



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**R-CHOP VE CHOP KEMOTERAPİ REJİMİ ALAN
DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMALI
HASTALARDA SİTOGENETİK VE İMMÜNFENOTİPİK
ÖZELLİKLERİN ARAŞTIRILMASI VE BU
ÖZELLİKLERİN SAĞKALIM ÜZERİNE ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Dr. Perihan ALSANCAK

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Melek ERGİN**

ADANA-2016



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**R-CHOP VE CHOP KEMOTERAPİ REJİMİ ALAN
DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMALI
HASTALARDA SİTOGENETİK VE İMMÜNFENOTİPİK
ÖZELLİKLERİN ARAŞTIRILMASI VE BU
ÖZELLİKLERİN SAĞKALIM ÜZERİNE ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Dr. Perihan ALSANCAK

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Melek ERGİN**

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonunun TTU20153589 nolu Projesi ile desteklenmiştir.

ADANA-2016

TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda başladığım asistanlık sürecim boyunca; bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan;

Tezimin ilk gününden son aşamasına kadar desteğini ve emeğini benden esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Melek Ergin'e,

Birbirinden kıymetli hocalarımız Prof. Dr. Suzan Zorludemir, Prof. Dr. Gülfiliz Gönüşen, Prof. Dr. Figen Doran, Prof. Dr. Derya Gümürdülü, Prof. Dr. Aysun Uğuz, Prof. Dr. Şeyda Erdoğan, Doç. Dr. Arbil Açıklan, Yrd. Doç. Dr. Emine Kılıç Bağır'a,

Blokların arşivden çıkarılmasında ve daha birçok konuda bana yardımcı olan personelimiz Ertuğrul Çağlar'a,

Blokların hazırlanması, kesilmesi ve hertürlü teknik konuda bana çok yardımcı dokunan sevgili teknisyenimiz Sinan Özbulat'a,

Yoğun ve uzun FİSH çalışma sürecinin her aşamasında gerek gülyüzüyle, gerek ilgisiyle yanımda olan Sencer Oruç'a,

Tanımdan büyük mutluluk duyduğum, iyi ve kötü her günümde yanımda olan, hayatımda her zaman olmalarını istediğim, çok sevdiğim asistan dostlarım; Dr. Sevil Karabağ ve Dr. Nazlı Soygun'a,

Bugünlere gelmemde en büyük emek ve özveriyi gösteren, bu süreçte ve hayatımın her aşamasında yanımda olan canım aileme,

Bu sıkıntılı süreç boyunca yanımda ve her konuda destek olan, minik prensesimizin bakımını üstlenen çok sevdiğim canım eşim Erçin Alsancak'a,

Zamanından çaldığım, tezimin bitmesine en çok sevinen; biricğim, canım kızım Öykü Perin Alsancak'a çok teşekkür ederim.

Perihan ALSANCAK

Adana/2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
GRAFİK LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
RESİM LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım	4
2.2. Epidemiyoloji	5
2.3. Etiyoloji	5
2.4. Tutulum Yeri	5
2.5. Klinik Özellikler	6
2.6. Morfoloji	6
2.7. İmmünofenotipik Özellikler	7
2.8. Genetik Özellikler	9
2.8.1. Antijen Reseptör Genleri	9
2.8.2. Anormal Somatik Hipermutasyonlar	9
2.8.3. Kromozomal Translokasyonlar	9
2.8.4. Gen Ekspresyon Profili	10
2.9. Prognoz ve Prediktif Faktörler	10
2.10. Tedavi	12
2.11. Çalışmada Kullanılan Belirteçler	12
2.11.1. C-MYC (MYC)	12
2.11.2. BCL2	14
2.11.3. BCL6	14
2.11.4. CD-10	15
2.11.5. MUM-1	16
2.11.6. SİKLİN D1	16
2.11.7. CD5	17
2.11.8. Ki67	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1. Olgu Seçimi	19
3.2. Etik Kurul	19
3.3. Yöntem	19
3.3.1. İmmünohistokimyasal Yöntem	20
3.3.1.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme:	20
3.3.2. Floresan İn-Situ Hibridizasyon (FİSH)	21
3.3.2.1. FİSH Testinin Değerlendirilmesi	22
3.4. İstatiksel Analiz	23
4. BULGULAR	24
4.1. Sağkalım	28

5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇLAR.....	48
7. KAYNAKLAR	51
8. ÖZGEÇMİŞ	64



TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. B Hücreli neoplaziler- WHO (DSÖ) 2008 sınıflaması.....	4
Tablo 2. DBBHL Varyantları, altgrupları ve alttipleri-WHO (DSÖ) 2008 DBBHL sınıflaması.....	6
Tablo 3. İHK yöntemi ile çalışılan antikorların marka ve dilüsyonları	19
Tablo 4. İmmünohistokimyasal belirteçlerin boyanma paternleri	21
Tablo 5. FİSH belirteçlerinin özellikleri	22
Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen olguların demografik ve klinik özellikleri	24
Tablo 7. Çalışmaya dahil edilen olguların sağkalım verileri.....	28
Tablo 8. Tüm olgularda çalışılan parametrelerin sağkalımla ilişkisi	29
Tablo 9. DHL-THL (+) olguların demografik verileri ve proliferatif indeks bilgileri	35
Tablo 10. DHL-THL (+) olgular ile DHL-THL (-) olgular arası subtip, lokalizasyon ve proliferatif indeks farkı analizi.....	36
Tablo 11. DHL-THL (+) olgularda sağkalım analizi	38
Tablo 12. Son zamanlarda DBBHL'da MYC,BCL2 ve BCL6 gen yeniden düzenlenmesi konusunda yapılan çalışmaların özeti.....	45

GRAFİK LİSTESİ

<u>Grafik No</u>	<u>Sayfa No</u>
Grafik 1. Nodal ve ektranodal lokalizasyon ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi.....	30
Grafik 2. Germinal Merkez Kökenli (GCB) ve Non germinal Merkez Kökenli (N-GCB) olgularda sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi	31
Grafik 3. BCL6.gen yeniden düzenlenmesi varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi	31
Grafik 4. BCL2.gen yeniden düzenlenmesi varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi	32
Grafik 5. MYC gen yeniden düzenlenmesi varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi	32
Grafik 6: BCL2.protein ekspresyon varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi.....	33
Grafik 7: CD5.protein ekspresyon varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi.....	33
Grafik 8. Siklin D1 protein ekspresyon varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi.....	34
Grafik 9. Düşük Proliferatif İndeks - Yüksek Proliferatif İndeks ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi.....	34
Grafik 10. DHL-THL (+) vakalar ile DHL-THL (-) vakalarda lokalizasyon dağılımı	37
Grafik 11. DHL-THL (+) vakalar ile DHL-THL (-) vakalarda subtip dağılımı.....	37
Grafik 12. DHL-THL (+) vakalar ile DHL-THL (-) vakalarda Ki67 proliferasyon indeksinin dağılımı	38
Grafik 13. DHL-THL (+) ve DHL-THL (-) toplam 268 olgunun Kaplan-Meier yöntemi ile hesaplanan toplam sağkalım olasılığı eğrisi.....	39

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 1. Hans algoritmasına göre GCB hücre kökenli ve Non GCB hücre kökenli DBBHL sınıflaması.....9



RESİM LİSTESİ

<u>Resim No</u>	<u>Sayfa No</u>
Resim 1. Diffüz Büyük B hücreli lenfoma. Hematoksilen-Eozin (x100-x400)	25
Resim 2. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin boyanma paternleri.....	26
Resim 3. Diffüz Büyük B hücreli lenfomada nükleer Ki 67 immunreaktivitesi.(x100-x400)	26
Resim 4. DBBHL'da FISH yöntemi ile MYC gen yeniden düzenlenmesi (x600)	27
Resim 5. DBBHL'da FISH yöntemi ile BCL6 gen yeniden düzenlenmesi (x600)	27
Resim 6. DBBHL'da FISH yöntemi ile BCL2 gen yeniden düzenlenmesi (x600)	26



KISALTMALAR

ABC	: Active B Cell (Aktive B hücre Kökenli)
BL	: Burkitt Lenfoma
CALLA	: Common Akut Lenfoblastik Lösemi Antijeni
CDK	: Siklin Bağımlı Kinaz
DBBHL	: Diffüz büyük B hücreli lenfoma
DBBHL, NOS	: Diffüz büyük B hücreli lenfoma, Başka türlü tanımlanamayan
DHL	: Double Hit Lenfoma
EBV	: Epstein- Barr Virüs
FISH	: Floresan İn Situ Hibridizasyon
GCB	: Germinal Center B Cell (Germinal Merkez B hücre kökenli)
HL	: Hodgkin Lenfoma
IHK	: İmmunohistokimya
IPI	: International Prognostic index (Uluslararası Prognostik indeks)
IRF4	: İnterferon Regulator Faktör 4
KLL	: Kronik lenfositik Lösemi/Küçük lenfositik lenfoma
NHL	: Non Hodgkin Lenfoma
NLPHL	: Nodüler Lenfosit Predominant Hodgkin Lenfoma
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
R-CHOP	: Rituksimab - Cyclophosphamide, Hydroxydaunorubicin, Oncovin (vincristine), Prednisone
R-IPI	: Revised International Prognostic Index (Revize uluslararası prognostik indeks)
THL	: Triple Hit Lenfoma
THZBBHL	: T Hücre/Histiyositten Zengin Büyük B Hücreli Lenfoma
WHO (DSÖ)	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ÖZET

R-CHOP ve CHOP Kemoterapi Rejimi Alan Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomalı Hastalarda Sitogenetik ve İmmüfenotipik Özelliklerin Araştırılması ve Bu Özelliklerin Sağkalım Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Amaç: Diffüz Büyük B hücreli lenfomalar (DBBHL) erişkinlerde en sık görülen Non-Hodgkin lenfoma histolojik alt tipidir. Bu lenfomalar; tedavi edilmediğinde ölümcül seyreden, klinik, morfolojik, immüfenotipik ve sitogenetik olarak heterojen bir gruptur. Hastaların yarısından fazlası Ritüksimab ile kombine edilmiş antrasiklin bazlı kemoterapi rejimi; R-CHOP (siklofosamid, doksorobusin, vinkristin, prednizon+ritüksimab; immünoterapi) ile kür edilirken cevaplar heterojen olup birçok hasta, hastalık nedeniyle kaybedilmektedir.

Bu çalışmanın amacı; R-CHOP ve CHOP tedavisi almış DBBHL olgularında klinik özellikler, MYC, BCL2, BCL6 translokasyonunu ve BCL2, CD5, Siklin D1, Ki67 protein ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 268 R-CHOP ve CHOP tedavisi almış DBBHL olgusu değerlendirilmiştir. Bu olgularda immunhistokimyasal yöntem ile BCL6, CD10, MUM1, BCL2, CD5, Siklin D1 ve Ki-67 protein ekspresyonu belirlendi. Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemiyle MYC, BCL2, BCL6 gen yeniden düzenlenmesi varlığı araştırılarak Double Hit ve Triple Hit lenfoma olguları belirlendi. Tüm DBBHL olgularında ve Double Hit/Triple Hit lenfoma olgularında sağkalıma etkili olabilecek immüfenotipik ve sitogenetik özellikler araştırıldı.

Bulgular: Tüm olguların; yaş, cinsiyet, tutulum yeri ve immüfenotipik subtipleri ile sağkalımları arasındaki ilişkiler değerlendirildiğinde; nodal tutulum yeri ile sağkalım süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulundu ($p=0,011$). Bununla birlikte MYC, BCL2, BCL6 gen yeniden düzenlenmesi varlığı 18 olguda (% 6,7) saptanırken MYC translokasyon varlığının kısa sağkalım süresi ile ilişkili olduğu saptandı ($p=0,021$). Double hit ve Triple hit olarak belirlenen olgular ile bu kompleks karyotipik anomaliyi içermeyen olgular arası yapılan sağkalım analizinde DHL/THL olan grupta sağkalım süresinin istatistiksel olarak daha kısa olduğu görüldü ($p=0,044$). Ayrıca DHL/THL olan 18 olguda (% 6,7) Ki67 proliferasyon indeksinin daha yüksek olduğu dikkati çekti ($p=0,005$). Tüm olgularda BCL2, CD5, Siklin D1 protein ekspresyonu, Ki-67 proliferasyon indeks yüksekliği ve BCL6, BCL2 translokasyon varlığı ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı.

Sonuç: DBBHL'lar; histomorfolojik ve genetik olarak heterojen bir grubu oluşturduklarından farklı klinik gidişe, tedavide farklı yanıt ve sağkalıma sahiptirler. Etkili tedavi rejimlerinin belirlenmesi ve sağkalımın uzatılabilmesi için bu genetik farklılıkların özellikle proliferatif indeksi yüksek olgularda ortaya konması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma, Double Hit lenfoma, Triple Hit lenfoma, MYC, BCL2, BCL6 gen yeniden düzenlenmesi, Sağkalım analizi.

ABSTRACT

Research of the Immunofenotipically, Cytogenetically Characteristics In R-CHOP, CHOP Treated Diffuse Large B Cell Lymphomas and Impact of This Characteristics to The Survival Rate.

Aim: Diffuse Large B cell lymphomas (DLBCL) is the mostly encountered Non-Hodgkin lymphoma histologic subtype for the adults. It shows heterogeneity clinically, morphologically, immunophenotypically and cytogenetically. Because of this reason, they have different clinical course and survival. Although more than half of the patients are cured with a combination of rituximab with anthracycline-based chemotherapy, such as the R-CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab; immunochemotherapy) regimen. The treatment responses are varied and many patients die of their disease.

The aim of this study is; to show the characteristics of R-CHOP, CHOP treated DLBCL and also to study the relationship of the MYC, BCL2, BCL6 translocation and BCL2, CD5, Siklin D1, Ki67 protein expression with the clinicopathological parameters and to reveal the influence of this relationship on prognosis and survival.

Methods: In our study; 268 R-CHOP, CHOP treated DLBCL cases were investigated. Bcl-6, CD10, MUM1, Bcl-2, CD5, Siklin D1 and Ki-67 expressions are specified by immunohistochemical methods. MYC, BCL2 and BCL6 gen rearrangement presence is studied with the Florescent Insitu Hybridization (FISH) method. The influence of these immunofenotypic and cytogenetic characteristics on prognosis and survival were investigated.

Results: When the relationships between the age, sex, localization and subtype of the cases and their survivals compared; it was meaningful that the nodal DBBHL survival rate was higher statistically ($p=0.011$). In addition to this, MYC, BCL2, BCL6 gen rearrangement is determined with 18 cases (6.7%) and the presence of MYC gen rearrangement was associated with significantly worse overall survival ($p=0.021$). The cases which was identified as Double Hit and Triple Hit lymphoma has statistically short survival rate ($p=0.044$). Also these cases showed high Ki67 proliferation rate ($p=0.005$). For all cases no meaningful result could be found statistically between BCL2, CD5, Siklin D1 protein expression, high Ki67 proliferation rate, BCL6, BCL2 rearrangement and the survival.

Conclusion: DLBCL's have different clinical course, treatment response and survival, because of the fact that they form a heterogeneous group histomorphologically and genetically. These genetic differences should be revealed in order to specify the effective treatments and to extend the survival. For this purpose; there is need for similar studies to determine favorable therapeutic approaches.

Key words: Diffuse Large B cell Lymphoma, Double Hit Lymphoma, Triple hit lymphoma, MYC, BCL2, BCL6 rearrangement. Survival analysis.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diffüz büyük B-hücreli lenfomalar (DBBHL) erişkin Non Hodgkin lenfomalarının en sık görülen histolojik alt tipidir. DBBHL'lar; agresif gidişli, tedavisiz ölüme neden olabilen; klinik, morfolojik, immunfenotipik ve sitogenetik olarak heterojen özellikler gösteren lenfomalardır.¹ Hastaların yarısından fazlasında Ritüksimab ile kombine edilmiş antrasiklin bazlı kemoterapi; R-CHOP rejimi (siklofosamid, doksorobusin, vinkristin, prednizon+ritüksimab; immünoterapi) ile kür elde edilirken cevaplar heterojen olup birçok hasta, hastalık nedeniyle ölmektedir.^{2,3}

Klinik olarak Uluslararası Prognostik indeks (IPI) veya Revize Uluslararası Prognostik İndeks (R-IPI) skorumu sisteminin yaşam süresi ve standart kemoterapi rejimi ile uzun dönem remisyon göstermeyen yüksek riskli hastaları belirlemede en önemli prognostik faktör olduğu düşünülmektedir. Ancak aynı risk grubu içerisinde dahi önemli sayıda farklı klinik gidiş izlenmiştir.^{3,4}

DBBHL'lar hücre kökenine dayanılarak yapılan gen ekspresyon profili ile; germinal merkez kökenli (GCB), aktive B hücre kökenli (ABC) ve sınıflandırılmayan olarak alt tiplere ayrılmıştır.^{5,6} Hans ve ark. GCB ve Non-GCB hücre fenotipine sahip DBBHL'ları belirlemek amacıyla CD10, MUM1/IRF-4 ve BCL6 immünohistokimyasal belirteçlerini kullanarak bir algoritma oluşturmuşlardır (Şekil 1).⁷ GCB fenotipine sahip hastaların Non GCB fenotipli hastalara göre daha iyi bir yaşam süresine sahip olduğu bildirilmiştir.^{7,8} Bu algoritmanın prognostik önemi antrasiklin bazlı kemoterapi rejimi alan hastalarda yapılan çalışmalarla teyit edilmiştir.^{9,10} Ancak immüno kemoterapi alan hastalarda immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenen GCB ve Non GCB fenotipinin prognostik önemi tartışmalıdır.^{11,12}

Hastalarda izlenen farklı klinik gidiş nedeniyle sağkalım süresini öngörebilecek prognostik belirteçler günümüzde önemli bir çalışma alanıdır.

DBBHL'larda MYC, BCL2 ve BCL6'da tekrarlayan kromozomal translokasyonlar bildirilmiştir.^{13,14} MYC translokasyonu Burkitt Lenfoma (BL) için karakteristik bir sitogenetik olay iken DBBHL'lı hastalarda da % 3-16 oranında saptanmıştır.^{10,15-17}

MYC gen yeniden düzenlenmesi literatürde sıklıkla kemoterapiye direnç, agresif klinik gidiş ve kısa yaşam süresi ile ilişkili bulunmuştur.¹⁶ MYC gen yeniden

düzenlenmesine sahip daha agresif gidişli DBBHL olgularının yanısıra Burkitt lenfomanın morfolojik özelliklerini gösteren ve yüksek proliferatif indekse sahip ancak MYC translokasyonu göstermeyen olgular da bulunmaktadır. Son DSÖ sınıflamasında (DSÖ 2008) bu olguların bir kısmı 'DBBHL ve BL özellikleri arasında kalan başka türlü sınıflandırılmayan B-hücreli lenfomalar' grubu altında toplanmışlardır. Bu heterojen grup içinde yer alan bir grup lenfomanın önümüzdeki sınıflamalarda daha net özellikleriyle belirgin alt gruplara ayrılacağı düşünülmektedir.

Bununla birlikte Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yönteminin kullanıma başlamasıyla MYC gen yeniden düzenlenmesi ile eş zamanlı olarak BCL2 ve / veya BCL6 translokasyonu gösteren ayrı bir B hücreli lenfoma grubu daha ortaya çıkmıştır. Bu grup; 'Double Hit Lenfoma' (DHL) ve 'Triple Hit Lenfoma' (THL) olarak adlandırılmaktadır. DHL/THL'lar; BL ve DBBHL'lara göre daha kötü prognozlu bir B hücreli lenfoma grubu olarak tanımlanmaktadır.^{18,19} Bu olgular günümüzde genellikle 'DBBHL ve BL özellikleri arasında kalan başka türlü sınıflandırılmayan B-hücreli lenfomalar' grubu altında sınıflandırılmaktayken bu farklı özelliklerinden dolayı; bu olguları tanımak ve tedavi açısından ayrı bir grup altında sınıflandırmak önem kazanmaktadır.

Literatürde BCL6 anomalileri DBBHL'lı hastalarda en sık görülen sitogenetik anomali olup hastaların % 30-35'inde saptanmış, BCL2 gen yeniden düzenlenmesi oranı % 20-30 olarak bildirilmiştir. Bu anomalilerin prognoz üzerine etkisi üzerine yapılan klinik çalışma sonuçları farklılık göstermektedir.^{10,13,14,17,20-23} Buna karşın R-CHOP kemoterapi rejimini almış DBBHL'lı hastalarda MYC, BCL6 ve BCL2 gen yeniden düzenlenmesinin prognoz üzerine etkisi konusunda yapılan çalışmalar az sayıdadır.^{10,16,23,24}

Bu çalışma; DBBHL'nın klinik, biyolojik, immunfenotipik ve sitogenetik özelliklerini ortaya koymak amacıyla GCB ve Non GCB olarak sınıflandırılan olgularda; FISH yöntemi kullanılarak saptanan MYC, BCL2 ve BCL6 translokasyonu ve immunohistokimyasal yöntem ile saptanan BCL2, CD5, Siklin D1 ve Ki67 ekspresyonunun prognoz ve sağkalıma etkisini araştırmayı amaçlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Non Hodgkin lenfomalar; B lenfosit, T lenfosit ve doğal öldürücü hücrelerden köken alan lenfoid sistem hücrelerinin klonal tümörleridir. NHL, genel olarak orta yaş (55 yaş) ve daha yaşlı erişkinlerin hastalığıdır. Ülkemizde, batı ülkeleri ile kıyaslandığında 10 yaş kadar daha genç yaşta ve erkeklerde daha sıktır.^{25,26}

Lenfositler, hematopoetik kök hücrelerden gelişen ve hücre yüzey reseptörüne göre farklı morfolojiler gösteren hücrelerdir. Lenfoid tümör hücreleri, kök hücrelerden gelişen bu öncül hücrelerin klonal çoğalması sırasında farklılaşma aşamasında duraksayan malign formlarından oluşur.

Non Hodgkin lenfomalar en sık lenf nodlarında ortaya çıkmakla birlikte; dalak, timus, Waldeyer halkası, kemik iliği, bağırsak-bronş mukozası gibi lenfoid dokulardan da kaynaklanabilirler.

NHL'lar için 1970'li yıllardan günümüze Rappaport, Lukes&Collins, Kiel, Working formulation ve REAL sınıflaması gibi birçok farklı sınıflama kullanılmıştır. REAL sınıflaması; 2001 yılında WHO (DSÖ) sınıflamasına revize edilmiştir. Son olarak da DSÖ sınıflaması 2008 yılında güncellenmiş olup halen günümüzde DSÖ 2008 sınıflaması geçerliliğini korumaktadır.²⁷

Diffüz Büyük B hücreli lenfomalar (DBBHL) erişkinde en sık görülen Non Hodgkin lenfoma (NHL) alt tipidir (1). (Tablo 1). Tüm lenfoid malignitelerin % 30'unu, Non Hodgkin lenfomaların ise % 30-40'ını oluşturmaktadır.²⁸⁻³⁰

Bazı kaynaklarda potansiyel olarak tedavi edilebilir bir hastalık olarak tanımlansa da uzun dönem remisyon, günümüz tedavi koşullarında yaklaşık % 40 olarak bildirilmiştir.^{1,29} DBBHL'lar; Non Hodgkin lenfoma grubu içerisinde en kompleks, klinik ve morfolojik olarak da en heterojen grubu oluşturmaktadırlar.^{1,31}

Tablo 1. B Hücreli neoplaziler- WHO (DSÖ) 2008 sınıflaması

Öncül B hücreli lenfoblastik lösemi / lenfoma
Matür B hücreli neoplazmlar
Kronik lenfositik lösemi / küçük lenfositik lenfoma
B hücreli prolenfositik lösemi
Splenik Marjinal zon lenfoma
Hairy cell lösemi (Tüylü hücreli lösemi)
Splenik lösemi/lenfoma, sınıflandırılmayan
Lenfoplasmasitik lenfoma
Ağır zincir hastalığı
Plazma hücreli neoplazi
Mukoza ilişkili ektranodal marjinal zon lenfoması (MALT tipi)
Nodal marjinal zon lenfoma
Foliküler lenfoma
Primer kutanöz follikül merkezli lenfoma
Mantle hücreli lenfoma
Diffüz büyük B-hücreli lenfoma
Diffüz Büyük B hücreli lenfoma , başka türlü sınıflandırılmayan
Diffüz Büyük B hücreli lenfoma , alt grupları*
Diğer Büyük B hücreli neoplaziler*
Burkitt lenfoma
Borderline olgular*

* Tablo 2’de ayrıntıları anlatılacaktır.

2.1. Tanım

Diffüz büyük B hücreli lenfoma, nükleus büyüklüğü makrofaja eşit veya büyük ya da normal bir lenfositin iki katından büyük B lenfoid hücrelerden oluşan diffüz paternde bir neoplazmdir.¹ Çalışmalar ışığında Diffüz büyük B hücreli lenfomalar morfolojik varyantlara ve moleküler ve immunofenotipik altgruplara ayrılmıştır (Tablo 2). Buna rağmen, birçok vaka biyolojik heterojenite nedeniyle kesin bir şekilde sınıflandırılmaz. Bu tür vakalar Diffüz büyük B hücreli lenfoma, başka şekilde tanımlanmamış (DBBHL, NOS) olarak sınıflandırılır.

2.2. Epidemiyoloji

DBBHL batı ülkelerinde yetişkin Non Hodgkin lenfomalarının % 30-40'ını oluştururken gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek oranda görülür. Yaşlılarda daha yaygındır. Ortalama 7. dekatta görülse de çocuklarda ve genç yetişkinlerde de görülebilir. Kadınlara kıyasla erkeklerde daha siktir.^{32,33}

2.3. Etiyoloji

DBBHL etiyojisi bilinmemektedir. Genellikle *de novo* (primer) olarak görülür ancak Kronik lenfositik lösemi/Küçük lenfositik lenfoma (KLL), Foliküler Lenfoma, Marginal zon lenfoma veya Nodüler lenfositik predominant Hodgkin lenfoma (NLPHL) gibi daha az agresif bir lenfomanın progrese ya da transforme olması (ikincil) ile de ortaya çıkabilir.

Altta yatan immün yetmezlik önemli bir risk faktörüdür. İmmün yetmezlik zemininde meydana gelen DBBHL'da, Epstein-Barr virüs (EBV) pozitifliği sporadik DBBHL'da görülenden daha siktir ve yaklaşık % 10 oranında saptanmaktadır.^{34,35}

2.4. Tutulum Yeri

Hastalar tanı anında % 60 nodal veya % 40'a kadar ektranodal tutulum ile başvurabilirler.³⁶

En yaygın ektranodal yerleşim yeri gastrointestinal sistemdir (mide ve ileoçekal bölge). Ancak herhangi bir ektranodal bölge de primer yerleşim yeri olabilir. Sıkça rastlanan diğer ektranodal yerleşim yerleri ise kemik, testis, dalak, Waldeyer halkası, tükrük bezi, tiroid, karaciğer, böbrek ve adrenal bezdir. Kemik iliği tutulumu % 11-27 vakada rapor edilmiştir.^{37,38} Minimal tutulumun tespit edilme oranı morfolojik incelemeye ek olarak immunhistokimyasal çalışmalar veya PCR gibi yöntemlerin uygulanması ile artabilir.

2.5. Klinik Özellikler

Hastalar genellikle tek veya multipl nodal ya da ektranodal yerleşimli hızlı büyüyen kitlelerle başvururlar. Hastaların yarısına yakınında tanı anında evre 1 veya evre 2 hastalık mevcuttur.

Çoğu hasta asemptomatik iken semptomların varlığı tutulum yeri ile ilişkilidir.^{32,33}

2.6. Morfoloji

Lenf nodları, neoplastik büyük lenfoid hücre proliferasyonu nedeniyle tamamen veya kısmi olarak infiltre olup normal yapısını kaybetmiştir. Kısmi nodal tutulum interfoliküler ve/veya daha az sıklıkla sinusoidal olabilir ve perinodal doku sıklıkla infiltredir. Geniş veya ince sklerotik bantlar eşlik edebilir. Sitomorfolojik olarak farklı morfolojik varyantlar görülür.

DSÖ 2008 sınıflamasında; DBBHL'lar için histomorfolojik, immunhistokimyasal ve moleküler temele dayanılarak farklı varyantlar tanımlanmıştır (Tablo 2). Morfolojik varyantlar 'sık' ve 'nadir' olmak üzere 2 ana gruba ayrılmaktadır. Sık görülen morfolojik varyantlar; sentroblastik, immunoblastik ve anaplastik varyant iken bunların dışında miksoid stroma veya fibriler matriks içeren, iğsi görünümde veya taşlı yüzük hücre benzeri morfolojide olan daha nadir morfolojik varyantlar da tanımlanmıştır.^{1,30}

Sık görülen morfolojik varyantlar:

a. Sentroblastik varyant: En sık görülen varyanttır. Bazı olgularda tümör monomorfik olup % 90'dan fazla sentroblast içerirken bazıları sentroblast ve immunoblastları beraber içerecek şekilde polimorfik özelliktedir.

b. İmmunoblastik varyant: % 90'dan fazlası immunoblastlardan oluşan varyanttır. Hashimoto tiroiditi, Sjögren hastalığı, Lupus eritematozus gibi immun aracılı hastalıklarda en sık görülen DBBHL varyantıdır.

c. Anaplastik varyant: Daha nadir görülen varyanttır. Hodgkin ve/veya Reed-Sternberg hücresi ya da anaplastik büyük hücreli lenfoma hücrelerine benzer özellikte tümör hücrelerinden oluşan varyanttır.³⁹

Tablo 2. DBBHL Varyantları, altgrupları ve alttipleri-WHO (DSÖ) 2008 DBBHL sınıflaması

Diffüz Büyük B-Hücreli Lenfoma, Başka Türü Sınıflandırılmayan
Sık Görülen Morfolojik Varyantlar:
Sentroblastik
İmmunoblastik
Anaplastik
Nadir Görülen Morfolojik Varyantlar
Moleküler Alt Gruplar: - GCB hücre kökenli - ABC hücre kökenli
İmmunohistokimyasal Alt Gruplar: - CD5 Pozitif DBBHL - GCB hücre kökenli -Non-GCB hücre kökenli
DBBHL Alt Grupları:
T-hücre/histiositten zengin Diffüz Büyük B-hücreli lenfoma
Santral sinir sisteminin primer Diffüz Büyük B hücreli Lenfoması
Primer kutanöz bacak tipi DBBHL
Yaşlılığın EBV pozitif DBBHL'sı
Diğer Büyük B Hücreli Neoplaziler:
Primer mediastinal (timik) büyük B-hücreli lenfoma
İntravasküler büyük B-hücreli lenfoma
Kronik inflamasyonla ilişkili DBBHL
Lenfomatoid granulomatozis
ALK pozitif büyük B hücreli lenfoma
Plazmablastik lenfoma
HHV-8 ilişkili Castleman Hastalığı zemininde gelişen DBBHL
Primer efüzyon lenfoması
Borderline Vakalar:
DBBHL ve BL özellikleri arasında kalan başka türlü sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma
DBBHL ve Klasik HL özellikleri arasında kalan başka türlü sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma

2.7. İmmünofenotipik Özellikler

DBBHL; CD19, CD20, CD22 ve CD79a gibi çeşitli B hücre belirleyicilerini beraber eksprese edebilir, bazen bunlardan biri veya birden fazlasında ekspresyon kaybına rastlanabilir.^{8,9}

Özellikle tekrarlayan lenfoması olan veya Ritüksimab (anti-CD20 antikoru) tedavisi alan % 60 hastada CD20 ekspresyon kaybı görülebilmektedir.(1,30,40) Vakaların % 50-75'inde yüzey ve/veya sitoplazmik immunoglobulin (IgM>IgG>IgA)

ekspresyonu vardır.⁴¹ Ancak sitoplazmik immunoglobulin varlığı CD38 ve CD138 gibi plazma hücre belirleyicilerinin ekspresyonu ile ilişkili değildir, fakat nadiren CD20 pozitif hücrelerde her iki belirleyici de saptanabilir. CD30 ekspresyonu, özellikle anaplastik varyantta gösterilirken, % 10 vakada da CD5 ekspresyonuna rastlanır.⁴² CD5 pozitif DBBHL vakaları genellikle de novo olgulardır ve nadiren KLL'den gelişir. CD5 pozitif DBBHL, Mantle hücreli lenfomanın blastoid varyantından Siklin D1 negatifliği ile ayrılabilir.^{43,44}

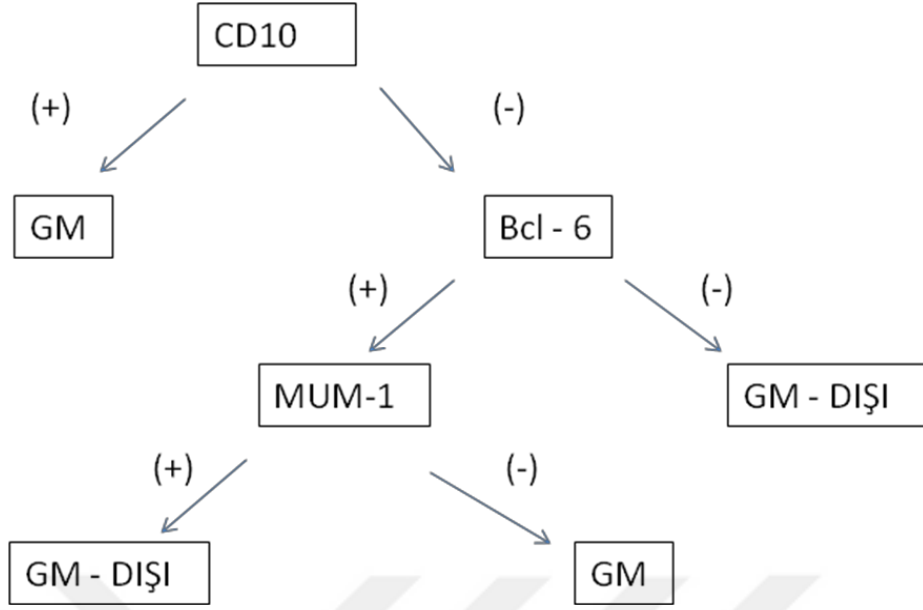
Literatürde DBBHL'larda CD10, BCL6 ve MUM1 ekspresyonları değişkenlik gösterir. CD10 ekspresyonu % 30-60, BCL6 ekspresyonu % 60-90 ve MUM1 ekspresyonu % 35-65 oranında bildirilmiştir.^{45,46} Normal germinal merkez B-hücrelerinde BCL6 ve MUM1 koekspresyonu beklenmezken tüm DBBHL'larda bu birlikteliğin % 50 oranında olduğu bildirilmiştir.⁴⁷

Ki67 ile proliferasyon indeksi genellikle % 40'tan yüksektir ve bazı vakalarda bu oran % 90'ın üstünde olabilir.⁴⁸

Moleküler alt gruplar; Germinal Merkez Kökenli (GCB) ve Aktive B Hücre kökenli (ABC) olmak üzere 2 alt grupta incelenmektedir

İmmünohistokimyasal alt gruplar; CD5 pozitif DBBHL, Germinal Merkez Kökenli (GCB) ve Germinal Merkez Dışı Kökenli (Non GCB) olmak üzere 3 farklı alt grupta sınıflandırılmıştır. Bu alt grupların belirlenmesi için CD10, BCL6, IRF-4/MUM-1 antikorları kombine olarak kullanılmaktadır (Şekil 1).^{1,49,50}

Diğer DBBHL alt tipleri arasında ise; T hücre/histiositten zengin DBBHL, Santral sinir sisteminin primer BBHL'sı, primer kutanöz DBHHL, bacak tipi DBBHL, yaşlılığın EBV pozitif DBBHL'sı gibi antiteler yer almaktadır. Özel bir alt tipe veya hastalığa ait olmayanlar ise; bu gruplar altında sınıflandırılmamış olup; DBBHL, başka türlü tanımlanamayan (NOS) adı altında toplanmıştır.^{1,51}



Şekil 1. Hans algoritmasına göre GCB hücre kökenli ve Non GCB hücre kökenli DBBHL sınıflaması

2.8. Genetik Özellikler

2.8.1. Antijen Reseptör Genleri

Klonal olarak yeniden düzenlenmiş immunoglobulin hafif ve ağır zincir genleri tespit edilebilir. Bu genler, değişik bölgelerde somatik hipermutasyonlar gösterirler.

2.8.2. Anormal Somatik Hipermutasyonlar

DBBHL vakalarının % 50'den fazlasında PIMI, MYC, RHOH/TTF (ARHH) ve PAX5 gibi multipl gen lokuslarını hedefleyen anormal somatik hipermutasyonlara rastlanır. Bu genetik değişiklikler onkonogenezde etkili olabilir.⁵²

2.8.3. Kromozomal Translokasyonlar

DBBHL'da görülen en yaygın translokasyon, vakaların yaklaşık %30 kadarında tespit edilen BCL6 genini kapsayan kromozom 3q27 bölgesindedir.^{13,53,54} Folliküler lenfomanın ayırıcı özelliği olan BCL2 translokasyonu t(14,18) ise vakaların % 20-30'unda tespit edilmiştir.^{45,55,56}

Bir vaka serisinde, MYC gen değişiklikleri vakaların % 10 kadarında gözlenirken bu yeniden düzenlenmenin genellikle kompleks genetik değişikliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir.⁴⁵

MYC geni vakaların % 60'ında IG geni ile % 40'ında ise Non-IG genleri ile transloke olmaktadır.⁴⁵

MYC translokasyonu olan vakaların yaklaşık olarak % 20'sinde eş zamanlı IGH-BCL2 translokasyonu veya BCL6 translokasyonu görülebilmektedir.⁵⁷ Bu vakalar genellikle yüksek proliferasyon indeksine (Ki67 >% 90) sahip olup bu vakaların Diffüz büyük B hücreli lenfoma ve Burkitt lenfoma arası özellikler gösteren, sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma grubuna alınması önerilmektedir.

2.8.4. Gen Ekspresyon Profili

Alizadeh ve ark. DBBHL'da iki alt grup tanımlamıştır.⁵ İlk grup germinal merkez kökenli B-hücrelerinin (GCB) gen ekspresyon profiline sahipken (vakaların % 45-50) diğer grup aktive periferel B-hücrelerinin (ABC) ekspresyon profiline sahiptir.

Son olarak yapılan çalışmalarla GCB ve ABC alt gruplarına uymayan vakaların toplandığı üçüncü bir grup (tip 3 olarak adlandırılan) tanımlanmıştır.^{45,58} GCB ve ABC grupları farklı kromozomal anomalilere sahiptir. GCB alt grubunda sıklıkla 12q12'de artış dikkati çekerken, ABC alt grubunda 3q, 18q21-q22'da artış ve 6q21-q22'de kayıp izlenmektedir.^{59,60} Ayrıca GCB alt grubuna ait vakaların bazılarında BCL2 gen değişiklikleri mevcuttur.^{61,62}

Polimorfik sentroblast benzeri hücreler ve/veya çok miktarda immunoblast içeren, sentroblastik varyant ve immunoblastik varyant olarak tanımlanan vakalar genellikle ABC alt grubunda yer alırlar. Ancak bu özellikler GCB alt grubunda da gözlenebilir. Bu nedenle GCB ve ABC alt gruplarını morfolojik olarak ayırmak güvenilir değildir. Ayrıca DBBHL'nın gen ekspresyon profiline göre oluşturulan bu alt gruplar (GCB, ABC) ile immunhistokimyasal yöntemler kullanılarak oluşturulan alt grupların da (GCB, Non GCB) uyumu değişkenlik göstermektedir.^{6,44}

2.9. Prognoz ve Prediktif Faktörler

DBBHL tedavi rejimine Ritüksimab eklenmeden önce uzun dönem remisyon oranları % 50 - % 60 arasında idi. Klinik parametrelere dayanarak yapılan Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) prognozu belirlemede en sık kullanılan ve en değerli gösterge iken Ritüksimab kullanımının prognoz üzerine belirgin olumlu etkisi sonrası IPI skorunun prognozu belirlemede önemi biraz azalmıştır.^{3,33}

Morfolojinin ve özellikle immunoblastik özelliklerin prognoza olan etkisi konusunda literatürde çelişkili yayınlar yer almaktadır.^{33,63-65} Bazı yayınlar da immunoblastik morfolojinin kötü prognozla ilişkili olduğunu bildirirken, bazı yayınlarda prognozu etkilemediği iddia edilmektedir.

Literatürde prognoz ile ilişkisi olduğu iddia edilen birçok immunhistokimyasal antikor yayınlanmıştır. BCL2, X'e bağlı apoptoz inhibitör (XIAP), MUM1, Siklin D2, Siklin D3, P53, CD5, FOXP1, PKC-B, ICAM1, HLA-DR, c-FLIP gibi antikorların kötü prognoz ile birlikte olduğu bildirilirken BCL6, CD10, LMO2 gibi antikorların ise iyi prognoz ile ilgili olduğu bildirilmektedir.^{8,61,66-74} Ancak bu çalışmalar sonucunda elde edilen sonuçlar sıklıkla tartışmalı ve çelişkilidir.

Son olarak tedavi rejimine eklenen anti-CD20 antikorlu olan Ritüksimab ile DBBHL'lı hastaların sağkalım süresinde önemli bir artış sağlanmıştır. Yapılan çalışmalarda Ritüksimab kullanımı ile BCL2 ekspresyonunun prognoz üzerine olan kötü etkisi ve BCL6'nın prognoz üzerindeki iyi etkisinin azaldığı gösterilmiştir.⁷⁴⁻⁷⁶ Yine EBER in situ hibridizasyon ile tespit edilen EBV (+) pozitif DBBHL hastalarının EBV (-) negatif DBBHL hastalarına göre daha kötü prognoza sahip olduğu gösterilmiştir.⁷⁷

Bazı serilerde, yüksek Ki67 proliferasyon indeksi kötü prognozla ilişkili bulunmuş ve bu bulgu yapılan tek gen ekspresyon çalışması ile de desteklenmiştir.^{6,48} Ancak daha sonra yapılan çok sayıda çalışmada Ki67 proliferasyon indeksi yüksekliğinin kötü prognoz ile ilişkisi doğrulanamamıştır.^{8,75,78}

Yapılan bazı çalışmalarda BCL6 translokasyonu iyi prognozla ilişkilendirilirken diğer çalışmalarda ilişki gösterilememiştir.^{13,15,79-83} Genetik olarak MYC anomalisi varlığı ise kötü prognozla ilişkilendirilmiştir.⁴⁵ P53 mutasyonunun bazı serilerde kötü klinik gidiş ile birlikte olduğu bildirilmişken, DBBHL'da P53 protein ekspresyonunun prognostik öneminin olmadığı da gösterilmiştir.⁸⁴⁻⁸⁶ Yapılan moleküler çalışmalar ile GCB alt grubu olarak sınıflanan DBBHL vakalarının, ABC alt grubundaki vakalara kıyasla daha iyi bir klinik gidişe sahip olduğu belirlenmiştir.^{5,6,45}

Kemoterapi sonrası immun yanıtın hastaların kliniği üzerinde güçlü bir etkisi olduğu görülmektedir. MHC sınıf II gen ekspresyonu varlığının iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir.^{6,72,87} DBBHL hastalarındaki MHC sınıf II gen ve protein ekspresyon kaybının tümörü infiltre eden CD8+ T-hücrelerinin sayılarını azalttığı ve prognozu kötü etkilediği tespit edilmiştir.⁶

2.10. Tedavi

DBBHL agresif fakat potansiyel olarak multi-ajan kemoterapi ile tedavi edilebilir bir hastalıktır. CHOP kemoterapi rejimi yıllardan beri tedavinin dayanak noktası olmuştur. CHOP'a, anti-CD20 antikoru olan Ritüksimab'ın eklenmesi ile yapılan tedavi çalışmalarında ise DBBHL hastalarının yaşam sürelerinin önemli ölçüde uzadığı tespit edilmiştir.⁷⁴

Tüm bu genetik ve prognostik özellikler göz önünde bulundurulduğunda; DBBHL'daki genetik, morfolojik ve immunohistokimyasal parametrelerin kendi içerisinde farklılık gösterdiği ve bu durumun klinik gidiş ve sağkalımda farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür. Bu nedenle DBBHL ile ilgili günümüzde birçok araştırma yapılmakta olup bu parametreler tam olarak aydınlatılincaya kadar da bu ve bunun gibi çalışmalar devam edecektir.

2.11. Çalışmada Kullanılan Belirteçler

2.11.1. C-MYC (MYC)

C-MYC geni, tüm ökaryotik canlılarda eksprese edilen, 8. kromozomda lokalize, bölünme uyarısına erken cevapta görevli bir protoonkogendir. İlk defa Burkitt lenfomalı hastalarda tespit edilmiştir. Kromozom 8'in kromozom 14'e transloke olması ile oluşan t(8,14) mutant kromozom, myelositomatozis viral onkogene (v-myc) benzediğinden yeni bulunan bu gene C-MYC (cellular-myc) denmiştir.⁸⁸

C-MYC proteini N-MYC ve L-MYC gibi genleri de içeren bir transkripsiyon faktörü olan MYC ailesinin üyesidir. Ancak bu genin hücre çoğalmasındaki görevleri net olarak ortaya konabilmiş değildir. Birçok transkripsiyon faktörü ile birlikte, hücre çoğalmasında görevli genleri aktive ederek karsinogenezde rol aldığı düşünülmektedir.⁸⁹

Ornitin dekarboksilaz ve Siklin D2 gibi C-MYC'nin hedefi olan bazı genlerin hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu biliniyor. Ancak C-MYC protoonkogeninin görevleri bunlarla sınırlı değildir. Histon asetilasyonu, hücre adezyonunda azalma, hücre motilitesinde artış, telomeraz aktivitesinde artış, protein sentezinde artış, proteinaz aktivitesinde azalma ve hücre bölünmesinin gerçekleşebilmesi için gerekli

daha birçok metabolik olayda düzenleyici role sahiptir.⁸⁹

C-MYC protoonkogeninin önemli görevlerinden birisi de *C-Myc* proteinin salınımını kontrol etmektir. *C-Myc* proteini, 62-kDa ağırlığında bir nükleer transkripsiyon proteindir.

C-MYC geninin onkogenik etkisini anlayabilmek için öncelikle normal hücre büyümesindeki fonksiyonunu hatırlamak gerekir. Çoğunlukla büyüme faktörlerinin tetiklemesi ile başlayan çoğalma uyarısında ilk basamak büyüme faktörlerinin hücre membranındaki büyüme reseptörlerine bağlanmasıdır. Bu yolla oluşan sinyal, sinyal taşıyan proteinlerle önce sitoplazmaya ve sonra ikincil bir mesaj üretimi ile nükleusa kadar ulaştırılır. Bu uyarıyı alan C-MYC protoonkogeni, birçok işlevinin yanısıra *C-Myc* onkoproteinini üretir. *C-Myc* onkoproteini, MAD ve MAX adlı proteinlerle heterodimerler oluşturmaktadır.^{90,91}

Oluşan bu heterodimerler hücre çoğalması ve apoptoziste önemli rollere sahiptir. *C-Myc*/MAX ve MAD/MAX heterodimerleri aynı DNA sekanslarına bağlanırlar ve transkripsiyon üzerinde karşıt etkilere sahiptirler. *C-Myc*'nin MAX ile yaptığı heterodimerler transkripsiyonu aktive ederken, MAD/MAX heterodimerleri transkripsiyonu baskılamaktadır. Nükleustaki regülatör proteinler ve myc, fos, jun, myb protoonkogenlerinin ürünleri olan transkripsiyon faktörleri ile DNA transkripsiyonu başlatılır.⁹¹ *C-Myc* proteini istirahatteki hücrelerde tespit edilemeyecek düzeyde azdır. *C-Myc* sadece çoğalan hücrelerde ve farklılaşmamış hücrelerde sentezlenir. Normal koşullarda çalışan MYC genindeki bazı insitu değişiklikler (translokasyon gibi) bu genin protein üretimi ve diğer fonksiyonları üzerinde etkili olarak değişikliğe uğramasına yani onkogene (c-onkogen, "hücreyel onkogen") dönüşmesine yol açar. Sonuç olarak *C-Myc* proteini sürekli veya fazla salınır. MYC geninde ortaya çıkan bu değişiklikler farklı mekanizmalarla farklı tümörlerin oluşumuna neden olur.^{90,91}

C-MYC geni, kromozom 14, 2 veya 22 üzerindeki Ig genlerinin (Ig ağır zincirini ve hafif zincirlerini kodlar) "promotor" etkisiyle C-MYC proteinlerini eksprese ederler. Bu kromozomlardaki translokasyona bağlı olarak C-MYC regülasyonunun bozulması da lenfoma oluşumuna etki yapan bir başka durumdur. C-MYC geni bu durumda etkisini hücreleri, hücre siklusuna sokarak gösterir. Hücre siklusundan çıkamayan hücreler hem sürekli proliferasyon halinde kalırlar hem de daha fazla diferansiye olamazlar. BL'da tümör hücrelerinde görülen uniformitenin ve yüksek proliferasyon

indeksinin bu durumla ilişkili olduğu düşünülmektedir.^{91,92} C-MYC'in bilinen diğer bir etkisi ise yaşamın devam etmesini sağlayan sinyallerin kesildiği durumlarda apoptoziste görev alan genleri aktive etmesidir. Tümörde apoptotik hücrelerin çokluğunun da bununla ilişkili olduğu düşünülmektedir. C-MYC regülasyonunun bozulmasının yarattığı bu etkilerin yanısıra C-MYC de oluşacak mutasyonlar da tümör oluşumuna ek katkı sağlar.⁹¹

2.11.2. BCL2

BCL2, apoptozisin düzenlenmesinde önemli görevleri olan bir protoonkogendir.⁹³

Kromozom 18q21'de lokalize BCL2 geni, 26-kDa ağırlığında olan ve apoptozisi inhibe eden bcl-2 proteinini kodlar. BCL2 geni, ilk kez t(14;18) (q32;q21) translokasyonu gösteren foliküler lenfomada tanımlanmıştır.⁹⁴ İmmunglobulin ağır zincirinin bulunduğu 14q32 bölgesi aşırı eksprese olan bir bölgedir. Translokasyon nedeniyle BCL2 geni aşırı eksprese olur ve artan BCL2 proteini hücreleri apoptozdan korur. BCL2 proteini, immunhistokimyasal yöntemlerle kolayca tespit edilebilir. Mitokondri iç membranında yerleşmiş olan BCL-2 proteini, normal lenfoid dokuda geniş bir ekspresyona sahiptir. Fakat germinal merkez B hücrelerinde eksprese edilmez. Agresif Non Hodgkin lenfomalarda, t(14;18) translokasyonu olmaksızın aşırı BCL2 ekspresyonu olabilmektedir ve bu kötü prognoz ile ilişkilidir.^{64,95,96} DBBHL'larda tespit edilen aşırı BCL2 protein ekspresyonunun nedeni genellikle BCL2 gen amplifikasyonudur.^{97,98}

BCL-2 ekspresyonu DBBHL vakalarının % 30-60'ında görülür ve nodal olanlarda daha sıktır.^{97,99} BL, BCL2 eksprese etmediği için DBBHL ile ayırımında bu özelliği kullanılabilir.

2.11.3. BCL6

BCL6 genini içeren translokasyon kromozom 3q27'de lokalizedir. Bu translokasyon, *de novo* gelişen DBBHL'ların % 30-40'ında tespit edilmiştir.¹⁰⁰ BCL6 geni, sekans spesifik transkripsiyonal inhibitör fonksiyonu gösteren BCL6 proteinini kodlar. BCL6, hücre siklus kontrolü, inflamasyon ve lenfosit aktivasyonu ile diferansiasyonunda gerekmektedir.¹⁰¹

Normal lenfoid dokuda germinal merkez hücreleri selektif olarak BCL6 proteinini

eksprese ederler. Bu nedenle folikül merkezinden köken alan foliküler lenfoma, Burkitt lenfoma ve DBBHL'nın önemli bir kısmında (>80) pozitifdir.¹⁰²⁻¹⁰⁴ BCL6 proteini hücre çekirdeğinde tutulduğu için buna karşı geliştirilen monoklonal ve poliklonal antikorlar da hücre çekirdeğinde pozitifdir.

2.11.4. CD-10

CD10, 90-110 kDa ağırlığında tek zincirli bir hücre yüzey glikoproteinidir. Neprisilin, nötral endopeptidaz ve common akut lenfoblastik lösemi antijeni (CALLA) diğer isimleridir. CD10, birçok biyoaktif peptidi parçalayan çinko bağımlı bir peptidaz (metalloproteaz) olarak görev yapar. Hidrofobik amino asitlerin amino tarafındaki peptid bağlarını böler ve atriyal natriüretik faktör, substans P, bradikinin, oksitosin, lökoenkefalin ve metenkefalin, nörotensin, bombesin, endotelin-1 ve bombesin benzeri peptidler dahil, fizyolojik olarak aktif olan çeşitli peptidleri inaktive eder.^{105,106} Ayrıca CD10, fibroblastlar ve bronşiyal epitelyal hücreler için kuvvetli mitojenler olan bombesin benzeri peptidleri hidrolize ederek, selüler proliferasyonun kontrol edilmesiyle de ilişkilidir.^{107,108} 27 Azalan CD10, hücre yüzeyinde daha yüksek peptid konsantrasyonlarının oluşmasına izin vererek, peptidin aracılık ettiği proliferasyonu teşvik edebilir ve neoplazinin gelişmesini veya ilerlemesini kolaylaştırabilir.¹⁰⁷ Kemik iliğindeki kök hücrelerde ve myelositik seri hücrelerinde, folikül merkez hücrelerinde ve parafoliküler T lenfositlerinin bazılarında bulunur. Ayrıca üst intestinal traktın enterositlerinin fırçamsı kenarında, karaciğerin safra kanaliküllerinde, böbreğin glomerüller ve proksimal tubulus hücrelerinde, pulmoner alveolar hücrelerde, memenin myoepitelyal hücrelerinde, ter ve tükrük bezlerinde, prostatın glandüler hücrelerinde, plasental trofoblastik hücrelerde, endometriyal stromal hücrelerde ve bazı endotel hücrelerinde bulunur.

Preküsör B lenfoblastik lösemi/lenfoma, Foliküler Lenfoma ve Burkitt lenfoma vakalarının büyük bölümünde eksprese edilir. DBBHL ve Mantle Hücreli Lenfoma vakalarının ise bazılarında bulunur. Küçük lenfositik lenfoma/Kronik lenfositik lösemi (KLL), Marjinal zon ve Lenfoplazmasitik lenfoma vakalarında CD10 negatiftir. Hematolojik maligniteler dışında da birçok neoplazide pozitifliği gösterilmiştir.

2.11.5. MUM-1

İnterferon Regulatory Factor 4 (IRF4) olarak da bilinen MUM-1, B lenfositlerin gelişimi ve aktivasyonu için gerekli olan bir transkripsiyon faktörüdür. İnterferon ve diğer sitokinlere cevaben oluşan gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar.¹⁰⁹

MUM-1 geni ilk defa bu gene ismini veren Multipl myelom hücrelerinde tespit edilmiştir. t(6;14)(p25;q32) translokasyonu ile MUM-1 geninin, kromozom 14'teki IgH arttırıcı bölgesine yerleştiği görülmüştür.¹¹⁰ Ayrıca MUM-1 ekspresyonu monositlerin makrofajlara ve dendritik hücrelere dönüşümünde de önemlidir.

MUM-1 protein ekspresyonu, CD10 ve BCL6 ekspresyonundan sonra, B hücre diferansiyasyonunun geç döneminde meydana gelir. Bu nedenle post-germinal merkez B ve geç dönem B lenfositlerde ekspresyon olur. MUM-1, plazma hücrelerinin tüm diferansiyasyon aşamalarında ekspresyon edilir.¹¹¹ Ayrıca, normal ve neoplastik melanositlerde de pozitif olduğu gösterilmiştir.¹¹² MUM-1 başlıca, DBBHL, Primer efüzyon lenfoması, Multipl myelom, Plazmablastik lenfoma gibi B hücreli neoplazilerde pozitifken, Burkitt lenfoma vakalarının çoğunda negatiftir.

MUM-1, hematopatoloji rutininde genel olarak lenfomaların, özellikle de DBBHL'ların, post-germinal merkez kökenli olup olmadığını anlamak için kullanılmaktadır.

2.11.6. SİKLİN D1

Hücrelerin, hücre siklusuna girişi ve ilerleyişi, siklinlerin seviyeleri ve aktivitelerindeki değişiklikler ile kontrol edilir. Hücre siklusunun spesifik fazlarında farklı siklin seviyeleri pik yapar, daha sonra hızla düşer ve hücre siklusun bir sonraki fazına girer.

Siklinler, fonksiyonlarını Siklin bağımlı kinazlarla (CDK) kompleks oluşturarak gerçekleştirirler. CDK'lar normalde inaktif formdadırlar. Siklinlere bağlandıktan sonra fosforile olarak aktif forma dönüşürler. Siklinler ve CDK'ların farklı kombinasyonları hücre siklusundaki önemli geçişlerde rol alır. Siklusun kendi içinde kontrol noktaları vardır. Başlıca iki denetim noktası G1/S ve G2/M geçişleridir.

G1'den S fazına geçiş, hücre siklusundaki çok önemli bir kontrol noktasıdır. S fazı, siklusun geri dönüşü olmayan bir noktasıdır. Bu noktada hücrede ya genom

replikasyonu olur, ya hücre sessiz kalır ya da differansiye olur. Hücre büyüme sinyali aldığıında, D tipi siklinler sentezlenir. Üç tip hücre spesifik Siklin D vardır; Siklin D1, Siklin D2 ve Siklin D3. Bunlar G1'in erken safhalarında stimüle olurlar ve CDK4 ve CDK6'ya bağlanırlar. G1'in geç dönemlerinde ise Siklin E'lerin sentezi uyarılır. Siklin E'ler CDK2'ye bağlanırlar.

Siklin D/CDK4, SiklinD/CDK6 ve SiklinE/CDK2 kompleksi retinoblastom proteinini fosforile eder. Bu noktadan sonra hücre S fazına girer ve DNA sentezi başlar. Siklin salınımını etkileyen bir mutasyon, hücrelerin kolayca S fazına geçişine olanak sağlar.

Siklin D1 hücre siklusunun proliferatif fazına geçişinde majör regülatuar görevi görür. Immunglobulin gen bölgesinde meydana gelen t(11;14)(q13;q32) translokasyonu ile ilişkili Siklin D1 overekspresyonu B hücreli lenfomalarda özellikle de Mantle hücreli lenfomada gösterilmiştir.^{113,114}

2.11.7. CD5

CD5 timositlerin % 95'inde, periferik kandaki lenfositlerin ise % 72'sinde bulunan transmembran bir proteindir. Lenf nodlarında ise özellikle T zonunda pozitiflik gösterir.

CD5 birçok T hücreli lösemi, lenfoma ve aktive T hücrelerde eksprese olur. CD5 daha az sıklıkla B hücrelerinde de eksprese olur. KLL ve Mantle hücreli lenfomalar CD5 pozitif iken folikül merkez kökenli lenfomalar CD5 negatiftir.^{115,116}

2.11.8. Ki67

Ki67, 345-395 kDa ağırlığında, hücre çoğalmasında önemli role sahip bir nükleer proteindir.

G0 hariç hücre çoğalmasının tüm fazlarında bulunur. Çoğalan hücrelerdeki Ki67, miktarı G1 fazının ortalarında artmaya başlar, S ve G2 fazlarında artış devam eder ve M fazında en yüksek seviyelerine ulaşır. M fazın sonunda ise hızlı bir şekilde katabolize olur. Birçok tümörde, diferansiyasyon derecesi ve klinik gidiş Ki67 proliferasyon indeksi ile korelasyon gösterir.¹¹⁷

NHL'larda % 20'nin altındaki proliferasyon indeksi düşük dereceli lenfomalarda, % 20'nin üstündeki proliferasyon indeksi ise yüksek dereceli lenfomalarda görülür.¹¹⁸

Özellikle Burkitt lenfomada Ki67 proliferasyon indeksi yaklaşık % 90'nın üzerinde tespit edilir.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na ait vaka arşivi gözden geçirilerek, 2002-2014 yılları arasında DBBHL tanısı almış toplam 268 hastaya ait formalinle fikse-parafine gömülmüş dokular değerlendirilmek üzere çalışmaya dahil edildi. Tüm vakaların H&E kesitleri arşivden çıkarılarak, FISH ve İmmunhistokimyasal inceleme için uygun bloklar ve kontrol blokları seçildi. Kontrol grupları kullanılarak antikoların çalıştığı uygun dilüsyon oranı belirlendi.

Seçilen bloklardan Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemiyle MYC, BCL2, BCL6 uygulanacak en uygun alan belirlenerek doku mikroarray yöntemiyle yeni bloklar oluşturuldu.

Olguların demografik verilerine ise; ÇÜTF Onkoloji Anabilim Dalındaki hasta kayıtları incelenerek hastane bilgi sistemi ve Merkezi Nüfus İdare Sistemi (MERNİS) veritabanı kullanılarak ulaşıldı. Ulaşılan veriler ışığında hastaların cinsiyeti, tanı anındaki yaşları, tanı aldığı bölge, tedavi rejimleri ve sağkalım süreleri not edildi.

3.2. Etik Kurul

TTU20153589 protokol numaralı projemiz, 10 Ekim 2014 tarihli toplantının 7 no'lu kararı ile belirtilen yazı ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.3. Yöntem

Olgulara ait tümör içeren hematoksilen eozin (H&E) boyalı lamalar taranmış ve WHO 2008 sınıflamasına göre DBBHL, NOS tanısı almış olgular morfolojik olarak yeniden değerlendirilip ezilme artefaktı ve nekroz içermeyen, saf tümör dokusundan oluşan alanlar işaretlenerek bu bölgeden doku mikroarray yöntemi ile hazırlanan yeni bloklardan FISH ve immünohistokimyasal inceleme için kesitler elde edildi.

3.3.1. İmmünohistokimyasal Yöntem

Çalışmamızın ikinci aşamasında DBBHL olgularına immünohistokimyasal yöntem ile BCL6, MUM1, CD10, BCL2, CD5, SİKLİN D1, Kİ67 belirleyicileri uygulandı.

Tablo 3. İHK yöntemi ile çalışılan antikorların marka ve dilüsyonları

Primer antikor	Klon	Marka	Dilüsyon miktarı
BCL6	N-3	Santa Cruz	1: 40
MUM1	4G10	GeneTex	1: 50
CD10	56C6	Dako	1: 80
BCL2	8C8	Bio SB	1: 50
CD5	SP19	Epitomics	1: 150
SİKLİN D1	SP4	Dako	1:100
Ki67	MIB1	Dako	1: 150

Doku mikroarray yöntemi ile 268 hastadan elde edilen yeni formalinle fikse parafine gömülü dokulardan 5 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Kesitler 60°C'lik etüvde bir saat bekledikten sonra 15 dakika ksilol ile deparafinize edildi. Derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek hidrate edilip distile suda yıkandı. BenchMark XT marka makineye yerleştirildi. BCL6, MUM1, CD10, BCL2, CD5, SİKLİN D1, Ki67 antikorları uygulanarak boyama gerçekleştirildi. Otomatik boyama cihazında boyanan preparatlar sıvı bazlı kapama maddesi ile kapatıldı.

Pozitif kontrol olarak Siklin D1 belirteci için Mantle hücreli lenfoma, diğer belirteçler için ise tonsil dokusu kullanıldı. Hazırlanan kesitler Olympus marka mikroskop kullanılarak farklı büyütmelelerde iki patolog tarafından değerlendirildi.

3.3.1.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme:

BCL6, MUM1, SİKLİN D1 ve Ki67 antikorları için nükleer boyanma, CD10 ve CD5 için membranöz, BCL2 için ise sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Her vakada boyanmanın en yoğun olduğu alanlar tespit edilerek toplam pozitif hücre yüzdesi belirlendi. BCL6, MUM1, CD10, BCL2, CD5 ve SİKLİN D1 için % 50'den büyük olan değerler pozitif kabul edildi.

Ki67 değerlendirmesinde ise pozitiflik oranı \geq % 80 olan vakalar yüksek proliferasyon indeksine sahip vakalar olarak gruplandırıldı.

Tablo 4. İmmünohistokimyasal belirteçlerin boyanma paternleri

Primer antikor	Boyanma paterni
BCL6	Nükleer
MUM1	Nükleer
CD10	Membranöz
BCL2	Sitoplazmik
CD5	Membranöz
SİKLİN D1	Nükleer
Ki67	Nükleer

3.3.2. Floresan İn-Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemi

Doku mikroarray yöntemi ile hazırlanan parafin bloklardan alınan kesitler 3 μ m kalınlığında süperfrost-plus ile kaplanmış lamlara yerleştirildi. Kesitlere in situ hibridizasyon için sırayla aşağıdaki işlem basamakları uygulandı:

- Slaytlar 56°C'lik etüvde 14 saat bekletildi.
- Deparafinizasyon için üç kez beşer dakika ksilende bekletildi.
- Derecelendirilmiş etanolde üç defa beşer dakika bekletilerek dehidrate edildi ve havada kurutuldu.
- Lamlar 60°C'de bir gece boyunca ön işlem solüsyonunda (sodyum izosiyanat) bekletildi.
- Etüvden çıkarılan kesitler oda sıcaklığındaki distile suda 5 dakika bekletildi.
- 37 °C'lik etüvde pepsin solüsyonunda 15 dakika bekletildi.
- Oda sıcaklığındaki distile suda 5 dakika bekletildi.
- Takiben 2XSCC solüsyonunda 3 dk bekletildi. Bu işlem solüsyon değiştirildikten sonra tekrarlandı.
- Kesitler sırayla % 70'lik, % 85'lik ve % 100'lük etanol serisinden 3'er dakika geçirilerek havada kurumaya bırakıldı ve problama işlemine geçildi.
- Kesitler kuruduktan sonra, üzerlerine 10 μ l. Prob (Abbott, İsviçre) damlatıldı.
- Problar lamelle kapatıldı ve lamellerin etrafı rubber cementle çevrildi.
- Thermobrite cihazında 73°C'de denatürasyona tabii tutuldu.
- 37°C'de bir gece hibridizasyona bırakıldı.

- Ertesi gün sabah, kesitler 73°C’de “yıkama solüsyonu-1”de (0,4xSCC/% 0,3’lük NP-40) 3 dk bekletildi.

- Kesitler, oda sıcaklığındaki yıkama solüsyonu-2’de (2xSCC/%1’lik NP-40) 15 sn çalkalandı.

- Kuruduktan sonra kesitlerin üzerine 10 µl Dapi (4,6 diamidinoz-phenylindole) damlatıldı ve lamelle kapatıldı.

- -20°C’de yarım saat bekletildi.

3.3.2.1. FISH Testinin Değerlendirilmesi

Tablo 5. FISH belirteçlerinin özellikleri

Primer Antikor	Marka
IGH/MYC/CEP8 Tri-Color, Dual Fusion T(8;14)(q24;q32)	Abbott
BCL6 Dual Color Break Apart	Abbott
IGH/BCL2 Dual Color, Dual Fusion	Abbott

IGH/MYC/CEP8 ve BCL2 gen yeniden düzenlenmesinin değerlendirilmesinde;

- Sarı renk floresan sinyal varlığında (üst üste gelen kırmızı ve yeşil floresan sinyal),

- Yeşil ve kırmızı floresan sinyalin bitişik görülmesi durumunda,

- Kırmızı ve yeşil sinyal arasındaki mesafenin bir sinyalin büyüklüğünün iki katından az olması durumunda olgular MYC ve BCL2 gen yeniden düzenlenmesi pozitif olgular olarak sınıflandırıldı.

BCL6 gen yeniden düzenlenmesinin değerlendirilmesinde;

- Kırmızı ve yeşil sinyal arasındaki mesafenin bir sinyal büyüklüğünün iki katı ve daha fazlası olması durumunda (break apart), olgular pozitif olarak değerlendirildi.

FISH skorlamasını yaparken literatürde belirtilen % 10 değeri ‘cut-off’ olarak alındı. Fiksasyonun iyi olmadığı, nükleus sınırlarının net olarak değerlendirilemediği, sinyallerde üst üste binme (overlapping) olan alanlar değerlendirme dışı bırakıldı. Sınırları net seçilen en az 100 hücre iki patolog tarafından değerlendirildi.

3.4. İstatiksel Analiz

Bu çalışmadan elde edilen verilerin analizi için SPSS v.22 paket programı kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testleriyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama \pm standart sapma veya ortanca (Medyan-minimum-maksimum) olarak kategorik değişkenler ise frekans ve (%) şeklinde gösterilmiştir.

Analizler sonucu “Demografik Veriler” için; kategorik değişkenlerde frekans ve (%) şeklinde, sürekli değişkenlerde ise ortalama \pm standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum) şeklinde veriler verilmiştir. Normal dağılıma uygunsuzluğu tespit edilen kategorik değişkenler ile laboratuvar ölçümleri sonucu elde edilen sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında ise non parametrik testlerden **Mann Whitney U** testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sağkalım analizi için ise Kaplan-Meier ve Log Rank testleri kullanılmış olup, sonuçlar grafiksel olarak da gösterilmiştir.

İstatistiki anlamlılık düzeyi olarak $p = <0.05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 268 olgunun 164'ü (% 61,2) erkek, 104'ü (% 38,8) ise kadın idi. Tüm olguların yaş aralığı 8 ile 92 arasında değişmekte olup ortalama yaş 56 (± 17) idi. Olguların 156'sında (% 58,2) tanı aldığı tutulum alanı lenf nodu bölgesi iken, 112'sinde (% 41,8) tanı anındaki tutulum alanı ektranodal bir bölge idi. Mide en sık görülen ektranodal tutulum bölgesiydi (% 18,0).

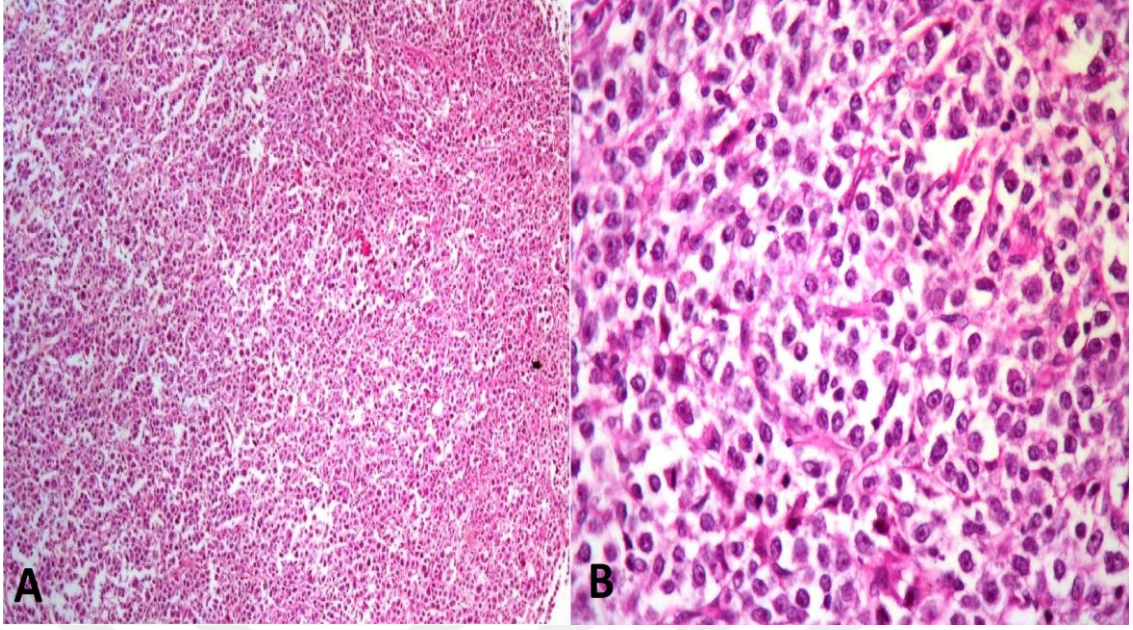
Olguların 223'üne (% 83,2) R-CHOP, 45'ine (% 16,8) CHOP kemoterapi tedavi rejimi uygulanmıştı. Tüm hastalarda maksimum takip süresi 145 ay, minimum ise 13 ay olarak saptandı.

Tüm olgular, Hans algoritması kullanılarak İHK yöntemi ile subtiplere ayrıldı; 171 olgu (% 63,8) Non Germinal Merkez Kökenli (Non GCB), 97 vaka (% 36,2) ise Germinal Merkez Kökenli (GCB) idi (Tablo 6).

Olguların tamamı 'DBBHL-Başka türlü sınıflandırılmayan' grubundaydı.

Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen olguların demografik ve klinik özellikleri

Demografik Veriler		Olgular (n)	
Olgu Sayısı		268	
Yaş (Ort/Ss)		56 (± 17)	
		n	%
Cinsiyet (f/%)	Erkek	164	61,2
	Kadın	104	38,8
Lokalizasyon (f/%)	Nodal	156	58,2
	Ektranodal	112	41,8
Subtip (f/%)	Non Germinal Merkez Kökenli (N-GCB)	171	63,8
	Germinal Merkez Kökenli (GCB)	97	36,2



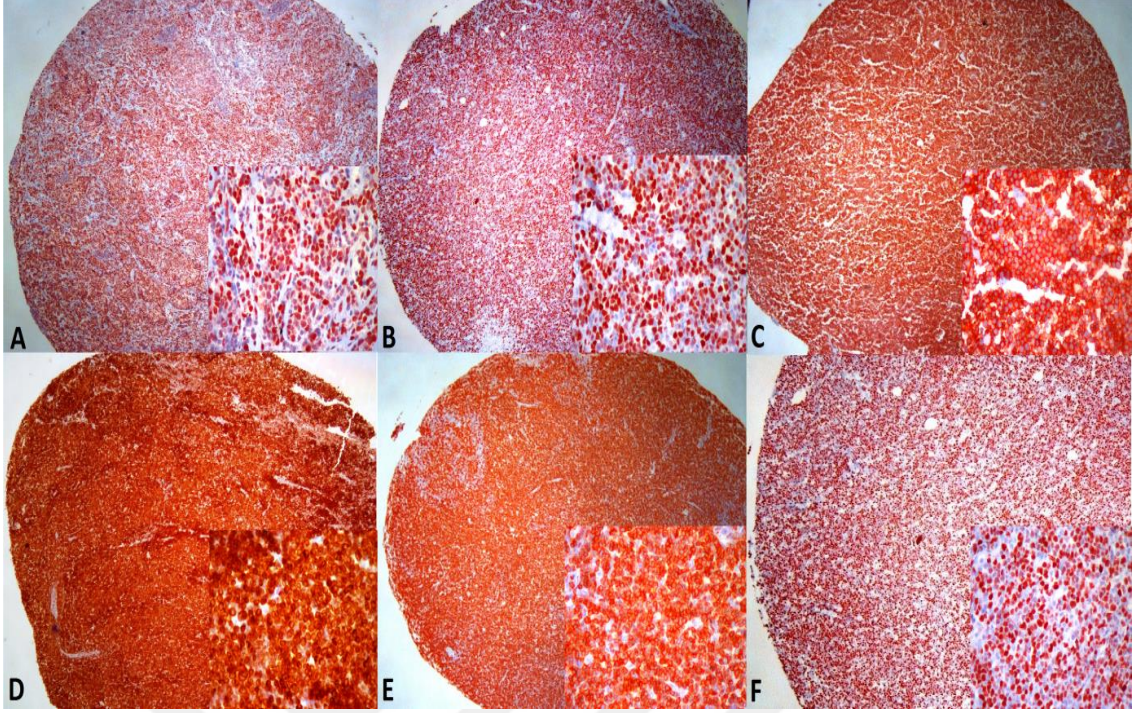
Resim 1. Diffüz Büyük B hücreli lenfoma. Hematoksilen-Eozin X100(A), Hematoksilen-Eozin X400(B)

İmmunohistokimyasal olarak;

Çalışmamızda BCL6 ile 268 olgudan 197'sinde (% 73,5), BCL2 ile 93 olguda (% 34,7) pozitif boyanma görülürken, BCL6 ile 71 olguda (% 26,5) ve BCL2 ile 175 olguda (% 65,3) boyanma izlenmedi.

CD5 ile 268 olgudan 29'unda (% 10,8) pozitif boyanma görülürken, geriye kalan 239 olguda (% 89,2) boyanma izlenmedi.

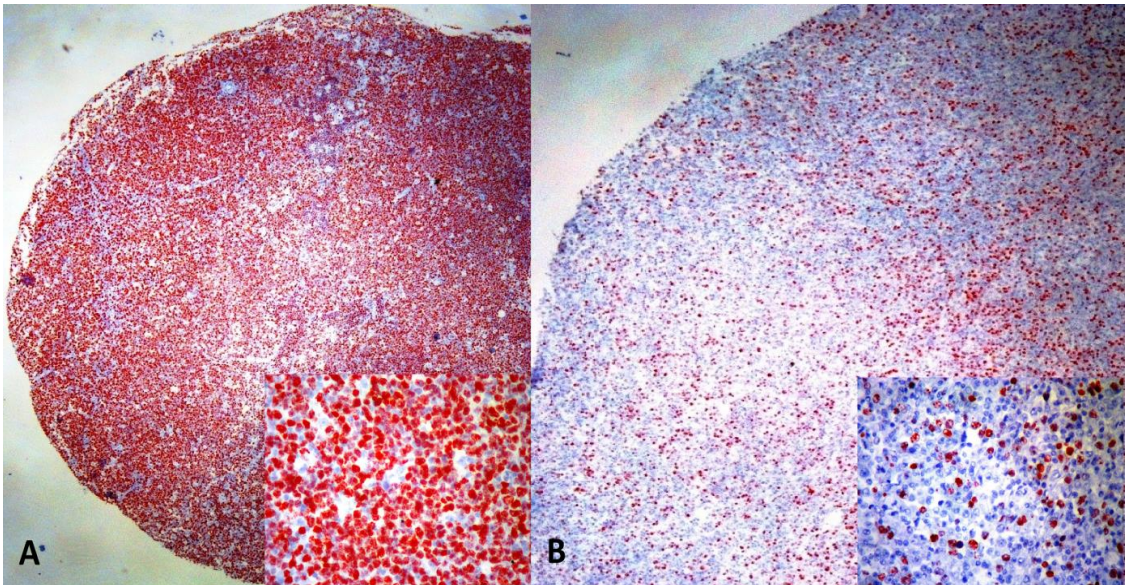
Siklin D1 pozitifliği 268 olgunun 6'sında (% 2,2) izlenirken, 262 olgu (% 97,8) negatif sonuç verdi (Tablo 7).



A: Nükleer BCL6 immünreaktivitesi, **B:** Nükleer MUM1 immünreaktivitesi, **C:** Membranöz CD10 immünreaktivitesi, **D:** Sitoplazmik BCL2 immünreaktivitesi, **E:** Membranöz CD5 immünreaktivitesi, **F:** Nükleer Silkin D1 immünreaktivitesi

Resim 2. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin boyanma paternleri

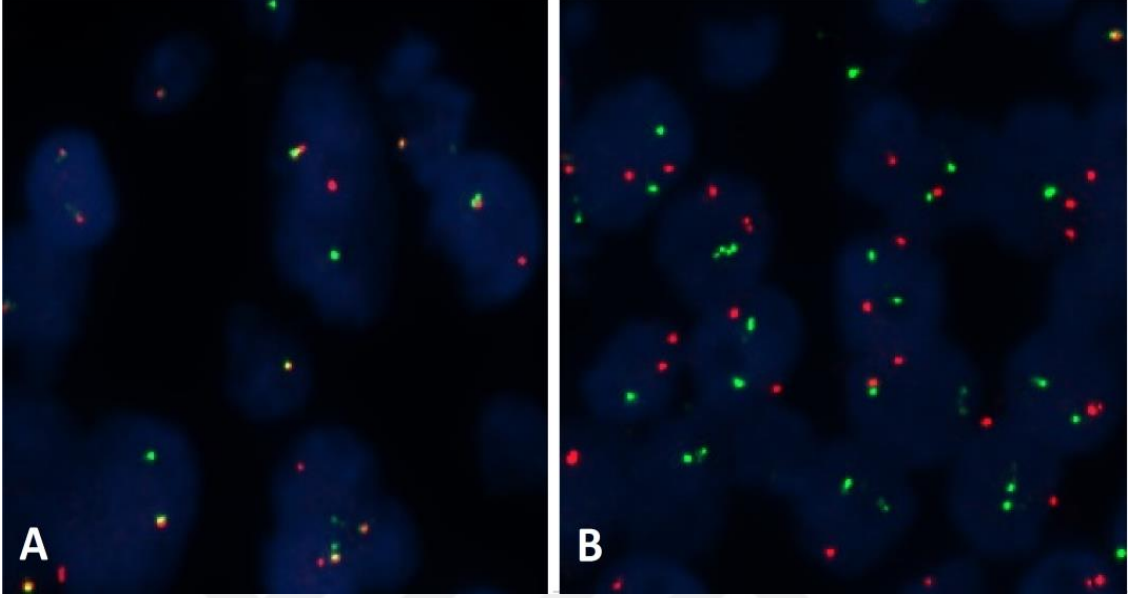
Ki67 proliferasyon indeksi;130 (% 48,5) olguda % 80'in altında, 138 (% 51,5) olguda % 80 ve üzeri olarak değerlendirildi. Bu olgular düşük proliferasyon ve yüksek proliferasyon indeksi olarak 2 grupta sınıflandırıldı (Tablo 7).



A: Yüksek Ki67 immünreaktivitesi (>%80), **B:** Düşük Ki67 immünreaktivitesi (<%80)

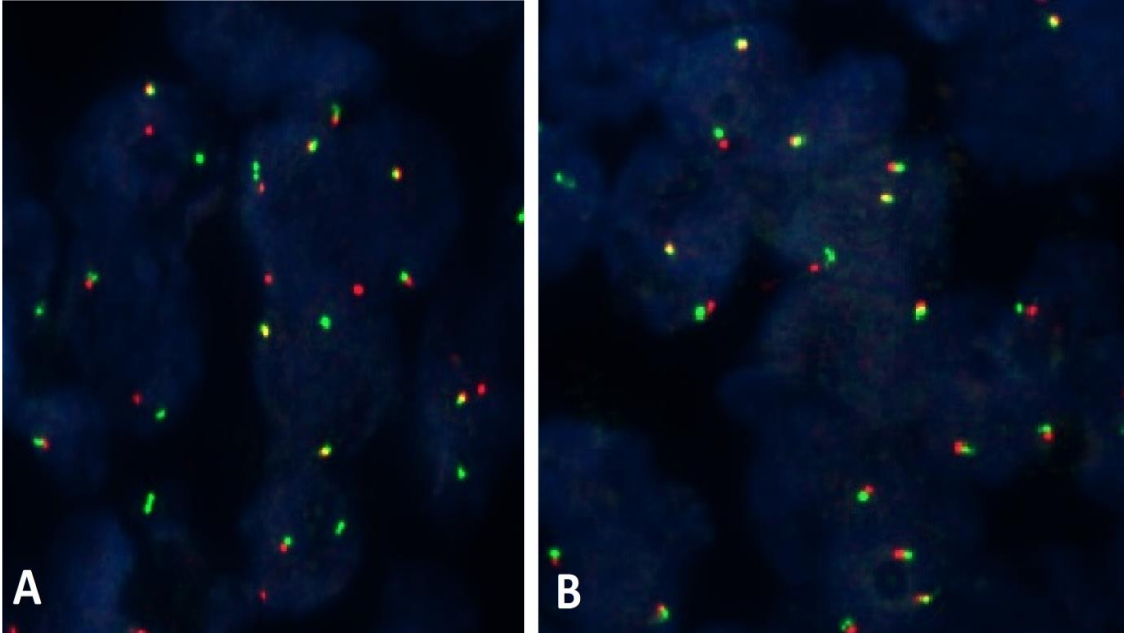
Resim 3. Diffüz Büyük B hücreli lenfomada nükleer Ki 67 immünreaktivitesi.(X100-X400)

FISH yöntemi kullanılarak; 268 olgudan 27'sinde (% 10,1) MYC, 49'unda (% 18,3) BCL6, 28'inde (%10,4) ise BCL2 gen yeniden düzenlenmesi varlığı saptandı.



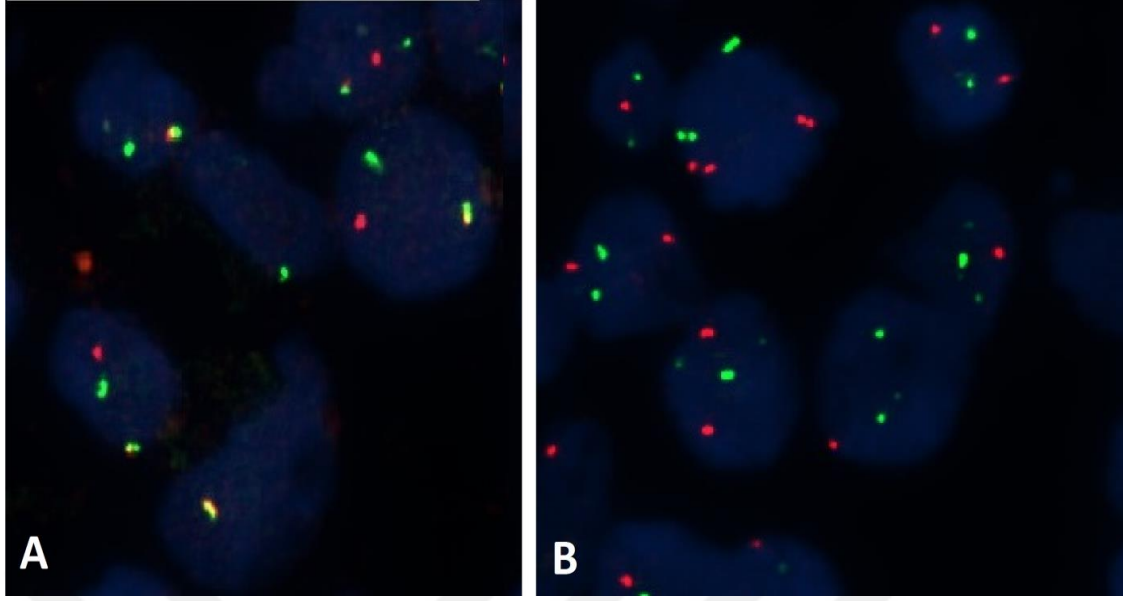
A: MYC gen yeniden düzenlenmesi olan olgu **B:** MYC gen yeniden düzenlenmesi saptanmayan olgu (normal gen düzenlenimi) (X600)

Resim 4. DBBHL'da FISH yöntemi ile MYC gen yeniden düzenlenmesi. (X600)



A: BCL6 gen yeniden düzenlenmesi olan olgu **B:** BCL6 gen yeniden düzenlenmesi saptanmayan olgu (normal gen düzenlenimi) (X600)

Resim 5. DBBHL'da FISH yöntemi ile BCL6 gen yeniden düzenlenmesi. (X600)



A: BCL2 gen yeniden düzenlenmesi olan olgu **B:** BCL2 gen yeniden düzenlenmesi saptanmayan olgu (normal gen düzenlenimi) (X600)

Resim 6. DBBHL’da FİSH yöntemi ile BCL2 gen yeniden düzenlenmesi. (X600)

4.1. Sağkalım

01.02.2016 tarihinde MERNİS veri tabanına bakıldığında 268 hastanın 161’inin (% 60,1) “SAĞ”, 107’sinin (% 39,9) ise “EX” olduğu görüldü.

‘EX’ olan 107 hastanın sağkalım verileri baz alınarak yapılan frekans analizi sonucunda, ortalama sağkalım süresi 16 ay (± 23) (min; 1 ay, max: 110 ay) dı (Tablo 7).

Tablo 7. Çalışmaya dahil edilen olguların sağkalım verileri

Sağkalım Verileri	Sayı (n)	
Toplam olgu	268	
	n	%
Sağ	161	60,1
Ex	107	39,9
Ex Olgularda yaşam süresi (Ay) (Ort/ss)	16(± 23)	

Tablo 8. Tüm olgularda çalışılan parametrelerin sağkalımla ilişkisi

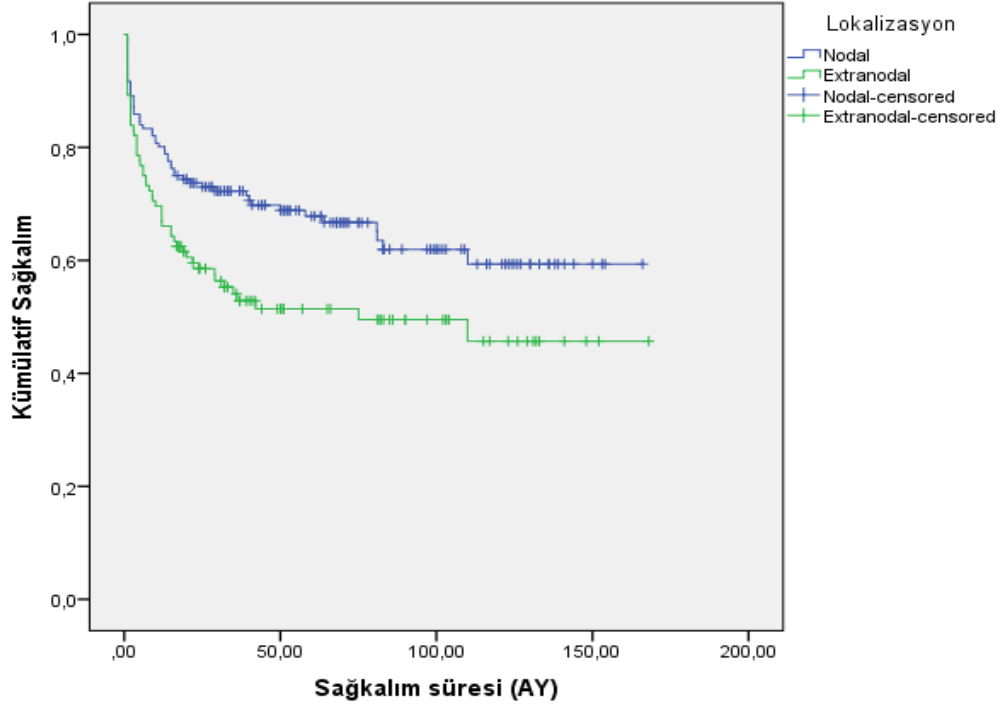
DEĞİŞKEN		Olgu sayısı (n)	Sıklık %	Ort±ss sağkalım (ay)	% 95 GA (ay)	p
Lokalizasyon	Nodal	156	58,2	110,13±6,20	97,96-122,30	0,011
	Ekstranodal	112	41,8	87,71±7,81	72,39-103,04	
SUBTİP	Nongerminal Merkez Kökenli (N-GCB)	171	63,8	94,94±6,07	83,02-106,85	0,162
	Germinal Merkez Kökenli (GCB)	97	36,2	113,07±7,97	97,43-128,71	
FİSH	Bcl6 (-)	219	81,7	101,12±5,53	90,27-111,97	0,698
	Bcl6 (+)	49	18,3	90,67±8,84	73,33-108,01	
FİSH	Bcl2 (-)	240	89,6	101,14±5,25	90,83-111,44	0,764
	Bcl2 (+)	28	10,4	83,09±10,39	62,72-103,46	
FİSH	Myc (-)	241	89,9	108,37±5,24	92,09-112,65	0,021
	Myc (+)	27	10,1	70,83±11,83	50,65-97,02	
İHK	Bcl2 (-)	175	65,3	102,29±6,08	90,36-114,22	0,753
	Bcl2 (+)	93	34,7	100,56±8,15	84,58-116,54	
İHK	Cd5 (-)	239	89,2	100,163±5,26	89,84-110,48	0,498
	Cd5 (+)	29	10,8	95,93±11,65	73,09-118,77	
İHK	Siklin D1 (-)	262	97,8	101,25±5,02	91,41-111,10	0,633
	Siklin D1 (+)	6	2,2	87,96±22,95	42,97-132,95	
Ki67	Yüksek Proliferatif İndeks	138	51,5	91,89±6,28	79,5-104,20	0,427
	Düşük Proliferatif İndeks	130	48,5	104,24±7,00	90,5-117,97	

Çalışma kapsamında FİSH yöntemi ile MYC gen yeniden düzenlenmesi olan DBBHL'lı olgular ile MYC gen yeniden düzenlenmesi olmayan olgular arası yapılan sağkalım analizi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, MYC translokasyonu olmayan vakaların, MYC translokasyonu olan vakalara göre daha uzun sağkalıma sahip olduğu belirlenmiştir (p=0,021).

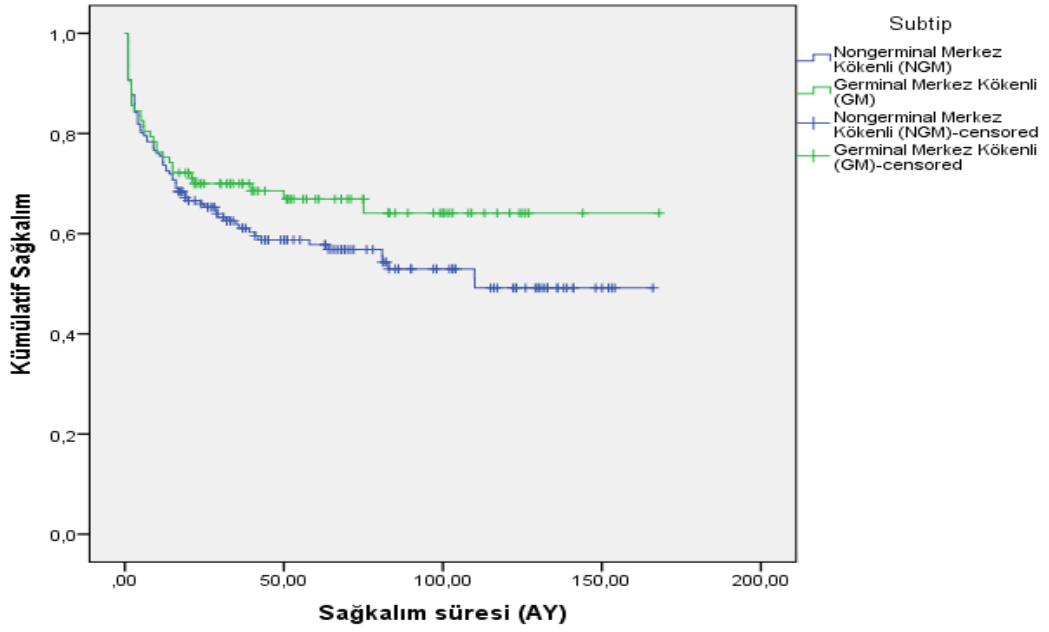
Nodal ve ekstranodal yerleşimli gruplar arası yapılan sağkalım analizi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, nodal olguların ekstranodal olgulara göre daha uzun sağkalıma sahip olduğu saptanmıştır (p=0,011).

FİSH yöntemi ile BCL2 ve BCL6 translokasyonu saptanan olgular ile saptanmayan olgular arası, İHK yöntemi ile; BCL2, CD5, Siklin D1 pozitif (+) belirlenen olgular ile negatif (-) olgular arası ve Ki67 proliferatif indeksi yüksek olan

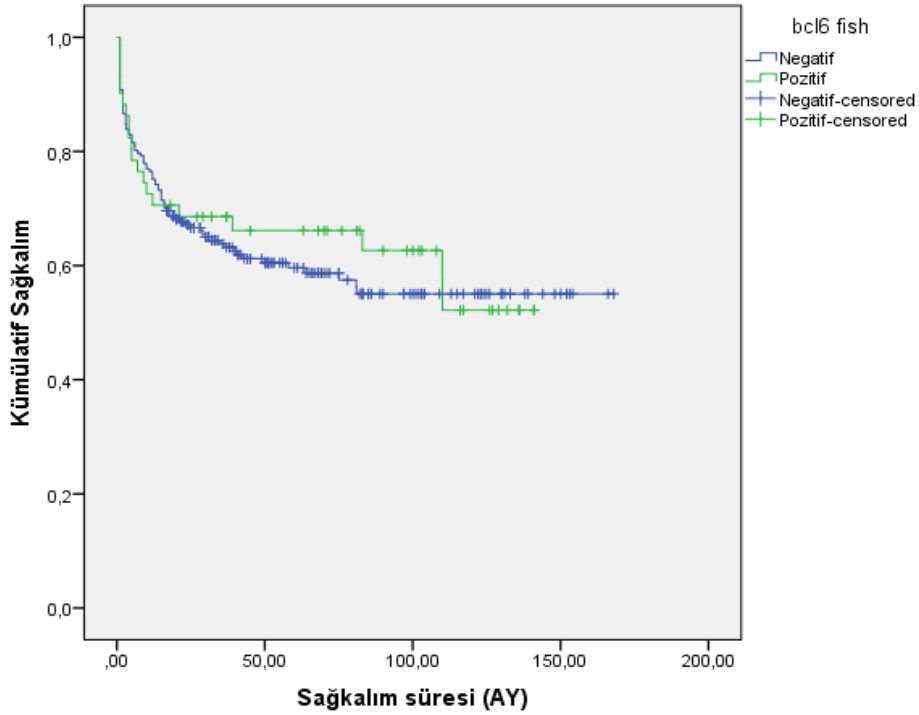
grup ile düşük olan grup arası yapılan sağkalım fark analizi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca subtiplere göre GCB ve N-GCB olarak ayrılan gruplar arası yapılan sağkalım fark analizi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 8).



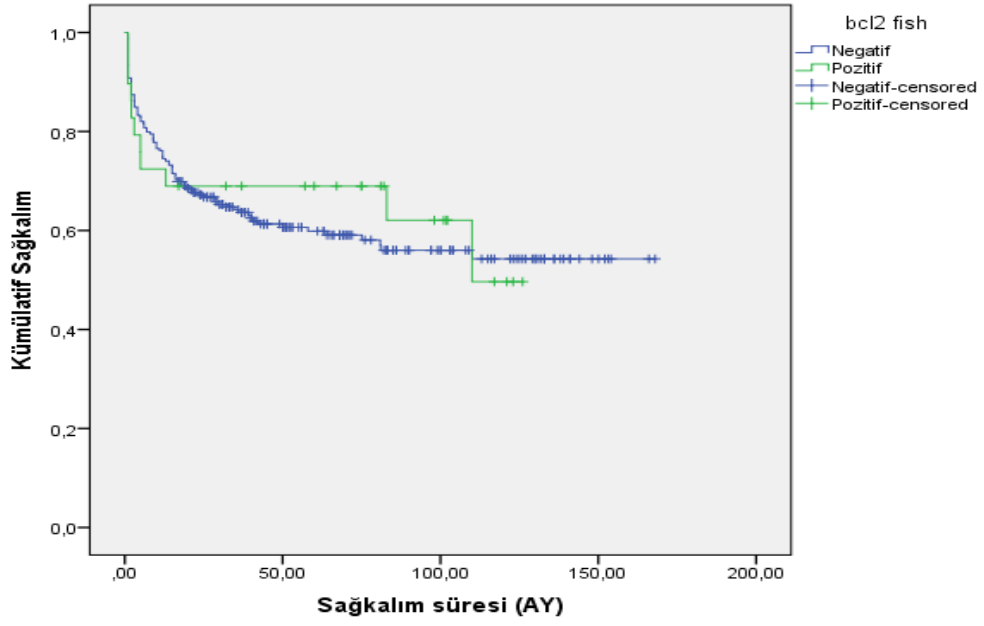
Grafik 1. Nodal ve ektranodal lokalizasyon ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



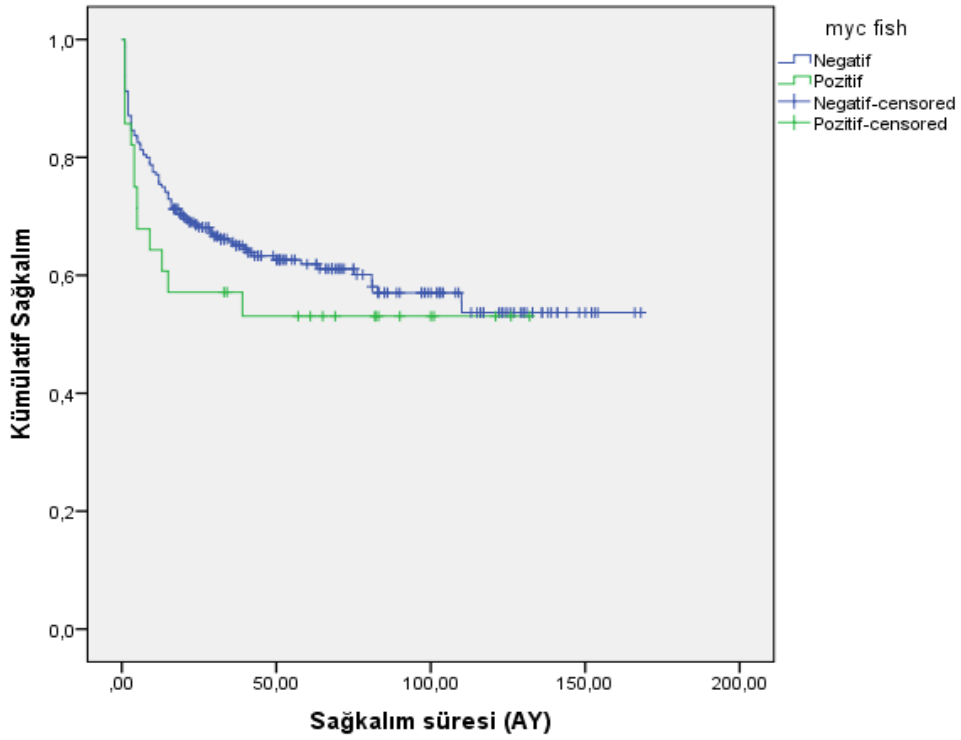
Grafik 2. Germinal Merkez Kökenli (GCB) ve Non germinal Merkez Kökenli (N-GCB) olgularda sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



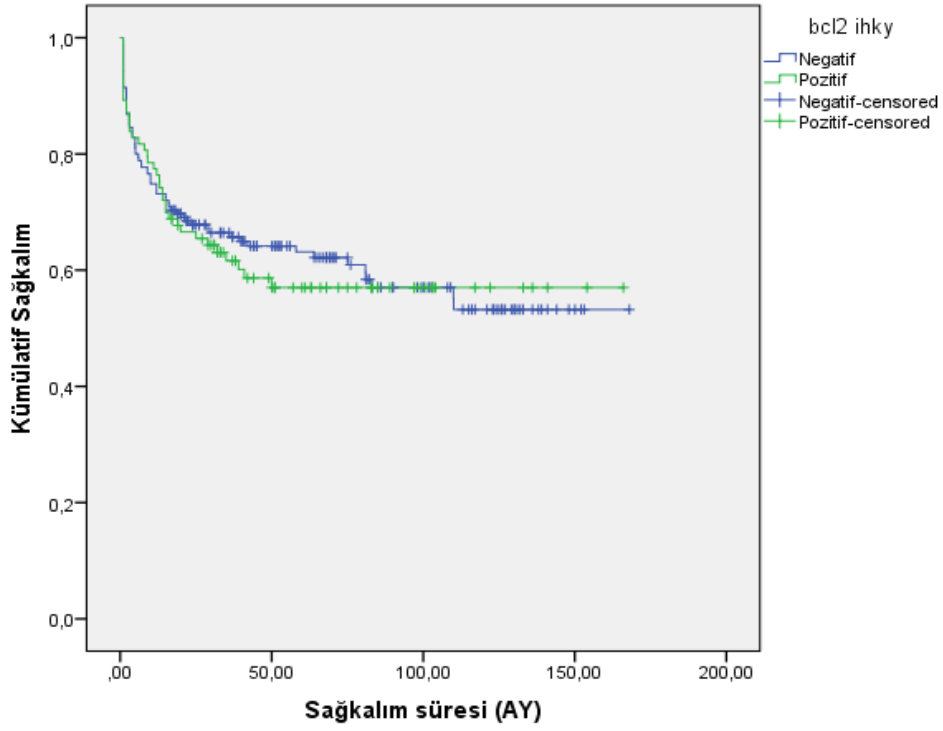
Grafik 3. BCL6.gen yeniden düzenlenmesi varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



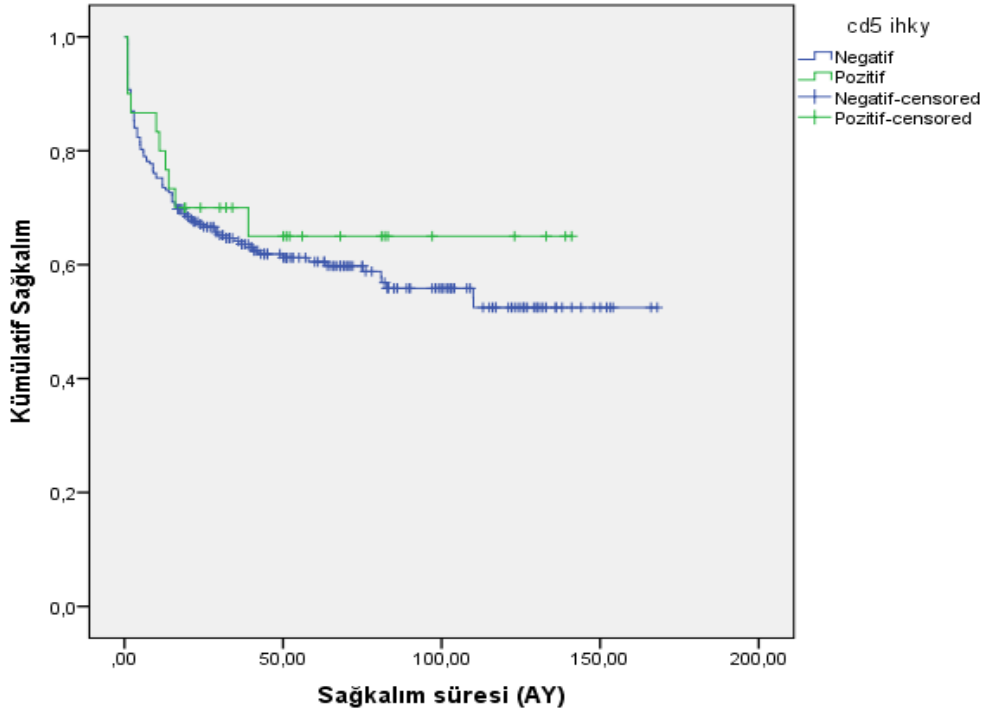
Grafik 4. BCL2.gen yeniden düzenlenmesi varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



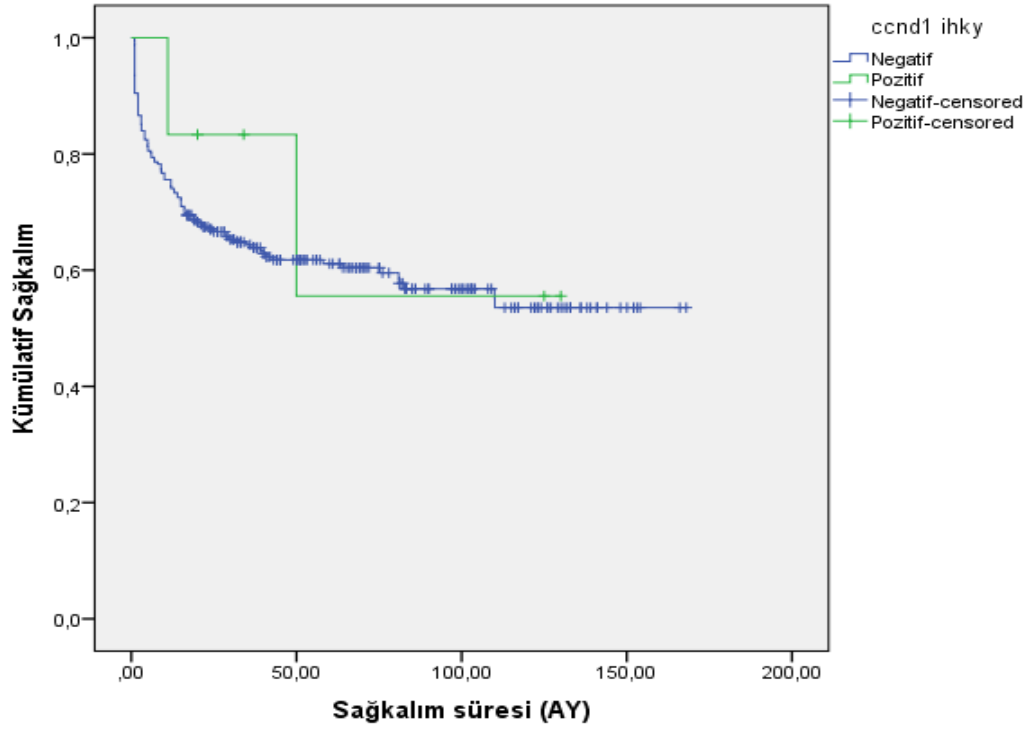
Grafik 5. MYC gen yeniden düzenlenmesi varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



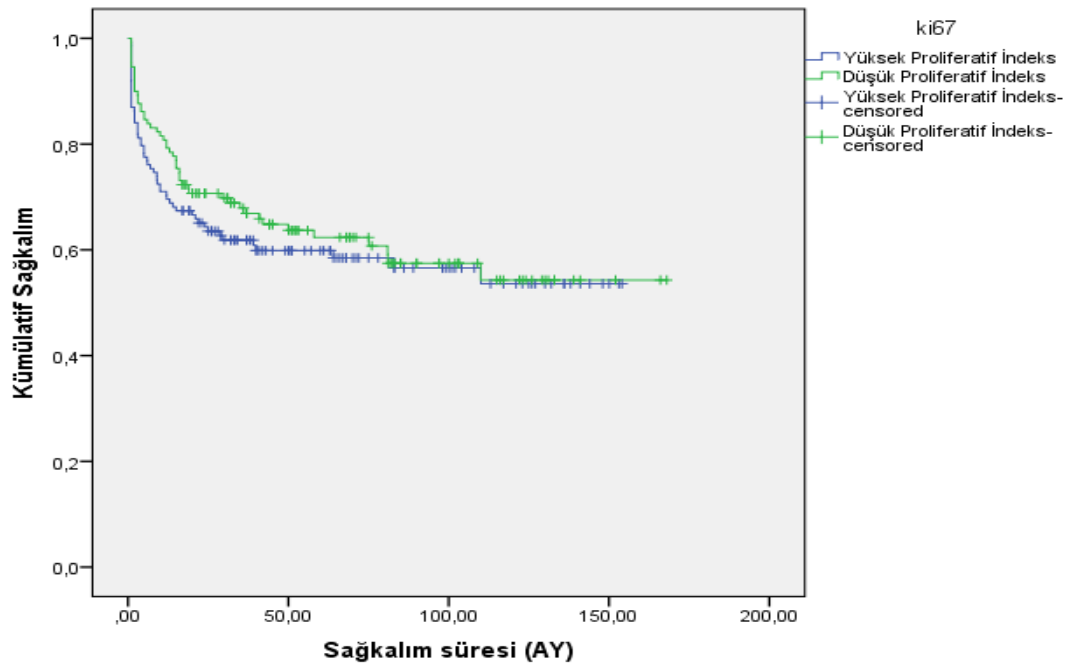
Grafik 6: BCL2.protein ekspresyon varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



Grafik 7: CD5.protein ekspresyon varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



Grafik 8. Siklin D1 protein ekspresyon varlığı ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi



Grafik 9. Düşük Proliferatif İndeks - Yüksek Proliferatif İndeks ile sağkalım arasındaki ilişkiyi gösteren Kaplan Meier eğrisi

Çalışmaya dahil edilen 268 olguda yapılan FISH yöntemi ile MYC gen yeniden düzenlenmesi ile eş zamanlı olarak BCL2 veya BCL6 translokasyonu gösteren 15 olgu “**Double Hit Lenfoma**”, MYC gen yeniden düzenlemesi ile BCL2 ve BCL6 translokasyonunu eş zamanlı gösteren 3 olgu “**Triple Hit Lenfoma**” tanısı aldı.

Toplam 18 hastadan oluşan bu iki tanı grubu; istatistiksel analizlerin yapılabilmesi adına birleştirilerek; “**Double Hit Lenfoma ve Triple Hit Lenfoma (+) [DHL-THL (+)]**” ve “**Double Hit Lenfoma ve Triple Hit Lenfoma (-) [DHL-THL (-)]**” şeklinde tekrar gruplandı ve yeni bir veri sütunu oluşturularak analizler gerçekleştirildi.

DHL-THL (+) olan grupta yaş ortalaması 53 (± 18) olup; minimum yaş 16, maksimum yaş ise 87 olarak belirlendi. Bu gruptaki hastalardan 10’u (% 55,6) erkek, 8’i (% 44,4) kadındı. 10 olgu (% 55,6) nodal yerleşimli, 8 olgu (% 44,4) ise ektranodal yerleşimli idi.

DHL-THL (+) grubundaki olguların “**Subtip**” incelemesinde; Non Germinal Merkez Kökenli (N-GCB) olgu sayısı 11 (% 61,1) iken, Germinal Merkez Kökenli (GCB) vaka sayısı 7 (% 38,9) idi.

DHL-THL (+) gruptaki olguların; 15’i (% 83,3) Yüksek Proliferatif, 3’ü ise (% 16,7) Düşük Proliferatif İndeks göstermekteydi (Tablo 9).

Tablo 9. DHL-THL (+) olguların demografik verileri ve proliferatif indeks bilgileri.

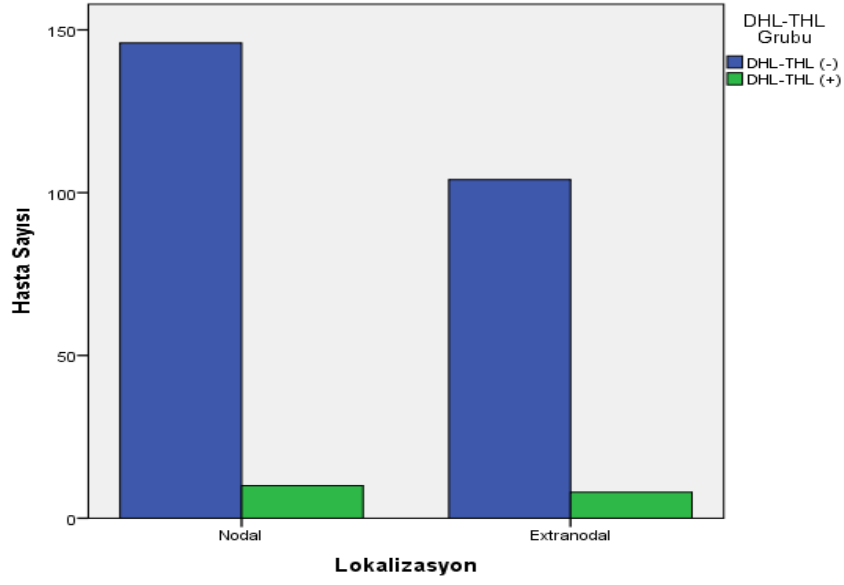
Toplam Olgu Sayısı		n	
Kişi Sayısı		268	
		n	%
DHL-THL (f/%)	DHL-THL (-)	250	93,3
	DHL-THL (+)	18	6,7
DHL-THL		18	
Yaş (Ort/ss)		53 \pm 18	
		n	%
Cinsiyet (f/%)	Erkek	10	55,6
	Kadın	8	44,4
Lokalizasyon (f/%)	Nodal	10	55,6
	Ektranodal	8	44,4
Subtip (f/%)	Non Germinal Merkez Kökenli (N-GCB)	11	61,1
	Germinal Merkez Kökenli (GCB)	7	38,9
Ki67 (f/%)	Yüksek Proliferatif İndeks	15	83,3
	Düşük Proliferatif İndeks	3	16,7

Lokalizasyon, Subtip, Ki67 proliferasyon indeksi ve DHL-THL grubu değişkenleri arasında yapılan çapraz tablolar ve **Ki-Kare Testi** sonuçlarına göre Ki67 proliferasyon indeksinin DHL-THL (+) olan grupta, DHL-THL olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı (p=0,005).

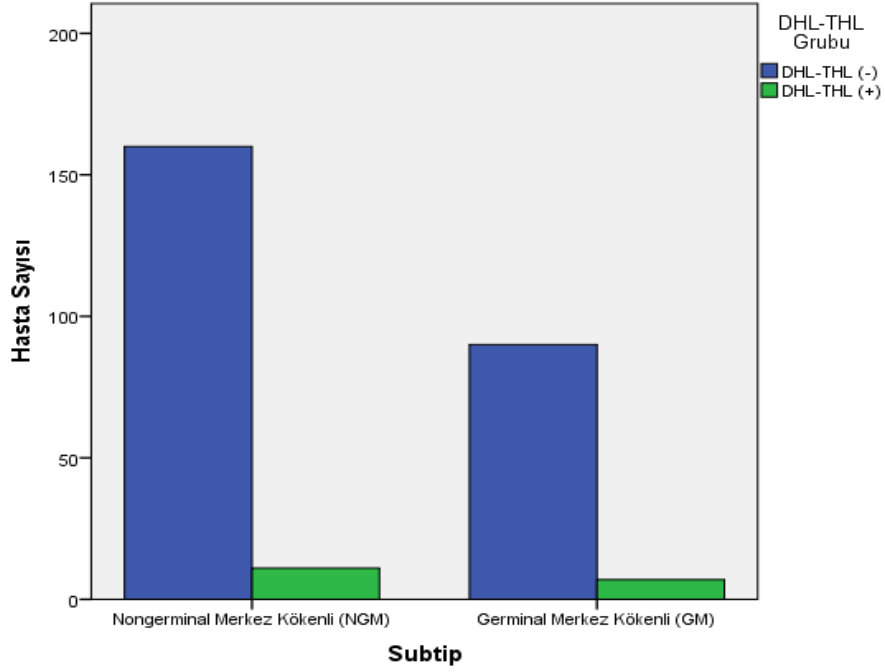
Subtip ve lokalizasyon dağılımında DHL-THL (+) grup ile DHL-THL(-) grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 10).

Tablo 10. DHL-THL (+) olgular ile DHL-THL (-) olgular arası subtip, lokalizasyon ve proliferatif indeks farkı analizi

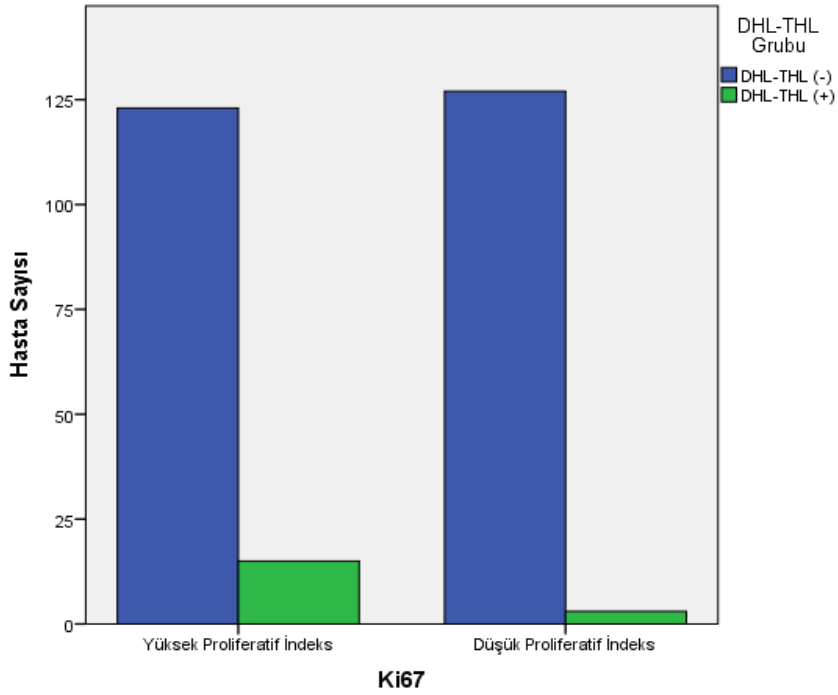
Gruplar		DHL-THL		TOPLAM	X ²	sd	p
		DHL-THL (-)	DHL-THL (+)				
Lokalizasyon	Nodal	146	10	156	0,056	1	0,813
		% 54,5	% 3,7	% 58,2			
	Ekstranodal	104	8	112			
		% 38,8	% 3,0	% 41,8			
Toplam		250	18	268			
		% 93,3	% 6,7	100 %			
Subtip	Non Germinal Merkez Kökenli (N-GCB)	160	11	171	0,061	1	0,805
		% 59,7	% 4,1	% 63,8			
	Germinal Merkez Kökenli (GCB)	90	7	97			
		% 33,6	% 2,6	% 36,2			
Toplam		250	18	268			
		% 93,3	% 6,7	100 %			
Ki67	Yüksek Proliferatif İndeks	123	15	138	7,832	1	0,005
		% 45,9	% 5,6	% 51,5			
	Düşük Proliferatif İndeks	127	3	130			
		% 47,4	% 1,1	% 48,5			
Toplam		250	18	268			
		% 93,3	% 6,7	100 %			



Grafik 10. DHL-TLH (+) vakalar ile DHL-TLH (-) vakalarda lokalizasyon dağılımı.



Grafik 11. DHL-TLH (+) vakalar ile DHL-TLH (-) vakalarda subtip dağılımı



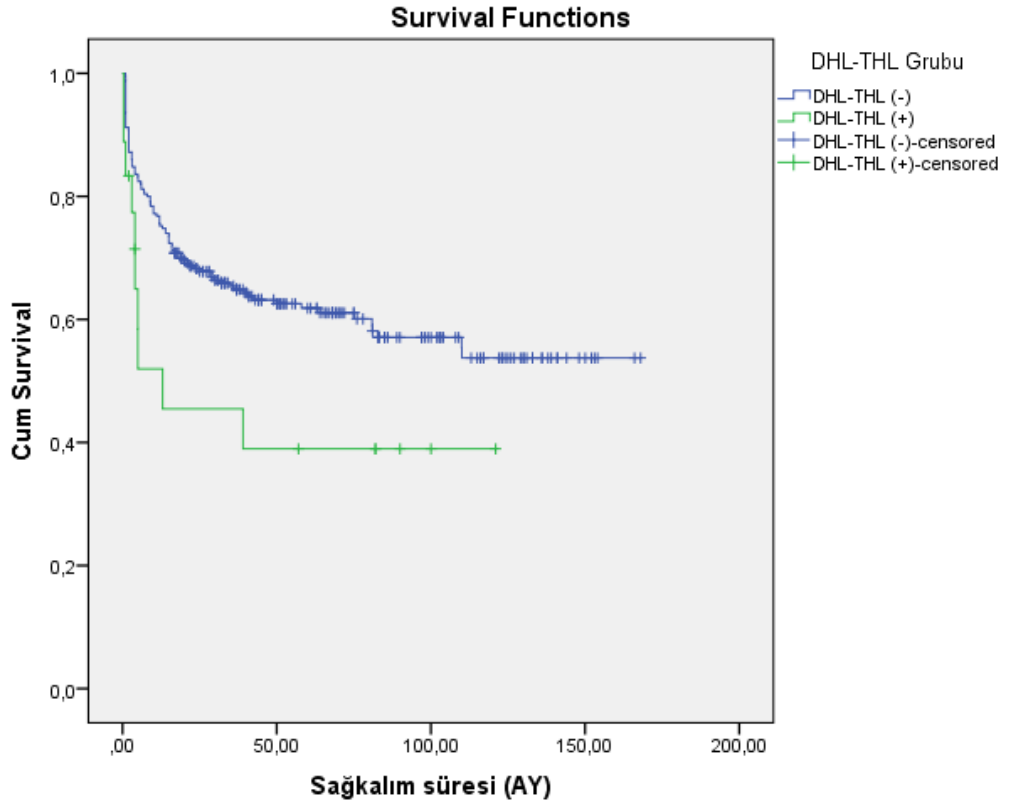
Grafik 12. DHL-THL (+) vakalar ile DHL-THL (-) vakalarda Ki67 proliferasyon indeksinin dağılımı.

DHL-THL (+) ve DHL-THL (-) gruplar arası yapılan sağkalım analizinde, DHL-THL (+) grupta ortalama sağkalım süresi 52 ay (± 14) (GA 24,54-79,32), DHL-THL (-) grupta ise ortalama sağkalım süresi **102** ay (± 5) (GA 92,19-112,37) olarak saptandı. (Tablo 11)

DHL-THL (+) ve DHL-THL (-) gruplar arası yapılan sağkalım analizi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup **DHL-THL (-) olan grup, DHL-THL (+) olan gruba göre daha uzun sağkalım göstermiştir** ($p=0,044$).

Tablo 11. DHL-THL (+) olgularda sağkalım analizi.

Değişken		Ort+ss Sağkalım (ay)	%95 GA (ay)	<i>p</i>
DHL-THL	DHL-THL (-)	102,28 \pm 5,14	92,19-112,37	0,044
	DHL-THL (+)	51,93 \pm 13,97	24,54-79,32	



Grafik 13. DHL-THL (+) ve DHL-THL (-) toplam 268 olgunun Kaplan-Meier yöntemi ile hesaplanan toplam sağkalım olasılığı eğrisi

5. TARTIŞMA

Diffüz Büyük B hücreli lenfomalar erişkinde en sık görülen Non Hodgkin lenfoma alt tipidir. Tüm lenfoid malignitelerin % 30'unu, Non- Hodgkin lenfomaların ise 30-40'ını oluşturmaktadır (1).

DBBHL erkeklerde daha sık görülen, genel olarak orta yaş ve daha yaşlı erişkinlerin (7. dekat) hastalığıdır. Ülkemizde ise batı ülkeleri ile kıyaslandığında 10 yaş kadar daha genç yaşta tanı almaktadır.²⁵

Çalışmamıza dahil edilen 268 olgunun 164'ü (% 61,2) erkek, 104'ü (% 38,8) ise kadındı. Tüm olguların yaş aralığı 8 ile 92 arasında değişmekte olup ortalama yaş 56 (± 17) idi.

DBBHL; klinik, morfolojik özellikleri, tedaviye yanıtları, prognoz ve sağkalımları ile kendi içerisinde farklılık gösteren heterojen bir lenfoma grubudur. Özellikle klinik takipte değerli olan IPI skorlaması ile benzer skora sahip hastalar arasında sağkalım sürelerinin farklı olması bu tümörlerde farklı moleküler ve genetik özelliklerin etkili olduğunu düşündürmektedir.

Tüm bu parametrelerin değişkenliği göz önüne alındığında uygun tedavi yöntemlerinin belirlenebilmesi amacıyla günümüzde çeşitli genetik ve moleküler çalışmaların yapılması gerekmektedir.

DBBHL'da nodal tutulum olmaksızın ektranodal tutulumun izlenmesi ektranodal hastalık olarak tanımlanmaktadır. Moleküler çalışmalarda nodal ve ektranodal hastalıkların genetik olarak farklı kökenden kaynaklandığının saptanması üzerine, nodal ve ektranodal lenfomaların farklı biyolojik ve klinik özelliklere sahip olduğu düşünülmeye başlanmıştır.¹¹⁹

Ektranodal tutulumun sıklığı batı ülkelerinde % 30-40 oranında iken Asya ülkelerinde yapılan çalışmalarda oran daha yüksek bulunmuş ve bu durum Helikobakter Pylori enfeksiyonunun sıklığının daha fazla olmasıyla açıklanmıştır.^{120,121}

Bizim çalışmamızda ektranodal DBBHL oranı % 41,8 olarak tespit edilmiş olup en sık yerleşim yeri mide idi (% 18,0).

Literatürde nodal ve ektranodal yerleşimli DBBHL'lı hastalarda yapılan sağkalım analizi verileri çelişkilidir.

Moller MB ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, ektranodal ve nodal DBBHL'lerde

linik özelliklerin farklı olduğu belirtilerek ekstranodal tutulum ile seyreden hastalarda yaşam sürelerinin nodal tutulum ile seyreden hastalara göre daha uzun olduğu bildirilmiştir.¹²² Jang ve ark. R-CHOP kemoterapi rejimi alan nodal yerleşimli DBBHL'lar ile ekstranodal yerleşimli DBBHL'larda sağkalım süresini karşılaştırmış; nodal grupta sağkalım süresinin ekstranodal yerleşimli olan gruba göre daha uzun olduğu saptanmış. Aynı çalışmada; DBBHL tedavisinde eklenen Ritüksimab'ın nodal grupta yaşam süresini belirgin olarak uzattığı, ancak ekstranodal grupta yaşam süresini nodal gruptaki kadar etkilemediği belirtilmiş, elde edilen sonuç tedavi rejimiyle ilişkilendirilmiştir.¹²³

Nodal ve ekstranodal olarak ayrı grupladığımız olgular arasında yaptığımız sağkalım analizinde nodal yerleşimli olguların sağkalım süresinin, ekstranodal yerleşimli olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede uzun olduğunu gözledik (p=0,011).

Çalışmamızdaki olguların % 83,2'sinin R-CHOP tedavisi aldığı dikkate alındığında nodal yerleşimli DBBHL'nın daha uzun sağkalımla ilişkili olmasının nedeninin seçilen tedavi rejimi olduğu düşünüldü.

Lenfoid neoplazilerde sınıflama, hastalıkla ilgili bilinen tüm bilgilerin kullanımına dayanmaktadır. Çoğu lenfoid neoplazinin tanısında morfolojik ve immünofenotipik özellikleri hatta bazen genetik özellikleri de içeren bir panelin birlikte kullanılması gerekmektedir. B hücreli lenfoid neoplazilerin çoğunda tanıya yardımcı karakteristik bir immünofenotipik profil mevcuttur. Ancak bazı antijenik belirteçler spesifik hastalıklarda tanımlanmış olsa da hiçbir zaman o hastalığa spesifik olmamaktadır. Bu durum tüm B hücreli lenfoid neoplazilerde geçerli olduğu gibi; DBBHL'larda da geçerlidir.

İmmünofenotiplendirmedeki bu tanısal yetersizlik ve farklılıklar B hücreli lenfoid neoplazilerin sınıflandırılmasında genetik özelliklerin rolünün artmasına neden olmaktadır. Son dönemde genetik özelliklerin aydınlatılması amacıyla kullanılan FISH yöntemi ile gen yeniden düzenlenmeleri ve spesifik translokasyonların tespitinin tanıda önemi artmaktadır.

Literatürde ilk olarak Hans ve ark.'nın yaptığı çalışmada fenotipik alt gruplar ile sağkalım süresini kıyaslanmış ve GCB grubunda yaşam süresinin daha uzun olduğu gösterilmiştir.⁷

Diğer taraftan Colomo, Nyman, Seki ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda GCB ve Non GCB vakaları arasında sağkalım açısından bir fark bulunamamıştır.^{8,12,124}

Fu ve ark. kemoterapi protokollerine Ritüksimab'ın eklenmesi ile GCB ve Non GCB fenotipli hastalarda sonuçların belirgin oranda düzeldiğini ve GCB ile Non GCB fenotipi arasında sağkalım farkının ortadan kalktığını bildirmişlerdir.¹²⁵

Ritüksimab'ın bilinen etki mekanizmalarının yanı sıra DNA transkripsiyonu, sitokin üretimi ve hücre siklusunu kontrol eden bir protein kompleksi olan nükleer faktör-kappa B (NF-kB) üretimini de baskıladığı söylenmektedir.¹²⁶ ABC fenotipte NF-kB hedef genlerinin yoğun olarak ifade edildiği göz önüne alınırsa Ritüksimab'ın neden her iki fenotip arası sağkalım açısından anlamlı farkı ortadan kaldırmış olabileceği daha net anlaşılmaktadır.

Çalışmamız dahilinde Hans algoritmasına göre GCB ve Non-GCB olarak sınıflanan 268 olgunun; % 63,8'i Non-GCB, % 36,2'si ise GCB grubunda idi. Bu gruplar arası yapılan sağkalım analizinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,162).

Bizim olgularımızın % 83,2'sinin Ritüksimab alan hastalar olduğu dikkate alındığında fenotip ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamızın nedeni Ritüksimab'ın NF-kB protein kompleksi üzerindeki etkisinin olabileceğini düşünmekteyiz.

Lenfoid neoplaziler zaman içerisinde ek genetik değişiklikleri kazanarak klonal evrimleşme geçirmektedirler. Bu nedenle lenfoid neoplazilerde progresyon sırasında hem morfolojik hem de ilave immunfenotipik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu evrim sürecinde ortaya çıkan yeni genetik yapı; daha agresif özellikler sergileyebileceği gibi, daha ılımlı özelliklere de sahip olabilir. Bu genetik değişikliğin aydınlatılması lenfoid neoplazinin seyri açısından önem kazanmaktadır.

BCL2 antiapoptotik bir protein olup overekspresyonu hücrelerde yaşam süresinin uzamasına neden olur. Literatürde DBBHL'da bildirilen BCL2 protein ekspresyon oranı % 24-77 arasında değişkenlik göstermektedir. BCL2 protein ekspresyonunun sağkalım ile ilişkisi konusunda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmaların bir kısmında BCL2 protein ekspresyonunun kötü prognoz ile, bir kısmında iyi prognoz ile ilişkili olduğu, bazılarında ise prognozla ilişkisi olmadığı gösterilmiştir.^{8,61,64,78,84,127,131-134} Bu çalışmalardan biri olan Pervez ve ark.'nın yaptığı

çalışmada 117 vakanın 75'inde (% 64) BCL2 protein ekspresyonu tespit edilmiş, ancak sağkalımla istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır.¹³⁵

Bizim çalışmamızda 268 DBBHL olgusunun 93'ünde (% 34,7) immunohistokimyasal olarak BCL2 ekspresyonu saptandı. Olgularda BCL2 protein ekspresyonunun varlığının sağkalım süresi üzerinde istatistiksel olarak bir anlamı yoktu (p=0,753).

DBBHL'larda Ki67 proliferasyon indeksinin prognoz üzerine etkisi oldukça tartışmalı bir konu olup daha önceleri popüler çalışma konularından birisiydi. Birçok çalışmada yüksek proliferasyon indeksi kötü bir prognostik faktör olarak gösterilmiş olmakla birlikte literatürde bunun aksi çalışmalar da mevcuttur.^{48,136,137}

Miller ve ark. % 80 ve üzerindeki değerleri kötü prognozla ilişkilendirmiş, ancak bunun tersine Hall ve arkadaşları ise % 80 ve üzerinde proliferasyon indeksine sahip vakalarda kemoterapiye yanıtın daha iyi, relaps sıklığının daha az olduğunu bu nedenle iyi prognozla ilişkili olduğunu söylemişlerdir.^{48,138} Yukarıdaki çalışmalarda düşük ve yüksek proliferasyon indeksi için cut-off oranını % 80 olarak alınırken; Jovanovic ve ark. % 60 ve üzerindeki değerleri yüksek proliferasyon olarak kabul etmiş, çalışmalarında yüksek indekse sahip hastalarda prognozun daha kötü seyrettiğini bildirmişlerdir.¹³⁹ Yine farklı bir oran kullanan Hasselblom ve ark. ise cut-off oranı olarak % 50'yi kullanmışlar ve düşük proliferatif indekse sahip hastalarda prognozun daha kötü olduğunu göstermişlerdir.¹⁴⁰

Bu çalışmada ise Ki67 proliferasyon indeksi; 268 olgunun 130'unda (% 48,5) % 80'in altında (düşük), 138'inde (% 51,5) % 80 ve üzerinde (yüksek) tespit edildi. Sonuç olarak yüksek (\geq % 80) ve düşük (< % 80) proliferasyon indeksi gösteren gruplar arası yapılan sağkalım analizinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (p=0,427).

Literatürde CD5 ve Siklin D1 gibi antikörlerin kötü prognoz ile birlikte olduğu bildirilirken yapılan çalışma sonuçları farklılık göstermektedir. Zhang ve ark.'nın yaptığı çalışmada DBBHL'da CD5 ve Siklin D1 ekspresyonu ile sağkalım arasında anlamlı ilişki tespit edilememiştir.⁷⁸

Çalışmamızda olguların 29'unda (% 10,8) CD5 ekspresyonu, 6'sında (% 2,2) ise Siklin D1 ekspresyonu izlendi. Ancak CD5 ve Siklin D1 protein ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Sırasıyla; p=0,498, p=0,633).

DBBHL'larda MYC, BCL2 ve BCL6'da tekrarlayan kromozomal translokasyonlar bildirilmiştir.^{13,14} MYC translokasyonu Burkitt Lenfoma (BL) için karakteristik bir sitogenetik olay iken DBBHL'lı hastalarda da % 3-16 oranında saptanmaktadır.^{10,15-17}

MYC gen yeniden düzenlenmesi; literatürde sıklıkla kemoterapiye direnç, agresif klinik gidiş ve kısa yaşam süresi ile ilişkili bulunmuştur.¹⁶ MYC gen yeniden düzenlenmesine sahip daha agresif gidişli DBBHL olgularının yanı sıra, Burkitt lenfomanın morfolojik özelliklerini gösteren ve yüksek proliferatif indekse sahip ancak; MYC translokasyonu göstermeyen lenfomalar da bulunmaktadır. Son DSÖ sınıflamasında (DSÖ 2008) bu olguların bir kısmı "DBBHL ve BL özellikleri arasında kalan başka türlü sınıflandırılmayan B-hücreli lenfomalar" grubu altında toplanmışlardır. Ancak DBBHL ve BL'nın tedavi protokollerinin birbirlerinden farklı olması nedeniyle bu iki lenfomanın ayırıcı tanısının yapılması çok önemlidir.

BL; tedavi edilmezse ölümlü sonuçlanan ancak uygun tedavi protokolleri ile tedavisi mümkün olan agresif bir lenfomadır. BL hastaları için DBBHL'da sıklıkla kullanılan antrasiklin bazlı kemoterapi rejimi olan CHOP ve R-CHOP yetersiz kalmaktadır.

Bizim çalışmamızdaki 268 olgunun 27'sinde (% 10,1) MYC gen yeniden düzenlenmesi mevcuttu. Bu olgularda ortalama yaşam süresi literatüre uygun olarak MYC gen yeniden düzenlenmesi olmayan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulundu (p=0,021).

BCL6 geni normalde transkripsiyon reseptörünü kodlar, BCL6'da meydana gelen translokasyonlar P53 gibi tümör supresör genlerin azalmasına ve sonuçta hasarlı DNA'ların apoptozdan kaçmasına neden olur. Literatürde BCL6 gen anomalileri DBBHL'lı hastalarda en sık görülen sitogenetik anomali olup bizim çalışmamızda da bu oran % 18,3 idi. BCL2 geni yeniden düzenlenmesi oranı ise çalışmamızda % 10,4 olarak tespit edildi.

Literatüre bakıldığında özellikle BCL2 vey BCL6 gen yeniden düzenlenmesinin sağkalım üzerine etkisi konusunda yapılan klinik çalışmalar sonucunda farklı sonuçlar elde edilmiştir.^{10,13,14,21,23,28,142,144}

Bizim çalışmamızda BCL2 ve BCL6 gen yeniden düzenlenmesinin sağkalım üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,764, p=0,698) (Tablo 12).

Tablo 12. Son zamanlarda DBBHL’da MYC,BCL2 ve BCL6 gen yeniden düzenlenmesi konusunda yapılan çalışmaların özeti

Gen	Çalışma	Hasta Sayısı	Anomali sıklığı (%)	Tedavi Rejimi	Sağkalım İlişkisi
MYC	Bizim çalışma	268	10	R-CHOP (n: 223), CHOP (n: 45)	Daha kötü
	Niitsu 2009 ¹⁴⁵	252	11	CHOP veya Cycl OBEAP	Daha kötü
	Barrans 2010 ¹⁶	245	14	R-CHOP	Daha kötü
	Akyurek 2012 ¹⁴²	239	6	R-CHOP (n: 145)	Daha kötü
	Klapper 2008 ¹⁴³	177	8	CHOP veya CHOEP	Daha kötü
	Savage 2009 ²⁴	135	9	R-CHOP	Daha kötü
BCL2	Bizim çalışma	268	10	R-CHOP (n: 223), CHOP (n: 45)	İlişkisiz
	Akyurek 2012 ¹⁴²	239	15	R-CHOP (n: 145)	İlişkisiz
	Yoon 2008 ²¹	156	9	CHOP	Daha kötü
	Barrans 2003 ¹⁴	137	13	CHOP	GCB’de daha kötü
	Copie-Bergman 2009 ¹⁰	68	20	R-CHOP	İlişkisiz
BCL6	Bizim çalışma	268	18	R-CHOP (n: 223), CHOP (n: 45)	İlişkisiz
	Akyurek 2012 ¹⁴²	239	29	R-CHOP (n: 145)	Daha kötü
	Shustik 2010 ²³	164	20	CHOP veya R-CHOP	R-chop’ta daha kötü
	Iqbal 2007 ²⁸	133	19	CHOP	İlişkisiz
	Barrans 2002 ¹⁴⁴	111	25	-	Daha kötü
	Offit 1994 ¹³	102	22	CHOP	Ekstranoda
	Copie-Bergman 2009 ¹⁰	69	30	R-CHOP	İde iyi Daha kötü

CHOP; Cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone **R-CHOP;** CHOP+Rituksimab. **CHOEP;** Etoposid+CHOP, **CyclOBEAP;** Cyclophosphamide, vincristine, bleomycin, etoposide, doxorubicin, prednisone; **GCB;** Germinal merkez

Bununla birlikte literatürde Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yönteminin kullanıma başlamasıyla MYC gen yeniden düzenlenmesi ile eş zamanlı olarak BCL2 ve/veya BCL6 translokasyonu gösteren ayrı bir B hücreli lenfoma grubu daha ortaya çıkmaktadır. Bu grup; ‘Double Hit Lenfoma’ (DHL) ve ‘Triple Hit Lenfoma’ (THL) olarak adlandırılmaktadır. DHL/THL’lar; BL ve DBBHL’lara göre daha kötü prognozlu bir B hücreli lenfoma grubu olarak tanımlanmaktadır.^{18,19} Bu olgular günümüzde genellikle ‘DBBHL ve BL özellikleri arasında kalan başka türlü sınıflandırılmayan B-

hücreli lenfomalar' grubu altında sınıflandırılmaktayken bu farklı özelliklerinden dolayı; bu olguları tanımak ve tedavi açısından ayrı bir grup altında sınıflandırmak önem kazanmaktadır.

Morfolojik olarak BL'ya benzeyen olgularda MYC geninin yeniden düzenlenmesine ek olarak izlenen BCL2 ve BCL6 sitogenetik anomalilerinin varlığı BL tanısının dışlanmasına neden olmaktadır. Bu durumda olgular daha önce de belirtildiği gibi DBBHL ve BL özellikleri arasında kalan başka türlü sınıflandırılmayan B-hücreli lenfomalar grubuna dahil edilmektedir.

DBBHL'lar diğer Non Hodgkin lenfomalara göre daha kompleks karyotipik anomaliler gösteren lenfomalardır. Bu kompleks karyotiplerden olan DHL ve THL'ler DBBHL'lar arasında % 1-12 sıklıkta görülen nadir neoplazmlardır.

Double Hit Lenfomalarda BCL2/MYC gen anomalisi birlikteliği en sık görülen genetik anomalidir (% 62). BCL6/MYC gen anomalileri daha nadir görülürken (% 8), BCL6/BCL2/MYC birlikteliğini içeren Triple Hit Lenfoma görülme sıklığı ise BCL6/MYC görülme sıklığına göre daha fazladır (% 16).^{16,17,20,24}

Literatürde DHL/THL'larla ilgili demografik ve klinik verileri de kapsayan az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Bu kompleks karyotipik anomalilerin sağkalıma etkisini araştırmak amacı ile Niitsu N ve ark. tarafından yapılan çalışmada, *de novo* DBBHL hastalarının % 4,8'inde MYC ve BCL2 translokasyonları izlenmiş, bu hastalarda ortalama sağkalım süresinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük olduğu bildirilmiştir.¹⁴⁵ Johnson NA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise DHL oranı % 4 olarak belirlenmiş bu hastalarda da benzer şekilde ortalama sağkalım süresi düşük bulunmuştur.¹⁹

Bizim çalışmamızda olguların 18'i (% 6,7) DHL-THL tanısı aldı. BCL2/MYC DHL oranı % 71,6, BCL6/MYC DHL oranı % 10,2, BCL6/BCL2/MYC THL oranı ise % 18,2 idi.

Çalışmamızda yer alan DHL/THL vakaları ile kompleks karyotipik anomali içermeyen DBBHL vakaları arasında yaş, cinsiyet, yerleşim yeri, subtip değişkenleri kullanılarak yapılan istatistiksel çalışmada iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

DHL/THL olan grupta ortalama yaşam süresi 50 ay, DHL/THL olmayan grupta ise 102 ay olarak belirlendi. Mevcut veriler ile bu iki gruptan DHL/THL olan grupta DHL/THL olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük sağkalım

izlendi ($p=0,044$).

DHL/THL grubundaki Ki67 proliferasyon indeksi ile diğer DBBHL olgularının Ki67 proliferasyon indeksi kıyaslandığında DHL/THL grubunda Ki67 proliferasyon indeksinin istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek olduğu görüldü ($p=0,005$).

Sonuç olarak, DBBHL'lar sık görülen NHL'lardan biri olup, oldukça heterojen özellikler içeren ve bu nedenle klinik seyri ve tedavi seçenekleri farklılık gösteren bir alt gruptur. Çalışmamızda MYC gen yeniden düzenlemesi varlığı, kötü prognoz ve düşük genel sağkalım ile ilişkili bağımsız bir prediktif prognostik faktör olarak saptanmıştır. DBBHL'lar arasında yer alan, mevcut kemoterapi rejimine yanıtız, daha agresif klinik davranış ile karakterize 'Double Hit Lenfoma/Triple Hit Lenfoma' (DHL/THL) alt grubunun saptanması ve uygun tedavi protokollerinin belirlenebilmesi için DBBHL'ların immünojenotipik ve genetik özelliklerinin ortaya konması önem arz etmektedir. Agresif klinik seyre sahip bu gruplara özgü herhangi bir morfolojik ve yüksek proliferasyon indeksi dışında immünojenotipik bir belirleyici mevcut değildir. Bu nedenle özellikle yüksek proliferasyon indeksine sahip DBBHL'lar arasında DHL/THL olgularını belirlemek amacıyla FISH yönteminin kullanılması gerektiğini kanımsındayız. Her ne kadar bu kompleks anomaliler bu agresif lenfomaların tüm biyolojik davranışlarını tek başına açıklamasa da uygun tedavi seçeneklerini belirlemek için bu tür çalışmaların devam etmesi gerektiği düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda 2002-2014 yılları arası tanı almış 268 *de novo* DBBHL olgusu demografik ve klinik bilgileri ile gruplara ayrıldı.

2. Olguların 223'üne (% 83,2) R-CHOP, 45'ine (% 16,8) CHOP kemoterapi tedavi rejimi uygulanmıştı.

3. Tüm hastalarda maksimum takip süresi 145 ay, minimum ise 13 ay olarak saptandı.

4. 268 olgunun 164'ü (% 61,2) erkek, 104'ü (% 38,8) ise kadındı. Tüm olguların yaş aralığı 8 ile 92 arasında değişmekte olup ortalama yaş 56 (± 17) idi.

5. Olguların 156'sında (% 58,2) tanı aldığı tutulum alanı lenf nodu bölgesi iken, 112'sinde (% 41,8) tanı anındaki tutulum alanı ektranodal bir bölge idi. Mide en sık görülen ektranodal tutulum bölgesiydi (% 18,0).

6. Hans algoritmasına göre yapılan immünofenotipik sınıflandırma ile 268 vakanın 171'i (% 63,8) Non GCB, 97'si (% 36,2) GCB subtipine sahipti.

7. İmmunohistokimyasal olarak;

- BCL2 ile 268 olgunun 93'ünde (% 34,7) pozitif boyanma görülürken, 175 olguda (% 65,3) boyanma izlenmedi.

- CD5 ile 268 olgudan 29'unda (% 10,8) pozitif boyanma görülürken, geriye kalan 239 olguda (% 89,2) boyanma izlenmedi.

- Siklin D1 pozitifliği 268 olgunun 6'sında (% 2,2) izlenirken, 262 olgu (% 97,8) negatif sonuç verdi (Tablo 7).

- Ki67 ile 130 (% 48,5) olguda % 80'in altında, 138 (% 51,5) olguda % 80 ve üzerinde pozitif boyanma izlendi. Bu olgular düşük (<%80) ve yüksek (\geq %80) proliferasyon indeksine sahip olarak 2 gruba ayrıldı. (Tablo 7)

8. FISH yöntemi kullanılarak; 268 olgudan 27'sinde (% 10,1) MYC, 49'unda (% 18,3) BCL6, 28'inde (% 10,4) ise BCL2 gen yeniden düzenlenmesi varlığı saptandı.

9. 01.02.2016 tarihinde MERNİS veri tabanına bakıldığında 268 hastanın 161'inin (% 60,1) 'SAĞ', 107'sinin (% 39,9) ise 'EX' olduğu görüldü. 'EX' olan 107 hastanın sağkalım verileri baz alınarak yapılan frekans analizi sonucunda, ortalama sağkalım süresi 16 ay (± 23) (min;1 ay, max110 ay) dı.

10. FİSH yöntemi ile MYC gen yeniden düzenlenmesi olan DBBHL'lı olgular ile MYC gen yeniden düzenlenmesi olmayan olgular arası yapılan sağkalım analizi istatistiksel olarak anlamlı bulundu, MYC translokasyonu olmayan vakaların, MYC translokasyonu olan vakalara göre daha uzun sağkalıma sahip olduğu belirlendi (p=0,021).

11. Nodal ve ektranodal yerleşimli gruplar arası yapılan sağkalım analizi de istatistiksel olarak anlamlı idi. Nodal olguların ektranodal olgulara göre daha uzun sağkalıma sahip olduğu saptandı (p=0.011).

12. Tüm hastalarda yapılan FİSH yöntemi ile BCL2 ve BCL6 translokasyonu saptanan olgular ile saptanmayan olgular arası, İHK yöntemi ile; BCL2, CD5, Siklin D1 pozitif (+) belirlenen olgular ile negatif (-) olgular arası ve Ki67 proliferatif indeksi yüksek olan grup ile düşük olan grup arası yapılan sağkalım fark analizi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca subtiplere göre GCB ve N-GCB olarak ayrılan gruplar arası yapılan sağkalım fark analizi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 8).

13. Çalışmaya dahil edilen 268 olguda yapılan FİSH yöntemi ile MYC gen yeniden düzenlenmesi ile eş zamanlı olarak BCL2 veya BCL6 translokasyonu gösteren 15 olgu "**Double Hit Lenfoma**", MYC gen yeniden düzenlenmesi ile BCL2 ve BCL6 translokasyonunu eş zamanlı gösteren 3 olgu "**Triple Hit Lenfoma**" tanısı aldı. Toplam 18 hastadan oluşan bu iki tanı grubu; istatistiksel analizlerin yapılabilmesi adına birleştirilerek; "**Double Hit Lenfoma ve Triple Hit Lenfoma (+) [DHL-THL (+)]**" ve "**Double Hit Lenfoma ve Triple Hit Lenfoma (-) [DHL-THL (-)]**" şeklinde tekrar gruplandı ve yeni bir veri sütunu oluşturularak analizler gerçekleştirildi.

14. DHL-THL (+) olan grupta yaş ortalaması 53 (± 18) olup; minimum yaş 16, maksimum yaş ise 87 olarak belirlendi. Bu gruptaki hastalardan 10'u (% 55,6) erkek, 8'i (% 44,4) kadındı. 10 olgu (% 55,6) nodal yerleşimli, 8 olgu (% 44,4) ise ektranodal yerleşimli idi. DHL-THL (+) grubundaki olguların "**Subtip**" incelemesinde; Non Germinal Merkez Kökenli (N-GCB) olgu sayısı 11 (% 61,1) iken, Germinal Merkez Kökenli (GCB) vaka sayısı 7 (% 38,9) idi. DHL-THL (+) gruptaki olguların; 15'i (% 83,3) Yüksek Proliferatif, 3'ü ise (% 16,7) Düşük Proliferatif İndeks göstermekteydi.

15. Lokalizasyon, Subtip, Ki67 proliferasyon indeksi ve DHL-THL grubu değişkenleri arasında yapılan çapraz tablolar ve **Ki-Kare Testi** sonuçlarına göre Ki67 proliferasyon indeksinin DHL-THL (+) olan grupta, DHL-THL olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı (p=0,005).

Subtip ve lokalizasyon dağılımında DHL-THL (+) grup ile DHL-THL(-) grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 10).

16. DHL-THL (+) ve DHL-THL (-) gruplar arası yapılan sağkalım analizinde, DHL-THL (+) grupta ortalama sağkalım süresi 52 ay (± 14) (GA 24,54-79,32), DHL-THL (-) grupta ise ortalama sağkalım süresi **102** ay (± 5) (GA 92,19-112,37) olarak saptandı (Tablo 11).

17. DHL-THL (+) ve DHL-THL (-) gruplar arası yapılan sağkalım analizi istatistiksel olarak anlamlı bulundu. **DHL-THL (-) olan grubun, DHL-THL (+) olan gruba göre daha uzun sağkalım gösterdiği belirlendi (p=0,044).**

7. KAYNAKLAR

1. **Jaffe ES, Haris NL, Stein H, Wardiman JW.** *WHO Classification of Tumours. Pathology & Genetics: Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues.* Lyon: IARC Press; **2008.**
2. **Sehn LH, Donaldson J, Chhanabhai M.** Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia. *J Clin Oncol* **2005.**
3. **Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M.** The revised International Prognostic Index (RIPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with RCHOP. *Blood.* **2007.**
4. **Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E.** Standard International Prognostic Index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* **2010;** 28:2373-2380.
5. **Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE.** Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* **2000;**403:503-511.
6. **Rosenwald A, Wright G, Chan WC.** The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-Bcell lymphoma. *N Engl J Med* **2002;** 346:1937-1947.
7. **Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC.** Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood.* **2004;** 103:275-282.
8. **Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M.** Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **2003;** 101:78-84.
9. **Zinzani PL, Dirnhofer S, Sabattini E.** Identification of outcome predictors in diffuse large B-cell lymphoma. Immunohistochemical profiling of homogeneously treated de novo tumors with nodal presentation on tissue micro-arrays. *Haematologica* **2005;** 90:341-347.
10. **Copie-Bergman C, Gaulard P, Leroy K.** Immuno-fluorescence in situ hybridization index predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP: a GELA Study. *J Clin Oncol* **2009;** 27:5573-5579.
11. **Natkunam Y, Farinha P, Hsi ED.** LMO2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with anthracycline-based chemotherapy with and without rituximab. *J Clin Oncol* **2008;** 26:447-454.
12. **Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML.** Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood* **2007;** 109:4930-4935.

13. **Offit K, Lo Coco F, Louie DC.** Rearrangement of the bcl-6 gene as a prognostic marker in diffuse large-cell lymphoma. *N Engl J Med* **1994**;331:74-80.
14. **Barrans SL, Evans PA, O'Connor SJ.** The t(14;18) is associated with germinal center-derived diffuse large B-cell lymphoma and is a strong predictor of outcome. *Clin Cancer Res* **2003**; 9:2133-2139.
15. **Kramer MH, Hermans J, Wijburg E.** Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* **1998**; 92:3152-3162.
16. **Barrans S, Crouch S, Smith A.** Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J Clin Oncol* **2010**; 28:3360-3365.
17. **Tibiletti MG, Martin V, Bernasconi B.** BCL2, BCL6, MYC, MALT 1, and BCL10 rearrangements in nodal diffuse large B-cell lymphomas: a multicenter evaluation of a new set of fluorescent in situ hybridization probes and correlation with clinical outcome. *Hum Pathol* **2009**; 40:645-652
18. **Aukema SM, Siebert R, Schuurig E.** Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* **2011**; 117:2319-2331.
19. **Johnson NA, Savage KJ, Ludkovski O.** Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* **2009**; 10:2273-2279.
20. **Van Imhoff GW, Boerma EJ, van der Holt B.** Prognostic impact of germinal center-associated proteins and chromosomal breakpoints in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* **2006**; 24:4135-4142.
21. **Yoon SO, Jeon YK, Paik JH.** MYC translocation and an increased copy number predict poor prognosis in adult diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), especially in germinal centre-like B cell (GCB) type. *Histopathology* **2008**; 53:205-217.
22. **Obermann EC, Csato M, Dirnhofer S, Tzankov A.** Aberrations of the MYC gene in unselected cases of diffuse large B-cell lymphoma are rare and unpredictable by morphological or immunohistochemical assessment. *J Clin Pathol* **2009**; 62:754-756.
23. **Shustik J, Han G, Farinha P.** Correlations between BCL6 rearrangement and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP or R-CHOP. *Haematologica* **2010**; 95:96-101.
24. **Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S.** MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* **2009**; 114:3533-3537.
25. **Müller AM, Ihorst G, Mertelsmann R, Engelhardt M.** Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): trends, geographic distribution, and etiology. *Ann Hematol* **2005**; 84(1):1-12.

26. Fisher SG, Fisher RI. The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Oncogene* **2004**; 23(38):6524-34.
27. Garvin AJ, Simon R, Young RC, Devita VT, Berard CW. The Rappaport classification of Non Hodgkin lymphomas: a closer look using other proposed classifications. *Semin Oncol* **1980**; 7(3):234-43.
28. Iqbal J, Joshi S, Patel KN, Javed SI, Kucuk C, Aabida A. Clinical implication of genome-wide profiling in diffuse large B-cell lymphoma and other subtypes of B-cell lymphoma. *Ind J Cancer* **2007**; 44:72-86.
29. Chang C, McClintock S, Cleveland R, Trzpuc T. Immunohistochemical expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in Diffuse large B cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* **2004**; 28:464-470.
30. Hunt KE, Reichard KK. Diffuse large B-cell lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* **2008**; 132:118-24.
31. Sjö LD, Poulsen CB, Hansen M, Moller MB, Ralfkiaer E. Profiling of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry: identification of prognostic subgroups. *Eur J Haematol* **2007**; 79:501-507.
32. Anon. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project, *Blood* **1997**; 89: 3909-3918.
33. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol* **1998**; 16(8):2780-95.
34. Hummel M, Anagnostopoulos I, Korbjuhn P, Stein H. Epstein-Barr virus in B-cell non-Hodgkin's lymphomas unexpected infection patterns and different infection incidence in low- and high-grade types. *J Pathol* **1995**; 175(3):263-71.
35. Schlegelberger B, Weber-Matthiesen K, Himmler A, Bartels H, Sonnen R, Kuse R, Feller AC, Grote W. Cytogenetic findings and results of combined immunophenotyping and karyotyping in Hodgkin's disease. *Leukemia* **1994**; 8(1):72-80. 75
36. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* **1994**; 84(5):1361-92.
37. Campbell J, Seymour JF, Matthews J, Wolf M, Stone J, Juneja S. The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement. *Eur J Haematol* **2006**; 76(6):473-80.

38. **Chung R, Lai R, Wei P, Lee J, Hanson J, Belch AR, Turner AR, Reiman T.** Concordant but not discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma predicts a poor clinical outcome independent of the International Prognostic Index. *Blood* **2007**; 110(4):1278-82.
39. **Gurbaxani S, Anastasi J, Hyjek E.** Diffuse large B-cell lymphoma-more than a diffuse collection of large B cells: An entity in search of a meaningful classification. *Arch Pathol Lab Med* **2009**; 133:1121-1134.
40. **Chan ACL, Chan JKC.** *Diffuse large B cell lymphoma, In Jaffe ES, Harris NL, Wardiman JW, Campo E.* Hematopathology 1st ed. Elsevier, Saunders **2011**:349-382
41. **Loddenkemper C, Anagnostopoulos I, Hummel M, Jöhrens-Leder K, Foss HD, Jundt F, Wirth T, Dörken B, Stein H.** Differential Emu enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non-Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. *J Pathol* **2004**; 202(1):60-9.
42. **Piris M, Brown DC, Gatter KC, Mason DY.** CD30 expression in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology.* **1990**; 17:211-8.
43. **Matolcsy A, Chadburn A, Knowles DM.** De novo CD5-positive and Richter's syndrome-associated diffuse large B cell lymphomas are genotypically distinct. *Am J Pathol* **1995**; 147(1):207-16. 76.
44. **Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T, Suzumiya J, Murase T, Miura I, Akasaka T, Tamaru J, Suzuki R, Kagami Y, Hirano M, Morishima Y, Ueda R, Shiku H, Nakamura S.** De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients. *Blood* **2002**; 99(3):815-21.
45. **Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth TF, Bernd HW, Cogliatti SB, Dierlamm J, Feller AC, Hansmann ML, Haralambieva E, Harder L, Hasenclever D, Kühn M, Lenze D, Lichter P, Martin-Subero JI, Möller P, Müller-Hermelink HK, Ott G, Parwaresch RM, Pott C, Rosenwald A, Rosolowski M, Schwaenen C, Stürzenhofecker B, Szczepanowski M, Trautmann H, Wacker HH, Spang R, Loeffler M, Trümper L, Stein H, Siebert R.** Molecular Mechanisms in Malignant Lymphomas Network Project of the Deutsche Krebshilfe. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* **2006**; 354(23):2419-30.
46. **Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, van Krieken JH, Jiwa NM, Ossenkuppele GJ, Oudejans JJ.** Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J Pathol* **2006**; 208:714-23.
47. **Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, Bigerna B, Marafioti T, Gambacorta M, Pacini R, Alunni C, Natali-Tanci L, Ugolini B, Sebastiani C, Cattoretti G, Pileri S, Dalla-Favera R, Stein H.** 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.

48. Miller TP, Grogan TM, Dahlberg S, Spier CM, Brazier RM, Banks PM, Foucar K, Kjeldsberg CR, Levy N, Nathwani BN. Prognostic significance of the Ki-67-associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: a prospective Southwest Oncology Group trial. *Blood* **1994**; 83(6):1460-6.
49. Poulsen CB, Borup R, Nielsen FC, Borregaard N. Microarray- based classification of Diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Haematol* **2005**; 74:453-465.
50. Paeppe P, Peeters W. Diffuse large B-cell lymphoma: a heterogeneous group of non-Hodgkin lymphomas comprising several distinct entities. *Leukemia* **2007**; 21:37-43.
51. Sukpanichnant S, Pongpruttipan T. Commentary on the WHO classification (2008) of malignant lymphoma. *Siriraj Med J* **2009**; 61:154-159.
52. Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, Nanjangud G, Chaganti RS, Küppers R, Dalla-Favera R. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* **2001**; 412(6844):341-6.
53. Bastard C, Deweindt C, Kerckaert JP, Lenormand B, Rossi A, Pezzella F, Fruchart C, Duval C, Monconduit M, Tilly H. LAZ3 rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 217 patients. *Blood* **1994**; 83:2423-7. 78.
54. Ohno H, Fukuhara S. Significance of rearrangement of the BCL6 gene in B-cell lymphoid neoplasms. *Leuk Lymphoma* **1997**; 27(1-2):53-63.
55. Lipford E, Wright JJ, Urba W, Whang-Peng J, Kirsch IR, Raffeld M, Cossman J, Longo DL, Bakhshi A, Korsmeyer SJ. Refinement of lymphoma cytogenetics by the chromosome 18q21 major breakpoint region. *Blood* **1987**; 70(6):1816-23.
56. Weiss LM, Warnke RA, Sklar J, Cleary ML. Molecular analysis of the t(14;18) chromosomal translocation in malignant lymphomas. *N Engl J Med* **1987**; 317(19):1185-9.
57. Ueda C, Nishikori M, Kitawaki T, Uchiyama T, Ohno H. Coexistent rearrangements of c-myc, BCL2, and BCL6 genes in a diffuse large B-cell lymphoma. *Int J Hematol* **2004**; 79(1):52-4.
58. 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 USA* **2003**; 100(17):9991-6.
59. Bea S, Zettl A, Wright G, Salaverria I, Jehn P, Moreno V, Burek C, Ott G, Puig X, Yang L, Lopez-Guillermo A, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, Gascoyne RD, Connors JM, Grogan TM, Brazier R, Fisher RI, Smeland EB, Kvaloy S, Holte H, Delabie J, Simon R, Powell J, Wilson WH, Jaffe ES, Montserrat E, Muller-Hermelink HK, Staudt LM, Campo E, Rosenwald A. Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood* **2005**; 106(9):3183-90.

60. Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, Matsuo K, Karnan S, Ohshima K, Okamoto M, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **2005**; 106(5):1770-7.
61. De Paepe P, Achten R, Verhoef G, Wlodarska I, Stul M, Vanhentenrijk V, Praet M, De Wolf-Peeters C. Large cleaved and immunoblastic lymphoma may represent two distinct clinicopathologic entities within the group of diffuse large B-cell lymphomas. *J Clin Oncol* **2005**; 23:7060-8.
62. Huang JZ, Sanger WG, Greiner TC, Staudt LM, Weisenburger DD, Pickering DL, Lynch JC, Armitage JO, Warnke RA, Alizadeh AA, Lossos IS, Levy R, Chan WC. The t(14;18) defines a unique subset of diffuse large B-cell lymphoma with a germinal center B-cell gene expression profile. *Blood* **2002**; 99:2285-90.
63. Brittinger G, Bartels H, Common H, Dühmke E, Fülle HH, Gunzer U, Gyenes T, Heinz R, König E, Meusers P. Clinical and prognostic relevance of the Kiel classification of non-Hodgkin lymphomas results of a prospective multicenter study by the Kiel Lymphoma Study Group. *Hematol Oncol* **1984**; 2(3):269-306.
64. Melnyk A, Rodriguez A, Pugh WC, Cabannillas F. Evaluation of the Revised European-American Lymphoma classification confirms the clinical relevance of immunophenotype in 560 cases of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* **1997**; 89:4514-20.
65. Salar A, Fernández de Sevilla A, Romagosa V, Domingo-Claros A, González-Barca E, Pera J, Climent J, Grañena A. Diffuse large B-cell lymphoma: is morphologic subdivision useful in clinical management, *Eur J Haematol* **1998**; 60:202-8.
66. Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, Krajewska M, Horsman DE, Tolcher AW, O'Reilly SE, Hoskins P, Coldman AJ, Reed JC, Connors JM. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* **1997**; 90:244-51.
67. Adida C, Haioun C, Gaulard P, Lepage E, Morel P, Briere J, Dombret H, Reyes F, Diebold J, Gisselbrecht C, Salles G, Altieri DC, Molina TJ. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* **2000**; 96:1921-5.
68. Barrans SL, Fenton JA, Banham A, Owen RG, Jack AS. Strong expression of FOXP1 identifies a distinct subset of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients with poor outcome. *Blood* **2004**; 104:2933-5.
69. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, Book M, Roos G, Erlanson M, Linderöth J, Dictor M, Jerkeman M, Cavallin-Ståhl E, Sundström C, Rehn-Eriksson S, Backlin C, Hagberg H, Rosenquist R, Enblad G. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol* **2005**; 18:1113-20.
70. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Chan WC, Aoun P, Cochran GT, Pan Z, Smith LM, Lynch JC, Bociek RG, Bierman PJ, Vose JM, Armitage JO. Expression of PKC-beta or cyclin D2 predicts for inferior survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol* **2005**; 18:1377-84.

71. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G, Dave BJ, Horsman DE, Rosenwald A, Lynch J, Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Campo E, Ott G, Müller-Hermelink HK, Delabie J, Jaffe ES, Grogan TM, Connors JM, Vose JM, Armitage JO, Staudt LM, Chan WC. BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. **2006**; 24:961-8.
72. Miller TP, Lippman SM, Spier CM, Slymen DJ, Grogan TM. HLA-DR (Ia) immune phenotype predicts outcome for patients with diffuse large cell lymphoma. *J Clin Invest* **1988**; 82:370-2.
73. Muris JJ, Cillessen SA, Vos W, van Houdt IS, Kummer JA, van Krieken JH, Jiwa NM, Jansen PM, Kluin-Nelemans HC, Ossenkoppele GJ, Gundy C, Meijer CJ, Oudejans JJ. Immunohistochemical profiling of caspase signaling pathways predicts clinical response to chemotherapy in primary nodal diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. **2005**; 105:2916-23.
74. Coiffier B. Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene*. **2007**; 26(25):3603-13.
75. Winter JN, Weller EA, Horning SJ, Krajewska M, Variakojis D, Habermann TM, Fisher RI, Kurtin PJ, Macon WR, Chhanabhai M, Felgar RE, Hsi ED, Medeiros LJ, Weick JK, Reed JC, Gascoyne RD. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* **2006**; 107(11):4207-13.
76. Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, Emile JF, Lederlin P, Sebban C. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2-associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood* **2003**; 101(11): 4279-84.
77. Park S, Lee J, Ko YH, Han A, Jun HJ, Lee SC, Hwang IG, Park YH, Ahn JS, Jung CW, Kim K, Ahn YC, Kang WK, Park K, Kim WS. The impact of Epstein-Barr virus status on clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **2007**; 110(3):972-8.
78. Zhang A, Ohshima K, Sato K, Kanda M, Suzumiya J, Shimazaki K, Kawasaki C, Kikuchi M. Prognostic clinicopathologic factors, including immunologic expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Pathol Int* **1999**; 49:1043-52.
79. Jerkeman M, Aman P, Cavallin-Stahl E, Torlakovic E, Akerman M, Mitelman F, Fioretos T. Prognostic implications of BCL6 rearrangement in uniformly treated patients with diffuse large B-cell lymphoma--a Nordic Lymphoma Group study. *Int J Oncol* **2002**; 20:161-5.
80. Muramatsu M, Akasaka T, Kadowaki N, Ohno H, Fukuhara S, Okuma M. Rearrangement of the BCL6 gene in B-cell lymphoid neoplasms. *Leukemia* **1997**;11:318-20.
81. Niitsu N, Okamoto M, Nakamura N, Nakamine H, Aoki S, Hirano M, Miura I. Prognostic impact of chromosomal alteration of 3q27 on nodal B-cell lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 329 consecutive patients. *Leuk Res* **2007**; 31:1191-7.

82. **Pescarmona E, De Sanctis V, Pistilli A, Pacchiarotti A, Martelli M, Guglielmi C, Mandelli F, Baroni CD, Le Coco F.** Pathogenetic and clinical implications of Bcl-6 and Bcl-2 gene configuration in nodal diffuse large B-cell lymphomas. *J Pathol* **1997**; 183:281-6.
83. **Vitolo U, Gaidano G, Botto B, Volpe G, Audisio E, Bertini M, Calvi R, Freilone R, Novero D, Orsucci L, Pastore C, Capello D, Parvis G, Sacco C, Zagonel V, Carbone A, Mazza U, Palestro G, Saglio G, Resegotti L.** Rearrangements of bcl-6, bcl-2, c-myc and 6q deletion in B-diffuse large-cell lymphoma: clinical relevance in 71 patients. *Ann Oncol* **1998**; 9:55-61.
84. **Kramer MH, Hermans J, Parker J, Krol AD, Kluin-Nelemans JC, Haak HL, van Groningen K, van Krieken JH, de Jong D, Kluin PM.** Clinical significance of bcl2 and p53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study. *J Clin Oncol* **1996**; 14:2131-8.
85. **Maartense E, Kramer MH, le Cessie S, Kluin-Nelemans JC, Kluin PM, Snijder S, Noordijk EM.** Lack of prognostic significance of BCL2 and p53 protein overexpression in elderly patients with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma: results from a population-based non-Hodgkin's lymphoma registry. *Leuk Lymphoma* **2004**; 45:101-7.
86. **Sohn SK, Jung JT, Kim DH, Kim JG, Kwak EK, Park T, Shin DG, Sohn KR, Lee KB.** Prognostic significance of bcl-2, bax, and p53 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol* **2003**; 73:101-7.
87. **Veelken H, Vik Dannheim S, Schulte Moenting J, Martens UM, Finke J, Schmitt-Graeff A.** Immunophenotype as prognostic factor for diffuse large B-cell lymphoma in patients undergoing clinical risk-adapted therapy. *Ann Oncol* **2007**; 18(5):931-9.
88. **Duesberg PH, Vogt PK.** Avian acute leukemia viruses MC29 and MH2 share specific RNA sequences: evidence for a second class of transforming genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, **1979**; 1633-1637. 84
89. **Patel JH.** Analysis of genomic targets reveals complex functions of MYC. *Nat Rev Cancer* **2004**; 4:562.
90. **Lüscher B, Larsson LG.** The basic region/helix-loop-helix/leucine zipper domain of Myc proto-oncoproteins: function and regulation. *Oncogene* **1999**; 18:2955-66.
91. **Türk Hematoloji Derneği.** *Klinisyen-Patolog Ortak Lenfoma Kursu*, 6-7 Mart **2004**, Grand Cevahir Otel, İstanbul
92. **Toyoshima M, Howie HL, Imakura M, Walsh RM, Annis JE, Chang AN, Frazier J, Chau BN, Loboda A, Linsley PS, Cleary MA, Park JR, Grandori C.** Functional genomics identifies therapeutic targets for MYC-driven cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* **2012**; 109:9545-50.
93. **Reed JC.** Bcl-2 family proteins: regulators of apoptosis and chemoresistance in hematologic malignancies. *Semin Hematol* **1997**; 34:9-19.

94. **Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM.** Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* **1985**; 228:1440-3.
95. **Tang SC, Visser L, Hepperle B, Hanson J, Poppema S.** Clinical significance of bcl-2-MBR gene rearrangement and protein expression in diffuse large-cell non-Hodgkin's lymphoma: an analysis of 83 cases. *J Clin Oncol* **1994**; 12(1):149-54.
96. **Dewald GW.** Cytogenetic and FISH studies in myelodysplasia, acute myeloid leukemia, chronic lymphocytic leukemia and lymphoma. *Int J Hematol* **2002**; 76:65-74.
97. **Rantanen S, Monni O, Joensuu H, Franssila K, Knuutila S.** Causes and consequences of BCL2 overexpression in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* **2001**; 42:1089-98. 85
98. **Monni O, Joensuu H, Franssila K, Klefstrom J, Alitalo K, Knuutila S.** BCL2 overexpression associated with chromosomal amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **1997**; 90(3):1168-74.
99. **Villuendas R, Piris MA, Orradre JL, Mollejo M, Rodriguez R, Morente M.** Different bcl-2 protein expression in high-grade B-cell lymphomas derived from lymph node or mucosa-associated lymphoid tissue. *Am J Pathol* **1991**; 139(5):989-93.
100. **Ye BH, Lista F, Lo Coco F, Knowles DM, Offit K, Chaganti RS, Dalla-Favera R.** Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science* **1993**; 262(5134):747-50.
101. **Shaffer AL, Yu X, He Y, Boldrick J, Chan EP, Staudt LM.** BCL-6 represses genes that function in lymphocyte differentiation, inflammation, and cell cycle control. *Immunity* **2000**; 13(2):199-212.
102. **Falini B, Bigerna B, Pasqualucci L, Fizzotti M, Martelli MF, Pileri S, Pinto A, Carbone A, Venturi S, Pacini R, Cattoretti G, Pescarmona E, Lo Coco F, Pelicci PG, Anagnostopoulos I, Dalla-Favera R, Flenghi L.** Distinctive expression pattern of the BCL-6 protein in nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease. *Blood* **1996**; 87(2):465-71.
103. **Onizuka T, Moriyama M, Yamochi T, Kuroda T, Kazama A, Kanazawa N, Sato K, Kato T, Ota H, Mori S.** BCL-6 gene product, a 92- to 98-kD nuclear phosphoprotein, is highly expressed in germinal center B cells and their neoplastic counterparts. *Blood* **1995**; 86(1):28-37.
104. **Dogan A, Bagdi E, Munson P, Isaacson PG.** CD10 and BCL-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* **2000**; 24(6):846-52.
105. **Amant F, Steenkiste E, Schurmans K, Verbist L, Abeler VM, Tulunay G, de Jonge E, Massuger L, Moerman P, Vergote I.** Immunohistochemical expression of CD10 antigen in uterine adenocarcinoma. *Int J Gynecol Cancer* **2004**; 14(6):1118-21. 86
106. **Shipp MA, Look AT.** Hematopoietic differentiation antigens that are membrane-associated enzymes: cutting is the key! *Blood* **1993**; 82(4):1052-70.

- 107. Dai J, Shen R, Sumitomo M, Goldberg JS, Geng Y, Navarro D, Xu S, Koutcher JA, Garzotto M, Powell CT, Nanus DM.** Tumor-suppressive effects of neutral endopeptidase in androgen-independent prostate cancer cells. *Clin Cancer Res* **2001**; 7(5):1370-7.
- 108. Song J, Aumüller G, Xiao F, Wilhelm B, Albrecht M.** Cell specific expression of CD10/neutral endopeptidase 24.11 gene in human prostatic tissue and cells. *Prostate* **2004**; 58(4):394-405.
- 109. Gaidano G, Carbone A.** MUM1: a step ahead toward the understanding of lymphoma histogenesis. *Leukemia* **2000**; 14(4):563-6.
- 110. Grossman A, Mittrücker HW, Nicholl J, Suzuki A, Chung S, Antonio L, Suggs S, Sutherland GR, Siderovski DP, Mak TW.** Cloning of human lymphocyte-specific interferon regulatory factor (hLSIRF/hIRF4) and mapping of the gene to 6p23-p25. *Genomics* **1996**; 37(2):229-33.
- 111. Natkunam Y, Warnke RA, Montgomery K, Falini B, van De Rijn M.** Analysis of MUM1/IRF4 protein expression using tissue microarrays and immunohistochemistry. *Mod Pathol* **2001**; 14:686-94.
- 112. Sundram U, Harvell JD, Rouse RV, Natkunam Y.** Expression of the B-cell proliferation marker MUM1 by melanocytic lesions and comparison with S100, gp100 (HMB45), and MelanA. *Mod Pathol* **2003**; 16(8):802-10.
- 113. Arber N, Hibshoosh H, Moss S F, Sutter T, Zhang Y, Begg M, Wang S, Weinstein IB, Holt P R.** *Gastroenterology* 1996; 110:669-674.
- 114. Arber N, Doki Y, Han EKH.** Antisense to cyclin D1 inhibits the growth and tumorigenicity of human colon cancer cells. *Cancer Res* **1997**; 57:1569-1574
- 115. McAlister MS, Davis B, Pfuhl M, Driscoll PC.** NMR analysis of the N-terminal SRCR domain of human CD5: engineering of a glycoprotein for superior characteristics in NMR experiments, *Protein Eng* **1998**; 11:847.
- 116. Butmarc JR, Kourea HP, Levi E, Kadin ME.** Improved detection of CD5 epitope in formalin-fixed paraffin-embedded sections of benign and neoplastic lymphoid tissues by using biotinylated tyramine enhancement after antigen retrieval, *Am J Clin Pathol* **1998**; 109:682.
- 117. Jalava P, Kuopio T, Juntti-Patinen L, Kotkansalo T, Kronqvist P, Collan Y.** Ki67 immunohistochemistry: a valuable marker in prognostication but with a risk of misclassification: proliferation subgroups formed based on Ki67 immunoreactivity and standardized mitotic index. *Histopathology* **2006**; 48(6):674-82.
- 118. Bryant RJ, Banks PM, O'Malley DP.** Ki67 staining pattern as a diagnostic tool in the evaluation of lymphoproliferative disorders. *Histopathology* **2006**; 48(5):505-15. 87
- 119. Clark H.M, Jones D.B, Wright D.H.** Cytogenetic And Molecular Studies Of T(14;18) And T(14;19) In Nodal And Extranodal B-Cell Lymphoma. *Journal Of Pathology* **1992**; 166:129-137.

120. **Yang BY, Yong WB, Zhu J.** Clinical characteristics and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* **2005**; 27:174-176.
121. **Yi HG, Kim JS, Suh C.** Clinical features and survival outcomes of patients with diffuse large B-cell lymphoma: analysis of web-based data from the Korean Lymphoma Working Party Registry. *Blood research* **2013**; 48(2):115-120.
122. **Møller MB, Pedersen NT, Christensen BE.** Diffuse large B-cell lymphoma: clinical implications of extranodal versus nodal presentation--a population-based study of 1575 cases. *Br J Haematol* **2004**; 124:151
123. **Jang G, Yoon DH, Kim S.** Addition of rituximab to the CHOP regimen has no benefit in patients with primary extranodal diffuse large B-cell lymphoma. *Korean J Hematol* **2011**; 46:103-110.
124. **Seki R, Ohshima K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H.** Prognostic impact of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. *Cancer Sci* **2009**; 100:1842-7.
125. **Fu K, Weisenburger DD, Choi WW, Perry KD, Smith LM, Shi X.** Addition of rituximab to standard chemotherapy improves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* **2008**; 26:4587-94.
126. **Jazirehi AR, Huerta-Yepez S, Cheng G, Bonavida B.** Rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) inhibits the constitutive nuclear factor- κ B signaling pathway in non-Hodgkin's lymphoma B-cell lines: role in sensitization to chemotherapeutic drug-induced apoptosis. *Cancer Res* **2005**; 65:264-76.
127. **Maartense E, Kramer MH, le Cessie S, Kluin-Nelemans JC, Kluin PM, Snijder S, Noordijk EM.** Lack of prognostic significance of BCL2 and p53 protein overexpression in elderly patients with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma: results from a population-based non-Hodgkin's lymphoma registry. *Leuk Lymphoma* **2004**; 45:101-107.
128. **Xu Y, McKenna RW, Molberg KH, Kroft SH.** Clinicopathologic analysis of CD10+ and CD10- diffuse large B-cell lymphoma. Identification of a high-risk subset with coexpression of CD10 and bcl-2. *Am J Clin Pathol* **2001**; 116:183-190.
129. **Biasoli I, Morais JC, Scheliga A, Milito CB, Romano S, Land M, Pulcheri W, Spector N.** CD10 and Bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index can identify subgroups of patients with diffuse large-cell lymphoma with very good or very poor prognoses. *Histopathology* **2005**; 46:328-333.
130. **Hermine O, Haioun C, Lepage E, d'Agay MF, Briere J, Lavnac C, Fillet G, Salles G, Marolleau JP, Diebold J, Reyas F, Gaulard P.** Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood* **1996**; 87:265-272.

- 131. Jovanovi MP, Jakovi L, Bogdanovi A, Markovi O, Martinovi VC, Mihaljevi B.** Poor outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma is associated with high percentage of bcl-2 and Ki 67-positive tumor cells. *Vojnosanit Pregl* **2009**; 66:738-743.
- 132. Sanchez E, Chacon I, Plaza MM, Muñoz E, Cruz MA, Martinez B, Lopez L, Martinez-Montero JC, Orradre JL, Saez AI, Garcia JF, Piris MA.** Clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma is dependent on the relationship between different cell-cycle regulator proteins. *J Clin Oncol* **1998**; 16:1931-1939.
- 133. Wilson WH, Teruya-Feldstein J, Fest T, Harris C, Steinberg SM, Jaffe ES, Raffeld M.** Relationship of p53, bcl-2, and tumor proliferation to clinical drug resistance in nonHodgkin's lymphomas. *Blood* **1997**; 89:601-609.
- 134. Hill ME, MacLennan KA, Cunningham DC, Vaughan Hudson B, Burke M, Clarke P, Di Stefano F, Anderson L, Vaughan Hudson G, Mason D, Selby P, Linch DC.** Prognostic significance of BCL-2 expression and bcl-2 major breakpoint region rearrangement in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma: a British National Lymphoma Investigation Study. *Blood* **1996**; 88:1046-1051.
- 135. Pervez S, Nasir MI, Moatter T, Ahsan A, Haq A, Siddiqui T.** Characterization of genetic lesions in apoptosis-regulating and proliferation control genes in diffuse large B-cell nonHodgkin's lymphoma. *J Cancer Res Ther* **2009**; 5:254-262.
- 136. Grogan TM, Lippman SM, Spier CM, Slymen DJ, Rybski JA, Rangel CS, Richter LC, Miller TP.** Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67. *Blood* **1988**; 71:1157-1160.
- 137. Yamanaka N, Harabuchi Y, Kataura A.** The prognostic value of Ki-67 antigen in non-Hodgkin lymphoma of Waldeyer ring and the nasal cavity. *Cancer* **1992**; 70:2342-2349.
- 138. Hall PA, Richards MA, Gregory WM, d'Ardenne AJ, Lister TA, Stansfeld AG.** The prognostic value of Ki67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma. *J Pathol* **1988**; 154:223-235.
- 139. Jovanovic MP, Jakovi L, Bogdanovi A, Markovi O, Martinovi VC, Mihaljevi B.** Poor outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma is associated with high percentage of bcl-2 and Ki 67-positive tumor cells. *Vojnosanit Pregl* **2009**; 66:738-743.
- 141. Hasselblom S, Ridell B, Sigurdardottir M, Hansson U, Nilsson-Ehle H, Andersson PO.** Low rather than high Ki-67 protein expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* **2008**; 49:1501-1509.
- 142. Akyurek, N, Uner, A, Benekli M, Barista I.** Prognostic significance of *MYC*, *BCL2*, and *BCL6* rearrangements in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab. *Cancer* **2012**; 118:4173-4183.

- 143. Klapper W, Stoecklein H, Zeynalova S.** Structural aberrations affecting the MYC locus indicate a poor prognosis independent of clinical risk factors in diffuse large B-cell lymphomas treated within randomized trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Leukemia* **2008**; 22:2226-2229.
- 144. Barrans SL, O'Connor SJ, Evans PA.** Rearrangement of the BCL6 locus at 3q27 is an independent poor prognostic factor in nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* **2002**; 117:322-332.
- 145. Niitsu N, Okamoto M, Miura I, Hirano M.** Clinical significance of 8q24/c-MYC translocation in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Sci* **2009**; 100:233-237.



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Perihan ALSANCAK
Doğum Tarihi	: 30.08.1984
Medeni Durumu	: Evli
Adres	: Çukurova Üniversitesi Patoloji A.D Sarıçam/ADANA
E- posta	: peran_k@hotmail.com
Mezun Olduğu Lise	: Adıyaman Anadolu Lisesi
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi	: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri	: 2009-2010 Kadışehri Devlet Hastanesi, YOZGAT 2010-2011 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D. 2011-2016 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji A.D.
Yabancı Dil	: İngilizce