösterirler.

Çeşitli biyobelirteçlerin ekspresyonu sağkalım üzerinde etkilidir. Bcl2 proteini ve MYC protein ekspresyonu DBBHL vakalarının yaklaşık %30'unda görülmekte olup bu vakalar "çift ekspresör" olarak tanımlanmaktadır. Çeşitli çalışmalarda bu hasta grubunda sağkalım daha düşük olarak saptanmıştır. CD30 ekspresyonu olan EBV negatif vakalar DBBHL, NOS'tan daha iyi prognoza sahip primer mediastinal büyük B- hücreli lenfoma'dan ayırt edilmelidir (31).

2.1.10. T- Hücre ve Histiyosit Zengin Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma (THZDBHL)

Histolojik olarak sentroblastik, immünoblastik, Reed- Sternberg (RS) benzeri hücrelerin oluşturduğu tek tek hücrelerden oluşan lenfoid infiltrasyondan meydana gelir. Zeminde epiteloid histiyositler eşlik etsin ya da etmesin baskın komponent non- neoplastik T- hücreleridir. Klinik olarak DBBHL, NOS'a göre daha agresif seyirlidir. Hastalar daha yüksek evre ile ortaya çıkar ve kemik iliği tutulumu daha sıktır. İmmünohistokimyasal bulgular DBBHL, NOS ile benzer olmakla birlikte zemindeki reaktif T- hücre popülasyonu CD8 (+) T lenfositler ile CD4 (+) T lenfositlerden baskındır.

En önemli ayırıcı tanısı Nodüler Lenfosit Predominant Hodgkin Lenfoma (NLPHL) ile yapılmalıdır. PD-1 pozitif T lenfositlerin neoplastik hücreler çevresinde rozet oluşturmaması, folliküler dentritik hücre ağının kaybolması ve EBER negatifliği ile ayırıcı yardımcıdır (12).

2.1.11. ALK Pozitif Büyük B- Hücreli Lenfoma

Plazma hücresi benzeri anaplastik lenfoma kinaz (ALK) pozitif büyük B- hücrelerden oluşan neoplastik gelişimdir. DBBHL olgularının %1' den azını oluşturmaktadır. Olguların büyük çoğunluğu genç erkekler ve çocuklardan oluşmaktadır. Genellikle ileri evre (evre III/IV) ile ortaya çıkar. Yaygın lenfadenopati ve ektranodal (en sık mediasten, kemik, nazofarenks) tutulum sıktır. Kemik iliği tutulumu sık görülür. Sağkalım oranları düşük olmakla birlikte 35 yaş altındaki olguların daha iyi prognozlu olduğu gösterilmiştir.

Lenfoid hücreler immünoblastik, plazma hücresi benzeri, belirgin nükleol içeren geniş bazofilik sitoplazmalı, monomorfik görünümündedir. İmmünohistokimyasal olarak neoplastik hücrelerde ALK ve plazma hücre belirteçleri pozitifdir. B- hücre belirteçleri ekspresyonunda ise komplet kayıp ya da fokal ekspresyon görülür. Tüm T- hücre belirteçleri negatif olmakla birlikte bazı olgularda fokal CD4 pozitifliği ve nadiren CD43, CD57, Perforin pozitifliği görülebilir. CD30 genellikle negatiftir. EMA pozitifliği olguların büyük çoğunluğunda izlenirken olguların az bir kısmında “dot- like” sitokeratin pozitifliği bulunmaktadır. Bu olgularda lenfomagenезin ana faktörü ALK kimerik proteinin oluşmasına neden olan translokasyonlardır. *ALK*’nın en sık translokasyon partneri “*CLTC* t(2;17) (p23;q23)’dir. . Bu translokasyon ALK ekspresyonunun sitoplazmik olmasına yol açar. Daha az sıklıkla izlenen translokasyon ise t(2;5)(p23;q35)/*NPM-ALK*’dır. Bu translokasyon ise ALK ekspresyonunun sitoplazmik ve nükleer patternde boyanmasına neden olur. Nadir görülen sitoplazmik ALK ekspresyon patternine neden olan *ALK* translokasyon partnerleri ise *SQSTM1*, *RANBP2*, *EML4*, *SEC31A* ve *GORASP2*’dir (12).

2.1.12. Plazmablastik Lenfoma

Plazmablastik ve immünoblastik morfolojide, plazma hücre diferansiyasyonu gösteren hücrelerden oluşan, CD20 negatif diffüz patternde lenfomadır. Plazmablastik lenfoma DBBHL’lerin %1’den azını oluşturmaktadır. İmmün yetmezlik zemininde gelişir ve HIV ilişkili lenfomaların %3’ünü oluşturmaktadır. HIV ilişkili vakalar daha çok orta yaşta ortaya çıkarken HIV

negatif vakalar daha ileri yaşlarda izlenir. Erkeklerde kadınlara göre daha çok görülür.

Plazma hücre diferansiyasyonu gösteren plazmablastik- immünoblastik hücrelerden oluşur. Neoplastik hücrelerde multinükleasyon görülebilir. Yıldızlı gökyüzü görünümü, nekroz ve artmış mitotik aktivite genellikle mevcuttur. Çoğu B- hücre belirteci negatif olmakla birlikte vakaların yarısında CD79a ekspresyonu bulunur. B- hücre transkripsiyon faktörleri olan OCT2 ve BOB1 pozitifdir. c-MYC ekspresyonu *MYC* rearanjmanından bağımsız olarak hemen hemen tüm olgularda izlenir. Plazma hücre belirteçlerinin ekspresyonu mevcuttur. EMA, CD30, Bcl6, CD10 ile değişken oranlarda boyanma görülebilir. HIV ilişkili olgularda EBER (EBV encoded RNA) pozitifdir (12, 32). Çoğu olguda diğer DBBHL'lerde görülen IG rearanjmanları izlenir. Olguların 2/3'ünden fazlasında *MYC* rearanjmanı bulunmaktadır. Nadiren *BCL2* ve *BCL6* rearanjmanı görülür (12).

2.1.13. İntravasküler Büyük B- Hücreli Lenfoma

İntravasküler büyük B- hücreli lenfoma özellikle kapillerler olmak üzere küçük-orta büyüklükte damarlarda infiltrasyon oluşturan çok nadir görülen büyük B- hücreli lenfomadır. Klasik, hemafagositik sendrom ilişkili ve kutanöz olmak üzere üç ayrı klinik formu mevcuttur. Hemafagositik sendrom ilişkili varyant nadir vakalar dışında daha çok Asyalılarda görülmektedir. Yaşlı hastalarda görülmekle birlikte 2-8 aylık ortalama sağkalım mevcuttur. Kutanöz varyant ise genellikle daha genç hastalarda görülür ve neredeyse tüm hastalar kadındır. Spesifik semptom görülmemekle birlikte prezentasyon şekli organ tutulumuna bağlı değişmektedir. Klasik varyantta santral sinir sistemi tutulumu sıktır. Hemafagositik sendrom

ilişkili form kemik iliği tutulumu, sitopeni, hepatosplenomegali ve çoklu organ yetmezliği ile karakterlidir.

Morfolojik olarak küçük- orta büyüklükteki damarların içinde orta- büyük büyüklükte lenfoid hücrelerden oluşan infiltrasyon izlenir. Kemik iliği, dalak ve karaciğer sinüzoidlerinde infiltrasyon görülebilir. İmmünohistokimyasal olarak tüm B- hücre belirteçleri pozitifdir. Olguların bir kısmında CD10, BCL6, MUM1, CD5, BCL2 ve MYC pozitifliği izlenebilir. Bazı çalışmalarda klinik varyanttan ve CD5 ekspresyonundan bağımsız PD-L1 pozitifliği görülmüştür. Olguların çoğu kompleks karyotipe sahip olup en sık genetik değişiklik görülen kromozomlar kromozom 1, kromozom 3, kromozom 6 ve kromozom 18'dir. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda IG klonal rearanjmanına ek olarak *MYD88*, *CD79b*, *EZH2* mutasyonu izlenmiştir (12, 33-35).

2.1.14. *IRF4* Rearanjmanı Gösteren Büyük B- Hücreli Lenfoma

IRF4 rearanjmanı gösteren güçlü MUM1/*IRF4* ekspresyonu gösteren DBBHL alt-tipidir. Tüm DBBHL'ların %0.05' ini oluşturur. Genellikle çocuklar ve genç erişkinlerde görülür. Ortalama görülme yaşı 12'dir.

Orta- büyük lenfoid hücrelerden blastik morfolojide hücrelere kadar farklı morfolojide hücreler görülebilir. Morfolojik olarak, folliküler, folliküler-diffüz ya da diffüz morofloji görülebilir. Folliküler patterne sahip olgular en iyi prognozlu olgulardır. İmmünohistokimyasal olarak B- hücre belirteçleri, CD10, Bcl6, MUM1 ekspresyonu görülür. Moleküler olarak karakteristik özellik, kromozom 6p25/*IRF4* rearanjmanı varlığıdır (12).

2.1.15. Primer Mediastinal (Timik) Büyük B- hücreli Lenfoma

Timik B- hücrelerden kaynaklanan farklı klinikopatolojik ve moleküler özellikleri olan büyük B- hücreli lenfomadır. Tüm DBBHL'ların % 6-10'unu oluşturur. Ortalama yaş 35-37 olup kadınlarda iki kat daha sık görülmektedir. Hastalar süperior- anterior mediastende büyük kitle ve kitleye bağlı semptomlar ile ortaya çıkar. Çoğu hasta evre I-II hastalık ile kliniğe başvurur. Sistemik semptom olguların %20'den azında izlenir. Kemik iliği tutulumu sıklıkla izlenmemekle birlikte sağkalım oranları %70-85'tir.

Histolojik olarak diffüz patternde lenfoid infiltrasyon ve bu infiltrasyonu bölen değişken derecede sklerotik ve kollajen bantlar görülür. Lenfoma hücreleri yuvarlak pleomorfik nükleuslu, şeffaf, soluk- bazofilik sitoplazmalı atipik lenfoid hücrelerden oluşur. Reed- Sternberg benzeri hücreler görülür.

İmmünohistokimyasal olarak B- hücre belirteçleri, B- hücre transkripsiyon faktörleri pozitifdir. CD10 , Bcl6, MUM-1/IRF-4, cMYC, CD83, Fascin, ve Bcl2 değişken oranlarda pozitif olabilir. CD30 olguların %80'inde, CD23 olguların %70-95'inde pozitifdir. *NF-KB* yolağının aktivasyonunu gösteren REL ve TRAF1 ekspresyonu görülür. MAL olguların %72'sinde CD200 ise olguların %81'inde pozitifdir. PD-L1/PD-L2 olguların yarısından fazlasında pozitifdir. Yüzey Ig ekspresyonu olguların yarısında negatifdir. PMBL patogenezinde başlıca *NF-Kb* yolağı, *JAK-STAT* yolağı, hücre siklus disregülasyonu, apoptoz ve immün evazyon yer almaktadır (12).

2.1.16. Primer Kutanöz Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma- Bacak Tipi

Aktive B- hücre/germinal merkez dışı hücrelerinden meydana gelen, primer olarak cildi tutan ve en sık bacakta görülen DBBHL alt-tipidir. DBBHL'ların yaklaşık %4'ünü oluşturur. Genellikle yaşlı (ortalama yaş, 77) hastalarda ve kadın cinsiyet hakimiyeti mevcuttur. Hastalar genellikle alt bacakta ülser olabilen soliter ya da multipl kitle ile ortaya çıkar.

Histomorfolojik olarak dermis ve subkutan dokuya uzanan diffüz patternde immünoblastik ve/veya sentroblastik hücrelerden oluşur. Atipik lenfoid hücreler epidermotropizm göstermezler. İmmünohistokimyasal olarak B- hücre belirteçleri pozitifdir. Bcl6, MUM1/IRF4, Bcl2 ve c-MYC ekspresyonu değişken derecelerde izlenir. Vakaların yaklaşık 2/3'ü çift ekspresör fenotip gösterir. PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu görülebilir. IG gen reanjanmanı yanı sıra IG geninin değişken bölgelerinde somatik hipermutasyon izlenir. MYC reanjanmanı vakaların 1/3'ünde izlenir. BCL6 ve BCL2 reanjanmanı nadir görülür (12).

2.1.17. Primer Santral Sinir Sisteminin Diffüz Büyük B- hücreli Lenfoması

Sistemik DBBHL tutulumu ya da immün yetmezlik olmadan primer olarak beyin, beyincik, omurilik, leptomeninks ve gözde meydana gelen DBBHL'ları içerir. Hodgkin dışı lenfomaların %1'den azını, intrakranial beyin tümörlerinin %3'ünü meydana getirir. Yıllık toplam sağkalım %30'dur.

Beyin parankiminde diffüz, sentroblastik, immünoblastik ve anaplastik morfoloji izlenebilir. Genellikle perivasküler “cuffing” görülür. Nekroz eşlik edebilir. Çevre beyin parankiminde reaktif gliosis görülür. Neoplastik hücreler B

belirteçlerini eksprese ederler. Olguların çoğu germinal merkez dışı orijinli olup Bcl6, MUM1/ IRF4 pozitifdir. c-MYC (%70-80) ve Bcl2 (~%75) pozitifdir. PD-L1 yaklaşık %30 olguda pozitifdir. İzlenen genetik değişiklikler sıklık sırası azalarak NF-κB (*PIM1*, *MYD88*, *IRF4*, *CARD11*), B-hücre reseptörü (*CD79B*, *CD79A*, *ITPKB*), epigenetik değişiklikler (*KMT2D*, *CREBBP*, *MEF2B*), JAK-STAT yolağı ilişkili değişiklikler (*CCND1*, *SOCS1*, *STAT6*, *STAT3*), NOTCH1/2, immün ilişkili (*CD58*, *CIITA*), ve apoptotik sinyal yolağı ilişkili (*GNA13*, *MYC*, *RHOA*(TTF), *BCL2*) değişikliklerdir (12, 36).

2.1.18. Kronik İnflamasyon ile İlişkili Diffüz Büyük B- hücreli Lenfoma

Kronik inflamasyon ile ilişkili diffüz büyük B- hücreli lenfoma EBV ilişkili, kronik inflamasyon zemininde meydana gelen bir neoplazidir. Piyotoraks ilişkili lenfoma (PAL) bu grubun prototipi olmakla birlikte diğer kronik inflamasyon oluşturan durumlarda da gelişebilir. Lenf nodu ve kemik iliği tutulumu sık değildir ve hastalar immünkompetandır.

Morfolojik olarak değişken oranlarda nekroz içeren, anjiosentrisite gösteren diffüz patternde büyük hücrelerden oluşur. Neoplastik hücreler sentroblastik, immünoblastik ve daha az oranda anaplastik özelliktedir. Plazmasitik diferansiasyon görülebilir. İmmünohistokimyasal olarak neoplastik hücreler matür B- hücre özellikleri gösterir. CD20, CD79a PAX5, MUM1/IRF4 ve Bcl2 pozitifdir. Plazmablastik diferansiasyon görülen olgularda B- hücre belirteçlerinde kayıp olup CD138 pozitifliği izlenebilir. CD43 olguların %75'inde pozitifdir. Bcl6, CD10 ve CD30 negatiftir. EBER pozitif olup proliferasyon indeksi %80'nin üzerindedir. Moleküler olarak kompleks karyotipe sahiptir. IG klonal rearanjmanı ve somatik

hipermutasyonu görülür. MYC amplifikasyonu ve p53 mutasyonu olguların çoğunda görülür (12).

2.1.19. Lenfomatoid Grranülomatozis

Ekstranodal (özellikle akciğerde) EBV pozitif B- hücrelerden meydana gelen anjiosentrik- anjiodestrüktif lenfoid infiltrasyondur. Ortalama görülme yaşı 46-48 olup erkek cinsiyet hakimiyeti görülür. Erkek/ kadın oranı 2/1'dir. Hastalar genellikle immün yetmezlikle takiplidir.

Histolojik olarak anjiosentrik- anjiodestrüktif patternde polimorföz lenfoid infiltrasyon görülür. Neoplastik hücrelerin yanı sıra reaktif lenfoid hücreler, plazma hücreleri, histiyositler de görülür. Büyük atipik hücreler immünoblastik ya da RS benzeri özellikler gösterebilir. Yüksek dereceli olgularda nekroz izlenebilir. Evreleme EBV (+) B- hücrelerin her büyütme alanındaki sayısına göre yapılır. Grade1 lezyonlarda EBER (+) hücrelerde minimal sitolojik atipi görülürken her büyük büyütme alanında EBER (+) hücre sayısı <5'tir. Grade 2 lezyonlarda immünoblastik büyük hücreler ve zeminde polimorföz infiltrasyon izlenirken nekroz eşlik edebilir. Her büyük büyütme alanında EBER (+) hücre sayısı 5-50 hücre arasındadır. Grade3 lezyonlar ise inflamatuvar zeminde büyük atipik pleomorfik hücelere genellikle nekroz eşlik eder ve her büyük büyütme alanında 50'den fazla EBER (+) hücre görülür. İmmünohistokimyasal olarak atipik lenfoid hücrelerde B- hücre belirteçleri ve CD30 pozitifdir. CD15 negatiftir. Reaktif T-lenfositlerde CD4, CD25 pozitifliği görülür. İn situ hibridizasyon çalışmada EBER pozitifdir. Grade2 olgular ve Grade3 olgularda klonal IG rearanjmanı izlenir (12).

2.1.20. Primer Efüzyon Lenfoması

Primer efüzyon lenfoması plevra, perikard ve peritonda kitle oluşturmeyan HHV-8 ilişkili bir neoplazidir. Ektrakaviter PEL solid tümör şeklinde ortaya çıkar. Çoğu hasta immünsupresif ve HIV pozitif ve erkektir. Ortalama görülme yaşı 46'dır. Hastaların 2/3'ünde tanıdan önce Kaposi sarkomu, 1/3'ünde Castleman Hastalığı mevcuttur. HIV negatif immünsupresif olgularda da gelişimi bildirilmiştir. Torasentez sıvısına ait sitolojik materyalde ya da hücre bloklarında görülen atipik lenfoid hücreler immünoblast, plazmablast ya da anaplastik RS benzeri özellikler gösterir. Ektrakaviter olgularda yıldızlı gökyüzü manzarası görülür.

Lenfoma hücreleri tipik olarak HHV-8 pozitifdir. Atipik lenfoid hücreler MUM-1/ IRF-4, CD38, CD45, CD138 ve CD30 pozitifdir. EMA ve sitoplazmik immunoglobulin pozitif olabilir. BOB-1 ya da OCT-2 genellikle pozitifdir. Olgular genellikle ABH/ germinal dışı merkez fenotipine sahiptir. PD-L1 ekspresyonu olguların %50'den çoğunda raporanmıştır. HIV pozitif hastalarda in situ hibridizasyon çalışmada EBER genellikle pozitifdir. Ektrakaviter PEL olguları konvansiyonel PEL'den farklı olarak daha çok B- hücre belirteci ifade eder. PEL'de neoplastik hücreler DBBHL ve plazma hücresi arasında gen ekspresyon profiline sahiptir. Bu bulgu postgerminal merkez B- hücre orijini desteklemektedir. (12).

2.1.21. HHV-8 (+) Diffüz Büyük B- hücreli Lenfoma

DBBHL lenfoma kriterlerini karşılayan neoplastik infiltrasyonu oluşturan hücreler HHV-8 pozitifdir. HHV-8 (+) DBBHL oldukça nadir olup, görülme sıklığı %0.1'dir. Ortalama görülme yaşı 47, erkek/kadın oranı 3.3/1'dir. Olguların yaklaşık

%50'si HIV (+)'tir. Olgular genellikle HHV-8 (+) multisentrik Castleman Hastalığı ile ilişkilidir, nadiren de olsa de novo gelişen olgular bildirilmiştir. Oldukça agresif seyirlidir.

Normal lenf nodu yapısını bozan tabakalar halinde dizilim gösteren plasmablastik morfolojide hücrelerden oluşan infiltrasyon görülür. Lenfoid hücreler HHV-8 pozitifdir. HHV-8 B- hücre revizyonunu indükleyerek lambda pozitifliğine neden olur. MUM1/IRF4 genellikle pozitifdir. CD20, CD38, CD45 ya da CD79a pozitif olabilir. EBER in situ hibridizasyonu negatiftir (12).

2.1.22. EBV (+) Diffüz Büyük B- Hücreli Lenfoma, Başka Türli Sınıflanamayan

EBV (+) atipik lenfoid hücrelerden meydana gelen DBBHL alt-tipidir.

Ortalama başvuru yaşı 49 olup yaş dağılımı 4-88 yaş arasında değişmektedir. Erkek/ kadın oranı 2.5/1'dir. Nodal ya da ektranodal tutulum görülebilir. Toplam sağkalım 17-36 ay arasında değişmekte olup agresif seyirlidir

Morfolojik olarak neoplastik hücrelerin yoğunluğuna bağlı bir spektrum gösterir. Reaktif lenfoid hücreler, plazma hücreleri ve histiyositlerin oluşturduğu zeminde orta- büyük büyüklükte, RS benzeri atipik hücrelerden oluşan polimorföz alt-tip ya da immünoblastik, sentroblastik morfolojide hücrelerden oluşan diffüz proliferasyon gösteren monomorfik alt-tip şeklinde iki gruba ayrılır. Polimorföz alt-tip monomorfik tipe göre daha sık görülür. Neoplastik hücreler genellikle aktive B- hücre fenotipinde olup B- hücre belirteçlerini eksprese ederler. Olguların çoğu CD10 ve Bcl6 eksprese etmezken MUM1/IRF4 pozitifdir. CD30 atipik hücrelerde

genellikle pozitifdir ve bu hücrelerde nadiren CD15 pozitifliği izlenebilir. Tümöral hücreler çoğunlukla PD-L1 ve PD-L2 ekprese ederler. EBER in situ hibridizasyon değerlendirmede “cut-off” değer için bir konsensus yoktur. Ancak DSÖ %80 oranında pozitifliğin “cut- off” olarak kullanılmasını önermektedir. Moleküler yolak olarak NF-κB yolağı ve JAK-STAT yolağı aktivasyonu mevcuttur (12, 37).

2.1.23. EBV (+) Mukokutanöz Ülser

İmmüsupresyonu olan olgularda cilt, orofaringeal mukoza ve gastrointestinal trakt tutulumu gösteren ülsere lezyonlar şeklinde ortaya çıkan yeni tanımlanmış bir antitedir. Ortalama görülme yaşı 62 olup kadınlarda daha sık izlenmektedir. Genellikle soliter lezyon şeklinde görülür ve bölgesel lenf nodu ya da sistemik tutulum eşlik etmez.

Lezyonlar histolojik olarak ülsere komşu alanda psödoepitelyomatöz hiperplazi, RS benzeri atipik hücreler ve zeminde reaktif matür lenfoid hücreler, histiyositler, plazma hücreleri ve eozinofiller içerir. İmmühistokimyasal olarak atipik lenfoid hücreler PAX5, OCT2, BOB.1, CD30, CD79a ve MUM1/IRF4 pozitifken; CD20, CD45, Bcl6 ve CD15 ile değişken oranlarda pozitiflik görülür. Lezyon CD3 pozitif T- lenfositleri içeren bir halka ile çevre normal dokudan ayrılır. Atipik hücrelerde EBV pozitifdir. IGH rearanjmanı ve T- hücre reseptör klonal rearanjmanları içerir (12, 37, 38).

2.2. Burkitt Lenfoma

Burkitt lenfoma, Denis Burkitt tarafından 1958 yılında Afrikalı çocuklarda klinik özellikleri ile yuvarlak hücreli bir sarkom olarak tanımlanmıştır (39). Ancak

1960'da patolog George O'Connor bu tümörün lenfoma grubu olduğunu ifade etmiştir (40). 1964'de virolog Michael Anthony Epstein, Yvonne Barr, ve Bert Achong tarafından bu tümördeki Epstein Barr Virüse ait viral partikülleri tanımlanmıştır (41).

Burkitt lenfoma oldukça karakteristik olarak MYC rearanjmanı içeren, yüksek proliferatif aktivite gösteren EBV enfeksiyonu ile ilişkili agresif B- hücreli lenfoma olup en hızlı büyüyen insan tümörüdür (42).

2.2.1. Epidemiyoloji, Etiyoloji ve Lokalizasyon

DSÖ sınıflamasına göre endemik, sporadik ve immün yetmezlik ile ilişkili olarak 3 klinik varyanttan oluşmaktadır. Bu varyantlar benzer morfoloji, immünofenotip ve moleküler değişiklikleri içermektedir. Ancak üç tip coğrafik dağılım, epidemiyoloji, moleküler özellikler ve EBV ilişkisi açısından farklılık göstermektedirler (37, 42).

Endemik BL, genellikle çocuklarda çoğunlukla yüz kemikleri (mandibuler , maksiller ya da periorbital) tutulum ile ortaya çıkar. Ancak intraabdominal organlarda ya da santral sinir sisteminde tutulumda tanı anında görülebilir. Kemik iliği tutulumu diğer varyantlara göre daha nadirdir.

Sporadik BL, bimodal yaş dağılımı göstermekte olup çocukluk çağı ve genç erişkinlerde (35- 45 yaş arası) görülür. Avrupa ve Amerikada yetişkinlerde lenfomanın %1-2'sini ve çocuklarda lenfomaların %40'ını oluşturur. En sık (%60-80) özellikle ileoçekal bölge tutulumu ve buna bağlı semptomlar ve ikinci sıklıkta da baş boyun lenf nodlarında büyüme ile ortaya çıkar. Puberte ve laktasyon

döneminde bilateral meme tutulumu görülebilir. Kemik iliği tutulumu en sık görülen tiptir (37, 43, 44).

İmmün yetmezlik ilişkili BL ile genellikle HIV ile enfekte kişilerde görülmekle birlikte organ transplantasyonu nedeniyle oluşan iyatrojenik immün yetmezlik ya da primer immün yetmezliği olan olgularda görülebilir (42). Genellikle intraabdominal (ileum çekum en sık), lenf nodu ve kemik iliği tutulumu izlenir (45).

2.2.2. Klinik

Hastalarda genellikle hızlı büyüyen kitle ve tümör ikiye katlanma süresinin kısa olmasından kaynaklanan yüksek laktat dehidrogenaz ve ürik asit yüksekliği izlenir (46). Tutulum görülen bölgeye göre klinik semptomlar değişmekle birlikte tümör büyüme hızının çok yüksek olması nedeni ile yüz kemiği tutulumu sık görülen olgularda yüzde ani büyüyen kitle, gastrointestinal ve retroperitoneal tutulum daha sık görülmesi nedeni ile sporadik ve immün yetmezlik ilişkili BL olgularında ileus ve parapleji gibi değişken semptomlar görülebilir.

Hastaların az bir kısmında pür kemik iliği ve periferik kan tutumu ile ortaya çıkan lösemik varyant görülebilir (31, 42).

2.2.3. Histopatoloji ve İmmünhistokimyasal Profil

Yüksek proliferatif aktivite gösteren orta büyüklükte monomorfik hücrelerden meydana gelen lenfoid infiltrasyon mevcuttur. Orta büyüklükteki hücrelerde büyük kaba kromatin patternine sahip nükleus ve belirgin bazofilik nükleol görülür. Bazı olgularda plazmasitoid görünüm ve nükleer pleomorfizm

izlenebilir. Hücrelerin sitoplazmik sınırları hücrelerin sıkışmasından (moulding) dolayı kare şeklini almışlardır. Proliferasyon indeksi %100 olup artmış apoptoz hücre çoğalmasının yüksek olduğunu gösterir. Lenfoid hücreler arasında sıkışan tingible body makrofajlar “yıldızlı gökyüzü” manzarasını meydana getirir (42).

İmmünohistokimyasal olarak neoplastik hücreler Pan B- hücre belirteçlerini (CD79a, CD20, CD19, CD22, PAX5) ekprese ederler. Ki-67 proliferasyon indeksi %95-100’dür. B- hücreleri germinal merkez orijini nedeni ile CD10 ve Bcl6 ekspresyonu gösterir. CD138, TdT, Bcl2 ve T- hücre belirteçleri ekspresyonu görülmez. Ancak atipik olgularda Bcl2 ekspresyonu görülebilirken Bcl6 ekspresyonunda kayıp görülebilir. MUM1/IRF4 ekspresyonu EBV negatif olguların %58’inde, EBV pozitif olguların %38’inde pozitifdir (37).

EBV (+) sporadik ve endemik olgular EBV enfeksiyonun tip 1 latensi paternine uyan EBV nükleer antijen-1 (EBNA-1) ve EBER pozitif olup, EBV nükleer antijen-2 (EBNA-2) ve latent membran protein 1 (LMP-1) negatiftir (42).

2.2.4. Moleküler özellikler

MYC translokasyonu BL spesifik olmamakla birlikte BL’de görülen en kritik moleküler değişikliktir. En sık görülen translokasyonlar sırasıyla *MYC* onkogeni ile *IGH* geni arasında t(8;14) (q24;q32), *MYC* onkogeni ile *IG λ* geni arasında t(8;22) (q24; q11), *IGκ* geni arasında görülen t(2;8) (p12; q24)’dır(42). Bu üç translokasyon hücre siklusunda önemli görevi olan *MYC* onkogeninin ekspresyonunu deregüle eder. Kırılma noktaları olguların kliniğine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin; endemik BL’de t(8;14) translokasyonunda 5’ kırılma

noktası *MYC*'den 100 KB'dan fazla önde olup *IGH* geninin J bölgesinde içine almaktadır. Sporadik olgularda ise kırılma noktası *MYC* genine daha yakındır. Ancak *MYC* translokasyonu BL'ye spesifik değildir ve klasik BL olguların yaklaşık %10'unda translokasyon gösterilemez. *MYC* translokasyonuna ek olarak regülatuar yollarda *ID3* (%58), *MYC* (%40), *CCND3* (%38), *CDK4* (%17), *GNA13* (%10.5), *CREBBP* (%6), *PIK3R1* (%2) ve tümör supresör genlerde *TP53* (69%), *ARID1A* (7%) ve *SMARCA4* (21%) mutasyonları eşlik etmektedir (47).

2.2.5. Prognostik ve Prediktif Faktörler

Yoğun kemoterapi rejimleri sonucunda olguların %70-90 oranında potansiyel olarak kür olabilen oldukça agresif bir tümör olan BL çocuklarda erişkinlere nazaran daha iyi prognozludur. Yaşa ek olarak hastalığın evresi, kemik iliği ya da santral sinir sistemi tutulumu, rezeke edilmemiş tümör çapının 10 cm'den büyük olması ve serum laktat dehidrogenaz seviyesinin yüksekliği diğer prognostik faktörlerdir. Relaps görülürse genellikle tanıdan sonra 1 yıl içinde gözlenir (31).

2.3. Yüksek Dereceli B- Hücreli Lenfomalar

2008 sınıflandırması revizyonunda blastoid ya da pleomorfik varyant mantle hücreli lenfoma, lenfoblastik lenfoma/lösemi, Burkitt lenfoma (48), DBBHL'nın yüksek dereceli varyantları (YDBHL) olarak sınıflandırılırken 2017'da revize edilen DSÖ sınıflandırmasında bu grupta *MYC* ve *BCL 2* ve/veya *BCL6* rearranjmanı içeren ikili ya da üçlü vuruş içeren lenfomalar ve daha ileri sınıflanamayan yüksek dereceli B- hücreli lenfomaları oluşturmaktadır (48).

2.3.1. *MYC* ve *BCL2* ve/veya *BCL6* Rearanjmanı İçeren Yüksek Dereceli B-Hücreli Lenfoma

MYC(8q24) ve *BCL2*(18q21) ya da *BCL6* (3q27) rearanjmanı ya da *MYC* ve *BCL2* ve *BCL6* mutasyonlarını içeren agresif matür B- hücreli lenfomadır (48). *MYC* rearanjmanına eşlik eden mutasyona göre “çift vuruş lenfoma”/ “üçlü vuruş lenfoma” olarak da isimlendirilmektedir.

2.3.1.1. **Epidemiyoloji, Etyoloji, Klinik ve Lokalizasyon**

MYC ve *BCL2* rearanjmanı birlikteliği tüm olguların yaklaşık %65–70 ‘ini oluşturmaktadır. Bu oran tüm NHL’lerin yaklaşık %1’ine meydana getirir. *MYC* ve *BCL6* rearanjmanı içeren olgular ise yaklaşık %10-15 oranındadır. Hastaların ortalama yaşı 60 (17-87 yaş) olup erkek cinsiyet (%60-65) predominanttır. Çoğu hasta evre III/IV hastalığa sahiptir. Hastaların yaklaşık yarısında iki ya da daha fazla bölgede ektranodal tutulum görülür. Hemen her bölgede tutulum görülebilir. Ancak en sık kemik iliği, periferik kan, plevral efüzyon, santral sinir sistemi, gastrointestinal trakt tutulumu görülür (31).

2.3.1.2. **Histopatoloji ve İmmünohistokimya**

Olguların büyük çoğunluğu DBHHL, NOS morfolojisindedir. Yapılan çalışmalarda *MYC* ve *BCL2* rearanjmanı içeren olguların yaklaşık %69’u, *MYC* ve *BCL6* rearanjmanı gösteren olguların yaklaşık %85’inin DBHHL morfolojisinde olduğu saptanmıştır. Diffüz büyüme paterni gösteren normal lenfositlerin 4 katı büyüklükte BL hücrelerine göre daha büyük hücrelerden oluşur. Arada sıklıkla az sayıda küçük lenfositler, fibrozis ve fokal alanlarda yıldızlı gökyüzü manzarası görünümüne neden olan makrofajlar görülebilir. Mitotik ve apoptotik figürlerin

sayısı değişken olabilmekle birlikte düşük Ki-67 proliferasyon indeksi tanıyı ekarte ettirmez.

Olguların kalan kısmı ise BL ve DBBHL ve/ ve ya BL arasında değişken özellikler sergiler. Diffüz proliferasyon gösteren orta büyüklükte atipik lenfoid popülasyon yanı sıra çok az sayıda küçük boyutta lenfoid hücreler izlenir. Stromal reaksiyon bu grupta genellikle görülmez. Yıldızlı gökyüzü manzarası genellikle eşlik etmektedir. Çok sayıda mitotik ve apoptotik hücreler eşlik eder. Atipik hücrel morfoloji değişkenlik göstermekle birlikte bazı olgular BL benzeri monomorfik görünümde olabilir.

Olguların çok az bir bölümünde blastoid morfoloji görülebilir. Lenfoblastlara benzeyen nükleol belirginliği olmayan, ince nükleer membranlı, orta büyüklükte histiyosit çekirdekleri ile aynı boyutta ya da onlardan daha küçük boyuttaki hücrelerden meydana gelir (31, 48).

İmmünohistokimyasal olarak atipik lenfoid hücreler CD19, CD20, CD79a, PAX5 ile pozitifdir. TdT negatifdir. CD10 ve BCL6 olguların çoğunda pozitifdir. IRF4/MUM1 %20 olguda eksprese olur. Olguların çoğunda BL'nın aksine BCL2'nin kuvvetli sitoplazmik ekspresyon gösterdiği izlenir.

İmmünohistokimyasal BCL2 ve MYC ekspresyonunun görülmesi tanı koydurucu olmayıp FISH ile rearanjmanın gösterilmesi gerekmektedir. BCL2 ve MYC ekspresyonu gösteren olgular “çift ekspresör DBBHL” olarak isimlendirilmekte olup DBBHL, NOS'a göre daha kötü prognoza sahiptir. Çift

vuruş lenfomaların bir çoğu çift ekspressör olmakla birlikte, çift ekspressör lenfomaların küçük bir kısmı çift vuruş lenfoma grubunu temsil etmektedir (31).

2.3.1.3. Moleküler Özellikler

Tanımsal olarak *MYC* onkogeninde (8q24) klasik sitogenik yöntemler ile saptanan rearanjman izlenir. Olguların yaklaşık %65'inde *IG* genlerinde (sırasıyla *IGH*, *IGK*, *IGL*) diğerlerinde non- *IG* partnerler ile rearanjmanlar izlenir. *MYC* rearanjmanına *BCL2* (18q21) ve *BCL6* (3q27) reearanjmanları eşlik eder.

Bahsi geçen genlerde rearanjman dışında kopya sayı değişiklikleri, amplifikasyon gibi çeşitli mutasyonlar görülebilir. Ancak bu değişikliklerin görülmesi DHL tanısı koydurmaz. DHL tanısı için bu genlerde tanımlanan rearanjmanların görülmesi gereklidir (31).

2.3.1.4. Prognoz ve Prediktif faktörler

R-CHOP tedavisi ile komplet yanıt oranı düşük olamkla birlikte hastaların, toplam sağkalım süresi kısadır. Tümör morfolojisinin, *MYC* rearanjman partnerinin, hastalığın yaygınlığının sağkalım üzerine etkili olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (31).

2.3.2. Yüksek Dereceli B- Hücreli Lenfoma, Daha İleri Sınıflanamayan

YDBHL, daha ileri sınıflanamayan klinik olarak agresif, *MYC*, *BCL2* ve *BCL6* mutasyonu göstermeyen ve DBBHL ile BL kategorisinde sınıflanamayan heterojen bir grubu temsil etmektedir. 2008 DSÖ sınıflmasında bu grup DBBHL ile BL arası özellikler gösteren sınıflanamayan B- hücreli lenfoma grubunda yer almaktadır.

2.3.2.1. Epidemiyoloji

Genellikle yaşı hastalar etkilenmekle birlikte kadın ve erkek cinsiyette eşit oranlar izlenmektedir.

2.3.2.2. Histopatoloji ve İmmünohistokimya

Çoğu olgu DBBHL'den çok BL'ya benzemektedir. Orta- büyük büyüklükte hücrelerden meydana gelen az sayıda küçük lenfositin eşlik ettiği stromal fibrozisin görülmediği diffüz proliferasyondan meydana gelir. Yıldızlı gökyüzü manzarası görülebilir. Çok sayıda mitoz ve apoptoz eşlik eder.

BL'den farklı olarak hücrelerin sitoplazmaları BL'ye göre daha az bazofilik olup neoplastik hücrelerin büyüklükleri değişiklik gösterebilir. Giemsa boyalı imprint yaymalarda BL'de görülen sitoplazmik vakuoller bu tanı kategorisinde izlenmez.

Bazı vakalarda blastoid morfoloji izlenebilir. Bu vakaların blastoid varyant mantle zon lenfoma, B- lenfoblastik lösemi/lenfoma ve DHL ayırıcı tanısı yapıldıktan sonra bu vakalar YDBHL, daha ileri sınıflanamayan olarak değerlendirilebilir.

İmmünohistokimyasal olarak bu olgular CD20 pozitif olup çoğunda Bcl6 ekspresyonu izlenir. Ancak CD10 ve MUM1/IRF4 ekspresyonu genellikle görülmez. MYC ekspresyonu değişken olmakla birlikte bazı olgularda MYC ekspresyonunun MYC rearanjmanı nedeni ile olduğu düşünülmektedir (31).

2.3.2.3. Moleküler özellikler

Hastaların yaklaşık %20-35'inde *MYC* rearanjmanı yanı sıra *BCL2* (18q21) gen bölgesinde kopya sayı değişiklikleri ve ya amplifikasyon eşlik etmektedir. Yine *BCL2* rearanjmanı görülen olgularda *MYC* onkogeninde kopya sayı değişiklikleri ve amplifikasyon gösteren olgular tanımlanmıştır (31).

2.3.2.4. Prognoz ve Prediktif Faktörler

YDBHL, daha ileri sınıflanamayan olguları genel olarak kötü prognozlu olup çift vuruş lenfoma olgularına göre daha iyi prognozlu seyir gösterir. Bu olgular hakkında yapılan klinik çalışmaların bir araya getirilmesi ile prognozları hakkında daha gerçekçi bilgiler elde edilebilecektir (31).

2.4. Folliküler Lenfoma

Folliküler lenfomalar germinal merkez B- hücrelerinden (sentrosit ve sentroblastlar) oluşan genellikle ya da parsiyel olarak folliküler pattern oluşturan matür B- hücreli lenfoma grubudur (31).

2.4.1. Epidemiyoloji ve Etyoloji

Folliküler lenfoma, ikinci sıklıkta izlenen NHL grubudur. NHL'lerin %35'ini, indolen lenfomaların %70'ini oluşturmaktadır (5) .

Baskın olarak erişkinlerde görülmekle birlikte nadiren 18 yaş altı olgular görülmektedir. Ortalama tanı yaşı 6. dekad olup kadın cinsiyette daha sık görülür.

Etiyolojide pestisid ve tarım ilacı kullanımına maruziyet yer almaktadır.

2.4.2. Lokalizasyon ve Klinik

Genellikle lenf nodu, dalak, kemik iliği, periferik kan ve nadiren Waldeyer halkasında tutulum olabilir. Herhangi bir nodal grupta tutulum olabilir. Pür ektranodal tutulum sık görülmemekle birlikte en sık gastrointestinal sistem tutulumu ve bunu takip ederek yumuşak doku, meme ve oküler adneksiyel yapılarda görülür.

Çoğu hasta santral- periferik lenf lenfadenopati ve splenomegali ile seyirli yaygın hastalık ile ortaya çıkar. Kemik iliği tutulumu %40-70 hastada görülebilir. Yaygın hastalığa rağmen hastalar genellikle asemptomatiktir.

2.4.3. Histopatoloji ve İmmünohistokimya

Klasik FL lenf nodu yapısını ortadan kaldıran sentrosit ve sentroblastlardan oluşan neoplastik folliküllerden meydana gelir. Neoplastik folliküller benzer boyutlarda olup, bu folliküllerin çevresinde mantle zon azalmış ya da kaybolmuştur. Reaktif folliküllerdeki sentrosit ve sentroblastların polarizasyonu kaybolmuş olup dağılımları rastlantısaldır. Reaktif folliküllerde bulunan Tingibi body makrofajlar neoplastik folliküllerde görülmez. Folliküler pattern dışında diffüz pattern, floral, hyalin vasküler ve blastoid gibi çok sayıda morfolojik pattern tanımlanmıştır.

Grade'i sentroblast sayısı belirler. 10 neoplastik folliküldeki her büyük büyütme alanındaki sentroblast sayısının 15 altında olması Grade I ve II (Grade I 0-5 sentroblast/BBA, Grade II 6-15 sentroblast/BBA) olgularda görülürken Grade 3 olgularda sentroblast sayısı 15 ve üzeri olarak izlenir. Grade 3 olgularda sentrosit

ve sentroblast içeren olgular Grade 3A, sentroblastlardan meydana gelen olgular Grade 3B olarak derecelendirilir. Grade I-II olguların derecelendirilmesinde gözlemciler arası değerlendirmenin değişmesi ve klinik seyrinde anlamlı farklılık olmaması nedeni ile derecelendirme önerilmemektedir. Ancak bir olgu grade I-II yanı sıra grade III alanlar içeriyor ise bu alanlar yüzde (>%75, %25-%75, <%25) olarak belirtilmelidir. Yaygın olarak izlenen grade 3 komponent varlığı DBBHL tanısını garanti eder. Saf Grade 3B komponentten oluşan olgular nadirdir. Grade 3A FL olguları moleküler olarak grade I-II FL olguları ile benzer moleküler özellikler gösterirken Grade 3B olgular daha çok DBBHL'ye benzer moleküler özellikler göstermektedir.

Neoplastik hücreler pan B- hücre belirteçlerini eksprese eder. B- hücre belirteçleri dışında germinal merkez diferansiasyonunu gösteren CD10 ve Bcl6 pozitifliği dışında germinal merkez hücrelerinde görülmeyen Bcl2 ekspresyonu görülür. CD21 ve CD23 gibi folliküler denritik hücre ağının normal reaktif follikülere göre irregüler dağılımını göstermek için kullanılabilir. Ki-67 proliferasyon indeksi grade I-II olgularda <%20 olarak görülürken bazı grade 1-2 olguda Ki-67 proliferasyon indeksi yüksek olabilir. Bu olgularda agresif davranışın göstergesidir (49).

2.4.4. Moleküler Özellikler

Karakteristik moleküler değişiklik *IGH* ile *BCL2* genleri arasında görülen t(14,18) translokasyonudur. IG hafif zincir genleri ile de alternatif translokasyonlar gösterilmiştir. Grade 1-2 FL olgularının yaklaşık %90'ında görülür. *BCL2* translokasyonu görülmeyen olgular genellikle geç germinal merkez

diferansiyasyonu gösterirler. *BCL2* translokasyonu görülmemesi ile prognoz arasında bir ilişki saptanmamış olmakla birlikte grade 3B olgularda *BCL2* translokasyonu daha az izlenir. *BCL2* translokasyonu dışında 1p, 6q, 10q ve 17p'de kromozomunda kayıp, 1, 6p,7,8,12q,x ve 18q kromozomda kazanım eşlik eder. *TNFRSF14* geninde kopya sayı değişiklikleri, heterozigosite kaybı FL'nın tüm formlarında en sık izlenen genetik değişikliklerden biridir. *EZH2*'de fonksiyon kazanımı, *CREBBP* ve *KMT2D*'de görülen mutasyonlar hedeflenebilir tedaviler için kullanılabilir. *TP53* ve *CDKN2A* inaktivasyonu ve *MYC* aktivasyonu gibi ek mutasyonlar ile DBBCL'ye transformasyon görülebilir (31).

2.4.5. Prognoz ve Prediktif Faktörler

Prognoz tanı anında hastalığın yaygınlığı ile yakından ilişkilidir. FLIPI prognozu öngörmeye kullanışlıdır. Çoğu çalışmada Grade 3 FL olgularının daha agresif kliniğe sahip olduğu gösterilmiştir. FL'den DBBHL'ye transformasyon olguların yaklaşık %35-35'inde izlenir. DBBHL dışında Çift vuruş lenfomaya , B-lenfoblastik lösemi/lenfoma, klasik Hodgkin lenfoma ve histiyositik dendritik hücreli sarkoma transformasyon bildirilmiştir (31).

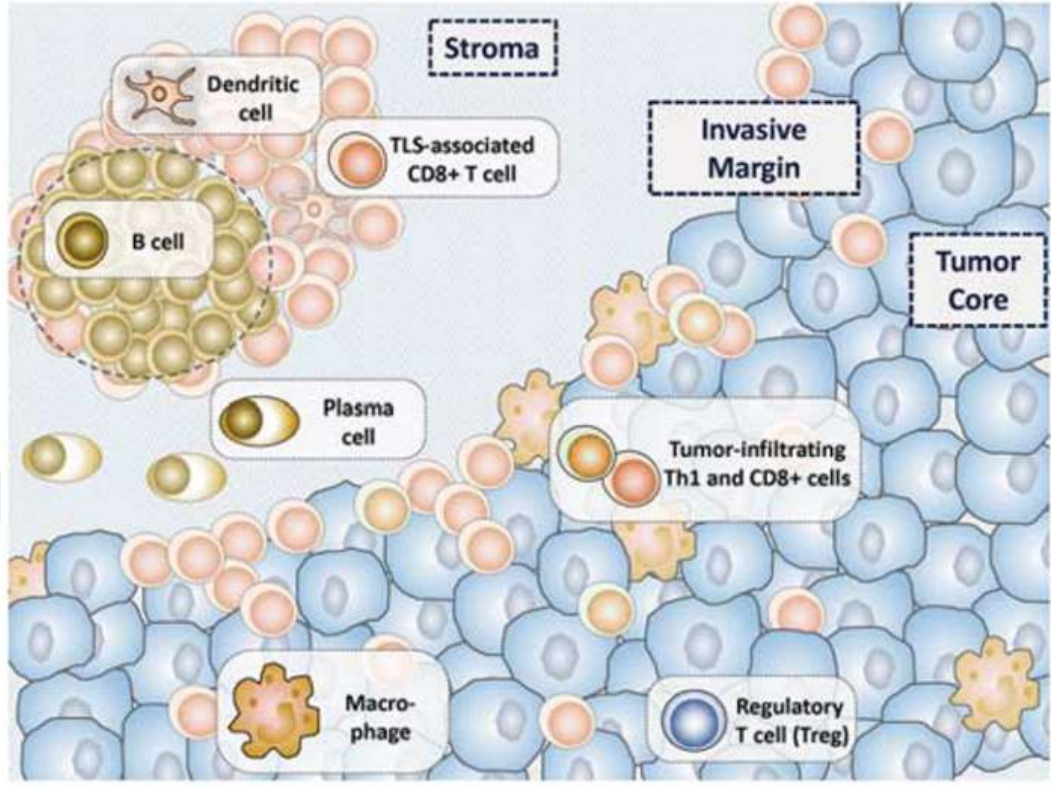
2.5. İmmünoterapi ve İmmün Kontrol Noktası İnhibitörleri

İmmünoterapi endojen T- hücrelerin kanser hücrelerine karşı yanıtının arttırılmasına yardımcı olan farmasotik rejimlerin genel ismidir. Bir çok malignitede sağkalım ve prognozu olumlu yönde etkiledikleri kanıtlanmıştır (50).

Tümör immünitesi kabaca immün sistemin tümöre yanıtı ve tümörün immün sistemden kaçışı şeklinde tanımlanabilir. Tümörün immün sistem tarafından

tanınması takip edilmesi immün gözetim (immün sürveyans) olarak adlandırılır (51).





Şekil 2: Tümör mikroçevresinde bulunan immün hücreler (53)

B- hücreli lenfomalarda da tümör mikroçevresi hücresel bileşimi, klasik Hodgkin lenfoma istisna olmak üzere genellikle gelişme bölgesindeki normal dokunun aynısını yansıtmakla birlikte lenfoma alt-tiplerine göre farklılıklar göstermektedir. (Şekil 1) Lenfoma hücreleri, hayatta kalma ve proliferasyon için tümör mikroçevresindeki malign olmayan lenfoid hücreler ve diğer stromal elemanlar ile iletişimini korur. Tümör hücreleri aynı zamanda bu etkileşimleri, tümörün immün gözetimden kaçışını teşvik eden ve hastalığın ilerlemesine yol açan immün supresif mekanizmalar oluşturmak için kullanır (52). Bahsedilen immün supresif mekanizmaların oluşumu immün düzenleme adı verilen bir hipotezle açıklanmıştır. İmmün düzenleme 3 fazdan oluşmaktadır. Bu fazlar sırasıya

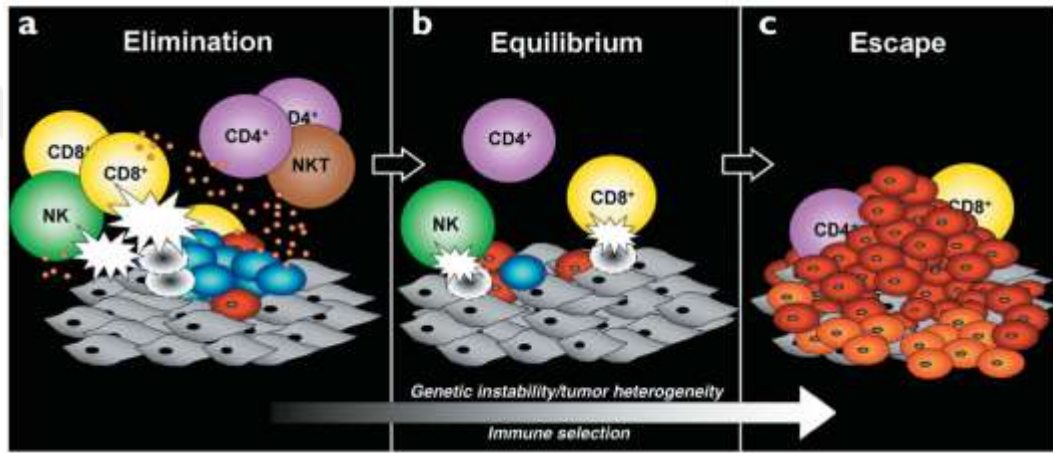
eliminasyon, “ equilibrium” (denge) ve “ escape” (kaçış) fazlarıdır. Bu fazlar literatürde immün düzenlemenin 3 E’si (Şekil 3) olarak isimlendirilmektedir.

Eliminasyon fazında tümöre karşı oluşan ilk yanıt antijen sunan hücrelerin (ASH) tümör hücrelerini ve/veya proteinlerini fagosit etmesi ile başlar. ASH tümörün drene olduğu lenf noduna giderek MHC I molekülleri üzerinden CD8+ T- hücre yanıtını başlatırlar. ASH bir yandan tümör antijenlerini sunarken diğer yandan T- hücre aktivasyonu için sinyaller sağlayan ko-stimülatörleri eksprese ederler. ASH çapraz sunum ile MHC- II üzerinden CD4+ T- lenfositleri de tümör antijenlerine karşı aktive ederler.

Denge fazında ise eliminasyon fazında güçlü bir immün baskılanmaya maruz kalan neoplastik hücreler immün baskılanmaya karşı çeşitli mutasyonlar kazanır. Denge fazı bu üç faz arasında en uzun süren fazdır.

Kaçış fazında neoplastik hücreler immün sistemi baskılamak için çeşitli mekanizmalar kullanırlar. Bazı tümörler, MHC-I ekspresyonu yapmayı bırakır. Bazı tümörler T- hücre yanıtını baskılayacak yolakları aktive eder. Bu duruma örnek olarak tümör hücreleri, T- hücreleri üzerinde yerleşimli PD-1 (programlanmış hücre ölümü-1)’e bağlanarak T- hücre yanıtını baskılayan PD-L1(programlanmış hücre ölümü ligand-1) eksprese ederler. Ayrıca uzun süreli antijen sunumu nedeni ile T- hücrelerinde PD-1, CTLA-4 (sitotoksik T- hücre ilişkili antijen- 4) gibi T- hücre yanıtını baskılayan moleküller eksprese edilir ve T- hücrelerin antijene karşı yanıtının azaldığı T- hücre yorgunluğu durumu meydana gelir. Bazı tümörlerde neoplastik hücreler aracılığıyla değil tümör mikroçevresinin

bileşenleri antitümör immün yanıtı baskılayabilir. Tümör mikroçevresinde bulunan myeloid kökenli hücreler antiinflamatuvar özellikler göstermektedir ya da dendritik hücreler üzerinde bulunan ko-reseptörler T- hücreler üzerindeki inhibitör moleküllere daha çok afinite göstererek antitümör immün yanıtı baskılar. Bazı tümörler antiinflamatuvar sitokin olan TGF- β eksprese ederler (51, 53).



Şekil 3: İmmün yeniden düzenlemede 3 aşama: Eliminasyon, Denge ve Kaçış (52)

Son yıllarda tümör aracılı ve tümör mikroçevresi aracılı anti tümör immüniteyi bloke eden bir çok monoklonal antikor geliştirilmiş olup malign melanom, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, invaziv meme karsinomu, invaziv ürotelyal karsinom ve Hodgkin lenfomada etkinlikleri kanıtlanmıştır .

2.5.1. PD-1 ve PD-L1

PD-1, *PDCD1* geni tarafından kodlanan immunglobulin süper ailesinin bir üyesidir. PD-1 ekstraselüler IgV domaini, hidrofobik transmembran domaini ve sitoplazmik kuyruktan meydana gelen 50-55 kD, tip1 transmembran

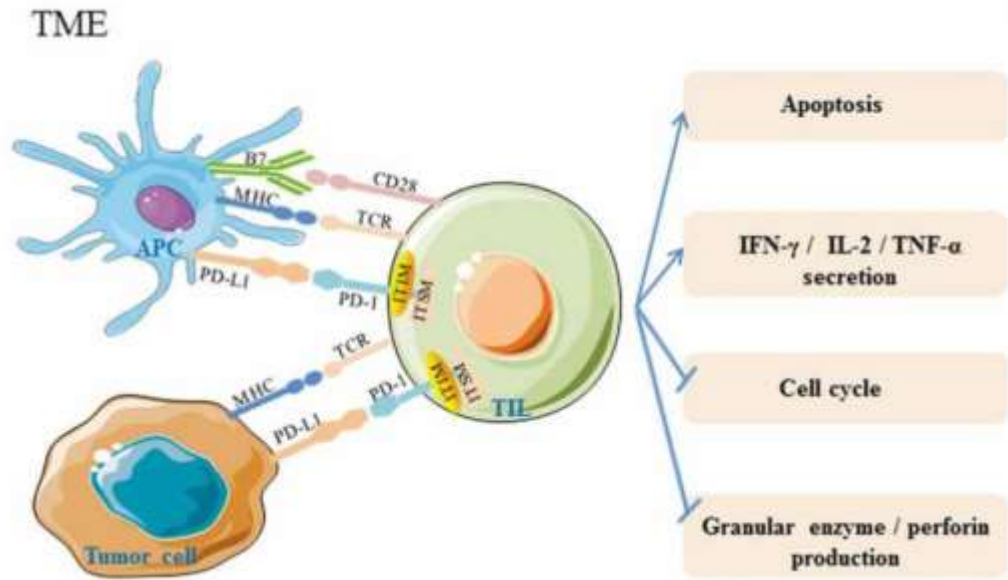
glikoproteindir. IgV domaini CTLA-4 ile %23 homoloji göstermektedir. Sitoplazmik domain ise iki tirozin motifine sahiptir. Bunlar İmmün reseptör Tirozin bazlı İnhibitör Motif (ITIM) ve asıl immünsüpresif fonksiyondan sorumlu İmmün reseptör Tirozin bazlı Anahtar Motif (ITSM)'dir. Aktive T- hücreler, B- hücreler, monositler, NK/T- Hücreler, regülatuar T- hücreler ve sitotoksik T- hücreler yüzeyinde eksprese olur.

Bu reseptörün PD-L1 (B7-H1, CD274) ve PD-L2 (B7-DC, CD273) olmak üzere iki ligandı bulunmaktadır. PD-L1 ve PD-L2 B7 protein ailesinin mensubudur. PD-L1 ve PD-L2 IgV ve IgC yapıları içeren ekstraselüler domain, hidrofobik bir transmembran domain ve sitoplazmik bir kuyruktan meydana gelen tip1 glikoprotein bir reseptördür. Bu proteinleri kodlayan gen 9. kromozom üzerinde yerleşmiştir. PD-1'in ana ligandı PD-L1'dir. Bu ligand T- hücreleri, B- hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler üzerinde ve ayrıca endotel hücreleri, β pankreas hücreleri, glial hücreler, epitelyal hücreler üzerinde yapısal olarak eksprese edilir (54, 55).

PD-1- PD-L1 etkileşimi gerçekleştiğinde PD-1'in sitoplazmik kuyruktaki tirozin rezidüleri fosforile olarak sonrasında Src homoloji 2 alanı içeren protein tirozin fosfataz (SHP-2) , “spleen” tirozin kinaz (SYK) ve Fosfo- inozitol- 3 kinaz üzerinden T- hücrelerinde lenfosit proliferasyonu, sitokin sekresyonu ve sitotoksik T- lenfosit sitotoksitesi gibi biyolojik işlevleri inhibe eden “downstream” bir yolak aktive olur (54).

PD-1- PD-L1 aksisi normal şartlarda periferik immün toleransta görevlidir. Bazı çalışmalar ile PD-1'in tümörü infiltre eden lenfositlerde (TIL), periferik kan T- lenfositlerine göre daha yüksek ekspresyon gösterdiği kanıtlanmıştır (56). (Şekil 4)

Bu yolağın inhibisyonun çeşitli malignitelerde tedavi üzerine etkisinin kanıtlanması üzerine çeşitli lenfoma alt-tiplerindeki etkisi araştırılmaya başlanmıştır. İmmünohistokimya ve akım sitometrik yöntemler ile PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu multipl myelom, akut myeloid lösemi, Hodgkin lenfoma ve Hodgkin dışı lenfoma (DBBHL, FL, kronik lenfositik lösemi/ küçük lenfositik lenfoma, PMBHL ve anaplastik büyük hücreli lenfoma ve anjioimmünoblastik T- hücreli lenfoma) saptanmıştır (55).



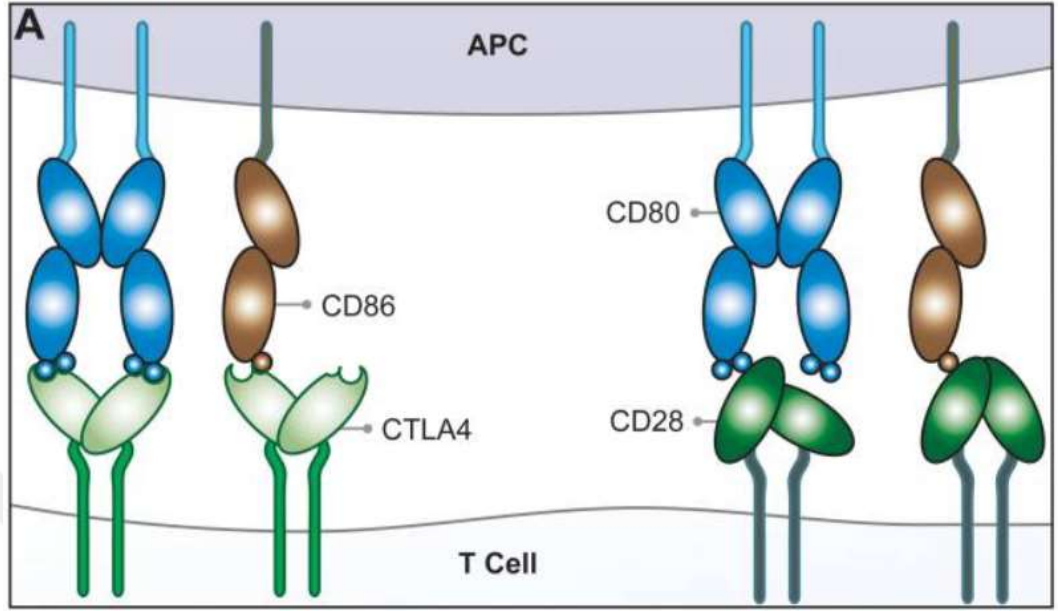
Şekil 4: PD-1, PD-L1 etkileşimi sonucu TIL'de meydana gelen değişiklikler (56)

2.5.2. CTLA-4

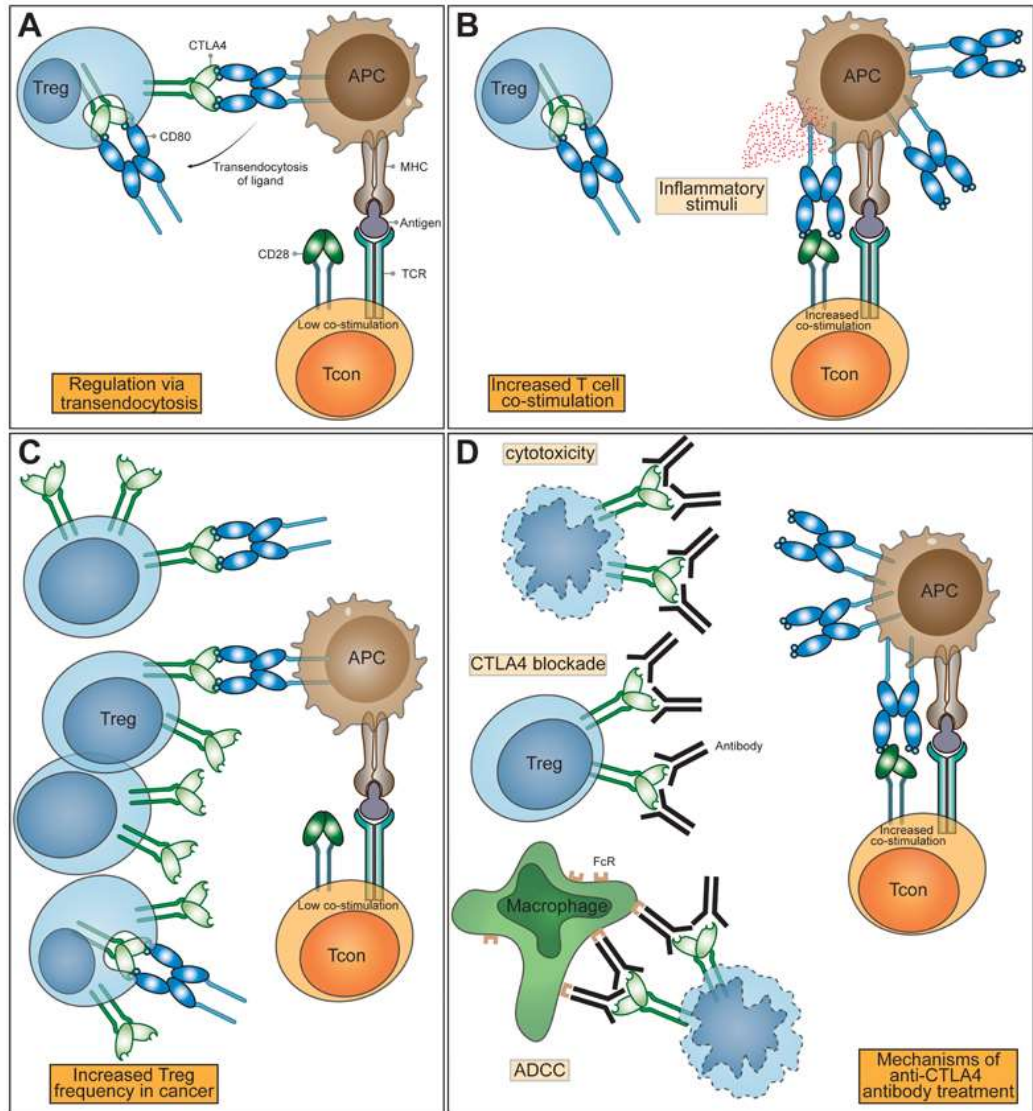
2q33.2 kromozomu üzerindeki ekzon-4 yerleşimli CTLA-4 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Tek bir IgV benzeri domain içermektedir ve immünglobulin süper ailesinin bir üyesidir. 223 amino asitten oluşur ve hesaplanmış molekül ağırlığı 24.6 kDa'dır. CTLA-4 ise ağırlıklı olarak FoxP3 (+) Treg hücrelerinde veya aktive edilmiş geleneksel T- hücrelerinde hücre içi veziküllerde bulunur.

Normalde T- hücre aktivasyonu için T- hücre reseptörü ve ko-stimülasyon gereklidir. Antijen sunucu hücre üzerinde bulunan B7-1 (CD80) ve ya B7-2 (CD86) T- hücre yüzeyindeki CD28 ile yeterli düzeyde sağlanan etkileşim T- hücrelerinde IL-2 gibi sitokinlerin üretiminin artmasına, büyüme ve enerji sinyallerinin artışına neden olur. CTLA-4 CD28 ile fonksiyonel olarak zıt olsalar bile ligand bağlanması için MYPPPY motifini paylaşırlar. CTLA-4 ekspresyonu CD28'e göre çok az olmasına karşın B7 reseptörlerine homodimerize olarak bivalent bağlanabildiği için CD28'e göre daha yüksek afinite ve aviditeye sahiptir. CTLA-4 inhibitör etkisini kompetitif antagonizma ve hücre içi sinyal yollarını etkileyerek göstermektedir (Şekil 5, Şekil 6) (8, 57).

CTLA-4 inhibitörlerinin hematolojik olgularda kullanımı ile ilgili çeşitli klinik çalışmalar yapılmış olup klasik Hodgkin lenfoma, DBBHL, daha ileri sınıflanamayan , FL, kronik lenfositik lösemi/ küçük lenfositik lenfoma olgularında fayda sağlayabileceği gösterilmiştir (8, 58).



Şekil 5: CTLA-4 ve Ligandları CD80 ve CD86 (59)

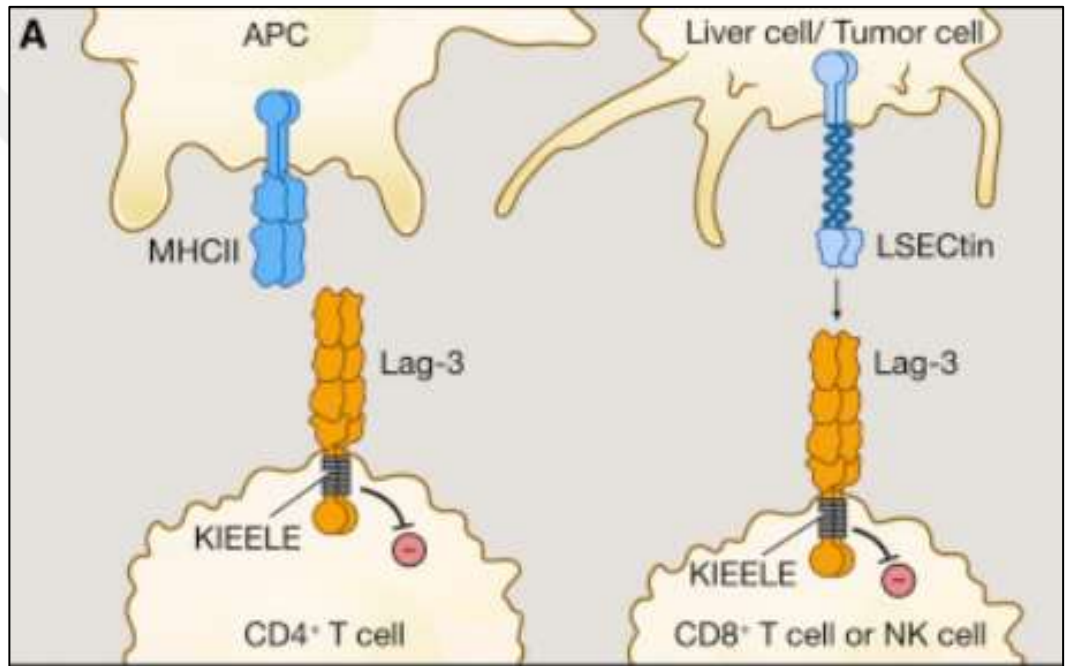


Şekil 6: CTLA-4 etki mekanizması ve blokajı (57)

2.5.3. LAG-3

Lenfosit aktivasyon geni-3 12p13.31'de ekzon-8'de lokalize LAG-3 geni tarafından kodlanır. İmmünglobulin süper ailesinin bir üyesidir. Yapısal olarak CD4'e benzemekle birlikte ekstraselüler kısmı bir adet IgV benzeri domain, 2 adet IgC2 benzeri domain içerir. İntraselüler kısmı T- hücre modülasyonunda görevli

benzersiz bir KİEELE motifi içermektedir. LAG-3 CD4 gibi, MHC sınıf II'yi (MHCII) bağlar, aynı zamanda FGL-1, α -sinüklein fibrilleri (α -syn) ve lektinler galektin-3 (Gal-3) ve lenf düğümü sinüzoidal endotel hücresi C tipi lektin'i (LSEctin) diğer liganlarıdır. LAG-3, CD4⁺ ve CD8⁺ T- lenfositlerde, NK/T- hücrelerinde, Treg hücrelerde eksprese edilir (8, 59, 60). (Şekil 7)



Şekil 7: LAG-3 ve Ligandları (59)

LAG-3'ün sinyal yolağı henüz tam aydınlatılamamıştır. Sitoplazmik kuyrukta glutamik asit ve prolin di-peptit tekrarlarından oluşan EP motifi ve yine intraselüler KİEELE motifinin sinyal iletiminden sorumlu olabileceği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş olsa da bu konuda kesin bir yolak tanımlanamamıştır. Ancak CD4 ile paylaştıkları ligand olan MHC-II'ye daha yüksek afinite göstermektedir. Çeşitli çalışmalar ile LAG-3'ün T- hücre yorgunluğu olarak

adlandırılan durumda PD-1 ile birlikte ekspresyon gösterdiği gösterilmiştir. Preklinik çalışmalarda PD-1 ve LAG-3 blokajının sinerjistik etki gösterdiği izlenmiştir (59, 61).

LAG-3'ün hem DBBHL hücrelerinde hem de TİL'de eksprese edildiği Keane ve ark. yaptığı çalışmada gösterilmiş olup, LAG3'ün TİL'de yüksek ekspresyon oranlarının düşük sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur (62).

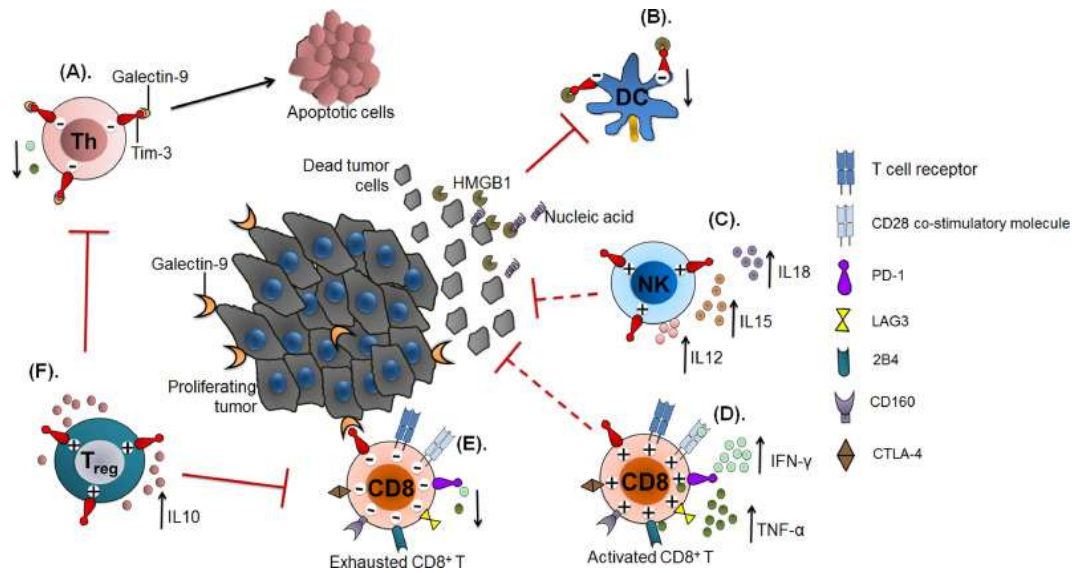
2.5.4. TIM-3

T- hücre immünglobulin-3 (TIM-3), CD4+ T- helper 1 hücrelerde (Th1) CD8+ sitotoksik 1 T- hücrelerde (Tc1) tanımlanmıştır(63). Immünglobulin süper ailesine mensup tip 1transmembran glikoproteindir. Ekstraselüler kompartmanı IgV benzeri domain, musin benzeri domain, transmembranöz kompartman ve apopitoza dahil olan bir kısım içerir. TIM-3, aynı zamanda Hepatit A virüs Selüler Reseptör 2 (HAVCR-2) olarak isimlendirilmekte olup 5q33.3'te 7. ekzonda lokalize *HAVCR-2* geni tarafından kodlanır(8). Bilinen ligandları galectin-9, fosfatidil serin, yüksek mobilite grup protein B1 (HMGB1), Ceacam-1'dir. (Şekil 8.) TIM-3 sitotoksik T- hücreler, Th1 hücreler, Treg cells, NK hücreler, monositler ve dendritik hücrelerde eksprese olur.

TIM-3, T- hücre yanıtı üzerine hem inhibitör hem de aktive edici etkiler göstermektedir. TIM-3 eksprese eden T- hücrelerin galectin-9 etkileşimi T- hücrelerinde apopitoza neden olur. CD8+ T- hücrelerde TIM-3 ekspresyonunun diğer immün kontrol noktası inhibitörleri gibi artmış T- hücre ekspansiyonu IFN- γ ve TNF- α sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca TIM-3'ün tümör hücrelerinde

veya TMÇ'deki diğer bağışıklık hücrelerinde eksprese edilen ligandı galektin-9 bağlanması ile CD8+ T- hücrelerinde T- hücre yorgunluğu durumu meydana gelerek antitümör yanıt oluşumu ortaya çıkmaktadır. Tümör mikroçevresinde dendritik hücrelerde eksprese edilen TIM-3 ile apoptotik tümör hücrelerinden salınan HMGB1 etkileşimi sonucu dendritik hücrelerde endozom aktivitesi inhibe edilir ve böylece antijen sunumu işlemi önlenmiş olur.

TIM-3'ün NK/T- hücrelerinde artmış ekspresyonu IL12, IL15 ve IL18 sitokinlerinin salınımını artırarak tümör hücrelerine karşı sitotoksik yanıtı artırır. Yine TIM-3 eksprese eden FOXP3+ Treg hücreler IL-10 ile efektör T- hücre yanıtını inhibe ederken bu yolağın anti-TIM-3 bir ajan ile bloke edilmesi sonucu anti- tümör yanıt azalabilir(64).



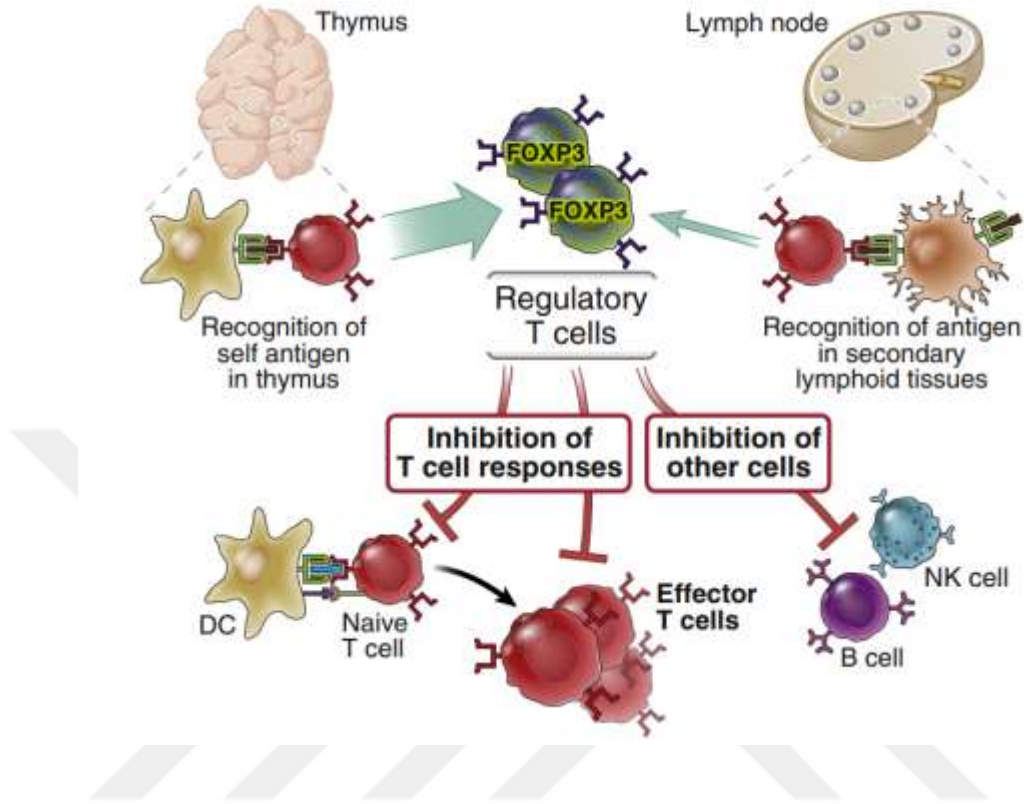
Şekil 8: TIM-3 Ligandları ve Etki Mekanizması (64)

Anti TIM-3 tedaviler ile ilgili hematolojik maligniteleride içeren çeşitli tümörlerde klinik çalışmalar sürdürülmektedir. Chen ve ark. yaptığı bir çalışmada yüksek TIM-3 ekspresyonu gösteren DBBHL olgularında daha düşük hastalıksız sağkalım üzerine etkili olduğu bulunmuştur (64, 65).

2.5.5. FOXP3

FoxP3, “forkhead box” ailesi üyesi bir transkripsiyon faktörüdür. Keşfi Foxp3 mutasyonunun görüldüğü ratlarda X’e bağlı immüdisregülasyon, poliendokrinopati ve enteropati geliştiği izlenerek 2004 yılında keşfedilmiştir. FOXP3 Xp.11.23 kromozomunda ekzon 2- ekzon 11 arasında lokalize bölgeden transkripte olur. FoxP3 Treg hücrelerin gelişimi ve fonksiyon göstermesinde ana düzenleyicidir (66). Treg hücrelerde FOXP3 ekspresyonu T- hücre aktivasyonu sonrasında meydana gelmektedir. Treg hücreler bu nedenle baskılayıcı görevi bulunan efektör Treg hücreleri (eTreg), uyaran sonucu eTreg dönüşebilme yeteneğine sahip naive Treg hücreler ve supresif etkisi olmayan Treg hücreler olmak üzere heterojen bir gruptan oluşmaktadır(67).

FOXP3, T- hücre aktivasyonu, efektör fonksiyonlarını ve proliferasyonunu proinflamatuvar sitokinlerin üretimini transkripsiyonel aşamada baskılar. İmmün kaçış sonucu tümör mikroçevresinde artan Treg hücrelerin anti-tümör T- hücre yanıtını azaltması tümörlerin büyüme, invazyon ve metastaz yapmasına katkıda bulunan faktörlerden biridir. Aynı zamanda FOXP3 çeşitli epitelyal tümörlerde tümör hücrelerinde de eksprese edildiği saptanmış olup bazı gruplarda onkogenlerin inaktivasyonunda rol aldığı bulunmuştur (66, 68). (Şekil 9)



Şekil 9: FOXP3'ün etki mekanizması (53)

Tümör mikroçevresinde FOXP3 eksprese eden çeşitli tümör tipleri ile ilgili çalışmalar yapılmış olup meme karsinomu, baş boyun karsinomlarında yüksek ekspresyonun kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Carreras ve ark yaptığı bir çalışmada FL hastalarında FOXP3 pozitif Treg hücre sayısının sağkalımın bağımsız bir göstergesi olduğu ve DBBHL transformasyonunda sayılarında azalma olduğu bulunmuştur. Ayrıca DBBHL ile ilgili yapılan bir çok çalışmada yüksek FOXP3 ekspresyonunun beklenin aksine daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğu multivaryasyon analizler ile gösterilmiştir (66, 67, 69-71).

2.5.6. VISTA

VISTA (IgV domaini içeren T- hücre aktivasyonu baskılayıcısı) tip1 transmembran bir glikoprotein olup B7 ailesinin bir üyesidir. Ekstraselüler bölümünde tek bir N- terminal IgV domaini, transmembran bölge ve sitoplazmik kuyruktan meydana gelmektedir. Yapısal olarak özellikle PD-L1 olmak üzere CD28 ve CTLA-4 ile benzerlikler göstermektedir. Diğer immünglobulin süper ailesi üyelerinden farklı bir lokalizasyonda kromozom 10 üzerinde intronik bir bölgeden transkripte olur. VISTA makrofajlar, dendritik hücreler ve dolaşımdaki nötrofillerde, CD4⁺ naive T- hücreler, Treg hücreler, hafıza T- hücrelerinde ve CD8⁺ T- hücreler ve NK/T- hücrelerde ekspresyonu saptanmıştır. VISTA'nın T- hücreler için ko-inhibitör bir ligand olduğu ve CD4⁺ T- hücrelerde ko-inhibitör bir ligandı bulunduğu kanıtlanmıştır (72, 73).

Çalışmalarda VISTA'nın hematopoetik hücrelerde eksprese olduğu kanıtlanmış olup az sayıda çalışmada tümör hücrelerinde ekspresyon gösterdiği bulunmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya 2015- 2021 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış DBBHL, BL ve FL grade 3 olguları dahil edilmiştir. Yapılacak immünohistokimyasal çalışmalar için yeterli fiksasyon ve yeterli doku boyutlarına sahip toplam 260 olgu eksizyonel ve insizyonel biyopsiler çalışmaya dahil alınmıştır.

Olguların yaş, cinsiyet, nodal ve ektranodal yerleşim yerleri ile ölüm tarihleri hastane bilgi sistemi üzerinden elde edilmiştir. Hastane bilgi sistemi üzerinden DBBHL, başka türlü sınıflanamayan olgularının alt tipleri patoloji raporlarından elde edilmiştir. Raporlarda bulunmayan olguların mevcut immünohistokimyasal boyanma profilleri ile alt tipler Hans Algoritmasına göre yeniden değerlendirilmiştir.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Komisyonu tarafından 09.05.2020 tarih ve 05 sayılı toplantı ile yerel etik kurulu onayı alınmıştır.

3.1. İmmünohistokimyasal Boyama

Olguların tümü formalin fikse parafine gömülü dokular şeklinde takibe alınmış dokular olup, tüm bloklardan 4µm'lik immünohistokimyasal çalışmalar için ve yedek bir adet olmak üzere toplam 8 adet kesit alınmıştır.

3.1.1. PD-1 immünhistokimyasal boyama yöntemi

PD-1 (NAT105 klonu) kullanıma hazır IgG izotipinde fareden elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor ile kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) immünhistokimyasal boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTİHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işlemi için PD-1 antikor  “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 60 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için PD-1 antikor  cihazda 44 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-deteksiyon kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar  eşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilende tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.1.2. PD-L1 immünhistokimyasal boyama yöntemi

PDL-1 (SP263 klonu) kullanıma hazır IgG izotipinde tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor ile kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTİHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işlemi için PD-L1 antikor  “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 32 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için PD-L1 antikor  cihazda 44 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Optiview diaminobenzidin (DAB)-deteksiyon kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar  eşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilende tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.1.3. CTLA-4 immünhistokimyasal boyama yöntemi

CTLA-4 (CD152) IgG izotipinde keçiden elde edilen poliklonal bir antikordur. Bu antikor 1/100 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak plasenta dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XTİHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işlemi için CTLA-4 antikor  “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 60 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için CTLA-4 antikor  cihazda 32 dakika bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-deteksiyon kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar  e me suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilende tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.1.4. LAG-3 immünhistokimyasal boyama yöntemi

LAG-3 (D2G4O klonu) IgG izotipinde tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor 1/200 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünhistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XT IHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işlemi için LAG-3 antikoruna “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 76 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için LAG-3 antikoruna cihazda 1 saat bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-deteksiyon kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilende tutuldu.

8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.1.5. TIM-3 immünohistokimyasal boyama yöntemi

TIM-3 (D5D5R klonu) IgG izotipinde tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor 1/400 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünohistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünohistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.

2. Lamlar Ventana Benchmark XT IHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.

3. Antijen “retrival” işlemi için TIM-3 antikoruna “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA) solüsyonu (buffer) (pH 8,0) içinde 76 dakika süreyle cihazda bekletildi.

4. Primer antikor inkübasyonu için TIM-3 antikoruna cihazda 1 saat bekletildi.

5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-deteksiyon kit” kullanıldı.

6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.

7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilende tutuldu.

8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.1.6. FOXP3 immünohistokimyasal boyama yöntemi

FOXP3 (SP97) klonu tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor 1/100 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünohistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünohistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XT IHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işlemi için FOXP3 antikoruna “sitrat” solüsyonu (buffer) (pH 6,0) içinde 60 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için FOXP3 antikoruna cihazda 32 dk bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-deteksiyon kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilende tutuldu.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.1.7. VISTA immünohistokimyasal boyama yöntemi

VISTA (D1L2G™) XP IgG izotipinde tavşandan elde edilen monoklonal bir antikordur. Bu antikor 1/200 oranında seyreltildikten (dilüe edildikten) sonra kapalı otomatik immünohistokimya boyama cihazında (Ventana Benchmark XT) boyama işlemi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünohistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Parafine gömülü dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak polizinli pozitif yüklü lamlara alındı.
2. Lamlar Ventana Benchmark XT IHC/ISH model otomatik boyama cihazına yerleştirildi.
3. Antijen “retrival” işlemi için VISTA antikoruna “Etilenediamin tetraasetik asit” (EDTA solüsyonu, buffer (pH 8,0)) içinde 60 dakika süreyle cihazda bekletildi.
4. Primer antikor inkübasyonu için VISTA antikoruna cihazda 32 dk bekletildi.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için “Ultraview universal 3,3'-diaminobenzidin (DAB)-deteksiyon kit” kullanıldı.
6. Ventana marka hematoksilin I ile zıt boyama tamamlandı.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilende tutuldu.

8. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

3.2. İmmünohistokimyasal Boyanmanın değerlendirilmesi

PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIM3, FOXP3 ve VISTA değerlendirmeleri tüm doku taranarak, tümör hücreleri ve tümör mikroçevresindeki immün hücrelerde ekspresyonu yüzde oran olarak Olympus BX43F mikroskoplarda biri deneyimli iki patolog tarafından değerlendirildi. PD-1, PD-L1 ve VISTA için membranöz ve sitoplazmik boyanma, CTLA-4 LAG-3 ve TIM-3 için membranöz, sitoplazmik ve sitoplazmik golgi zon boyanma pozitif boyanma kabul edildi. FOXP3 ile nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Tümör ya da tümör mikroçevresindeki immün hücrelerde ekspresyon görülmesi pozitif kestirim değeri kabul edildi. Değerlendirme farklıları için çift başlı mikroskop kullanılarak ortak karara varıldı.

3.3. İstatiksel Analiz

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde mann-whitney u test kullanıldı. Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare test koşulları sağlanmadığında fischer test kullanıldı. Sağkalım analizinde Cox-regresyon (tek değişkenli-çok değişkenli) kullanılmıştır. Analizler SPSS 27.0 programı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

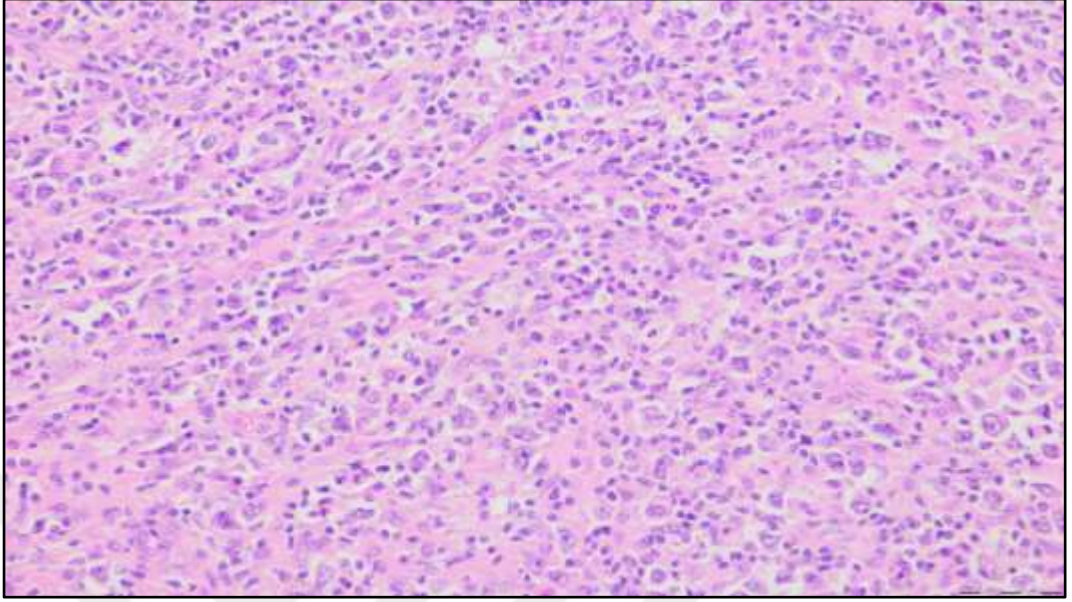
Çalışmaya alınan olgu sayısı 260'dır. Bu olguların 222'si (%85) DBBHL, 21'i (% 8) BL, 17'i (%7) FL'den oluşmaktadır. Olguların yaşları 3,5 ile 96 arasında değişmekle birlikte yaş ortalaması $59,8 \pm 17,3$ ortalama değer 63'tür (Tablo 6). Olguların 144'ü erkek, 116'sı kadındır. Olguların 131'i (%50,4) nodal yerleşimli, 129'u (%49,6) ektranodal yerleşimlidir. Tüm olguların 133'ü (%51,2) insizyonel, 127' si (%48,8) eksizyonel biyopsilerden değerlendirilmiştir (Tablo 5). Olguların toplam takip süresi 0- 78 ay arasında değişmekte olup ortalama $28 \pm 22,1$, ortalama değer 24 aydır. (Tablo 6)

Tablo 5: Demografik bilgiler, biyopsi bilgileri, sağkalım

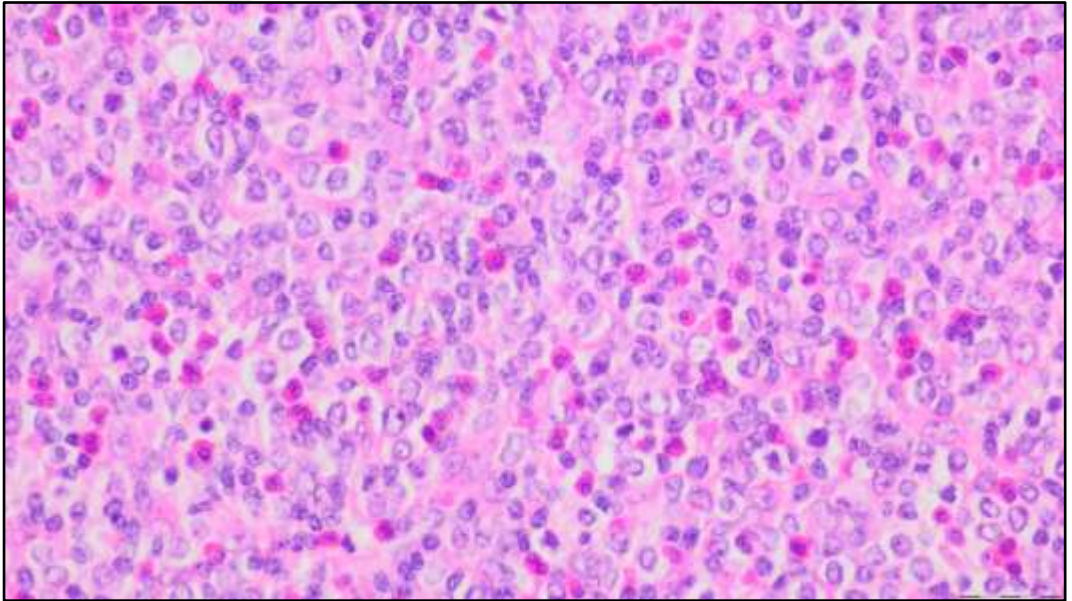
	n	%
Cinsiyet		
Kadın	116	%44,6
Erkek	144	%55,4
Biyopsi Şekli		
Eksizyon	127	%48,8
İnsizyon	133	%51,2
Nodal / Ekstranodal		
Nodal	131	%50,4
Ekstranodal	129	%49,6
Tanı		
DBBHL	222	%85,4
BL	21	%8,1
FL	17	%6,5
Sağkalım		
Sağ	161	%61,9
Ölü	99	%38,1

Tablo 6: Olguların yaş bilgileri ve takip süresi

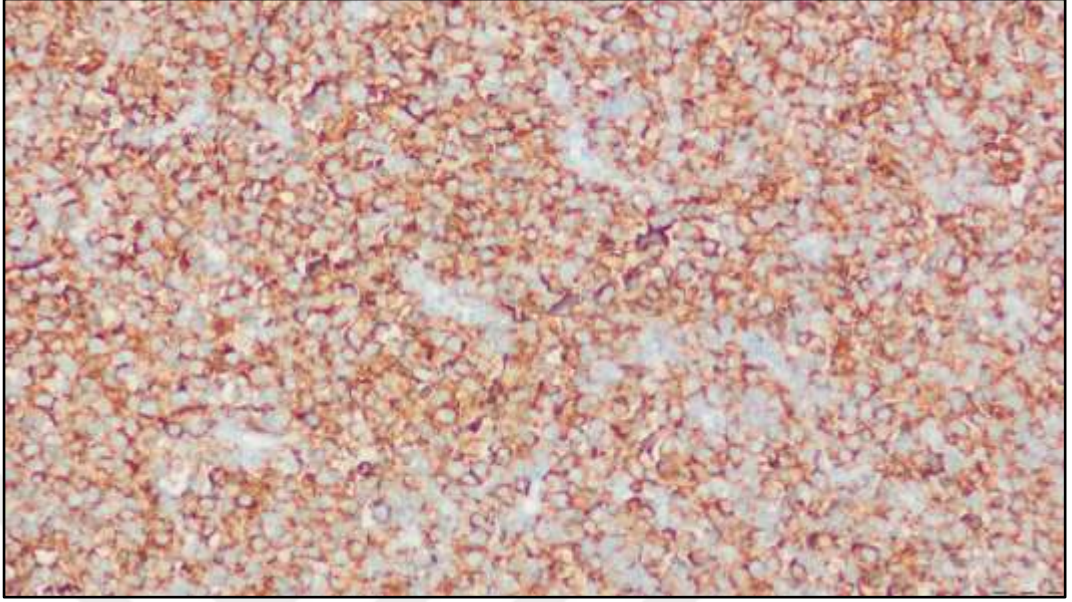
	Min-Mak	Medyan	Ort.±s.s
Yaş	3,5 - 96,0	63,0	59,8 ± 17,3
Takip Süresi (Ay)	0,0 - 78,0	24,0	28,0 ± 22,1



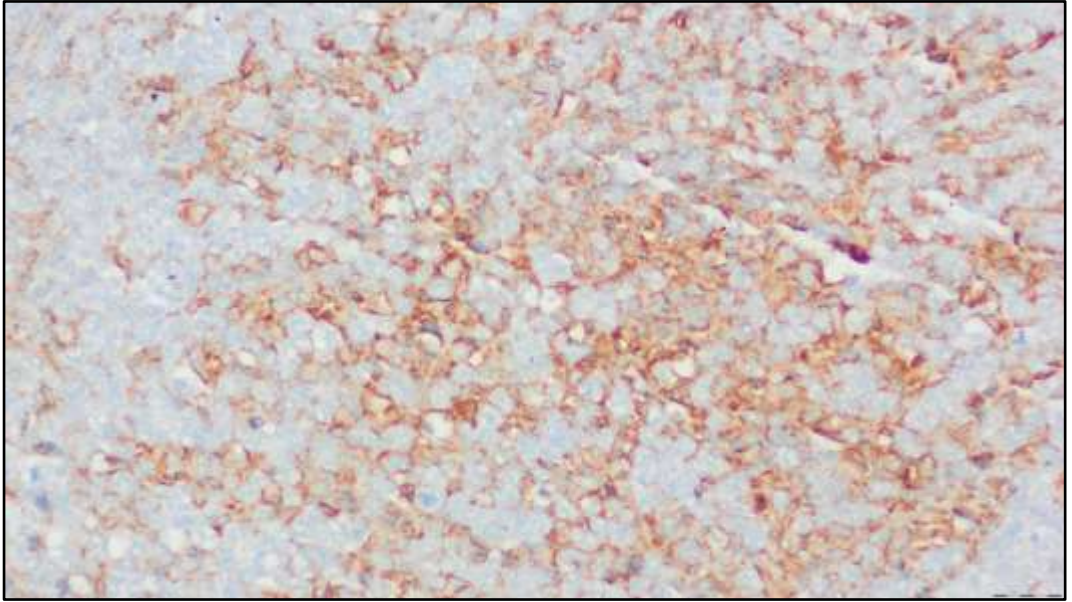
Resim 1: DBBHL (H&E, x200)



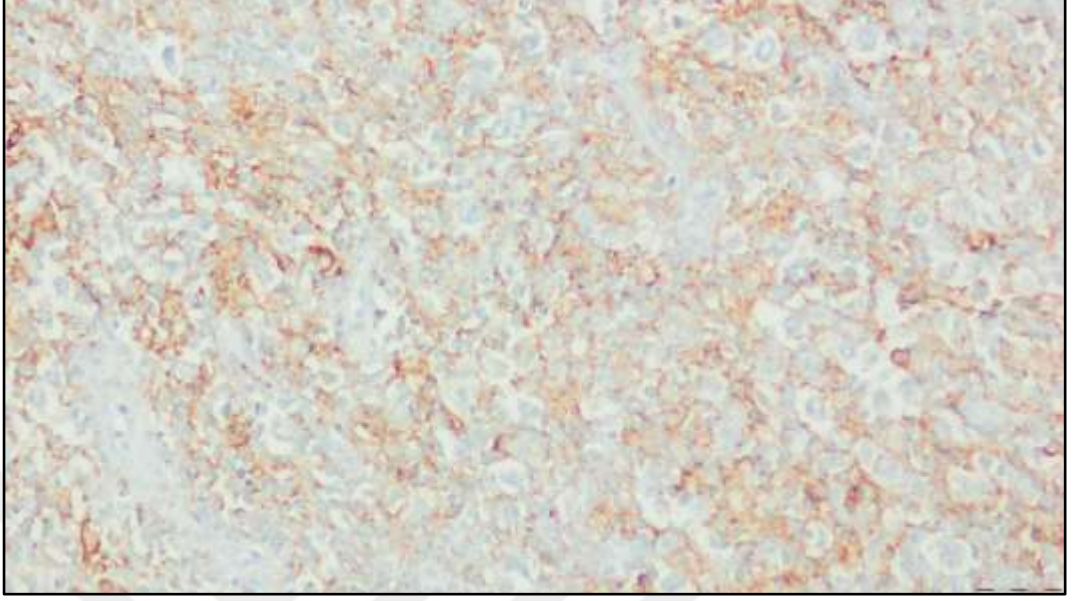
Resim 2: DBBHL, mikroçevrede yoğun eozinofil lökositler (H&E, x400)



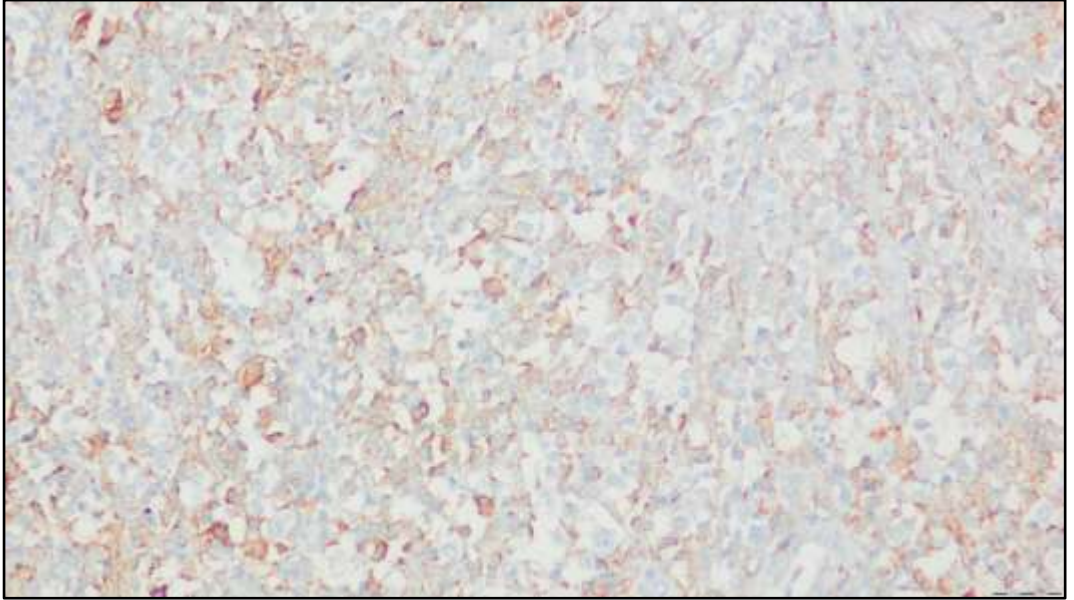
Resim 3: DBBHL, tümörde %100 PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200)



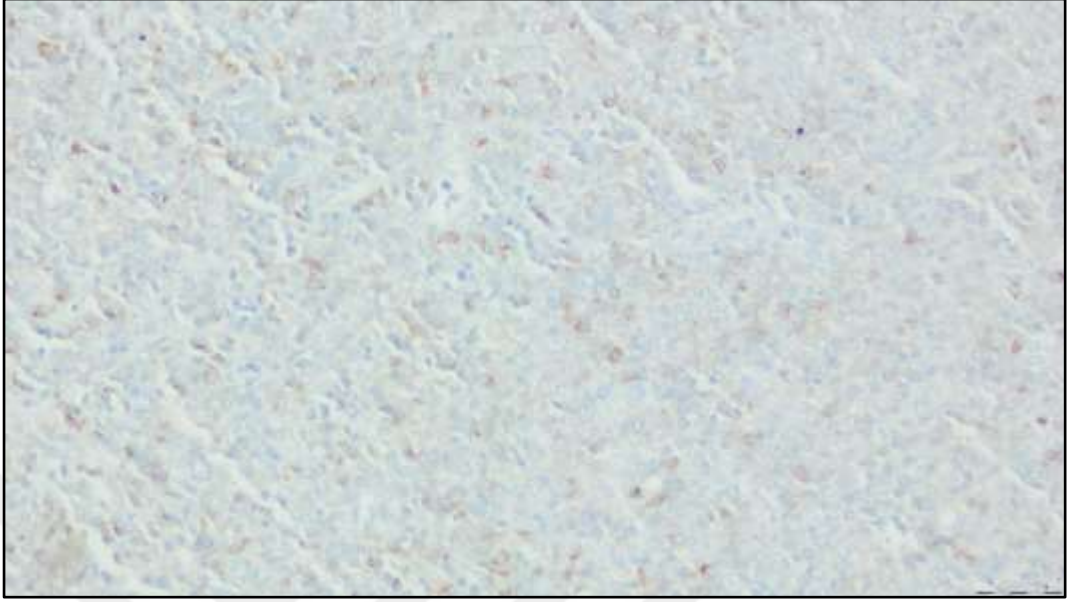
Resim 4: DBBHL, tümör hücrelerinde %80 oranında PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200)



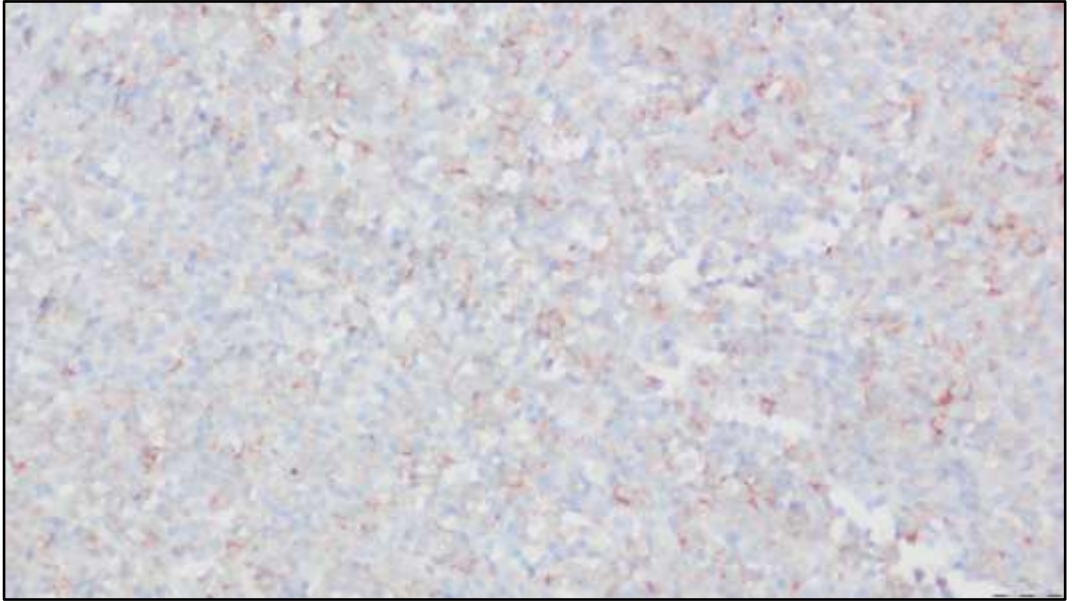
Resim 5:DBBHL, tümörde %50, tümör mikroçevresinde %50 oranında PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200)



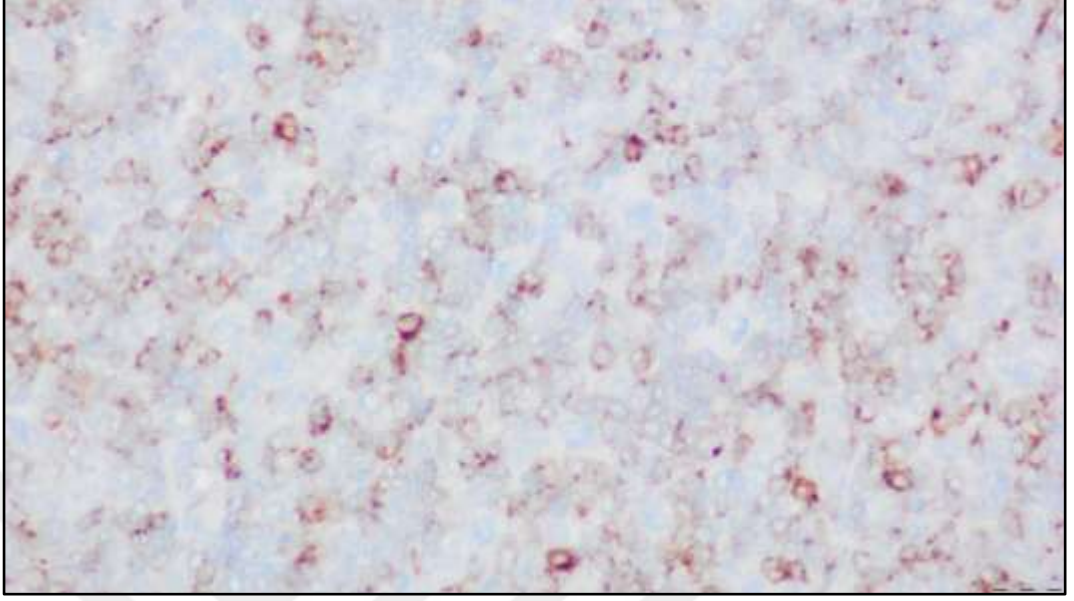
Resim 6: DBBHL, tümörde %60, tümör mikroçevresinde %5 oranında PD-L1 ekspresyonu (DAB, x200)



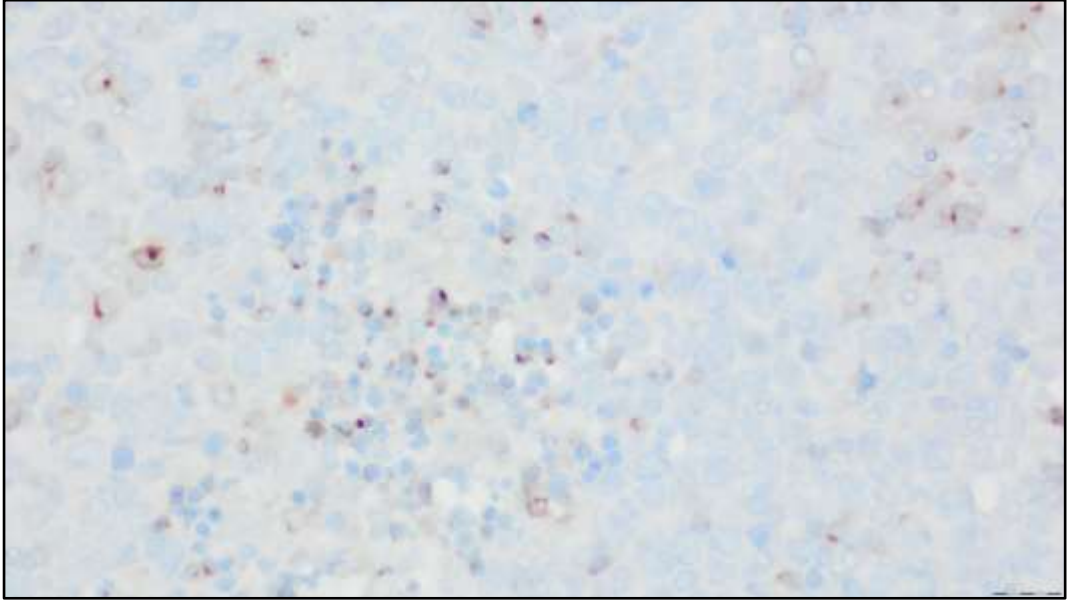
Resim 7: DBBHL, mikroçevrede %20 oranında PD-1 ekspresyonu (DAB, x200)



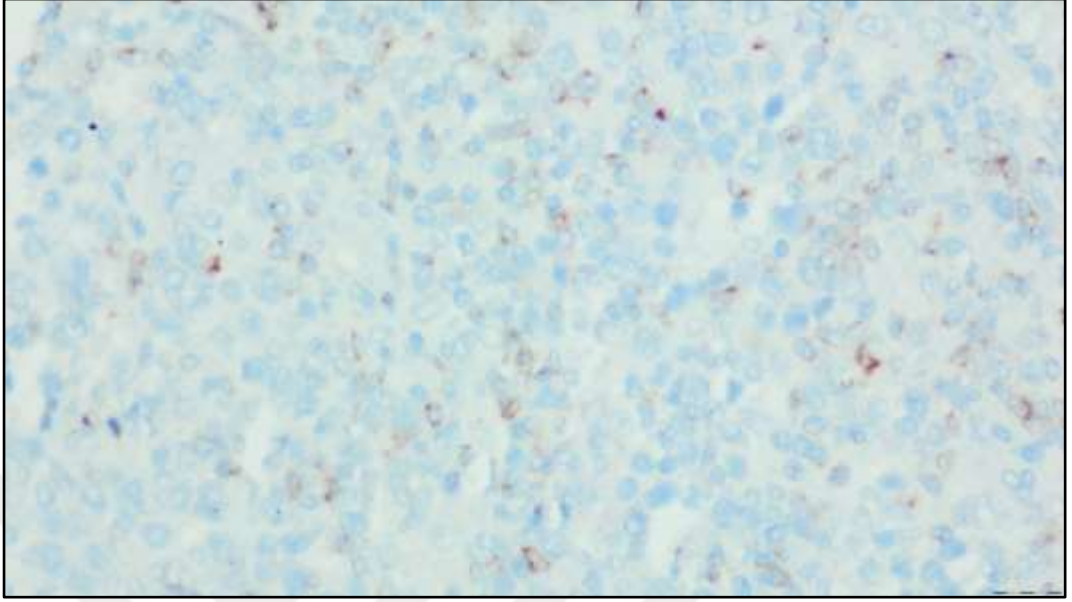
Resim 8: DBBHL, mikroçevrede %50 oranında PD-1 ekspresyonu (DAB, x200)



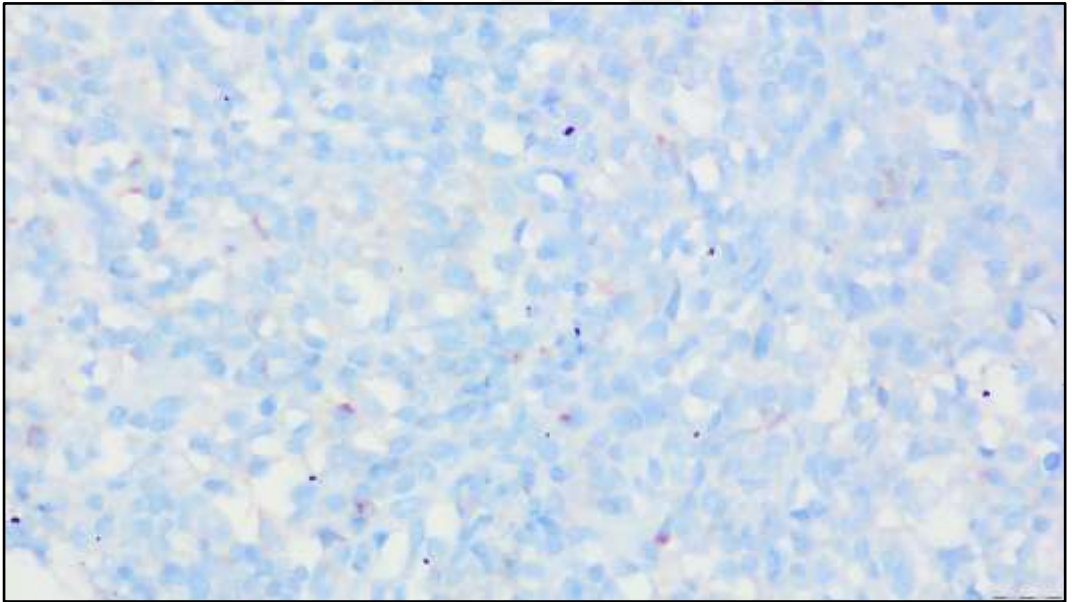
Resim 9: DBBHL, tümör hücrelerinde %70 oranında LAG-3 ekspresyonu (DAB, x400)



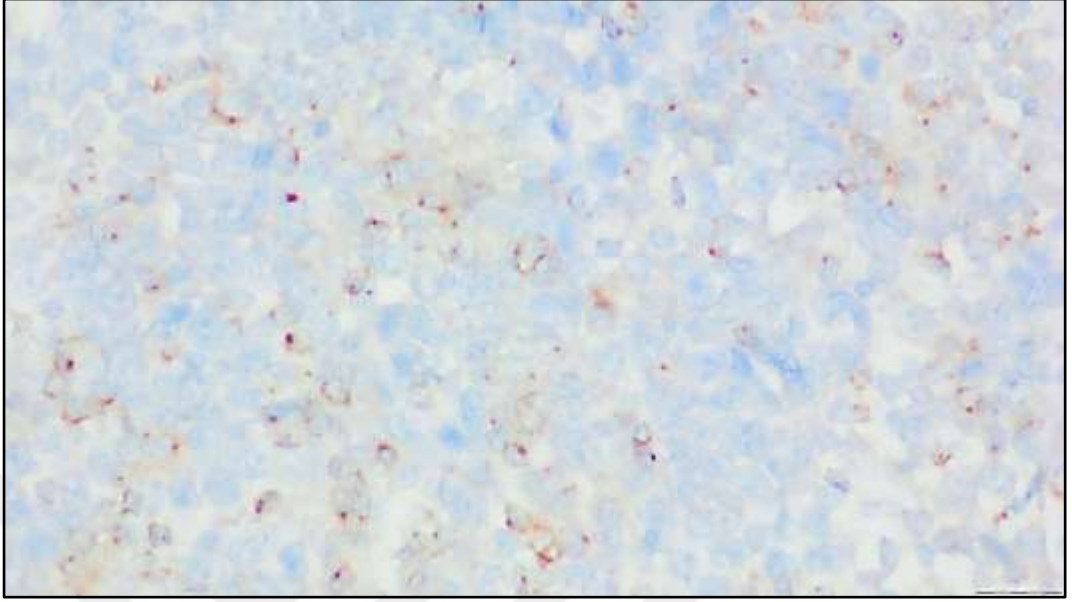
Resim 10: DBBHL, tümörde %30, tümör mikroçevresinde %10 LAG-3 ekspresyonu (DAB, x400)



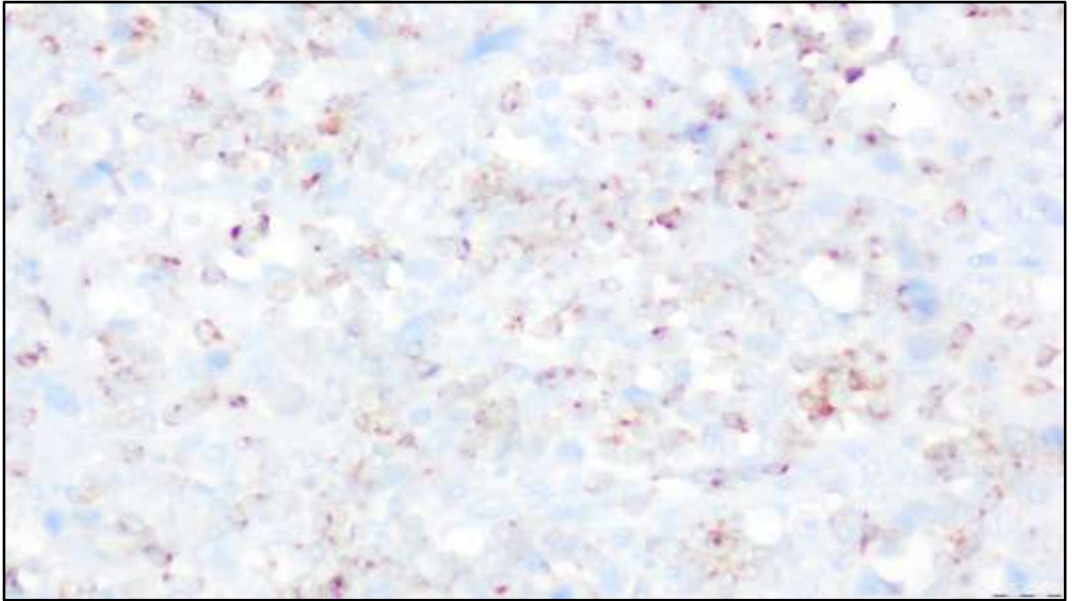
Resim 11: DBBHL, tümör mikroçevresinde %20 oranında LAG-3 ekspresyonu (DAB, x400)



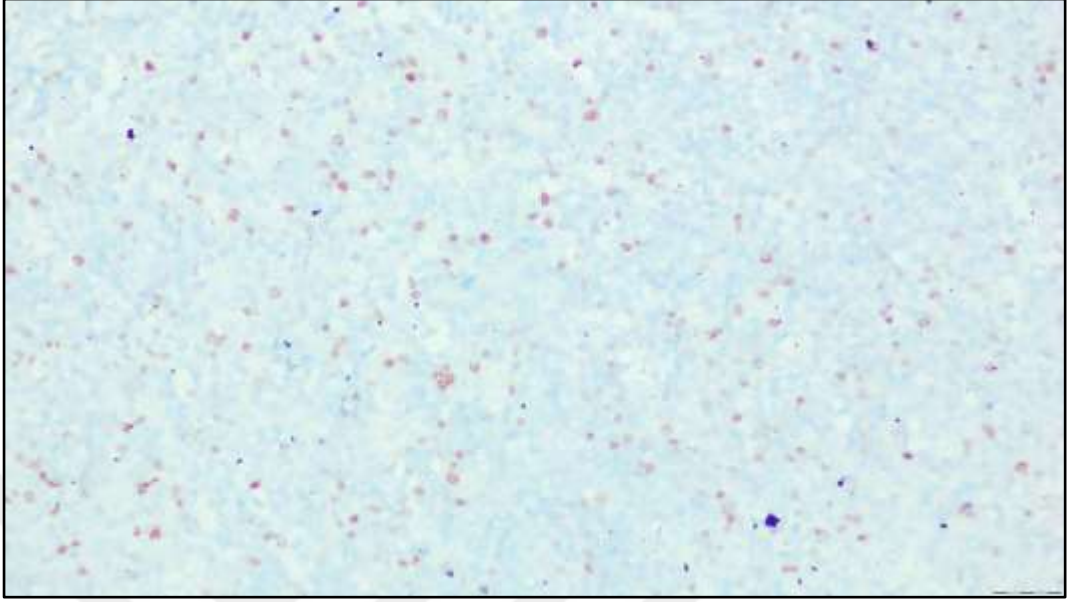
Resim 12: DBBHL, tümör mikroçevresinde %10 oranında TIM-3 ekspresyonu (DAB, X400)



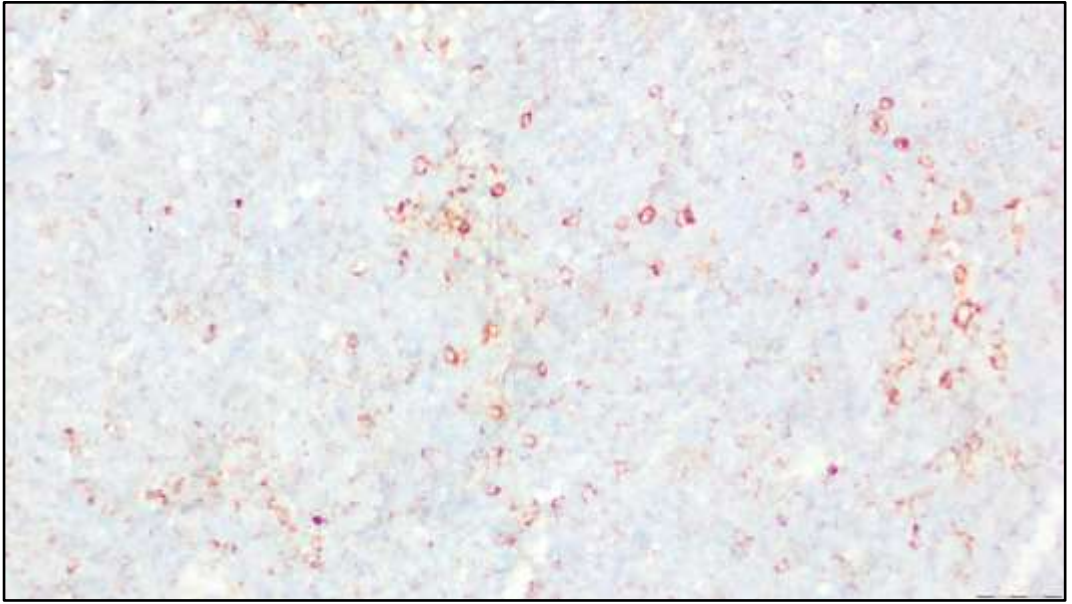
Resim 13: DBBHL, tümör hücrelerinde %40, tümör mikroçevresinde %10 oranında TIM-3 ekspresyonu (DAB, x400)



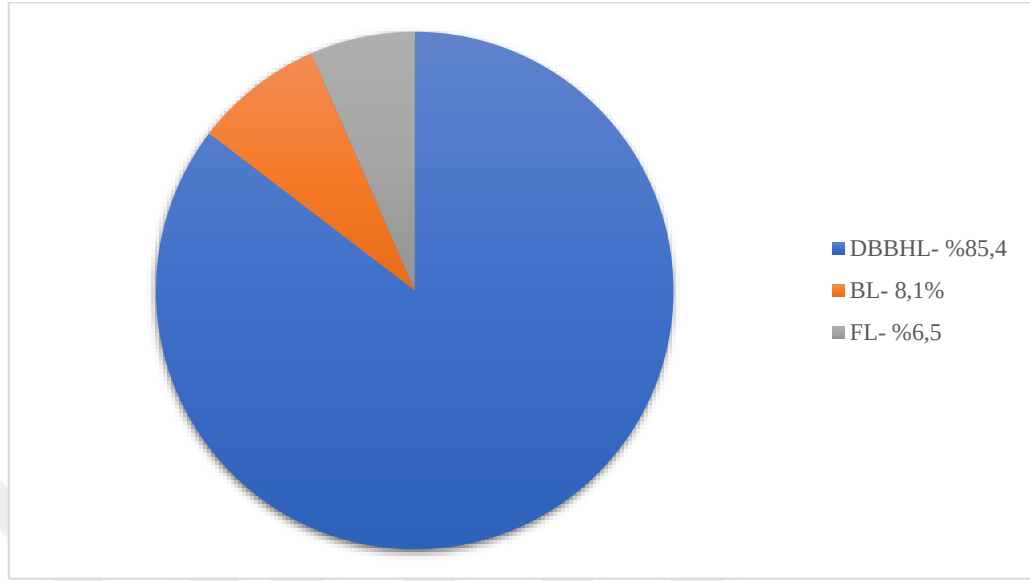
Resim 14: DBBHL, tümör hücrelerinde ve tümör mikroçevresinde %40 oranında CTLA-4 ekspresyonu (DAB, x400)



Resim 15: DBBHL, tümör mikroçevresinde %10 oranında FOXP3 ekspresyonu (DAB, x200)



Resim 16: DBBHL, tümör hücreleri ve tümör mikroçevresinde %70 oranında VISTA ekspresyonu (DAB, x200)



Şekil 10: Çalışmaya dahil edilen olguların oranları

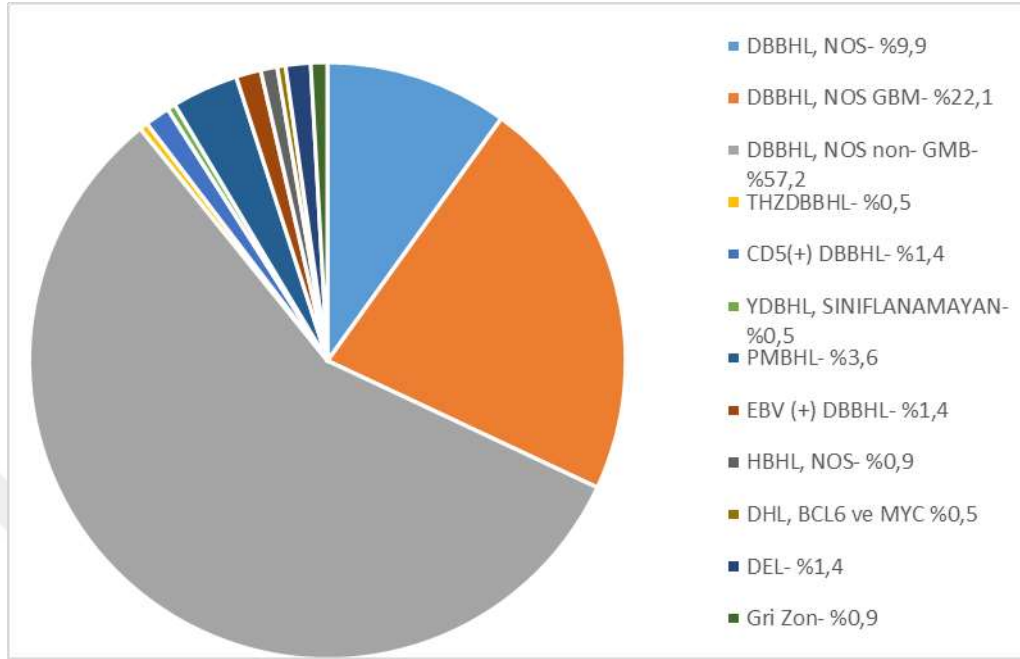
Yerleşim yeri olarak lenf nodu, dalak ve tonsil yerleşimli olgular nodal yerleşimli bu alanlar dışında izlenen diğer alanlar ektranodal lenfoma olarak sınıflandırıldı. Nodal olguların en sık lenf nodu yerleşimli olduğu ektranodal olguların ise en sık gastrointestinal sistem kaynaklı olduğu görüldü. (Tablo 7)

Tablo 7: Yerleşim yerleri

	n	%		n	%
<i>Yerleşim yeri</i>					
Lenf Nodu	105	% 40,4	Toraks	4	% 1,5
Gis	42	% 16,2	Orbita	3	% 1,2
Tonsil	22	% 8,5	Adenks	2	% 0,8
Kitle	15	% 5,8	Ekstremit	2	% 0,8
Karaciğer	9	% 3,5	Kemik	2	% 0,8
Tükrük Bezi	8	% 3,1	Nazal Kavite	2	% 0,8
Mediasten	6	% 2,3	Adrenal	1	% 0,4
Akciğer	5	% 1,9	Böbrek	1	% 0,4
Testis	5	% 1,9	Mesane	1	% 0,4
Sinüs	4	% 1,5	Omentum	1	% 0,4
Dalak	4	% 1,5	Paravertebral	1	% 0,4
Deri	4	% 1,5	Serviks	1	% 0,4
Meme	4	% 1,5	Tiroid	1	% 0,4
Nazofarinks	4	% 1,5	Üretra	1	% 0,4

DBBHL olgularının 103'ü (%47,3) kadın, 119'u (%53,6) erkekti. Bu olguların 105'i(%47,3) eksizyonel, 117'si (%52,7) insizyonel biyopsi şeklinde değerlendirildi. Nodal yerleşimli 107 (%48,2), ektranodal yerleşimli 115 (%51,8) olgu mevcut idi. (Tablo 13)

DBBHL olan 222 olgunun; 49'u (% 22,17) DBBHL, NOS GMB fenotipi, 127'si (%57,47) DBBHL, NOS non-GMB fenotipi, 12'si (%5,43) DBBHL, NOS daha ileri sınıflanamayan fenotip, 8'i (% 3,62) PMHL, 5'i (52,26) DBBHL %75+ FL G3, 3'ü (%1,36) EBV (+) DBBHL, 3'ü(%1,36) CD5(+) DBBHL, 3'ü (%1,36) DEL, 2'si (%0,90) Gri zon lenfoma, 2'si (%0,90) YDBHL, 2'si (%0,90) Richter transformasyonu sonucu DBBHL, 1'i (%0,45) THZBBHL, NOS, 1'i (%0,45) DHL, 1'i (%0,45) DBBHL, anaplastik varyant, 1'i (%0,45) Yüksek dereceli B-hücreli lenfoma, BL ile DBBHL arası özellikler gösteren, sınıflanamayan tanısı ile takiplidir.(Şekil 12).



Şekil 11: DBBHL olguların DSÖ 2017 sınıflaması alt-tiplere göre dağılımları

DBBHHL, NOS GMB fenotip ile takipli 49 olgunun 23'ü kadın (%46,9) 26'sı (%53,1) erkekti. Biyopsilerin 25'i (%51) eksizyonel, 24'ü (%49) insizyonel biyopsi şeklindeydi. Olguların 22'si (%44,9) nodal yerleşimli, 27'si (%55,1) ektranodal yerleşimliydi. Takipte 17 (%34,7) hasta kaybedilmişti.

DBBHL, NOS GMB yaş ortalaması $62,4 \pm 16$ yaş ortanca 65 yaştır. Takip süresi ortalama $29,9 \pm 20,2$ ay, ortanca 28 aydır. (Tablo 9)

DBBHL,NOS non GMB tipte 117 hastadan 58'i (%45,7) kadın 69'u (%54,3) erkekti. Biyopsilerin 57'si (%44,9) eksizyonel, 70'i (%55,1) insizyonel biyopsi şeklindeydi. Olguların 62'si (%48,8) nodal yerleşimli, 65'i (%51,2) ektranodal yerleşimliydi. Takipte 48 (%37,8) hasta kaybedilmişti. (Tablo 8).

DBBHL, NOS non-GMB yaş ortalaması $61,7 \pm 14,3$ yaş, ortanca 63 yaştır.

Takip süresi ortalama $28,4 \pm 23$ ay olup ortanca 65 aydır. (Tablo 9)

Tablo 8: DBBHL; NOS GMB ve non-GMB tipi demografik bilgiler ve sağkalım

	DBBHL, GMB		DBBHL, non GMB		p
	n	%	n	%	
Cinsiyet					
Kadın	23	%46,9	58	%45,7	0,880
Erkek	26	%53,1	69	%54,3	
Biyopsi Şekli					
Eksizyon	25	%51,0	57	%44,9	0,464
İnsizyon	24	%49,0	70	%55,1	
Nodal / Ekstranodal					
Nodal	22	%44,9	62	%48,8	0,641
Ekstranodal	27	%55,1	65	%51,2	
Sağkalım					
Ölü	32	%65,3	79	%62,2	0,702
Sağ	17	%34,7	48	%37,8	

Tablo 9: DBBHL, NOS GMB ve non-GMB tipi yaş ve takip süresi

	DBBHL, GMB		DBBHL, non-GMB		p
	Ort.±s.s	Medyan	Ort.±s.s	Medyan	
Yaş	$62,4 \pm 16,0$	65,0	$61,7 \pm 14,3$	63,0	0,612
Takip Süresi (Ay)	$29,9 \pm 20,2$	28,0	$28,4 \pm 23,0$	23,0	0,535

DBBHL olgularında tPD-L1 yüzdesi %0-100 arasında değişmekle birlikte ortalama $16,7 \pm 25,6$ ortanca değer %5'tir. mPD-L1 ekspresyonu %0-50 arasında olup ortalama $8,3 \pm 11,3$, ortanca değer %0'dır (Resim 3, Resim 4, Resim 5, Resim 6).

DBBHL olgularında tPD-1 yüzdesi %0-80 arasında değişmekle birlikte ortalama $2,7 \pm 11,8$ ortanca değer %0'dır. mPD-1 ekspresyonu %0-60 arasında olup ortalama $4,5 \pm 12$, ortanca değer %0'dır (Resim 7 ve Resim 8).

DBBHL olgularında tCTLA-4 yüzdesi %0-40 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,2 \pm 4,6$, ortanca değer %0'dır. mCTLA-4 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $1,9 \pm 4,9$ olup ortanca değer %0'dır (Resim 14).

DBBHL olgularında tLAG-3 yüzdesi %0-80 arasında değişmekle birlikte ortalama $5,5 \pm 11,3$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $5,1 \pm 6,9$, ortanca değer %1'dir (Resim 9, Resim 10, Resim 11).

DBBHL olgularında tTIM-3 yüzdesi %0-50 arasında değişmekle birlikte ortalama $2,5 \pm 7,3$, ortanca değer %0'dır. mTIM-3 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $1,9 \pm 4,7$, ortanca değer %0'dır (Resim 12, Resim 13)

DBBHL olgularında tFOXP3 yüzdesi %0-5 arasında değişmekle birlikte ortalama $0 \pm 0,3$, ortanca değer %0'dır. mFOXP3ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $1,9 \pm 4,7$, ortanca değer %0'dır (Resim 15).

DBBHL olgularında olgularında tVISTA ekspresyonu %0-70 arasında değişmekte olup ortalama $1,3 \pm 7$, ortanca değer %0'dır. mVISTA ekspresyonu %0-70 arasında değişmekte olup ortalama $3 \pm 8,7$, ortanca değer %0'dır (Resim 16). (Tablo15)

DBBHL, GMB olgularda tPD-L1 yüzdesi %0-80 arasında değişmekle birlikte ortalama $7,7 \pm 17,4$, ortanca değer %0'tir. mPD-L1 ekspresyonu %0-30 arasında olup ortalama $6 \pm 8,5$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, GMB olgularda tPD-1 yüzdesi %0-50 arasında değişmekle birlikte ortalama $2,2 \pm 8,5$, ortanca değer %0'dır. mPD-L1 ekspresyonu %0-50 arasında olup ortalama $5,8 \pm 12,5$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, GMB olgularda tCTLA-4 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama $0,7 \pm 3,2$, ortanca değer %0'dır.. mCTLA-4 ekspresyonu %0-%50 arasında olup ortalama $5,8 \pm 12,5$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, GMB olgularda tLAG-3 yüzdesi %0-30 arasında değişmekle birlikte ortalama $2,6 \pm 5,9$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 ekspresyonu %0-%30 arasında olup ortalama $4,4 \pm 6,3$, ortanca değer %1'dir.

DBBHL, GMB olgularda tTIM-3 yüzdesi %0-40 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,3 \pm 5,9$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $1,6 \pm 6$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, GMB olgularda tFOXP3 ekspresyonu mevcut değildir. mFOXP3ekspresyonu %0-40 arasında, ortalama $4,6 \pm 7,7$ olup ortanca değer %1'dir.

DBBHL, GMB olgularında tVISTA ekspresyonu %0-10 arasında değişmekte olup ortalama $0,4 \pm 1,7$, ortanca değer %0'dır. mVISTA ekspresyonu %0-5 arasında değişmekte olup ortalama $2,5 \pm 4,9$, ortanca değer %0'dır. (Tablo 11)

DBBHL, non-GMB olgularda tPD-L1 yüzdesi %0-100 arasında değişmekle birlikte ortalama $20,2 \pm 27,1$, ortanca değer %10'dur. mPD-L1 ekspresyonu %0-50 arasında, ortalama $9,2 \pm 12$ olup ortanca değer %5'tir.

DBBHL, GMB olgularda tPD-1 yüzdesi %0-50 arasında değişmekle birlikte ortalama $2,2 \pm 8,5$, ortanca değer %0'dır. mPD-L1 ekspresyonu %0-50 arasında olup ortalama $5,8 \pm 12,5$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, non-GMB olgularda tCTLA-4 yüzdesi %0-30 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,1 \pm 4,1$, ortanca değer %0'dır. mCTLA-4 ekspresyonu %0-30 arasında olup ortalama $1,4 \pm 4,2$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, non-GMB olgularda tLAG-3 yüzdesi %0-80 arasında değişmekle birlikte ortalama $6,5 \pm 13,1$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $5,4 \pm 7$, ortanca değer %5'tir.

DBBHL, non-GMB olgularda tTIM-3 yüzdesi %0-50 arasında değişmekle birlikte ortalama $2,9 \pm 8,1$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama $1,8 \pm 3,9$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, non-GMB olgularda tFOXP3 yüzdesi %0-5 arasında değişmekle birlikte ortalama $0 \pm 0,5$, ortanca değer %0'dır. mFOXP3 ekspresyonu %0-30 arasında olup ortalama $2,2 \pm 4,4$, ortanca değer %0'dır.

DBBHL, non -GMB olgularında tVISTA ekspresyonu %0-20 arasında değişmekte olup ortalama $0,6 \pm 2,7$, ortanca değer %0'dır. mVISTA ekspresyonu %0-30 arasında değişmekte olup ortalama $2,5 \pm 4,9$, ortanca değer %0'dır. (Tablo 11)

DBBHL, non-GMB grubunda tPD-L1 ve tLAG-3 yüzdesi ile pozitif olan hasta oranı DBBHL, GMB grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). DBBHL GMB ve non -GMB grubunda tümörde tPD-1, tCTLA-4, tTIM-3, tFOXP3 ve tVISTA yüzdesi ve pozitif hasta oranı, anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Tablo 10)

DBBHL, non-GMB grubunda mFOXP3 ve mPD-1 yüzdesi ile pozitif olan hasta oranı DBBHL-GMB grubundan anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). DBBHL, non-GMB ve DBBHL, GMB grupları arasında mPD-L1, mCTLA-4, mLAG-3, mTIM-3 ve mVISTA ekspresyon yüzdesi ve pozitif olan hasta oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). (Tablo 12).

Burkitt lenfoma olguları toplam olguların %8'ini oluşturmaktadır. BL olgularının 6'sı(%28,6) kadın, 15'i (%71,4) erkekti. On (%47,6) olgu nodal yerleşimli 11 (%61,9) olgu ektranodal yerleşimliydi. Olguların 12'si (%57,1) insizyonel, 9'u eksizyonel biyopsi şeklinde örneklenmişti. (Tablo 13).

DBBHL grubunda hastaların yaşı BL grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.05$). DBBHL ve BL grubunda hastaların cinsiyet dağılımı biyopsi şekli, nodal/ektranodal oranı, sağkalım oranı ve takip süresi anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). (Tablo 13).

BL olgularında tPD-L1 yüzdesi %0-10 arasında değişmekle birlikte ortalama $0,5\pm2,2$, ortanca değer %0'dır. mPD-L1 ekspresyonu %0-30 arasında olup ortalama $7,8\pm8,7$, ortanca değer %0'dır.

BL olgularında tPD-1 ekspresyonu görülememiştir. mPD-1 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama $1,9\pm5,1$, ortanca değer %0'dır.

BL olgularında tCTLA-4 ve m CTLA-4 ekspresyonu görülmemiştir.

Tablo 10: DBBHL, NOS GMB fenotip ve non-GMB fenotip immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları

		DBBHL, GMB		DBBHL, non-GMB		p
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan	
Tümör						
PD-L1		7,7 ± 17,4	0,0	20,2 ± 27,1	10,0	0,000 ^m
PD-L1	Negatif	32	%65,3	49	%39,2	0,002 ^{X²}
	Pozitif	17	%34,7	76	%60,8	
CTLA4		0,7 ± 3,2	0,0	1,1 ± 4,1	0,0	0,715 ^m
CTLA4	Negatif	44	%91,7	108	%90,0	0,740 ^{X²}
	Pozitif	4	%8,3	12	%10,0	
LAG3		2,6 ± 5,9	0,0	6,5 ± 13,1	0,0	0,033 ^m
LAG3	Negatif	38	%77,6	77	%61,1	0,040 ^{X²}
	Pozitif	11	%22,4	49	%38,9	
TIM3		1,3 ± 5,9	0,0	2,9 ± 8,1	0,0	0,123 ^m
TIM3	Negatif	44	%89,8	101	%80,2	0,129 ^{X²}
	Pozitif	5	%10,2	25	%19,8	
FOXP3		0,0 ± 0,0	0,0	0,0 ± 0,5	0,0	0,375 ^m
FOXP3	Negatif	49	%100,0	123	%98,4	1,000 ^{X²}
	Pozitif	0	%0,0	2	%1,6	
PD-1		2,2 ± 8,5	0,0	3,9 ± 14,7	0,0	0,844 ^m
PD-1	Negatif	44	%89,8	114	%91,2	0,773 ^{X²}
	Pozitif	5	%10,2	11	%8,8	
VISTA		0,4 ± 1,7	0,0	0,6 ± 2,7	0,0	0,584 ^m
VISTA	Negatif	45	%91,8	118	%94,4	0,532 ^{X²}
	Pozitif	4	%8,2	7	%5,6	
^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test						

Tablo 11: DBBHL, NOS GMB ve non-GMB fenotipler immün belirteç ekspresyonları yüzde oranlarının karşılaştırılması

	DBBHL, GMB				DBBHL, non GMB				p
	Ort.±s.s	Medyan	Min.- Mak.	n	Ort.±s.s	Medyan	Min.- Mak.	n	
Tümör									
PDL-L1	7,7 ± 17,4	0	0,0 - 80,0	17	20,2 ± 27,1	10	0,0 - 100	76	0,000
CTLA4	0,7 ± 3,2	0	0,0 - 20,0	4	1,1 ± 4,1	0	0,0 - 30	12	0,715
LAG3	2,6 ± 5,9	0	0,0 - 30,0	11	6,5 ± 13,1	0	0,0 - 80	49	0,033
TIM3	1,3 ± 5,9	0	0,0 - 40,0	5	2,9 ± 8,1	0	0,0 - 50	25	0,123
FOXP3	0,0 ± 0,0	0	0,0 - 0,0	0	0,0 ± 0,5	0	0,0 - 5	2	0,375
PD-1	2,2 ± 8,5	0	0,0 - 50,0	5	3,9 ± 14,7	0	0,0 - 80	11	0,844
VİSTA	0,4 ± 1,7	0	0,0 - 10,0	4	0,6 ± 2,7	0	0,0 - 20	7	0,584
Mikroçevre									
PDL-L1	6,0 ± 8,5	0	0,0 - 30,0	21	9,2 ± 12,0	5	0,0 - 50	64	0,173
CTLA4	1,3 ± 4,6	0	0,0 - 30,0	13	1,4 ± 4,2	0	0,0 - 30	26	0,626
LAG3	4,4 ± 6,3	1	0,0 - 30,0	19	5,4 ± 7,0	5	0,0 - 40	73	0,654
TIM3	1,6 ± 6,0	0	0,0 - 40,0	13	1,8 ± 3,9	0	0,0 - 20	46	0,187
FOXP3	4,6 ± 7,7	1	0,0 - 40,0	28	2,2 ± 4,4	0	0,0 - 30	49	0,018
PD-1	5,8 ± 12,5	0	0,0 - 50,0	15	4,0 ± 12,1	0	0,0 - 60	20	0,042
VİSTA	1,1 ± 2,0	0	0,0 - 5,0	13	2,5 ± 4,9	0	0,0 - 30	44	0,163
m Mann-whitney u test									

BL olgularında tLAG-3 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama $1 \pm 4,4$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama $2,2 \pm 4,9$, ortanca değer %0'dır.

BL olgularında tTIM-3 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,5 \pm 4,5$, ortanca değer %0'dır. mTIM-3 ekspresyonu %0-5 arasında olup ortalama $0,3 \pm 1,1$, ortanca değer %0'dır.

BL olgularında tFOXP3 ekspresyonu mevcut değildir. mFOXP3 ekspresyonu %0-50 arasında, ortalama $1,7 \pm 2,2$, ortanca değer %1'dir.

BL olgularında tVISTA ekspresyonu %0-30 arasında değişmekte olup ortalama $1,7 \pm 6,6$, ortanca değer %0'dır. mVISTA ekspresyonu %0-30 arasında değişmekte olup ortalama $1,8 \pm 6,6$, ortanca değer %0'dır. (Tablo 15)

DBBHL grubunda tPDL-L1 ve tLAG-3 yüzdesi ile pozitif olan hasta oranı BL grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). DBBHL ve BL arasında tPD-1, tCTLA-4, tTIM-3, tFOXP3, tVISTA yüzdesi ve pozitif hasta oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Tablo 16)

DBBHL grubunda tümör mikroçevresinde CTLA4 yüzdesi ve CTLA4 pozitif olan hasta oranı, LAG-3 yüzdesi ve LAG-3 pozitif olan hasta oranı, TIM-3 yüzdesi ve TIM-3 pozitif olan hasta oranı BL grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). DBBHL ve BL arasında mPD-L1, mPD-1, mFOXP3, mVISTA yüzdesi ve pozitif hasta oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Tablo 17)

Tablo 12: DBBHL, NOS GMB fenotip ve non-GMB fenotip immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları

		DBBHL, GMB		DBBHL, non-GMB		p
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan	
Mikroçevre						
PDL-L1		6,0 ± 8,5 0,0		9,2 ± 12,0 5,0		0,173 ^m
PD-L1	Negatif	28	%57,1	61	%48,8	0,322 ^{X²}
	Pozitif	21	%42,9	64	%51,2	
CTLA4		1,3 ± 4,6 0,0		1,4 ± 4,2 0,0		0,626 ^m
CTLA4	Negatif	35	%72,9	94	%78,3	0,453 ^{X²}
	Pozitif	13	%27,1	26	%21,7	
LAG3		4,4 ± 6,3 1,0		5,4 ± 7,0 5,0		0,654 ^m
LAG3	Negatif	19	%38,8	53	%42,1	0,691 ^{X²}
	Pozitif	30	%61,2	73	%57,9	
TIM3		1,6 ± 6,0 0,0		1,8 ± 3,9 0,0		0,187 ^m
TIM3	Negatif	36	%73,5	80	%63,5	0,210 ^{X²}
	Pozitif	13	%26,5	46	%36,5	
FOXP3		4,6 ± 7,7 1,0		2,2 ± 4,4 0,0		0,018 ^m
FOXP3	Negatif	21	%42,9	76	%60,8	0,032 ^{X²}
	Pozitif	28	%57,1	49	%39,2	
PD-1		5,8 ± 12,5 0,0		4,0 ± 12,1 0,0		0,042 ^m
PD-1	Negatif	34	%69,4	105	%84,0	0,031 ^{X²}
	Pozitif	15	%30,6	20	%16,0	
VISTA		1,1 ± 2,0 0,0		2,5 ± 4,9 0,0		0,163 ^m
VISTA	Negatif	36	%73,5	81	%64,8	0,273 ^{X²}
	Pozitif	13	%26,5	44	%35,2	
^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test						

Tablo 13: DBBHL ve BL demografik bilgiler ve sağkalım karşılaştırma

	DBBHL		BL		p
	n	%	n	%	
Cinsiyet					
Kadın	103	%46,4	6	%28,6	0,116
Erkek	119	%53,6	15	%71,4	
Biyopsi Şekli					
Eksizyon	105	%47,3	9	%42,9	0,697
İnsizyon	117	%52,7	12	%57,1	
Nodal/ Ekstranodal					
Nodal	107	%48,2	10	%47,6	0,960
Ekstranodal	115	%51,8	11	%52,4	
Sağkalım					
Ölü	136	%61,3	13	%61,9	0,954
Sağ	86	%38,7	8	%38,1	

Tablo 14: DBBHL ve BL yaş ve takip süresi karşılaştırma

	DBBHL		BL		p
	Ort.±s.s	Medyan	Ort.±s.s	Medyan	
Yaş	61,4 ± 15,5	63,5	42,2 ± 28,9	42,0	0,001
Takip Süresi (Ay)	28,0 ± 22,0	24,0	30,5 ± 27,4	25,0	0,953

Tablo 15: DBBHL ve BL immün belirteç ekspresyonları yüzde oranlarının karşılaştırılması

	DBBHL				BL				p
	Ort.±s.s	Medyan	Min.- Mak.	n	Ort.±s.s	Medyan	Min.- Mak.	n	
Tümör									
PDL-L1	16,7 ± 25,6	5	0,0 - 100	112	0,5 ± 2,2	0	0,0 - 10	1	0,000
CTLA4	1,2 ± 4,6	0	0,0 - 40	23	0,0 ± 0,0	0	0,0 - 0	0	0,114
LAG3	5,5 ± 11,3	0	0,0 - 80	75	1,0 ± 4,4	0	0,0 - 20	1	0,009
TIM3	2,5 ± 7,3	0	0,0 - 50	40	1,5 ± 4,5	0	0,0 - 20	4	0,969
FOXP3	0,0 ± 0,3	0	0,0 - 5	2	0,0 ± 0,0	0	0,0 - 0	0	0,661
PD-1	2,7 ± 11,8	0	0,0 - 80	16	0,0 ± 0,0	0	0,0 - 0	0	0,202
VISTA	1,3 ± 7,0	0	0,0 - 70	17	1,7 ± 6,6	0	0,0 - 30	3	0,324
Mikroçevre									
PDL-L1	8,3 ± 11,3	0	0,0 - 50	106	7,9 ± 8,7	10	0,0 - 30	12	0,726
CTLA4	1,6 ± 4,9	0	0,0 - 40	50	0,0 ± 0,0	0	0,0 - 0	0	0,013
LAG3	5,1 ± 6,9	1	0,0 - 40	124	2,2 ± 4,9	0	0,0 - 20	7	0,028
TIM3	1,9 ± 4,7	0	0,0 - 40	76	0,3 ± 1,1	0	0,0 - 5	12	0,020
FOXP3	2,7 ± 5,3	0	0,0 - 40	98	1,7 ± 2,2	1	0,0 - 5	3	0,704
PD-1	4,5 ± 12,0	0	0,0 - 60	43	1,9 ± 5,1	0	0,0 - 20	3	0,514
VISTA	3,0 ± 8,7	0	0,0 - 70	74	1,8 ± 6,6	0	0,0 - 30	4	0,153
Mann-whitney u test									

Tablo 16: DBBHL ve BL immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları

		DBBHL		BL		p	
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan		
Tümör							
PD-L1		16,7 ± 25,6		5,0	0,5 ± 2,2	0,0	0,000 ^m
PD-L1	Negatif	107	%48,9	20	%95,2	0,000 ^{X²}	
	Pozitif	112	%51,1	1	%4,8		
CTLA4		1,2 ± 4,6		0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,114 ^m
CTLA4	Negatif	190	%89,2	21	%100,0	0,113 ^{X²}	
	Pozitif	23	%10,8	0	%0,0		
LAG3		5,5 ± 11,3		0,0	1,0 ± 4,4	0,0	0,009 ^m
LAG3	Negatif	146	%66,1	20	%95,2	0,006 ^{X²}	
	Pozitif	75	%33,9	1	%4,8		
TIM3		2,5 ± 7,3		0,0	1,5 ± 4,5	0,0	0,969 ^m
TIM3	Negatif	181	%81,9	17	%81,0	0,914 ^{X²}	
	Pozitif	40	%18,1	4	%19,0		
FOXP3		0,0 ± 0,3		0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,661 ^m
FOXP3	Negatif	217	%99,1	21	%100,0	1,000 ^{X²}	
	Pozitif	2	%0,9	0	%0,0		
PD-1		2,7 ± 11,8		0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,202 ^m
PD-1	Negatif	204	%92,7	21	%100,0	0,373 ^{X²}	
	Pozitif	16	%7,3	0	%0,0		
VISTA		1,3 ± 7,0		0,0	1,7 ± 6,6	0,0	0,324 ^m
VISTA	Negatif	203	%92,3	18	%85,7	0,395 ^{X²}	
	Pozitif	17	%7,7	3	%14,3		
^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test							

Foliküler lenfoma Grade 3 olguların 13'ü Grade 3A, 4'ü Grade 3B FL ile takiplidir. Olguların 7'si (%41,2) kadın, 10'u (%58,8) erkekti. 14 (%82,4) olgu nodal, 3 (%17,6) olgu ektranodal yerleşimliydi. Olguların 4'ü (%23,5) insizyonel, 13'ü (%76,5) eksizyonel biyopsi şeklinde örneklenmişti. (Tablo 18)

FL olgularında tPD-L1 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama %2,1±5,3, ortanca değer %0'dır. mPD-L1 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama %13,5±12,1, ortanca değer %10'dur.

Tablo 17: DBBHL ve BL immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları

		DBBHL		BL		p
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan	
Mikroçevre						
PD-L1		8,3 ± 11,3		7,9 ± 8,7		0,726 ^m
PD-L1	Negatif	113	%51,6	9	%42,9	0,444 ^{X²}
	Pozitif	106	%48,4	12	%57,1	
CTLA4		1,6 ± 4,9		0,0 ± 0,0		0,013 ^m
CTLA4	Negatif	163	%76,5	21	%100,0	0,012 ^{X²}
	Pozitif	50	%23,5	0	%0,0	
LAG3		5,1 ± 6,9		2,2 ± 4,9		0,028 ^m
LAG3	Negatif	97	%43,9	14	%66,7	0,045 ^{X²}
	Pozitif	124	%56,1	7	%33,3	
TIM3		1,9 ± 4,7		0,3 ± 1,1		0,020 ^m
TIM3	Negatif	145	%65,6	19	%90,5	0,020 ^{X²}
	Pozitif	76	%34,4	2	%9,5	
FOXP3		2,7 ± 5,3		1,7 ± 2,2		0,704 ^m
FOXP3	Negatif	121	%55,3	9	%42,9	0,276 ^{X²}
	Pozitif	98	%44,7	12	%57,1	
PD-1		4,5 ± 12,0		1,9 ± 5,1		0,514 ^m
PD-1	Negatif	177	%80,5	18	%85,7	0,558 ^{X²}
	Pozitif	43	%19,5	3	%14,3	
VISTA		3,0 ± 8,7		1,8 ± 6,6		0,153 ^m
VISTA	Negatif	146	%66,4	17	%81,0	0,172 ^{X²}
	Pozitif	74	%33,6	4	%19,0	
^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test						

FL olgularında tPD-1 yüzdesi %0-30 arasında değişmekle birlikte ortalama %2,9 ±8,5, ortanca değer %0'dır. mPD-1 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama %17,1±16,5, ortanca değer %20'dir.

FL olgularında tCTLA-4 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama %3,2 ±6,8, ortanca değer %0'dır. mCTLA-4 ekspresyonu %0-10 arasında olup ortalama %2,9±3,6, ortanca değer %0'dır.

FL olgularında tLAG-3 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama %5,3±6,7, ortanca değer %5'tir. mLAG-3 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama %8,8±7,2, ortanca değer %5'tir.

FL olgularında tTIM-3 yüzdesi %0-5 arasında değişmekle birlikte ortalama $0,9 \pm 2$, ortanca değer %0'dır. mTIM-3 ekspresyonu %0-10 arasında olup ortalama $1,6 \pm 2,9$, ortanca değer %0'dır.

FL olgularında tFOXP3 ekspresyonu mevcut değildir. mFOXP3 ekspresyonu %0-20 arasında, ortalama $5,2 \pm 5,4$ olup ortanca değer %5'tir.

FL olgularında tVISTA ekspresyonu %0-20 arasında değişmekte olup ortalama $2,1 \pm 5$, ortanca değer %0'dır. mVISTA ekspresyonu %0-20 arasında değişmekte olup ortalama $3,5 \pm 5,5$, ortanca değer %0'dır. (Tablo 20)

Tablo 18: DBBHL ve FL demografik bilgiler ve sağkalım verileri karşılaştırma

	DBBHL		FL		p
	n	%	n	%	
<i>Cinsiyet</i>					
Kadın	103	% 46,4	7	% 41,2	0,677
Erkek	119	% 53,6	10	% 58,8	
<i>Biyopsi Şekli</i>					
Eksizyon	105	% 47,3	13	% 76,5	0,020
İnsizyon	117	% 52,7	4	% 23,5	
<i>Nodal / Ekstranodal</i>					
Nodal	107	% 48,2	14	% 82,4	0,007
Ekstranodal	115	% 51,8	3	% 17,6	
<i>Sağkalım</i>					
Ölü	136	% 61,3	12	% 70,6	0,445
Sağ	86	% 38,7	5	% 29,4	

Tablo 19: DBBHL ve FL yaş ve takip süresi karşılaştırma

	DBBHL		FL		p
	Ort.±s.s	Medyan	Ort.±s.s	Medyan	
Yaş	61,4 ± 15,5	63,5	60,2 ± 7,6	60,0	0,305
Takip Süresi (Ay)	28,0 ± 22,0	24,0	24,9 ± 15,7	27,0	0,874

Tablo 20: DBBHL ve FL immün belirteç ekspresyonları yüzde oranlarının karşılaştırılması

	DBBHL					FL					p
	Ort.±s.s	Medyan	Min.- Mak.	n	%	Ort.±s.s	Medyan	Min.- Mak.	n	%	
Tümör											
PDL-L1	16,7 ± 25,6	5	0,0 - 100	112		2,1 ± 5,3	0	0,0 - 20	3		0,004
CTLA4	1,2 ± 4,6	0	0,0 - 40	23		3,2 ± 6,8	0	0,0 - 20	4		0,098
LAG3	5,5 ± 11,3	0	0,0 - 80	75		5,3 ± 6,7	5	0,0 - 20	9		0,261
TIM3	2,5 ± 7,3	0	0,0 - 50	40		0,9 ± 2,0	0	0,0 - 5	3		0,827
FOXP3	0,0 ± 0,3	0	0,0 - 5	2		0,0 ± 0,0	0	0,0 - 0	0		0,693
PD-1	2,7 ± 11,8	0	0,0 - 80	16		2,9 ± 8,5	0	0,0 - 30	2		0,515
VISTA	1,3 ± 7,0	0	0,0 - 70	17		2,1 ± 5,0	0	0,0 - 20	4		0,052
Mikroçevre											
PDL-L1	8,3 ± 11,3	0	0,0 - 50	106		13,5 ± 12,1	10	0,0 - 40	13		0,032
CTLA4	1,6 ± 4,9	0	0,0 - 40	50		2,9 ± 3,6	0	0,0 - 10	8		0,018
LAG3	5,1 ± 6,9	1	0,0 - 40	124		8,8 ± 7,2	5	0,0 - 20	14		0,015
TIM3	1,9 ± 4,7	0	0,0 - 40	76		1,6 ± 2,9	0	0,0 - 10	6		0,907
FOXP3	2,7 ± 5,3	0	0,0 - 40	98		5,2 ± 5,4	5	0,0 - 20	13		0,006
PD-1	4,5 ± 12,0	0	0,0 - 60	43		17,1 ± 16,5	20	0,0 - 40	10		0,000
VISTA	3,0 ± 8,7	0	0,0 - 70	74		3,5 ± 5,5	0	0,0 - 20	7		0,375
Mann-whitney u test											

DBBHL ve FL grubunda hastaların yaşı ve cinsiyet dağılımı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). DBBHL grubunda insizyonel biyopsi oranı FL grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.05$). DBBHL grubunda ekstra nodal oranı FL grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.05$). DBBHL ve FL grubunda sağkalım oranı ve takip süresi anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). (Tablo 18, Tablo 19)

DBBHL grubunda tümörde PDL-L1 yüzdesi ve PDL-L1 pozitif olan hasta oranı FL grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.05$). DBBHL ile FL grubu arasında tPD-1, tCTLA-4, tLAG-3, tTIM-3, tFOXP3, tVISTA yüzdesi ve pozitif hasta oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). (Tablo 21)

Tablo 21: DBBHL ve FL immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları

		DBBHL		FL		p
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan	
Tümör						
PD-L1		16,7 ± 25,6		2,1 ± 5,3		0,004 ^m
PD-L1	Negatif	107	%48,9	14	%82,4	0,008 ^{x²}
	Pozitif	112	%51,1	3	%17,6	
CTLA4		1,2 ± 4,6		3,2 ± 6,8		0,098 ^m
CTLA4	Negatif	190	%89,2	13	%76,5	0,117 ^{x²}
	Pozitif	23	%10,8	4	%23,5	
LAG3		5,5 ± 11,3		5,3 ± 6,7		0,261 ^m
LAG3	Negatif	146	%66,1	8	%47,1	0,114 ^{x²}
	Pozitif	75	%33,9	9	%52,9	
TIM3		2,5 ± 7,3		0,9 ± 2,0		0,827 ^m
TIM3	Negatif	181	%81,9	14	%82,4	0,963 ^{x²}
	Pozitif	40	%18,1	3	%17,6	
FOXP3		0,0 ± 0,3		0,0 ± 0,0		0,693 ^m
FOXP3	Negatif	217	%99,1	17	%100,0	1,000 ^{x²}
	Pozitif	2	%0,9	0	%0,0	
PD-1		2,7 ± 11,8		2,9 ± 8,5		0,515 ^m
PD-1	Negatif	204	%92,7	15	%88,2	0,625 ^{x²}
	Pozitif	16	%7,3	2	%11,8	
VISTA		1,3 ± 7,0		2,1 ± 5,0		0,052 ^m
VISTA	Negatif	203	%92,3	13	%76,5	0,051 ^{x²}
	Pozitif	17	%7,7	4	%23,5	
^m Mann-whitney u test/ ^{x²} Ki-kare test						

DBBHL grubunda mikroçevrede PD-L1 yüzdesi ve PD-L1 pozitif hasta oranı, PD-1 yüzdesi ve PD-1 pozitif hasta oranı, CTLA4 ekspresyon yüzdesi ve CTLA4 pozitif olan hasta oranı, LAG-3 yüzdesi ve LAG-3 pozitif olan hasta oranı, FOXP3 yüzdesi ve FOXP3 pozitif olan hasta oranı, PD-1 yüzdesi ve PD-1 pozitif olan hasta oranı FL grubundan anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). DBBHL ve FL’da mTIM-3 ve mVISTA yüzdesi ile pozitif olan hasta oranı arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). (Tablo 22).

Eksitus olan grupta hastaların yaşı yaşayan gruptan anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.05$). (Tablo 23)

Yaşayan olgu grubunda tPD-L1 yüzdesi %0-100 arasında değişmekle birlikte ortalama $14,2 \pm 24,5$, ortanca değer %0'dır. mPD-L1 ekspresyonu %0-50 arasında olup ortalama $5,5 \pm 11,5$, ortanca değer %1'dir.

Yaşayan olgu grubunda tPD-1 yüzdesi %0-80 arasında değişmekle birlikte ortalama $3,4 \pm 13,2$, ortanca değer %0'dır. mPD-1 ekspresyonu %0-50 arasında değişmekte ve ortalama $4,7 \pm 11,4$, ortanca değer %0'dır.

Yaşayan olgu grubunda tCTLA-4 yüzdesi %0-40 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,2 \pm 4,6$ ortanca değer %0'dır. mCTLA-4 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $1,7 \pm 11,5$, ortanca değer %0'dır.

Yaşayan olgu grubunda tLAG-3 yüzdesi %0-50 arasında değişmekle birlikte ortalama $3,1 \pm 8,2$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 ekspresyonu %0-%40 arasında olup ortalama $2,2 \pm 5,2$, ortanca değer %0'dır.

Yaşayan olgu grubunda tTIM-3 yüzdesi %0-50 arasında değişmekle birlikte ortalama $3,1 \pm 8,2$, ortanca değer %0'dır. mTIM-3 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $2,2 \pm 5,2$, ortanca değer %0'dır.

Yaşayan olgu grubunda tFOXP3 yüzdesi %0-5 arasında değişmekle birlikte ortalama $0 \pm 0,4$ ortanca değer %0'dır. mFOXP3 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $3,3 \pm 5,4$, ortanca değer %0'dır.

Yaşayan olgu grubunda tVISTA yüzdesi %0-70 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,4 \pm 6,6$, ortanca değer %0'dır. mVISTA ekspresyonu %0-70 arasında olup ortalama $3,4 \pm 8,4$, ortanca değer %0'dır.

Eksitus olan olgu grubunda tPD-L1 yüzdesi %0-100 arasında değişmekle birlikte ortalama $14,7 \pm 24,2$, ortanca değer %0'dır. mPD-L1 ekspresyonu %0-50 arasında olup ortalama $8,6 \pm 10,7$, ortanca değer %3'tür.

Eksitus olan olgu grubunda tPD-1 yüzdesi %0-60 arasında değişmekle birlikte ortalama $1 \pm 6,6$, ortanca değer %0'dır. mPD-1 ekspresyonu %0-60 arasında olup ortalama $5,7 \pm 13,8$, ortanca değer %0'dır.

Eksitus olan olgu grubunda tCTLA-4 yüzdesi %0-40 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,2 \pm 4,8$, ortanca değer %0'dır. mCTLA-4 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama $1,3 \pm 4,5$, ortanca değer %0'dır.

Eksitus olan olgu grubunda tLAG-3 yüzdesi %0-40 arasında değişmekle birlikte ortalama $3,6 \pm 8$, ortanca değer %0'dır. mLAG-3 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama $4 \pm 5,9$, ortanca değer %0'dır.

Eksitus olan olgu grubunda tTIM-3 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,1 \pm 3,6$, ortanca değer %0'dır. mTIM-3 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama $11 \pm 2,9$, ortanca değer %0'dır.

Eksitus olan olgu grubunda tFOXP3 yüzdesi %0-1 arasında değişmekle birlikte ortalama $0 \pm 0,1$, ortanca değer %0'dır. mFOXP3 ekspresyonu %0-30 arasında olup ortalama $2,1 \pm 4,5$, ortanca değer %0'dır.

Eksitus olan olgu grubunda tVISTA yüzdesi %0-60 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,5 \pm 7,2$, ortanca değer %0'dır. mVISTA ekspresyonu %0-70 arasında olup ortalama $2,2 \pm 8,2$, ortanca değer %0'dır. (Tablo 24)

Eksitus olan grupta tümör LAG-3 yüzdesi ve LAG-3 pozitif olan hasta oranı, TIM-3 yüzdesi ve TIM-3 pozitif olan hasta oranı yaşayan gruptan anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Eksitus olan grup ile yaşayan grupta tPD-L1, tPD-1, tTIM-3, tFOXP3, tVISTA yüzdesi ve pozitif olan hasta oranı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). (Tablo25)

Eksitus olan grupta mikroçevrede CTLA4 ekspresyonu yüzdesi ve CTLA4 pozitif olan hasta oranı, LAG-3 ekspresyonu yüzdesi ve LAG-3 pozitif olan hasta oranı, FOXP3 ekspresyonu yüzdesi ve FOXP3 pozitif olan hasta oranı yaşayan gruptan anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Eksitus olan grup ile yaşayan grupta mPD-L1, mPD-1, mTIM-3, mVISTA yüzdesi ve pozitif olan hasta oranı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). (Tablo 26)

Tablo 22: DBBHL ve FL immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları

		DBBHL		FL		p
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan	
Mikroçevre						
PD-L1		8,3 ± 11,3	0,0	13,5 ± 12,1	10,0	0,032 ^m
PD-L1	Negatif	113	%51,6	4	%23,5	0,026 ^{X²}
	Pozitif	106	%48,4	13	%76,5	
CTLA4		1,6 ± 4,9	0,0	2,9 ± 3,6	0,0	0,018 ^m
CTLA4	Negatif	163	%76,5	9	%52,9	0,031 ^{X²}
	Pozitif	50	%23,5	8	%47,1	
LAG3		5,1 ± 6,9	1,0	8,8 ± 7,2	5,0	0,015 ^m
LAG3	Negatif	97	%43,9	3	%17,6	0,035 ^{X²}
	Pozitif	124	%56,1	14	%82,4	
TIM3		1,9 ± 4,7	0,0	1,6 ± 2,9	0,0	0,907 ^m
TIM3	Negatif	145	%65,6	11	%64,7	0,940 ^{X²}
	Pozitif	76	%34,4	6	%35,3	
FOXP3		2,7 ± 5,3	0,0	5,2 ± 5,4	5,0	0,006 ^m
FOXP3	Negatif	121	%55,3	4	%23,5	0,012 ^{X²}
	Pozitif	98	%44,7	13	%76,5	
PD-1		4,5 ± 12,0	0,0	17,1 ± 16,5	20,0	0,000 ^m
PD-1	Negatif	177	%80,5	7	%41,2	0,000 ^{X²}
	Pozitif	43	%19,5	10	%58,8	
VISTA		3,0 ± 8,7	0,0	3,5 ± 5,5	0,0	0,375 ^m
VISTA	Negatif	146	%66,4	10	%58,8	0,528 ^{X²}
	Pozitif	74	%33,6	7	%41,2	
^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test						

Tablo 23: Eksitus olan ve yaşayan hasta grubunda demografik bilgiler ve sağkalım verilerinin karşılaştırması

	Yaşayan		Eksitus		p
	n	%	n	%	
Cinsiyet					
Kadın	72	% 44,7	44	% 44,4	0,965
Erkek	89	% 55,3	55	% 55,6	
Biyopsi Şekli					
Eksizyon	77	% 47,8	50	% 50,5	0,675
İnsizyon	84	% 52,2	49	% 49,5	
Nodal / Ekstranodal					
Nodal	84	% 52,2	47	% 47,5	0,462
Ekstranodal	77	% 47,8	52	% 52,5	
Tanı					
DBBHL	136	% 84,5	86	% 86,9	0,747
BL	13	% 8,1	8	% 8,1	
FL	12	% 7,5	5	% 5,1	

Tablo 24: Eksitus olan ve yaşayan gruplarda immünbelirteçlerin yüzde ekspresyonlarının karşılaştırılması

	Yaşayan				Eksitus				p
	Ort.±s.s	Medyan	Min. -Mak.	n	Ort.±s.s	Medyan	Min.- Mak.	n	
Tümör									
PDL-L1	14,2 ± 24,5	0,0	0 - 100	71	14,7 ± 24,2	0	0 - 100	45	0,708
CTLA4	1,2 ± 4,6	0,0	0 - 40	20	1,2 ± 4,8	0	0 - 30	7	0,206
LAG3	6,0 ± 12,0	0,0	0 - 80	62	3,6 ± 8,0	0	0 - 40	23	0,021
TIM3	3,1 ± 8,2	0,0	0 - 50	37	1,1 ± 3,6	0	0 - 20	10	0,011
FOXP3	0,0 ± 0,4	0,0	0 - 5	1	0,0 ± 0,1	0	0 - 1	1	0,724
PD-1	3,4 ± 13,2	0,0	0 - 80	15	1,0 ± 6,6	0	0 - 60	3	0,050
VISTA	1,4 ± 6,6	0,0	0 - 70	16	1,5 ± 7,2	0	0 - 60	8	0,650
Mikroçevre									
PDL-L1	8,6 ± 11,5	1,0	0 - 50	81	8,6 ± 10,7	3	0 - 50	50	0,843
CTLA4	1,7 ± 4,8	0,0	0 - 40	43	1,3 ± 4,5	0	0 - 30	15	0,041
LAG3	5,8 ± 7,3	5,0	0 - 40	98	4,0 ± 5,9	0	0 - 20	47	0,024
TIM3	2,2 ± 5,2	0,0	0 - 40	56	1,1 ± 2,9	0	0 - 20	28	0,175
FOXP3	3,3 ± 5,4	1,0	0 - 40	87	2,1 ± 4,5	0	0 - 30	36	0,008
PD-1	4,7 ± 11,4	0,0	0 - 50	33	5,7 ± 13,8	0	0 - 60	23	0,626
VISTA	3,4 ± 8,4	0,0	0 - 70	56	2,2 ± 8,2	0	0 - 60	29	0,140

m Mann-whitney u test

Tablo 25: Eksitus olan ve yaşayan hasta gruplarında immün belirteçlerin tümörde ekspresyon oranları

		Yaşayan		Eksitus		p
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan	
Tümör						
PD-L1		14,2 ± 24,5	0,0	14,7 ± 24,2	0,0	0,708 ^m
PD-L1	Negatif	88	%54,7	53	%53,5	0,843 ^{X²}
	Pozitif	71	%44,1	45	%45,5	
CTLA4		1,2 ± 4,6	0,0	1,2 ± 4,8	0,0	0,206 ^m
CTLA4	Negatif	135	%87,1	89	%92,7	0,163 ^{X²}
	Pozitif	20	%12,9	7	%7,3	
LAG3		6,0 ± 12,0	0,0	3,6 ± 8,0	0,0	0,021 ^m
LAG3	Negatif	99	%61,5	75	%76,5	0,012 ^{X²}
	Pozitif	62	%38,5	23	%23,5	
TIM3		3,1 ± 8,2	0,0	1,1 ± 3,6	0,0	0,011 ^m
TIM3	Negatif	124	%77,0	88	%89,8	0,010 ^{X²}
	Pozitif	37	%23,0	10	%10,2	
FOXP3		0,0 ± 0,4	0,0	0,0 ± 0,1	0,0	0,724 ^m
FOXP3	Negatif	159	%99,4	96	%99,0	1,000 ^{X²}
	Pozitif	1	%0,6	1	%1,0	
PD-1		3,4 ± 13,2	0,0	1,0 ± 6,6	0,0	0,050 ^m
PD-1	Negatif	144	%90,6	96	%97,0	0,050 ^{X²}
	Pozitif	15	%9,4	3	%3,0	
VISTA		1,4 ± 6,6	0,0	1,5 ± 7,2	0,0	0,650 ^m
VISTA	Negatif	144	%90,0	90	%91,8	0,622 ^{X²}
	Pozitif	16	%10,0	8	%8,2	
^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test						

Tablo 26: Eksitus olan ve yaşayan hasta gruplarında immün belirteçlerin mikroçevrede ekspresyon oranları

		Yaşayan		Eksitus		P			
		Ort.±s.s /n-%	Medyan	Ort.±s.s /n-%	Medyan				
Mikroçevre									
PD-L1		8,6 ± 11,5		1,0		8,6 ± 10,7	3,0	0,843 ^m	
PD-L1	Negatif	78	%49,1	48		%49,0		0,990 ^{X²}	
	Pozitif	81	%50,9	50		%51,0			
CTLA4		1,7 ± 4,8		0,0		1,3 ± 4,5		0,0	0,041 ^m
CTLA4	Negatif	112	%72,3	81		%84,4		0,027 ^{X²}	
	Pozitif	43	%27,7	15		%15,6			
LAG3		5,8 ± 7,3		5,0		4,0 ± 5,9		0,0	0,024 ^m
LAG3	Negatif	63	%39,1	51		%52,0		0,042 ^{X²}	
	Pozitif	98	%60,9	47		%48,0			
TIM3		2,2 ± 5,2		0,0		1,1 ± 2,9		0,0	0,175 ^m
TIM3	Negatif	105	%65,2	70		%71,4		0,300 ^{X²}	
	Pozitif	56	%34,8	28		%28,6			
FOXP3		3,3 ± 5,4		1,0		2,1 ± 4,5		0,0	0,008 ^m
FOXP3	Negatif	73	%45,6	61		%62,9		0,007 ^{X²}	
	Pozitif	87	%54,4	36		%37,1			
PD-1		4,7 ± 11,4		0,0		5,7 ± 13,8		0,0	0,626 ^m
PD-1	Negatif	126	%79,2	76		%76,8		0,639 ^{X²}	
	Pozitif	33	%20,8	23		%23,2			
VISTA		3,4 ± 8,4		0,0		2,2 ± 8,2		0,0	0,140 ^m
VISTA	Negatif	104	%65,0	69		%70,4		0,370 ^{X²}	
	Pozitif	56	%35,0	29		%29,6			
^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test									

Tek değişkenli modelde yaş, mikroçevrede CTLA4, tümör ve mikroçevrede LAG 3, tümörde TIM-3, ve mikroçevrede FOXP3 ekspresyonun sağkalım süresi üzerine anlamlı etkisi gözlenmiştir (p<0.05). (Tablo 27)

Çok değişkenli modelde yaş, tümörde LAG-3 ekspresyonun sağkalım süresi üzerine anlamlı-bağımsız etkisi gözlenmiştir (p<0.05). (Tablo 27)

Tablo 27: Cox Regresyon Analizi

	Tek Değişkenli Model			Çok Değişkenli Model		
	HR	% 95 GA	p	HR	% 95 GA	p
Yaş	1,047	1,030 - 1,064	0,000	1,052	1,034 - 1,070	0,000
Cinsiyet	1,011	0,680 - 1,503	0,959			
Nodal / Ekstranodal	1,167	0,787 - 1,732	0,443			
Tanı	0,891	0,606 - 1,311	0,558			
PD-L1 Tümör (-)/(+)	1,042	0,700 - 1,551	0,838			
PDL-L1 MÇ (-)/(+)	1,051	0,707 - 1,563	0,805			
CTLA4 Tümör (-)/(+)	0,624	0,289 - 1,346	0,229			
CTLA4 MÇ (-)/(+)	0,573	0,330 - 0,995	0,048			
LAG3 Tümör (-)/(+)	0,559	0,350 - 0,892	0,015	0,622	0,388 - 0,996	0,048
LAG3 MÇ (-)/(+)	0,653	0,439 - 0,971	0,035			
TIM3 Tümör (-)/(+)	0,454	0,236 - 0,874	0,018			
TIM3 MÇ (-)/(+)	0,785	0,506 - 1,217	0,279			
FOXP3 Tümör (-)/(+)	1,351	0,188 - 9,705	0,765			
FOXP3 MÇ (-)/(+)	0,618	0,409 - 0,934	0,022			
PD-1 Tümör (-)/(+)	0,353	0,112 - 1,113	0,076			
PD-1 MÇ (-)/(+)	1,099	0,689 - 1,753	0,692			
VİSTA Tümör (-)/(+)	0,904	0,438 - 1,864	0,785			
VİSTA MÇ (-)/(+)	0,789	0,511 - 1,218	0,285			
Lojistik Regresyon (Forward LR)						

5. TARTIŞMA

İmmünoterapi son yıllarda gündeme gelmiş olsa da eski yazıtlarda antik Mısırdaki enfeksiyon ve ateşin tümörde spontan regresyona neden olduğuna dair bulgular bulunmuştur. Ancak bu konu ile ilgili ilk yazılı kaynaklar 1890'lı yıllardan günümüze ulaşmıştır. İlk olarak iki Alman araştırmacı Fehleisen ve Busch tarafından erizipel enfeksiyonu izlenen olgularda spontan tümör regresyonunu birbirinden bağımsız olarak bildirmişlerdir. Ancak bu konuda en önemli bulguları kemik tümörü olan olgularda erizipel oluşturarak tümörde regresyon bildiren ve immünoterapinin babası olarak bilinen William Bradley Coley'dir. Bu araştırma alanında diğer bir dönüm noktası ise 1957 yılında Thomas ve Burnett'in immün sürveyans hipotezini ilk kez ortaya atmalarıdır. İmmün sürveyans ve immünolojik mekanizmaların tanımlanmasından sonra immün kaçış mekanizmaları tanımlanmış, monoklonal antikor tedavileri geliştirilmiş, immün yetmezlikli hastalarda tümörlerin daha yüksek riskli olması gibi çeşitli keşifler yapılmıştır (74). Robert D. Schreiber ve Lloyd J. Old, Mark, J. Smyth'in 2000'li yılların başında yayınladıkları çalışmalar ile immün sürveyans hipotezi kanıtlanmıştır (75-77).

Bu konuda diğer önemli gelişme ise 1992'de yayınlanan makalesi ile Tasuku Honjo ve 1995'te yayınlanan makalesi ile James Patrick Allison 2018'de Fizyoloji ve Tıp Alanında Nobel ödülü almışlardır (78, 79).

İmmün kontrol noktası inhibitörü CTLA-4 antagonisti olan İpilimumab 2011 yılında ilk kez rezeke edilemeyen malign melanom olguları için FDA onayı almıştır. Günümüzde ise başta akciğer adenokarsinomu ve malign melanom olmak üzere invaziv meme karsinomu, ürotelyal karsinom, endometrial karsinom,

mezotelyoma, kolorektal karsinomlar, hepatoselüler karsinom, özofagial skuamöz hücreli karsinom ve rezeke edilemeyen solid tümörlerde kombine ya da ilk basamak tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (80).

Diffüz büyük B- hücreli lenfoma tedavisinde ise ilk bulunan monoklonal antikor olan Rituksimab ve CHOP tedavisinin kullanılması sonucu olguların yaklaşık %60'ı kür olmaktadır (81). Olguların diğer kısmı olan relapse/refrakter(R/R) grupta ise R-CHOP tedavisine ek olarak çeşitli kemoterapotik ajanlar (lenolidomid, bortezomib, ibrutinib vb.) eklenmektedir. (81). 2016 yılında R/R Hodgkin lenfomalarda anti PD-1 bir ajan olan Nivolumab, 2018 yılında ise Pembrolizumab R/R PMBHL 'de FDA onayı almıştır(2, 80). Son yıllarda ise immün kontrol noktası inhibitörlerinin lenfoma olgularında kullanımı ile ilgili klinik çalışmalar yürütülmektedir.

5.1. PD-1 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması

B- hücreli lenfomalarda PD-1 değerlendirmesinde literatürde farklı değerlendirme yöntemleri ve kestirim değerleri kullanılmıştır. Bazı çalışmalarda herhangi bir hücrede boyanma görülmesi pozitif kabul edilirken, bazılarında “ekspresyon yüzdesi x boyanma yoğunluğu” formülü ile hesaplanan H skoru üzerinden, bazılarında yüzde boyanmanın ortanca değeri ya da büyük büyütme alanında sayılan PD-1 pozitif hücrelerin ortanca değeri kestirim değeri olarak kabul edilmiştir (82-84). Bizim çalışmamızda PD-1 tüm tanı gruplarında tümör ve tümör mikroçevresindeki immün hücrelerde değerlendirilmiştir. Tüm olgularda tPD-1 yüzde oranı %0- 80 arasında değişmekte olup ortalama $2,5 \pm 11,2$, ortanca değer

0'dır. mPD-1 yüzde oranları % 0-60 arasında olup ortalama % $5,1 \pm 12,3$ ortalama değer 0'dır. Bizim çalışmamızda ortalama değerlerimiz 0 olduğundan ekspresyon var ya da yok şeklinde değerlendirme yapılmıştır.

DBBHL olgularında tPD-1 pozitif olan 18 (5 olgu GMB, 11 olgu non-GMB) olgu mevcuttur. tPD-1 yüzdesi %0-80 arasında değişmekle birlikte ortalama % $2,7 \pm 11,8$ ortalama değer %0'dır. mPD-1 56 olguda (15 olgu GMB, 20 olgu non-GMB) pozitifdir. mPD-1 ekspresyonu %0-60 arasında olup ortalama % $4,5 \pm 12$ olup ortalama değer %0'dır.

Ko ve ark. tarafından yapılan 63 olguyu kapsayan bir çalışmada DBBHL, NOS olgular PD-1 ekspresyonu açısından mikroarray blokları oluşturularak immünohistokimyasal olarak incelenmiş ve immün hücrelerde 20 PD-1 (+) hücre/BBA pozitif kabul edilmiştir. DBBHL, NOS non-GMB ve GMB fenotipler arasında anlamlı ekspresyon farkı bulunmamıştır. Yine bu hastalarda sağkalım analizi yapılmış olup PD-1 yüksek ekspresyon gösteren olgularda sayısal olarak daha fazla eksitus görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır(85). Bizim çalışmamızda DBBHL, NOS non-GMB ve DBBHL NOS GMB fenotip mPD-1 pozitifliği açısından kıyaslandığında DBBHL non-GMB grubunda mPD-1 yüzdesi ve pozitif olan hasta oranı DBBHL-GMB grubundan anlamlı olarak daha düşüktü. Bu uyumsuzluğun örneklem büyüklüklerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmüştür ($p < 0.05$). tPD-1 açısından DBBHL, NOS non-GMB ve GMB fenotipler arasında anlamlı ekspresyon farkı bulunmamıştır.

Zhang ve ark. yaptığı bir çalışmada 60 olgu periferik kandan akım sitometrik yöntem ile analiz edilmiş olup bu olguların 31'inde PD-1 ekspresyonu “ekspresyon yüzdesi x boyanma yoğunluğu” formülü ile hesaplanan H skoru üzerinden immünhistokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda periferik kanda CD4+ hücrelerde yüksek PD-1 ekspresyonunun düşük genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır. İmmünhistokimyasal boyamada PD-1 pozitif ve negatif olgular karşılaştırıldığında pozitif olan grupta genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım anlamlı olarak düşük bulunsada istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır (86).

Bizim çalışmamızda eksitus olan ve yaşayan grupta tPD-1 ve mPD-1 yüzde ve pozitifliğinin oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). Literatürde de bu konuda çeşitli farklılıklar mevcuttur. Bu farklılıkların örneklem büyüklükleri ve PD-1 değerlendirmesinde optimal bir değerlendirme metodunun olmayışının etkili olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bir çalışmada BL'da tümör mikroçevresinde belirgin olarak M2 makrofajlar, CD8 lenfositler bulunurken Treg ve M1 makrofajların düşük oranda yer aldığı görülmüştür. Aynı çalışmada CD8/Granzim/ PD-1 çoklu boyamada CD8+ T- hücrelerinde endemik ve immün yetmezlik ilişkili BL'da %60-80 oranında ekspresyon görülmesine karşın EBV'nin çoğunlukla negatif olduğu sporadik olgularda PD-1 ekspresyonu %20-40 olup daha düşük oranda bulunmuştur (87). Muenst ve ark. yaptığı çalışmada BL olgularının toplam sayısı 7 olup 3'ünde tümör mikroçevresinde PD-1 ekspresyonu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Ancak bu olguların takip verilerine ulaşamadığından prognostik önemi hakkında daha

ileri istatistiksel analiz yapılamamıştır(88). Bizim çalışmamızda DBBHL ve BL arasında tPD-1 ya da mPD-1 pozitifliği açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Lenfoma olgularında tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliğine dair çeşitli makaleler yayınlanmış olsa da bu konuda lenfoma alt-tiplerinde kıyaslama yapan bir yayın yoktur. Bizim çalışmamızda BL olgularında tPD-1 ekspresyonu görülmemiştir. mPD-1 3 olguda pozitif olup, ekspresyonu %0-20 arasında değişmektedir. Çalışmamıza alınan BL olgularının büyük kısmı sporadik olgulardan meydana gelmektedir. Bu örneklem BL epidemiyolojik varyantları daha iyi temsil edilen bir örneklem ile tekrarlanması daha doğru sonuçlar verecektir.

Muenst ve ark. yaptığı çalışmada PD-1 ekspresyonunun FL grade 1'den grade 3'e ve DBBHL'ye gidildikçe mikroçevrede PD-1 ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur (88). Bizim çalışmamızda FL olgularında tPD-1 2 olguda pozitifdir. tPD-1 pozitifliği ve yüzde oranı açısından FL ve DBBHL grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). mPD-1 ise on olguda pozitifdir. Literatür ile uyumlu olarak DBBHL grubunda mPD-1 yüzdesi ve mPD-1 pozitif olan hasta oranı FL grubundan anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$).

Kwon ve ark. yaptığı bir çalışmada R-CHOP tedavisi alan DBBHL olgularında TMC'de PD-1 ekspresyonu izlenen olgularda izlenmeyen olgulara göre daha uzun toplam sağkalım ve hastalıksız sağkalım süresine sahip olduğu saptanmıştır(84).

Fang ve ark. yapmış olduğu DBBHL tanılı 76 olgunun izlendiği bir çalışmada PD-1 için 5 tabakalı şema ile semikantitatif bir değerlendirme yapılmış

olup, TIL’de PD-1 ekspresyonunun uzun toplam sağkalım ile ilişkili olduğu ve prognostik bir belirteç olduğu gösterilmiştir (83).

Bizim çalışmamızda PD-1 ile sağkalım arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bu sağkalımı heterojen bir grupta değerlendirdiğimizden ve kullanılan kestirim değerleri ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

5.2. PD-L1 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması

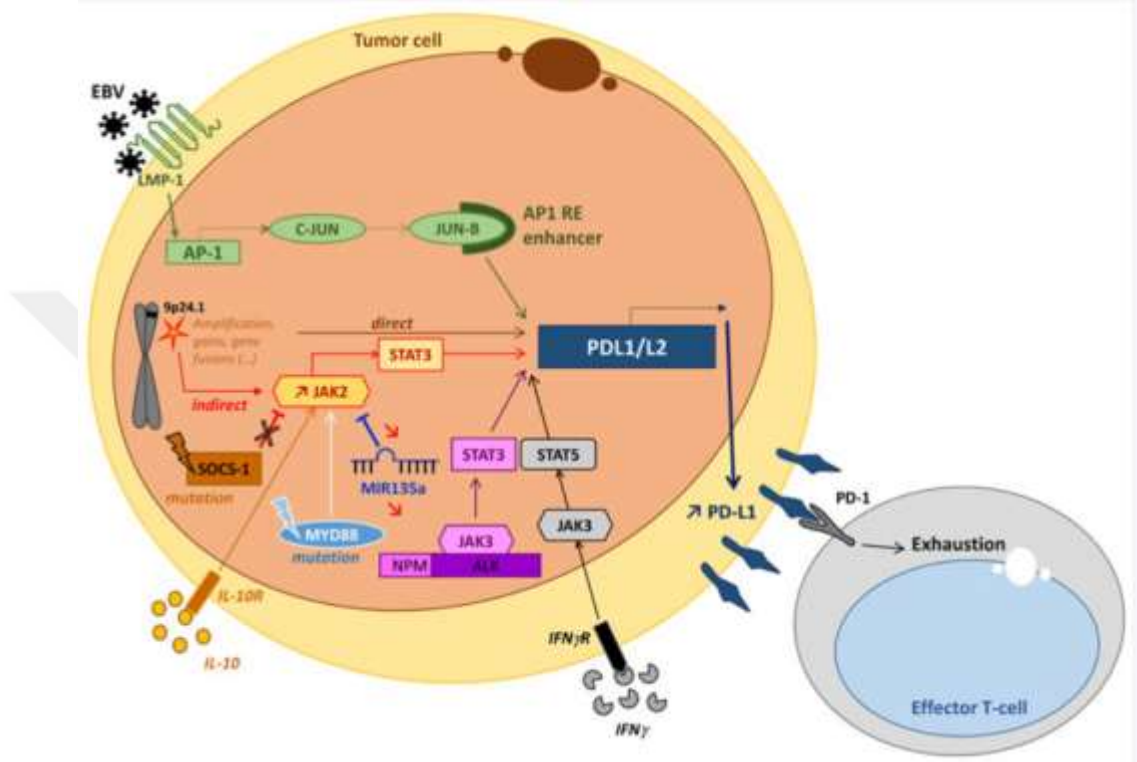
PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesinde çeşitli klinik çalışmalarda farklı tümör tiplerinde farklı immünhistokimyasal değerlendirme yöntemleri geliştirilmiştir. PD-L1 ile immünhistokimyasal değerlendirmenin güvenilir kabul edilebilmesi için en az 100 adet canlı tümör hücresinin olması gerekmektedir. PD-L1 için başlıca 4 değerlendirme şemasından bahsedilebilir. Bunlardan ilki küçük hücreli dışı karsinomlarda da kullanılan tümör proporsiyon skoru PD-L1 pozitif olan tümör hücrelerinin, toplam tümör hücresi sayısına bölünmesi ile elde edilir. Diğerleri baş boyun skuamöz hücreli karsinomları ve ürotelyal karsinomlarda kullanılan kombine pozitif skor, üçlü negatif invaziv meme karsinomunda kullanılan immün skor, ürotelyal karsinomda kullanılan tümör hücre ve immün hücre alan skorudur. Bu skorlamalar günlük patoloji pratiğinde çeşitli malignitelerde kullanılmakla birlikte lenfoma olgularında tümör ile stroma ayrımı güç olduğu için uygulanabilirliği sınırlıdır. Literatürde lenfomalarda PD-L1’in immünhistokimyasal değerlendirmesi genellikle çoklu ya da çiftli immünhistokimyasal boyamalar yapılarak, tümör hücrelerinde ve immün hücrelerde boyanma yüzdeleri ayrı ayrı hesaplandığı dijital görüntüleme sistemleri

ya da ışık mikroskobu ile değerlendirilmektedir (89, 90). Literatürde PD-L1 için farklı lenfoma gruplarında çok çeşitli kestirim değerleri kabul edilmiştir(91).

Hu ve ark. 204 olgu içeren bir seride yaptıkları çalışmada tümörde PD-L1 ekspresyonunun kestirim değeri %5, mikroçevrede PD-L1 ekspresyonunun %20 kabul edilmiş ve DBBHL, NOS non- GMB fenotipinde hem tümör hem de tümör mikroçevresinde daha fazla ekspresyon gösterdiği izlenmiştir. Bu çalışma sonucunda tümörde PD-L1 pozitifliğinin daha düşük 5 yıllık hastalıksız ve genel sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiş, ancak mikroçevrede PD-L1 pozitifliği ile sağkalım ile ilişkisi bulunamamıştır (92). Bizim çalışmamızda PD-L1 ekspresyon var/yok şeklinde değerlendirilmiş olup literatüre uygun olarak DBBHL, NOS non-GMB fenotipte GMB fenotipe göre tPD-L1 pozitifliği anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ancak mPD-L1 pozitifliğinin DBBHL, NOS non-GMB fenotip ile GMB fenotip arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Mikroçevrede anlamlı fark olmaması DBBHL, NOS non-GMB fenotipi tanımlı olguların büyük oranda insizyonel biyopsi şeklinde (%55,1; 70 olgu) çalışmaya dahil edilmesinden dolayı olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda DBBHL ve BL kıyaslandığında tPD-L1 pozitifliğinin DBBHL'de BL'ye göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur. tPD-L1, BL olguları içinde bir olguda %10 oranında pozitifdir. Ancak iki grup arasında mPD-L1 pozitifliği açısından kıyaslandığında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Tümörde tPD-L1 yüksekliğinin sebebini tPD-L1 pozitif olan DBBHL olgularında literatürde de belirtilen PD-L1 ve PD-1 protein ekspresyonunun artışına neden olan 9p24.1

lokusunda mutasyon olması ya da JAK-STAT yolağında ya da MYD88 mutasyonlarının eşlik ediyor olabileceği düşünülmüştür (93).



Şekil 12: PD-L1 ekspresyonunun hücre içi düzenlenmesi(93)

Menter ve ark. yaptığı 899 olguyu içeren çalışmada DBBHL olgularının %31'inde tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu görülmüştür. PMBHL'da benzer oranda %35 oranında PD-L1 ekspresyonu izlenmiştir. FL ve marjinal zon lenfomanın yüksek dereceli bileşenlerinde ise sırası ile %5 ve %10 oranında PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır. Aynı çalışmada tümör hücrelerinde BL, mantle hücreli lenfoma ve THZBBHL olgularında PD-L1 ekspresyonu saptanmamıştır (94). Çalışmamızda FL olgularından üçünde tPD-L1 pozitifdir. DBBHL ve FL

lenfoma grubu kıyaslandığında tümörde tPD-L1 ekspresyonunun DBBHL’de anlamlı olarak yüksektir.

Daha önce belirtilen tPD-L1 pozitif olan DBBHL olgularında PD-L1 overekspresyonuna neden olan 9p24.1 lokusunda (PDL1 lokusu) mutasyon olması ya da JAK-STAT yolağında ya da MYD88 mutasyonlarının eşlik ediyor olabileceği ve ayrıca yapılan bir çalışmada 9p24.1 lokusunda görülen mutasyonun belirgin olarak PMBHL ve DBBHL’da yüksek FL’da düşük olması ile uyumludur. (93, 95) (Şekil 12)

Laurent ve ark. yapmış olduğu çalışmada öncelikle DBBHL ve FL hücrelerinde bazı immün kaçış moleküllerinin mRNA ekspresyonunun normal dokuya göre anlamlı olarak artmış olduğu bulunmuştur. Sonrasında ekspresyonu artan moleküller immünohistokimyasal olarak çalışılmış olup tümörde PD-L1 ekspresyonunun DBBHL’de anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiş, mikroçevrede DBBHL ve FL grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır (96). Bizim çalışmamızda mPD-L1 yüzde ortalaması ve pozitif olan hasta oranının FL’da DBBHL’den anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Fang ve ark. çalışmasında DBBHL tanılı 76 olguda PD-L1 hem tümör hücrelerinde hem de tümör mikroçevresinde değerlendirilmiştir ve %10 kesitrim değeri kullanılmıştır. PD-L1 pozitifliğinin düşük toplam sağkalım ile ilişkili olduğu ve tek değişkenli analizde prognozu belirleyebileceği bulunmuştur(83).

Bizim çalışmamızda yaşayan ve eksitus olan hasta grupları arasında tPD-L1 ve m PD-L1 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Kwon ve ark. çalışmasında tümör hücrelerinin PD-L1 ekspresyonu ile prognoz arasında ilişki bulunamamıştır(84).

Kiyasu ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada DBBHL olgularında PD-L1 ekspresyonunun daha düşük sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Ancak çalışma sonucunda çok değişkenli analizlerde PD-L1 pozitifliği ya da negatifliği prognostik açıdan anlamlı bulunmamıştır (97). Literatürde PD-L1 ekspresyonunun DBBHL vakalarında sağkalım ile ilişkisi net olarak ortaya konamamıştır. Bu açıdan daha geniş olgu gruplarında bu konuda çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda da tek değişkenli ve çok değişkenli analizler sonucunda DBBHL’de PD-L1 pozitifliği ya da negatifliğinin sağkalım ile bir ilişkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

5.3. CTLA-4 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması

Literatürde lenfoma olgularında CTLA-4’ün immünohistokimyasal olarak değerlendirildiği az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde çoklu immün floresan boyama ile dijital ortamda değerlendirme yapılmış olup DBBHL’da CTLA-4 ekspresyonun iyi prognostik bir gösterge olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada GMB ve non-GMB fenotip arasında CTLA-4 ekspresyonu açısından farklılık olup olmadığı değerlendirilmemiştir (98). Başka bir çalışmada DBBHL olgularında CTLA-4’ün kanser kök hücrelerinin sayısını arttırabildiği ve yine TGF- β yolağı üzerinden etki oluşturarak invazyon ve proliferasyon yeteneğini arttırabildiği bulunmuştur (99).

Bizim çalışmamızda DBBHL, NOS GMB ve non-GMB fenotip arasında tCTLA-4 ve mCTLA-4 pozitifliği arasında anlamlı ekspresyon farkı bulunmamıştır.

DBBHL ve BL'da arasında tCTLA-4 pozitif olan hasta oranı açısından anlamlı ekspresyon farkı bulunmamıştır. Ancak mCTLA-4 DBBHL'da anlamlı olarak yüksektir. BL olgularında tCTLA-4 ve mCTLA-4 ekspresyonu mevcut değildir.

DBBHL ve FL tCTLA-4 pozitifliği arasında anlamlı ekspresyon farkı bulunmazken FL'da mCTLA-4 anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır. Mikroçevrede görülen bu farkın sebebi FL olgularının büyük oranda eksizyonel biyopsi (13/17, %76,5) şeklinde olması tüm mikroçevreyi taramamıza olanak sağlaması olabilir.

Eksitus olan grupta tCTLA4 beklendiği gibi anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ancak mCTLA-4 pozitif olan eksitus olan hasta oranı yaşayan gruptan anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır.

Tek değişkenli analizde mCTLA-4 pozitifliğinin sağkalım süresi üzerine anlamlı etkisi olduğu gösterilmiş olup çok değişkenli analizlerde sağkalım süresi üzerine etkisi görülmemiştir.

Literatürde oral skuamöz hücreli karsinomlarda mikroçevrede 4 farklı alanda (tümör merkezindeki parankim ve stroma, invaziv sınırdaki parankim ve stroma), CTLA-4 ve FOXP3 yoğunluğu değerlendirilmiş olup invaziv sınır parankiminde CTLA-4 yüksekliğinde 5 yıllık rekürrensiz sağkalım ve metastazsız

sağkalımın düşük olduğu, invaziv sınır parankiminde FOXP3 yüksekliğinde 5 yıllık hastalıksız sağkalım, rekürrensiz sağkalım ve metastazsız sağkalımın daha yüksek olduğu bulunmuştur (100).

5.4. LAG-3 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması

Bizim çalışmamızda DBBHL, NOS non-GMB fenotipe DBBHL, NOS GMB fenotipe göre tLAG-3 pozitifliği anlamlı olarak fazladır. İki grup arasında mLAG-3 pozitifliği açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Laurent ve arkadaşlarının 27 DBBHL olgusu içeren çalışmasında tümörde LAG-3 ekspresyonu DBBHL olgularının %85'inde pozitifdir. Bu çalışmada DBBHL, NOS, GMB ve non-GMB fenotipi tümörde LAG-3 ekspresyonu açısından kıyaslanmış ve non-GMB fenotipe LAG-3 ekspresyonu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yine mikroçevrede LAG-3 ekspresyonu görülse de bu bulgu moleküler alt tipler arasında kıyaslama yapılmamıştır (96). Chen ve arkadaşlarının 123 olguyu içeren çalışmasında LAG-3 ekspresyonu DBBHL'larda neoplastik hücrelerde kestirim değeri %10 olarak belirlenmiş ve olguların %7,5'inde LAG-3 pozitif bulunmuştur. Tümör mikroçevresinde kestirim değeri %20 kabul edilmiş ve olguların %84,7'sinde LAG-3 pozitif saptanmıştır. Ancak bu çalışmada DBBHL, NOS non-GMB fenotip ve DBBHL, NOS GMB fenotip arasında LAG-3 ekspresyonu açısından bir karşılaştırma yapılmamıştır (65). Bizim çalışmamızda DBBHL olgularında tLAG-3 ekspresyonu DBBHL'ların %33,9'unda (75 olgu), mLAG-3 ekspresyonu DBBHL'ların %56,1 (124 olgu)'inde görülmüştür. Bu farklılığın

LAG-3'ün kestirim değerlerindeki ve örneklem büyüklüklerinin farklılığından meydana geldiği düşünülmüştür.

DBBHL ve BL tLAG-3, m LAG-3 pozitifliği açısından kıyaslandığında DBBHL'de tLAG-3 ve mLAG-3 anlamlı olarak yüksektir. Burkitt Lenfomada LAG-3 ekspresyonu ile ilgili literatürde çalışma olmamakla birlikte agresif B-hücreli lenfomaya sahip farelerde mikroçevrede PD-1 ve LAG-3 ekspresyonları saptanmıştır (101). Bizim çalışmamızda BL'da tLAG-3 bir olguda pozitifdir. mLAG-3 ekspresyonu yedi olguda mevcuttur.

Bizim çalışmamızda DBBHL ve FL tLAG-3 pozitifliği açısından kıyaslandığında DBBHL ve FL arasında anlamlı fark bulunamazken DBBHL'da FL'ya kıyasla mLAG-3 pozitifliği anlamlı düzeyde daha azdır. Laurent ve ark yaptığı çalışmada FL (27 olgu) ve DBBHL (27 olgu) çalışmaya dahil edilmiş olup mikroçevrede LAG-3 ekspresyonu FL ve DBBHL arasında benzerlik göstermektedir (96). Bizim çalışmamızdaki farklılığın örneklem büyüklüklerinin farklılığı ve yalnızca FL Grade 3 vakaların dahil edilmesi nedeni ile olduğu düşünülmüştür.

Keane ve ark. yaptığı çalışmada yalnızca de novo DBBHL olguları çalışmaya dahil edilmiş ve bu vakalarda LAG-3 dijital gen ekspresyonu, immünohistokimyasal ve akım sitometrik olarak değerlendirilmiştir. Akım sitometrik analizde; tümörü infiltre eden lenfositlerde en yüksek oranda LAG-3 ekspresyonu CD4 (+) Treg hücrelerde izlenirken, bunu CD8 (+) T- lenfositler ve CD4 (+) non-Treg hücreler izlemiştir. Ayrıca neoplastik hücrelerde de LAG-3 ekspresyonu ve LAG-3 mRNA artışı izlenmiştir. LAG-3 gen ekspresyonu yüksek

olan grubun hücre orijini ve IPI'dan bağımsız olarak daha düşük sağ kalıma sahip olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda LAG-3 ekspresyonunun diğer prognostik faktörlerden bağımsız kötü prognoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur (62).

Bizim çalışmamızda yaşayan olgu grubunda tLAG-3, 20 olguda pozitifdir. mLAG-3 98 olguda pozitifdir. Eksitus olan olgu grubunda tLAG-3 7 hastada pozitifdir. mLAG-3 47 olguda pozitifdir. Yaşayan ve eksitus olan hastalarda tüm tanı grupları birlikte değerlendirildiğinde eksitus olan olgularda tLAG-3 ve mLAG-3 pozitif olan hasta oranı yaşayan gruptan anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,05$). Ancak Cox regresyon analizinde tek değişkenli modelde tLAG-3 ve mLAG-3, çok değişkenli modelde tLAG-3 sağkalım süresi üzerine anlamlı-bağımsız etkisi gözlenmiştir ($p<0,05$).

5.5. TIM-3 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması

Zhang ve ark yaptığı bir çalışmada DBBHL'da TIM-3 hedeflenmiş derin dizileme çalışılmış olup TIM-3 mRNA düzeyinin neoplastik hücrelerde normal B-hücrelerine göre arttığı izlenmiştir. Olgularda gen ekspresyon profiline göre sınıflama yapılmış ve TIM-3 çoklu immünfloresan boyama yöntemi ile değerlendirildiğinde mikroçevrede immün hücrelerde GMB ve non-GMB fenotipler arasında TIM-3 ekspresyonu açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. Aynı zamanda TIL'de yüksek TIM-3 ekspresyonu ve PD-1+, TIM-3+ CD8 T-hücre infiltrasyonunun tedavi alan ve almayan grupta (T-hücre yorgunluğu olarak tanımlanmış) düşük progresyonsuz ve genel sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır (102).

Bizim çalışmamızda da DBBHL, NOS GMB ve non-GMB fenotip arasında tTIM-3 ve mTIM-3 pozitifliği açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

2008 yılında yapılan bir çalışmada BL hücrelerinde *HAVCR-2* geni ve TIM-3 ekspresyonu kanıtlanmış olmakla birlikte, ancak BL’da TIM-3 ekspresyonu ile ilişkili bir çalışma literatürde bulunmamaktadır (103). Bizim çalışmamızda BL olgularında tTIM-3 4 olguda pozitifdir. tTIM-3 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,5 \pm 4,5$ ortalanca değer %0’dır. mTIM-3 iki olguda pozitifdir. mTIM-3 ekspresyonu %0-5 arasında olup ortalama $0,3 \pm 1,1$ olup ortalanca değer %0’dır. DBBHL ve BL’de tTIM-3 arasında anlamlı farklılık bulunmazken DBBHL’de mTIM-3 BL’ya göre anlamlı olarak yüksektir.

Akım sitometrik yöntem kullanılarak TIM-3 ekspresyonu değerlendirilen bir çalışmada FL’da TIM-3 ekspresyonun daha çok yüksek histolojik grade ve daha düşük sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır (104).

İn situ immüno Floresan çoklu boyama yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada DBBHL (25 olgu) olgularında hücre orijinine bakılmadan CD4+ ve CD8+ T- hücrelerde PD-1, PD-L1, TIM-3 ve CD80 ekspresyonları, FL (15 olgu), klasik Hodgkin lenfoma (10 olgu), reaktif lenf noduna (7 olgu) göre daha yüksek bulunmuştur. PD1 ve TIM-3 koekspresyonu gösteren CD4+ ve CD8 + T- hücrelerin non-GMB fenotip gösteren DBBHL olgularında, DBBHL,NOS GMB fenotip ve FL’ya göre arttığı izlenmiştir (105).

Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak DBBHL ve FL mTIM-3 ve tTIM-3 pozitifliği açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. İzlenen

farkın örneklem büyüklüklerinin farklılığı ve çalışma yöntemlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada DBBHL olgularında hem tümör hücrelerinde hem de TIL'de yüksek TIM-3 ekspresyonu gösteren olguların düşük TIM-3 ekspresyonu gösteren gruba göre 4 yıllık progresyonsuz sağkalımın ve genel sağkalımın daha düşük olduğu gösterilmiştir (65).

Yaşayan olgu grubunda tTIM-3 37 olguda pozitifdir. tTIM-3 yüzdesi %0-50 arasında değişmekle birlikte ortalama $3,1 \pm 8,2$, ortanca değer %0'dır. mTIM-3 56 hastada pozitifdir. mTIM-3 ekspresyonu %0-40 arasında olup ortalama $2,2 \pm 5,2$, ortanca değer %0'dır. Eksitus olan olgu grubunda tTIM-3 on hastada pozitifdir. tTIM-3 yüzdesi %0-20 arasında değişmekle birlikte ortalama $1,1 \pm 3,6$, ortanca değer %0'dır. mTIM-3 28 olguda pozitifdir. mTIM-3 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama $11 \pm 2,9$, ortanca değer %0'dır. Eksitus olan grupta tTIM-3 yüzdesi ve pozitif olan hasta oranı yaşayan gruptan anlamlı olarak daha düşüktür.

Tek değişkenli analizde tTIM3 sağkalım süresi üzerine anlamlı etkisi gözlenmiştir ($p < 0.05$).

5.6. FOXP3 ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması

Tzankov ve ark. yaptığı bir çalışmada DBBHL, NOS GMB ve DBBHL, NOS non-GMB fenotiplerinde FOXP3 ekspresyonu çalışılmış olup DBBHL, NOS non-GMB fenotipinde artmış FOXP3 ekspresyonunun hastalık spesifik sağkalım ve hastalısız sağkalım oranlarında azalma ile ilişkili olduğu saptanmıştır. DBBHL,

NOS GMB fenotipinde ise FOXP3 ekspresyonu ile sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır (106). Başka bir çalışmada DBBHL, NOS GMB (31 olgu), DBBHL, NOS non- GMB (30 olgu) ve reaktif lenf nodu (7 olgu) mikroçevrede FOXP3 ekspresyonu açısından immunhistokimyasal yöntem kullanılarak karşılaştırılmıştır. Reaktif hiperplazi ile DBBHL, NOS non-GMB olgular değerlendirildiğinde FOXP3 ekspresyonları arasında anlamlı fark bulunurken DBBHL, NOS GMB ve DBBHL, NOS non- GMB olgular arasında anlamlı fark bulunmamıştır (69).

Bizim alışmamızda tümör mikroçevresinde DBBHL, NOS GMB ve DBBHL, NOS non-GMB fenotip kıyaslandığında non-GMB fenotipte mFOXP3 ekspresyonu anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Mikroçevrede görülen ekspresyon farkının sebebi örneklemimizin daha geniş olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

tFOXP3 boyanması yalnızca iki olguda görülmüş olup iki tanı grubu arasında anlamlı farklılık izlenmiştir. Literatürde tümör hücrelerinde boyanma daha önce bildirilmemiştir. Ancak bunun konfirme edilmesi için ifte boyama gibi ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürde BL ‘da FOXP3 ekspresyonun araştırıldığı bir çalışmada yalnızca endemik BL olguları çalışmaya dahil edilmiş akım sitometrik yöntem ile değerlendirme yapılan hastalar 2 yıllık izlem sonucu hayatta kalanlar, nüks hastalığı olanlar ve hayatta kalmayanlar olarak 3 gruba ayrılmış. Tanı anında CD25+ FOXP3+ Treg hücre frekansı yüksek olanların düşük olanlara göre sağkalımlarının

düşük olduğu, eksitus olan grupta FOXP3 yüksek olduğu saptanmış. Ayrıca FOXP3 yüksek ekspresyonunun EBV enfeksiyonu ve malaria enfestasyonu ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (107). Bizim çalışmamızda ise BL olgularında tFOXP3 ekspresyonu mevcut değildir. mFOXP3 on iki olguda pozitif olup ekspresyonu %0-50 arasında olup ortalama $1,7 \pm 2,2$, ortanca değer %1'dir. DBBHL ve BL'da tFOXP3 ve mFOXP3 pozitifliği açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır.

FL lenfoma olgularında FOXP3 ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak araştırıldığı bir çalışmada folliküler ve interfolliküler alanda FOXP3 ekspresyonu saptanmış ve bu ekspresyon reaktif lenf nodu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada olguların ilk nüks biyopsilerinde DBBHL komponentinde FOXP3 ekspresyonunun FL G1-2'de G3'e göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgunun hastalığın progresyonunda etkili olabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda FOXP3 pozitifliğinin FLIP1'den bağımsız bir prognostik belirleyici olduğu saptanmıştır (70).

Bizim çalışmamızda FL olgularında tFOXP3 ekspresyonu mevcut değildir. mFOXP3 13 olguda pozitifdir. mFOXP3 ekspresyonu %0-20 arasında olup ortalama $5,2 \pm 5,4$, ortanca değer %5'tir. DBBHL ve FL kıyaslandığında tFOXP3 pozitifliği anlamlı değilken; mFOXP3 pozitifliği DBBHL'da FL'ya göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$).

Nakayama ve ark. 82 adet nodal DBBHL,NOS olguyu inceledikleri bir çalışmada TIL'de FOXP3 pozitifliği iyi prognoz ile ilişkilendirilmiştir. Aynı çalışmada FOXP3 ve CTLA-4 ile çift boyamada TIL'de yüksek pozitiflik izlenmesi

ise daha kötü 2 yıllık ve 5 yıllık sağkalım ile ilişkili bulunmuş ve sağkalımı öngören bir prognostik belirteç olduğu tek değişkenli Cox regresyon testi ile saptanmıştır. Bu durumun FOXP3 ve CTLA-4 ile çifte boyanan hücrelerin eTreg hücreler olması ve eTreg hücrelerin güçlü immünsüpresif etki yaratmasına bağlı olmasından kaynaklandığını savunmuşlardır (67). Ayrıca başka çalışmalarda Treg hücrelerin B-hücreleri üzerine Th hücrelerden bağımsız direkt etki edebildikleri immünglobulin üretimi ve class switch rekombinasyonunu önleyebildikleri ve CD4(+)CD25(+) Treg hücrelerin CD3 üzerinden reaktivasyon ile granzim ve perforin artışı sonucu B- hücrelerde apoptozu indüklediği bulunmuştur(108, 109). Bu bulgular FOXP3 pozitifliğinin daha iyi sağkalım sonuçları ile ilişkisini açıklayabilir.

Eksitus olan grupta mFOXP3 yüzdesi oranı ve pozitif olan hasta oranı yaşayan gruptan anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0.05$). Tek değişkenli analizde mFOXP3 pozitifliğinin sağkalım süresi üzerine anlamlı etkisi gözlenmiştir ($p<0.05$).

5.7. VISTA ekspresyonu ve gruplar arasında karşılaştırılması

VISTA ekspresyonu ile ilgili B-hücreli lenfomalarda herhangi bir çalışma literatürde bulunmamaktadır ancak periferik T- hücreli lenfomalarda LAG-3, TIM-3 ve VISTA ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada hem tümörde hem de tümör mikroçevresinde VISTA ekspresyonu bulunmuştur (110).

Zong ve ark yaptığı invaziv meme karsinomlu olgularda hem tümör hücrelerinde hem de TİL'de VISTA ekspresyonu görülmüştür. Tümörde VİSTA ekspresyonu östrojen reseptörü negatif, progesteron reseptörü negatif, üçlü negatif

ya da yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi gibi durumlarla ilişkili bulunurken mikroçevrede VISTA pozitifliği tüm tanı gruplarında artmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (111). Yine literatürde özefagial adenokarsinomlarda VISTA yüksek ekspresyonunun, düşük patolojik tümör evresine sahip olgularda, daha yüksek ekspresyon gösterdiği ve sağkalımın daha yüksek olduğu saptanmıştır (112).

Bizim çalışmamızda da hem tümör hücrelerinde hem de mikroçevrede VISTA ekspresyonu görülmüştür. Ancak tanı grupları arasında ya da yaşayan ve eksitus olan hasta grubunda tVISTA ve mVISTA açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Cox regresyon analizi sonucu tümör ve mikroçevrede VISTA ekspresyonu ile sağkalım arasında ilişki bulunmamıştır.

PD-1 ve CTLA-4 en çok çalışılan kontrol noktası hedef molekülleridir ve PD-L1 ekspresyonunu kanser immünoterapisinde öngörücü bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (113). LAG-3 ve TIM3 kliniğe yansımaları olabilecek gelecek vaat eden kontrol noktası inhibitörleri olup enfeksiyöz süreçlerde ve kanserde; tükenmiş veya işlevsiz T- hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilmektedir (114, 115).

Anti-PD-1 immünoterapisine hastaları seçmek için bir biyobelirteç olarak PD-L1 ekspresyonun yanı sıra, yeni hedeflenebilir immün kontrol noktası inhibitörlerinin tanımlanması, anti-PD-1 immünoterapisine yanıt vermeyen olgularda veya tedavi direncinde önem kazanabilir. Tümör immün mikroçevresindeki çoklu bileşenler LAG-3'ün, TIM-3 veya PD-1 gibi diğer

inhibitör moleküllerle birlikte ko-ekspresyonu immün hücrelerinin tükenmesini tetiklemesi aşağı regüle edilmiş sitokin ekspresyonuna neden olur (116, 117). Son klinik deneyler ve çalışmalarla ilgili biyobelirteç olarak tek başına veya kombinasyon halinde LAG-3, TIM-3 ve VISTA gibi alternatif immün kontrol noktası inhibitörleri reseptörlerinin ekspresyonu araştırılmaktadır. Erken klinik sonuçlar, anti-PD-1 immünoterapisine direnç geliştikten sonra LAG-3/PD-1 ikili immün blokajda başarı göstermiştir (118-120).

LAG-3 ve PD-1 blokajı kombinasyonlarına objektif yanıt oranı immünohistokimya temelli LAG-3 ekspresyonunun %1'e karşı < %1 olan hastalarda 3.5 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (121).

Sonuç olarak çalışmamızda oldukça heterojen bir grup olan DBBHL, FL Grade 3 olgular ve BL olguları dahil edilmiştir. Bulunan sonuçların bir kısmı literatür ile uyumlu olsa da bir kısmında literatür ile farklılıklar görülmüş ya da bu konuda daha önce çalışma yapılmadığı dikkati çekmiştir. Bu çalışmada örneklem dağılımının optimal olmaması ve değerlendirme yönteminin sadece immünohistokimyasal belirteçler ile olması ve bu belirteçler için kullanılan kestirim değerlerinin literatürde kendi içinde bir optimizasyonu olmaması çalışmanın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır.

Ancak bu kısıtlılıklara rağmen yüksek dereceli B- hücreli lenfomaların farklı alt tiplerinde immün kaçış mekanizmalarının aktive olduğu saptanmıştır. Ayrıca farklı alt gruplarda immün kaçış mekanizmalarının farklılık gösterdiği ve bunların bir kısmının sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızdaki toplam 260 olgunun 222'si DBBHL, 21'i BL ve 17'si FL'dır. Olguların klinik izlem verilerine ulaşamadığından yalnızca genel sağkalım verilerine bakılmış olup gözlem süresi 0-78 ay arasında değişmektedir.

Bu olgularda demografik bilgiler, biyopsi bilgileri ve sağkalım verileri ile tümörde ve mikroçevrede PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, FOXP3 ve VISTA ekspresyonları değerlendirilmiştir.

1. Gruplar demografik veriler açısından değerlendirildiğinde artmış yaşın yüksek sağkalım ile ilişkili olduğu saptanmıştır.
2. DBBHL olguları Hans Algoritmasına göre değerlendirilmiş olup DBBHL, NOS GMB ve DBBHL, NOS non-GMB fenotip tümörde immün belirteçler açısından kıyaslandığında tPD-L1 ve tLAG-3 DBBHL, NOS non-GMB fenotipte anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
3. DBBHL, NOS GMB ve DBBHL, NOS non-GMB fenotip mikroçevrede immün belirteçler açısından kıyaslandığında mPD-1 ve mFOXP3 DBBHL, NOS non-GMB fenotipte anlamlı olarak düşük bulunmuştur.
4. DBBHL ve BL olguları birlikte değerlendirildiğinde DBBHL grubunun yaş ortalaması BL grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
5. DBBHL ve BL tümörde immün belirteçler açısından kıyaslandığında tPD-L1 ve tLAG-3 DBBHL grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
6. DBBHL ve BL mikroçevrede immün belirteçler açısından kıyaslandığında mCTLA-4, mLAG-3 ve mTIM-3 DBBHL grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

7. DBBHL ve FL olguları değerlendirildiğinde DBBHL’ da ektranodal yerleşim anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.
8. DBBHL ve FL tümörde immünbelirteçler açısından kıyaslandığında tPD-L1 DBBHL grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
9. DBBHL ve FL mikroçevrede immün belirteçler açısından kıyaslandığında mPD-1 mPD-L1, mCTLA-4, mLAG-3, ve mFOXP3 DBBHL grupta anlamlı olarak düşük bulunmuştur.
10. Eksitus olan grupla yaşayan grup kıyaslandığında eksitus olan grubun yaş ortalaması anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
11. Eksitus olan grupla yaşayan grup tümörde immün belirteçler açısından kıyaslandığında tLAG-3 ve tTIM-3 yaşayan grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
12. Eksitus olan grupla yaşayan grup mikroçevrede immün belirteçler açısından kıyaslandığında mCTLA-4, mLAG-3 ve mFOXP3 yaşayan grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
13. Tek değişkenli modelde yaş, mikroçevrede CTLA4, tümör ve mikroçevrede LAG 3, tümörde TIM-3, ve mikroçevrede FOXP3 ekspresyonun sağkalım süresi üzerine anlamlı etkisi gözlenmiştir.
14. Çok değişkenli modelde yaş, tümörde LAG-3 ekspresyonun sağkalım süresi üzerine anlamlı-bağımsız etkisi gözlenmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology*. 2018;50(1):74-87.
2. Armand P, Rodig S, Melnichenko V, Thieblemont C, Bouabdallah K, Tumyan G, et al. Pembrolizumab in Relapsed or Refractory Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2019;37(34):3291-9.
3. Freedman A, Jacobsen E. Follicular lymphoma: 2020 update on diagnosis and management. *Am J Hematol*. 2020;95(3):316-27.
4. Dada R. Diagnosis and management of follicular lymphoma: A comprehensive review. *Eur J Haematol*. 2019;103(3):152-63.
5. Takata K, Miyata-Takata T, Sato Y, Yoshino T. Pathology of follicular lymphoma. *J Clin Exp Hematop*. 2014;54(1):3-9.
6. Schaaf MB, Garg AD, Agostinis P. Defining the role of the tumor vasculature in antitumor immunity and immunotherapy. *Cell Death Dis*. 2018;9(2):115.
7. Nakamura K, Smyth MJ. Targeting cancer-related inflammation in the era of immunotherapy. *Immunol Cell Biol*. 2017;95(4):325-32.
8. Ok CY, Young KH. Checkpoint inhibitors in hematological malignancies. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):103.
9. ElTanbouly MA, Croteau W, Noelle RJ, Lines JL. VISTA: a novel immunotherapy target for normalizing innate and adaptive immunity. *Semin Immunol*. 2019;42:101308.
10. Reck M. Pembrolizumab as first-line therapy for metastatic non-small-cell lung cancer. *Immunotherapy*. 2018;10(2):93-105.
11. Scott DW, Mottok A, Ennishi D, Wright GW, Farinha P, Ben-Neriah S, 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(26):2848-56.
12. Sukswai N, Lyapichev K, Khoury JD, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma variants: an update. *Pathology*. 2020;52(1):53-67.
13. Solimando AG, Annese T, Tamma R, Ingravallo G, Maiorano E, Vacca A, et al. New Insights into Diffuse Large B-Cell Lymphoma Pathobiology. *Cancers*. 2020;12(7).
14. Mugnaini EN, Ghosh N. Lymphoma. Primary Care: Clinics in Office Practice. 2016;43(4):661-75.
15. Harrison's Principles Of Internal Medicine. 20th ed. J. Larry Jameson DLK, Dan L. Longo, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser, Joseph Loscalzo, editor 2018.

16. Slack GW, Steidl C, Sehn LH, Gascoyne RD. CD30 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study from British Columbia. *Brit J Haematol*. 2014;167(5):608-17.
17. Xu-Monette ZY, Tu M, Jabbar KJ, Cao X, Tzankov A, Visco C, et al. Clinical and biological significance of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. *Oncotarget*. 2015;6(8):5615-33.
18. King JF, Lam JT. A Practical Approach to Diagnosis of B-Cell Lymphomas With Diffuse Large Cell Morphology. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144(2):160-7.
19. Cubedo E, Gentles AJ, Huang C, Natkunam Y, Bhatt S, Lu X, et al. Identification of LMO2 transcriptome and interactome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2012;119(23):5478-91.
20. Montes-Moreno S, Roncador G, Maestre L, Martínez N, Sanchez-Verde L, Camacho FI, et al. Gcet1 (centerin), a highly restricted marker for a subset of germinal center-derived lymphomas. *Blood*. 2008;111(1):351-8.
21. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, Bigerna B, Marafioti T, Gambacorta M, 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(6):2084-92.
22. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103(1):275-82.
23. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, 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.
24. Han Y, Yang J, Liu P, He X, Zhang C, Zhou S, et al. Prognostic Nomogram for Overall Survival in Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Oncologist*. 2019;24(11):e1251-e61.
25. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403(6769):503-11.
26. Karube K, Enjuanes A, Dlouhy I, Jares P, Martin-Garcia D, Nadeu F, et al. Integrating genomic alterations in diffuse large B-cell lymphoma identifies new relevant pathways and potential therapeutic targets. *Leukemia*. 2018;32(3):675-84.
27. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, Wiestner A, Staudt LM. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(17):9991-6.

28. Young RM, Phelan JD, Wilson WH, Staudt LM. Pathogenic B-cell receptor signaling in lymphoid malignancies: New insights to improve treatment. *Immunol Rev.* 2019;291(1):190-213.
29. Liu Y, Barta SK. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol.* 2019;94(5):604-16.
30. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, Johnson CA, Phelan JD, Wang JQ, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2018;378(15):1396-407.
31. Swerdlow SaC, Elias and Harris, N Lee and Jaffe, ES and Pileri, SA and Stein, H and Thiele, J and Arber, D and Hasserjian, R and Le Beau, M and Orazi, A and Siebert, R In: Swerdlow SaC, Elias and Harris, N Lee and Jaffe, ES and Pileri, SA and Stein, H and Thiele, J, editor. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (Revised 4th edition)" IARC: Lyon 421 (2017)2017. p. 291-344.
32. Loghavi S, Alayed K, Aladily TN, Zuo Z, Ng S-B, Tang G, et al. Stage, age, and EBV status impact outcomes of plasmablastic lymphoma patients: a clinicopathologic analysis of 61 patients. *Journal of Hematology & Oncology.* 2015;8(1):65.
33. Schrader AMR, Jansen PM, Willemze R, Vermeer MH, Cleton-Jansen AM, Somers SF, et al. High prevalence of MYD88 and CD79B mutations in intravascular large B-cell lymphoma. *Blood.* 2018;131(18):2086-9.
34. Ponzoni M, Campo E, Nakamura S. Intravascular large B-cell lymphoma: a chameleon with multiple faces and many masks. *Blood.* 2018;132(15):1561-7.
35. Klairmont MM, Cheng J, Martin MG, Gradowski JF. Recurrent Cytogenetic Abnormalities in Intravascular Large B-Cell Lymphoma. *American Journal of Clinical Pathology.* 2018;150(1):18-26.
36. Zhou Y, Liu W, Xu Z, Zhu H, Xiao D, Su W, et al. Analysis of Genomic Alteration in Primary Central Nervous System Lymphoma and the Expression of Some Related Genes. *Neoplasia.* 2018;20(10):1059-69.
37. Marques-Piubelli ML, Salas YI, Pachas C, Becker-Hecker R, Vega F, Miranda RN. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disorders and lymphomas: a review. *Pathology.* 2020;52(1):40-52.
38. Willemze R, Cerroni L, Kempf W, Berti E, Facchetti F, Swerdlow SH, et al. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood.* 2019;133(16):1703-14.
39. Burkitt D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Surg.* 1958;46(197):218-23.
40. O'Connor GT, Davies JN. Malignant tumors in African children. With special reference to malignant lymphoma. *J Pediatr.* 1960;56:526-35.

41. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S LYMPHOMA. *Lancet*. 1964;1(7335):702-3.
42. Molyneux EM, Rochford R, Griffin B, Newton R, Jackson G, Menon G, et al. Burkitt's lymphoma. *Lancet*. 2012;379(9822):1234-44.
43. Ferry JA. Burkitt's lymphoma: clinicopathologic features and differential diagnosis. *Oncologist*. 2006;11(4):375-83.
44. Mbulaiteye SM, Biggar RJ, Bhatia K, Linet MS, Devesa SS. Sporadic childhood Burkitt lymphoma incidence in the United States during 1992-2005. *Pediatr Blood Cancer*. 2009;53(3):366-70.
45. Dunleavy K, Little RF, Wilson WH. Update on Burkitt Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2016;30(6):1333-43.
46. Graham BS, Lynch DT. Burkitt Lymphoma. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2020.
47. Hsi ED. Hematopathology: a Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology. Third Edition ed. Goldblum JR, editor: Elsevier Health Sciences; 2018.
48. Ok CY, Medeiros LJ. High-grade B-cell lymphoma: a term re-purposed in the revised WHO classification. *Pathology*. 2020;52(1):68-77.
49. Randall C, Fedoriw Y. Pathology and diagnosis of follicular lymphoma and related entities. *Pathology*. 2020;52(1):30-9.
50. Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*. 2015;348(6230):69-74.
51. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002;3(11):991-8.
52. Fowler NH, Cheah CY, Gascoyne RD, Gribben J, Neelapu SS, Ghia P, et al. Role of the tumor microenvironment in mature B-cell lymphoid malignancies. *Haematologica*. 2016;101(5):531-40.
53. Abbas AK, Andrew H. Lichtman, and Shiv Pillai. Basic immunology e-book: functions and disorders of the immune system. Sixth Edition ed: Elsevier Health Sciences; 2019. 197-217 p.
54. Jiang Y, Chen M, Nie H, Yuan Y. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations. *Hum Vaccin Immunother*. 2019;15(5):1111-22.
55. Ilcus C, Bagacean C, Tempescul A, Popescu C, Parvu A, Cenariu M, et al. Immune checkpoint blockade: the role of PD-1-PD-L axis in lymphoid malignancies. *Onco Targets Ther*. 2017;10:2349-63.

56. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood*. 2009;114(8):1537-44.
57. Rowshanravan B, Halliday N, Sansom DM. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. *Blood*. 2018;131(1):58-67.
58. Matsuki E, Younes A. Checkpoint Inhibitors and Other Immune Therapies for Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2016;17(6):31.
59. Anderson AC, Joller N, Kuchroo VK. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: Co-inhibitory Receptors with Specialized Functions in Immune Regulation. *Immunity*. 2016;44(5):989-1004.
60. Graydon CG, Mohideen S, Fowke KR. LAG3's Enigmatic Mechanism of Action. *Front Immunol*. 2020;11:615317.
61. Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, Vignali DAA. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. *Immunological Reviews*. 2017;276(1):80-96.
62. Keane C, Law SC, Gould C, Birch S, Sabdia MB, Merida de Long L, et al. LAG3: a novel immune checkpoint expressed by multiple lymphocyte subsets in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv*. 2020;4(7):1367-77.
63. Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, Ryu A, Waldner H, Chernova T, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease. *Nature*. 2002;415(6871):536-41.
64. Solinas C, De Silva P, Bron D, Willard-Gallo K, Sangiolo D. Significance of TIM3 expression in cancer: From biology to the clinic. *Semin Oncol*. 2019;46(4-5):372-9.
65. Chen BJ, Dashnamoorthy R, Galera P, Makarenko V, Chang H, Ghosh S, et al. The immune checkpoint molecules PD-1, PD-L1, TIM-3 and LAG-3 in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*. 2019;10(21):2030-40.
66. Martin F, Ladoire S, Mignot G, Apetoh L, Ghiringhelli F. Human FOXP3 and cancer. *Oncogene*. 2010;29(29):4121-9.
67. Nakayama S, Yokote T, Akioka T, Hiraoka N, Nishiwaki U, Miyoshi T, et al. Infiltration of effector regulatory T cells predicts poor prognosis of diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. *Blood Adv*. 2017;1(8):486-93.
68. Attias M, Al-Aubodah T, Piccirillo CA. Mechanisms of human FoxP3(+) Treg cell development and function in health and disease. *Clin Exp Immunol*. 2019;197(1):36-51.
69. Serag El-Dien MM, Abdou AG, Asaad NY, Abd El-Wahed MM, Kora M. Intratumoral FOXP3+ Regulatory T Cells in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2017;25(8):534-42.

70. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, Colomo L, Martinez A, Roncador G, et al. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood*. 2006;108(9):2957-64.
71. Younes S, Natkunam Y. FOXes at play in the lymphoma landscape. *Leuk Lymphoma*. 2021;62(1):5-7.
72. Nowak EC, Lines JL, Varn FS, Deng J, Sarde A, Mabaera R, et al. Immunoregulatory functions of VISTA. *Immunol Rev*. 2017;276(1):66-79.
73. Le Mercier I, Chen W, Lines JL, Day M, Li J, Sergeant P, et al. VISTA Regulates the Development of Protective Antitumor Immunity. *Cancer Res*. 2014;74(7):1933-44.
74. Dobosz P, Dzieciatkowski T. The Intriguing History of Cancer Immunotherapy. *Front Immunol*. 2019;10:2965.
75. Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, Old LJ, et al. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature*. 2001;410(6832):1107-11.
76. Smyth MJ, Thia KY, Street SE, MacGregor D, Godfrey DI, Trapani JA. Perforin-mediated cytotoxicity is critical for surveillance of spontaneous lymphoma. *J Exp Med*. 2000;192(5):755-60.
77. Smyth MJ, Thia KY, Street SE, Cretney E, Trapani JA, Taniguchi M, et al. Differential tumor surveillance by natural killer (NK) and NKT cells. *J Exp Med*. 2000;191(4):661-8.
78. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*. 1992;11(11):3887-95.
79. Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med*. 1995;182(2):459-65.
80. Zhang J, Medeiros LJ, Young KH. Cancer Immunotherapy in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Front Oncol*. 2018;8:351.
81. Mondello P, Mian M. Frontline treatment of diffuse large B-cell lymphoma: Beyond R-CHOP. *Hematol Oncol*. 2019;37(4):333-44.
82. Ahearne MJ, Bhuller K, Hew R, Ibrahim H, Naresh K, Wagner SD. Expression of PD-1 (CD279) and FoxP3 in diffuse large B-cell lymphoma. *Virchows Arch*. 2014;465(3):351-8.
83. Fang X, Xiu B, Yang Z, Qiu W, Zhang L, Zhang S, et al. The expression and clinical relevance of PD-1, PD-L1, and TP63 in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(15):e6398.
84. Kwon D, Kim S, Kim PJ, Go H, Nam SJ, Paik JH, et al. Clinicopathological analysis of programmed cell death 1 and programmed cell death ligand 1 expression in the

tumour microenvironments of diffuse large B cell lymphomas. *Histopathology*. 2016;68(7):1079-89.

85. Ko YS, Oh YH, Park CK, Kim WY, Han HS, Lim SD, et al. Prognostic Implication of Programmed Death-1-Positive Tumor-infiltrating Lymphocytes in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Korean J Pathol*. 2011;45(6):573-81.
86. Zhang W, Bai JF, Zuo MX, Cao XX, Chen M, Zhang Y, et al. PD-1 expression on the surface of peripheral blood CD4(+) T cell and its association with the prognosis of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med*. 2016;5(11):3077-84.
87. Granai M, Mundo L, Akarca AU, Siciliano MC, Rizvi H, Mancini V, et al. Immune landscape in Burkitt lymphoma reveals M2-macrophage polarization and correlation between PD-L1 expression and non-canonical EBV latency program. *Infect Agent Cancer*. 2020;15:28.
88. Muenst S, Hoeller S, Willi N, Dirnhofer S, Tzankov A. Diagnostic and prognostic utility of PD-1 in B cell lymphomas. *Dis Markers*. 2010;29(1):47-53.
89. Paver EC, Cooper WA, Colebatch AJ, Ferguson PM, Hill SK, Lum T, et al. Programmed death ligand-1 (PD-L1) as a predictive marker for immunotherapy in solid tumours: a guide to immunohistochemistry implementation and interpretation. *Pathology*. 2021;53(2):141-56.
90. Volaric A, Bacchi CE, Gru AA. PD-1 and PD-L1 Immunohistochemistry as a Diagnostic Tool for Classic Hodgkin Lymphoma in Small-volume Biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(10):1353-66.
91. Sakakibara A, Kohno K, Eladl AE, Klaisuan T, Ishikawa E, Suzuki Y, et al. Immunohistochemical assessment of the diagnostic utility of PD-L1: a preliminary analysis of anti-PD-L1 antibody (SP142) for lymphoproliferative diseases with tumour and non-malignant Hodgkin-Reed-Sternberg (HRS)-like cells. *Histopathology*. 2018;72(7):1156-63.
92. Hu LY, Xu XL, Rao HL, Chen J, Lai RC, Huang HQ, et al. Expression and clinical value of programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) in diffuse large B cell lymphoma: a retrospective study. *Chin J Cancer*. 2017;36(1):94.
93. Gravelle P, Burrioni B, Pericart S, Rossi C, Bezombes C, Tosolini M, et al. Mechanisms of PD-1/PD-L1 expression and prognostic relevance in non-Hodgkin lymphoma: a summary of immunohistochemical studies. *Oncotarget*. 2017;8(27):44960-75.
94. Menter T, Bodmer-Haeckl A, Dirnhofer S, Tzankov A. Evaluation of the diagnostic and prognostic value of PDL1 expression in Hodgkin and B-cell lymphomas. *Hum Pathol*. 2016;54:17-24.
95. Twa DD, Chan FC, Ben-Neriah S, Woolcock BW, Mottok A, Tan KL, et al. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 2014;123(13):2062-5.

96. Laurent C, Charmpi K, Gravelle P, Tosolini M, Franchet C, Ysebaert L, et al. Several immune escape patterns in non-Hodgkin's lymphomas. *Oncoimmunology*. 2015;4(8):e1026530.
97. Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, Arakawa F, Ichikawa A, Niino D, 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(19):2193-201.
98. Xu-Monette ZY, Xiao M, Au Q, Padmanabhan R, Xu B, Hoe N, et al. Immune Profiling and Quantitative Analysis Decipher the Clinical Role of Immune-Checkpoint Expression in the Tumor Immune Microenvironment of DLBCL. *Cancer Immunol Res*. 2019;7(4):644-57.
99. Chen Y, Li M, Cao J, Cai G, Li X, Liu Y, et al. CTLA-4 promotes lymphoma progression through tumor stem cell enrichment and immunosuppression. *Open Life Sci*. 2021;16(1):909-19.
100. Koike K, Dehari H, Ogi K, Shimizu S, Nishiyama K, Sonoda T, et al. Prognostic value of FoxP3 and CTLA-4 expression in patients with oral squamous cell carcinoma. *PLoS One*. 2020;15(8):e0237465.
101. Hilmenyuk T, Ruckstuhl CA, Hayoz M, Berchtold C, Nuoffer JM, Solanki S, et al. T cell inhibitory mechanisms in a model of aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *Oncoimmunology*. 2017;7(1):e1365997.
102. Zhang T, Ren T, Song Z, Zhao J, Jiao L, Zhang Z, et al. Genetic Mutations of Tim-3 Ligand and Exhausted Tim-3(+) CD8(+) T Cells and Survival in Diffuse Large B Cell Lymphoma. *J Immunol Res*. 2020;2020:6968595.
103. Makishi S, Okudaira T, Ishikawa C, Sawada S, Watanabe T, Hirashima M, et al. A modified version of galectin-9 induces cell cycle arrest and apoptosis of Burkitt and Hodgkin lymphoma cells. *Br J Haematol*. 2008;142(4):583-94.
104. Yang ZZ, Grote DM, Ziesmer SC, Niki T, Hirashima M, Novak AJ, et al. IL-12 upregulates TIM-3 expression and induces T cell exhaustion in patients with follicular B cell non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Invest*. 2012;122(4):1271-82.
105. Roussel M, Le KS, Granier C, Llamas Gutierrez F, Foucher E, Le Gallou S, et al. Functional characterization of PD1+TIM3+ tumor-infiltrating T cells in DLBCL and effects of PD1 or TIM3 blockade. *Blood Adv*. 2021;5(7):1816-29.
106. Tzankov A, Meier C, Hirschmann P, Went P, Pileri SA, Dirnhofer S. Correlation of high numbers of intratumoral FOXP3+ regulatory T cells with improved survival in germinal center-like diffuse large B-cell lymphoma, follicular lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2008;93(2):193-200.
107. Parsons E, Otieno JA, Ong'echa JM, Nixon CE, Vulule J, Munz C, et al. Regulatory T Cells in Endemic Burkitt Lymphoma Patients Are Associated with Poor Outcomes: A Prospective, Longitudinal Study. *PLoS One*. 2016;11(12):e0167841.

108. Lim HW, Hillsamer P, Banham AH, Kim CH. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells. *J Immunol.* 2005;175(7):4180-3.
109. Zhao DM, Thornton AM, DiPaolo RJ, Shevach EM. Activated CD4⁺CD25⁺ T cells selectively kill B lymphocytes. *Blood.* 2006;107(10):3925-32.
110. Murga-Zamalloa CA, Brown NA, Wilcox RA. Expression of the checkpoint receptors LAG-3, TIM-3 and VISTA in peripheral T cell lymphomas. *J Clin Pathol.* 2020;73(4):197-203.
111. Zong L, Mo S, Yu S, Zhou Y, Zhang M, Chen J, et al. Expression of the immune checkpoint VISTA in breast cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2020;69(8):1437-46.
112. Loeser H, Kraemer M, Gebauer F, Bruns C, Schroder W, Zander T, et al. The expression of the immune checkpoint regulator VISTA correlates with improved overall survival in pT1/2 tumor stages in esophageal adenocarcinoma. *Oncoimmunology.* 2019;8(5):e1581546.
113. Economopoulou P, Kotsantis I, Psyrri A. Checkpoint Inhibitors in Head and Neck Cancer: Rationale, Clinical Activity, and Potential Biomarkers. *Curr Treat Options Oncol.* 2016;17(8):40.
114. Deng WW, Wu L, Sun ZJ. Co-inhibitory immune checkpoints in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Dis.* 2018;24(1-2):120-3.
115. El Jamal SM, Taylor EB, Abd Elmageed ZY, Alamodi AA, Selimovic D, Alkhateeb A, et al. Interferon gamma-induced apoptosis of head and neck squamous cell carcinoma is connected to indoleamine-2,3-dioxygenase via mitochondrial and ER stress-associated pathways. *Cell Div.* 2016;11:11.
116. Baumeister SH, Freeman GJ, Dranoff G, Sharpe AH. Coinhibitory Pathways in Immunotherapy for Cancer. *Annu Rev Immunol.* 2016;34:539-73.
117. Li N, Workman CJ, Martin SM, Vignali DA. Biochemical analysis of the regulatory T cell protein lymphocyte activation gene-3 (LAG-3; CD223). *J Immunol.* 2004;173(11):6806-12.
118. Huang RY, Eppolito C, Lele S, Shrikant P, Matsuzaki J, Odunsi K. LAG3 and PD1 co-inhibitory molecules collaborate to limit CD8⁺ T cell signaling and dampen antitumor immunity in a murine ovarian cancer model. *Oncotarget.* 2015;6(29):27359-77.
119. Waugh KA, Leach SM, Moore BL, Bruno TC, Buhrman JD, Slansky JE. Molecular Profile of Tumor-Specific CD8⁺ T Cell Hypofunction in a Transplantable Murine Cancer Model. *J Immunol.* 2016;197(4):1477-88.
120. Woo SR, Turnis ME, Goldberg MV, Bankoti J, Selby M, Nirschl CJ, et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res.* 2012;72(4):917-27.

121. Ascierto PA, Bono P, Bhatia S, Melero I, Nyakas MS, Svane IM, et al. Efficacy of BMS-986016, a monoclonal antibody that targets lymphocyte activation gene-3 (LAG-3), in combination with nivolumab in pts with melanoma who progressed during prior anti-PD-1/PD-L1 therapy (mel prior IO) in all-comer and biomarker-enriched populations. *Annals of Oncology*. 2017;28.



8. ÖZET

Diffüz büyük B- hücreli lenfoma ve FL sırasıyla en sık görülen Hodgkin dışı lenfomadır. ($p<0.05$) Bu vakaların tedavisinde Rituksimab kullanımının başlamasıyla büyük ilerleme kaydedilmiş olsa da vakaların bir kısmı direçli hastalık ve ya nüksler ile seyretmektedir. Bu vakalarda immün kontrol noktası inhibitörü ekspresyonları araştırılmakta olup hastalığın patogenezi ve tedavide umut vadetmektedir.

Bizim çalışmamızda 2015-2020 yılları arasında bölümümüzde tanı alan DBBHL, FL grade 3 ve BL olgularından oluşan toplam 260 vaka seçilmiştir. Bu olgularda son yıllarda araştırılan immün kontrol noktası inhibitörleri PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3 , FOXP3 ve VISTA immünohistokimyasal olarak çalışılmıştır. Gruplar arasında neoplastik hücrelerde ve mikroçevrede ekspresyon farklılıkları ve sağkalım üzerine etkisi araştırılmıştır. DBBHL, NOS non-GMB fenotipe GMB fenotipe göre tPD-L1, tLAG-3 yüzde ortalaması ve pozitif olan hasta oranı, mFOXP3 ile mPD-1 yüzde ortalaması ve pozitif olan hasta oranı anlamlı olarak yüksekti($p<0.005$). DBBHL’da BL’ya göre tPD-L1 ve tLAG-3 yüzde ortalaması ve pozitif olan hasta oranı mCTLA-4, mLAG-3, mTIM-3 anlamlı olarak yüksekti($p<0.005$). DBBHL’da FL G3’e göre tPD-L1 3 yüzde ortalaması ve pozitif olan hasta oranı anlamlı olarak yüksek bulundu($p<0.005$). DBBHL’da FL G3’e göre mPD-L1, mPD-1, mCTLA-4, mLAG-3, mFOXP3 yüzde ortalaması ve pozitif olan hasta oranı anlamlı olarak yüksek bulundu($p<0.005$).

Cox regresyon analizinde tek değişkenli modelde yaş, mCTLA4, tLAG-3 ve mLAG-3, tTIM-3 ve mFOXP3 ekspresyonun sağkalım süresi üzerine anlamlı

etkisi gözlenmiştir. Çok değişkenli modelde yaş, tLAG-3 ekspresyonun sağkalım süresi üzerine anlamlı-bağımsız etkisi gözlenmiştir.



9. SUMMARY

Diffuse large B-cell lymphoma and FL are the most common non-Hodgkin lymphomas, respectively. Treatment with rituximab of DLBCL, FL and BL,, improvement was achieved. However, some of the cases progress with resistant disease or recurrences. Immune checkpoint inhibitors (ICI) expressions are investigated in these cases, which shows promising findings in the pathogenesis and treatment of the disease.

In our study, a total of 260 cases, consisting of DLBCL, FL grade 3 (G3), and BL cases diagnosed in our department between 2015-2020, were selected. In these cases, PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, FOXP3, and VISTA, which were been the most investigated ICI in recent years, were studied immunohistochemically. These markers of expression in tumor cells and microenvironment differences between groups were analyzed. In DLBCL, NOS non-GMB phenotype, tPD-L1, tLAG-3, mFOXP3, and mPD-1 mean percentage, and the positive patient ratio was significantly higher than GMB phenotype. In DLBCL, the mean percentage and the rate of patients tPD-L1, tLAG-3, mCTLA-4, mLAG-3, mTIM-3 were significantly higher than BL. In DLBCL, the mean percentage and the rate of positive patients of tPD-L1 were significantly higher than FL G3. In DLBCL, the mean percentage of and the rate of positive patients mPD-L1, mPD-1, mCTLA-4, mLAG-3, mFOXP3 were significantly higher than FL G3.

In Cox regression analysis, the significant effect of age, mCTLA4, tLAG-3 and mLAG-3, tTIM-3, and mFOXP3 expression on survival time were discovered

in the univariate model. In the multivariate model, a significant effect of age and tLAG-3 expression on survival was observed.



10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selcen Yonat İşgüder

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru) :

2017-Halen, Araştırma görevlisi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

2009-2015, Lisans, Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi

2005-2009, Lise, Bilecik Refik Arslan Öztürk Fen Lisesi

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

Patoloji Dernekleri Federasyonu

Ankara Patoloji Derneği

European Society of Pathology

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri, yayınları)başlık:

Yayın:

1. Bas A, Valiyev E, Ozkan ND, Tombul I, Yonat S, Sayan M, et al. A Rare Entity: Primary Pulmonary Meningioma. Turk Patoloji Derg. 2021.
2. Timur SS, Yoyen-Ermis D, Esendagli G, Yonat S, Horzum U, Esendagli G, et al. Efficacy of a novel LyP-1-containing self-microemulsifying drug delivery

system (SMEDDS) for active targeting to breast cancer. Eur J Pharm Biopharm. 2019;136:138-46.

Poster:

1. Adult Patient With Malignant İntraocular Medulloepithelioma: A Case Report- 2021 ECP
2. IgG4-related sclerosing mastitis with metachronus invasive lobular breast carcinoma-2021 ECP
3. Mezenterik Yerleşimli Glomanjiomyom- 2019, Trabzon
4. Teratoıd Özellikler Gösteren Mıkt Eptelyal Ve Mezenkımal Tıp Hepatoblastom: Nadır Bır Olgu Sunumu- 2019 Trabzon
5. İnguinal Bölge Yerleşimli İntranodal “Mammary-Type” Palizatlanan Myofibroblastom- 2018 Ankara
6. Postpartum Ksantogranüloematöz Mastit- 2018 Ankara

Burs:

30. Ulusal Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği, çevrimiçi
28. Ulusal Patoloji Kongresi, kongre katılım desteği