



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

PATOLOJİ ANA BİLİM DALI

Başkan: Prof. Dr. Ayşim Büge Öz

**DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMALARDA PD-L1  
EKSPRESYONUNUN PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Selçuk CİN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Suat Hilal AKI

İstanbul - 2020



Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje ID: 34006

This study was funded by Scientific Research Projects Coordination Unit of  
Istanbul University - Cerrahpasa.

Project Number: 34006

## ÖNSÖZ

*Uzmanlık eğitimim süresince kıymetli bilgi ve tecrübelerini aktaran, bazen birkaç hücre ile binlerce hayata dokunan, başta Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Aysim Büge ÖZ olmak üzere tüm emektar hocalarıma,*

*Uzmanlık eğitimim ve tez sürecinde, bilgisi, hoşgörüsü ve sabrı ile yol gösteren, değerli hocam Prof. Dr. Hilal AKI'ya,*

*Tez sürecinde, çok değerli katkılarından ve anlayışından dolayı İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Dr. Tuğrul Elverdi'ye,*

*Birlikte çalışma fırsatı bulduğumuz sevgili arkadaşlarım Kerem, Gamze, Özden, Penbegül, Cansu T., Özce, Zehra, Zeynep, Deniz, Nil, Şirin, Ayşe ve Merve'ye, uzman olup ayrılan kıdemlilerime, tez sürecini eş zamanlı geçirdiğimiz, kıymetli arkadaşımız Neslihan'a,*

*Anabilim dalımızda her gün birlikte çalıştığımız çok değerli sekreter ve teknisyen arkadaşlarıma, bölümümüzde görev yapan tüm personelimize,*

*Hayatta her zaman yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme,*

*Tezli tezsiz tüm zamanlarda, bazen 2 kez bile doğruyu gösteremeyecek kadar ayarsız işleyen saatin durduğu bütün anlarda, yaşamayı öğrenmeye çalışırken, varlığıyla ve uzaysız, zamansız sevgisiyle her daim yanımda hissettiğim biricik eşim Merve'ye*

*teşekkür ederim...*

*Dr. Selçuk CİN*

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
RESİM LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR.....	x
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....</b>	<b>2</b>
2.1.1. DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS.....	2
<b>2.2. DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMANIN ÇALIŞMAMIZDAKİ SPESİFİK ALT TIPLERİ.....</b>	<b>12</b>
2.2.1. T HÜCRESİ/ HİSTİYOSİTTEN ZENGİN BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....	12
2.2.2. PRİMER KUTANÖZ DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, BACAĞI TİPİ....	12
2.2.3. EBV POZİTİF DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....	13
2.2.4. PRİMER MEDİASTİNAL (TİMİK) B HÜCRELİ LENFOMA.....	13
<b>2.3. KANSER VE İMMUNOLOJİ.....</b>	<b>13</b>
2.3.1. TÜMÖR İMMUNOLOJİSİ VE İMMUNOTERAPİ.....	13
2.3.2. PROGRAMLI ÖLÜM 1 (PD1)/ PROGRAMLI ÖLÜM LİGANDI 1-2 (PDL1-2) YOLAĞI.....	16

<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>21</b>
3.1. OLGU SEÇİMİ.....	21
3.2. İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEM .....	21
3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	22
3.4. KLİNİK VE PROGNOTİK PARAMETRELER.....	23
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	24
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>26</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>51</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>61</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>63</b>

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1. DSÖ 2016 Büyük B Hücreli Lenfomalar Sınıflaması.....	3
Tablo 2. Ann Arbor Evrelemesi.....	10
Tablo 3. Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) Skoru.....	10
Tablo 4. IPI Skorunun Sağ Kalım Üzerine Etkisi .....	10
Tablo 5. 3'lü gruplarda, yaş ve cinsiyete göre dağılım ile tPD-L1 boyanma yüzdesi arasındaki ilişki.....	30
Tablo 6. 3'lü gruplarda olguların; LDH düzeyi, ECOG skoru, ektranodal tutulum ve evrelerine göre dağılımı ile tPD-L1 boyanma yüzdesi arasındaki ilişki.....	30
Tablo 7. 3'lü gruplarda tPD-L1 boyanma yüzdesi ve Beta-2 Mikroglobülin düzeyi arasındaki ilişki.....	31
Tablo 8. 3'lü gruplarda tPD-L1'in farklı immunhistokimyasal antikorlarla ilişkisi.....	31
Tablo 9. 3'lü gruplarda tPD-L1 boyanma yüzdesi ve EBV ile ilişkisi.....	32
Tablo 10. 3'lü gruplarda Ki 67 proliferasyon indeksi ve tPD-L1 boyanma yüzdesi arasındaki ilişki.....	32
Tablo 11. 3'lü gruplarda, olguların tPD-L1 boyanma yüzdesi ve IPI skoru ile ilişkisi.....	32
Tablo 12. Olgularda, farklı kesme değerlerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve kanser spesifik sağ kalım arasındaki ilişki.....	33
Tablo 13. Olguların 5'li grup halinde, tPD-L1 ve farklı klinik parametrelerle ilişkisi.....	34
Tablo 14. %70 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve tedaviye yanıt arasındaki ilişki.....	35
Tablo 15. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve yaş, hemoglobin, MCV, trombosit sayısı arasındaki ilişki.....	36
Tablo 16. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile yaş grupları, cinsiyet ve B semptomu arasındaki ilişki.....	36
Tablo 17. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile bazı klinik ve laboratuvar parametreler arasındaki ilişki.....	37

Tablo 18. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile alt tipler arasındaki ilişki.....	38
Tablo 19. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile DBBHL NOS alt tiplerinin karşılaştırılması.....	38
Tablo 20. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile alt tiplerin karşılaştırılması.....	39
Tablo 21. DDBHL ve DBBHL, NOS olgularında farklı kesme değerlerinde tPD-L1 ekspresyonu ve kanser spesifik sağ kalım değerleri arasında ilişki.....	39
Tablo 22. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 ve farklı İHK'sal antikorlarla ilişkisi.....	43
Tablo 23. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve Ki67 arasındaki ilişki.....	43
Tablo 24. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 ile Ann Arbor evresi ve IPI skoru arasındaki ilişki.....	44
Tablo 25. 5 yıllık kanser spesifik sağ kalım ve klinik parametrelerle ilişkisi.....	46
Tablo 26. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve tedaviye yanıt.....	47
Tablo 27. Cox regresyon analizi.....	48

## RESİM LİSTESİ

Resim 1. DBBHL, NOS AB- benzeri fenotip H&E x400.....	49
Resim 2. DBBHL, NOS GMB- benzeri fenotip H&E x400.....	49
Resim 3. THZBHL, H&E x400.....	49
Resim 4. PMBBHL, ince sklerotik bantlar ile ayrılmış tümör hücre grupları, H&E x400.....	49
Resim 5. EBV pozitif DBBHL, NOS H&E x400.....	49
Resim 6. EBV pozitif DBBHL, NOS EBER ISH x200.....	49
Resim 7. Kontrol dokusu olan tonsil kript epitelinde kuvvetli, foliküllerde zayıf membranöz PD-L1 pozitifliği, İHK x40.....	50
Resim 8. PD-L1 artifisyel kenar boyanması, İHK x40.....	50
Resim 9. Tümörde PD-L1 negatifliği, İHK x400.....	50
Resim 10. Tümörde %30'dan az PD-L1 pozitifliği, İHK x400.....	50
Resim 11. Tümörde %30'un üstünde PD-L1 pozitifliği, İHK x400.....	50
Resim 12. Tümörde %100 PD-L1 pozitifliği, İHK x400.....	50



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Diffüz Büyük B hücreli Lenfomalarda Hans Algoritmasına göre alt tiplerin ayrılması.....	6
Şekil 2. DBBHL alt tiplerinde en sık görülen genetik değişiklikler.....	9
Şekil 3. İnhibitör ve stimülatör immün kontrol noktaları .....	15
Şekil 4. PD-1/PD-L1 sinyal yolağı.....	17
Şekil 5. Lenfomalarda PD-L1 ekspresyonuna sebep olan genel mekanizmalar .....	19
Şekil 6. Olguların cinsiyete göre dağılımı.....	26
Şekil 7. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı.....	26
Şekil 8. Çalışmamızdaki DBBHL olgularının alt tiplere göre dağılımı.....	27
Şekil 9. Olguların Ann Arbor evresine göre oransal dağılımı.....	27
Şekil 10. Olguların IPI Skoruna göre oransal dağılımı.....	28
Şekil 11. Olguların yaşam süresine göre göre dağılımı.....	29
Şekil 12. %70 kesme değerine göre genel sağ kalım ve süre arasındaki ilişki.....	33
Şekil 13. Olguların tPD-L1 boyanma yüzdesine göre dağılımı.....	35
Şekil 14. Olgularımızda 3 yıllık genel sağ kalım ve süre grafiği.....	40
Şekil 15. Olgularımızda 3 yıllık kanser spesifik sağ kalım ve süre grafiği.....	40
Şekil 16. Olgularımızda 5 yıllık genel sağ kalım ve süre grafiği.....	41
Şekil 17. DBBHL, ABC ve GCB benzeri fenotip, kanser spesifik sağ kalım ve süre grafiği.....	41
Şekil 18. DBBHL, ABC ve GCB benzeri fenotip, genel sağ kalım ve süre grafiği.....	42
Şekil 19. IPI skoruna göre genel sağ kalım süre grafiği.....	44
Şekil 20. IPI skoruna göre kanser spesifik sağ kalım süre grafiği.....	45
Şekil 21. Tümör dışı hücre boyanması (mPD-L1) ve kanser spesifik sağ kalım arasındaki ilişki.....	47

## KISALTMALAR

AB: Aktive B hücresi

DBBHL: Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EBV: Epstein-Barr virüs

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

FDA: Food and Drug Administration

GMB: Germinal merkez B hücre

HCV: Hepatit C virüsü

H&E: Hematoksilin&eoazin

IFN: İnterferon

Ig: İmmunglobulin

IHK: İmmunhistokimya

IPI: Uluslararası Prognostik İndeks

IRF-4: İnterferon regülatör faktör-4

KLL: Küçük lenfositik lenfoma

LDH: Laktat dehidrogenaz

mPD-L1: Mikroçevrede programlanmış ölüm ligand 1

NGS: Yeni nesil sekanslama

NK: Natural killer

NLPHL: Nodüler Lenfosit Predominant Hodgkin Lenfoma

NOS: Not otherwise specified/Başka Türü Sınıflandırılmayan

PD-1: Programlanmış Ölüm 1

PD-L1: Programlanmış Ölüm Ligandı 1

PET/BT: Pozitron Emisyon Tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi

PKDBHL: Primer Kutanöz Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma

PMBBHL: Primer Mediastinel Büyük B Hücreli Lenfoma

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

R-IPI: Revize edilmiş Uluslararası Prognostik İndeks

TCR: T Hücre Reseptörü

THZBBHL: T Hücresi/Histiyositten Zengin Büyük B hücreli Lenfoma

TİL: Tümörü İnfiltrate Eden Lenfosit

TNF: Tümör Nekroz Faktör

tPD-L1: Tümörde Programlanmış Ölüm Ligand 1

# ÖZET

## AMAÇ

Diffüz Büyük B hücreli Lenfomalar (DBBHL), Hodgkin dışı lenfomalar arasında en sık görülen agresif gidişli neoplazmlardır. Yapılan çalışmalarla heterojen bir hastalık grubu olduğu anlaşılan DBBHL'larda, 90'lı yılların sonunda rituksimab tedavisinin kullanıma girmesinden sonra, hastaların yaklaşık %60'ında kür sağlanmakta ancak kalan %40'luk hasta grubunda dirençli ya da nüks hastalık izlenmektedir. Son yıllarda farklı kanser türlerinde immun kontrol noktalarını hedefleyen pek çok çalışmanın yapıldığı ve bazı malignitelerde immunoterapinin geleneksel tedavi yöntemlerinin yanında ya da tek başına yerini aldığı görülmektedir. Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma tanısı almış hastalarda bu immun kontrol noktalarından biri olan PD1/ PD-L1 yolağı ile ilgili çalışmalar hastalığın patogenezinin anlaşılmasında, prognozunun öngörüsünde ve özellikle dirençli/nüks eden olguların tedavisinde umut vadetmektedir. Çalışmamızda DBBHL tanısı almış hastalarda immunhistokimyasal PD-L1 ekspresyonu ile bunun histopatolojik, klinik parametreler ve hastaların prognozu ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

## MATERYAL VE METOT

İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalımızda 2011-2019 yılları arasında Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma tanısı almış ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı tarafından takip edilen 130 vaka çalışmaya alındı. Olgulara immunhistokimyasal PD-L1 antikoruna (Dako, 22C3) çalışıldı. Ardından ışık mikroskopunda, x400'lük büyütmede, tümör hücrelerinin en fazla bulunduğu ve komplet/inkomplet, membranöz boyandığı 5 farklı alan tespit edilerek bu alanların dijital ortamda fotoğrafı çekildi, bilgisayar üzerinde değerlendirmeler yapıldı. Çalışmaya dahil edilen olguların klinik bilgileri patoloji raporlarından, hematoloji bilim dalındaki hasta takip dosyalarından ve hastanemiz otomasyon sisteminden elde edildi.

## BULGULAR

Olguların yaş ortalaması  $54 \pm 17$ , yaş aralığı 18-87 olup ortalama yaş 56 idi. Olguların yaş dağılımına göre değerlendirildiğinde; 60 yaş ve altındaki olgu sayısı 75 (%57,7), 60 yaş üzerindeki olgu sayısı 55 (%42,3)'ti.

Çalışmamıza alınan 130 olgunun 59'u (%45,4) DBBHL, NOS; Aktive B hücre/ post germinal merkez fenotipli (AB-benzeri), 50'si (%38,5) DBBHL NOS; Germinal merkez

fenotipli (GMB-benzeri), 4'ü (%3) DBBHL, NOS; sınıflandırılmamış, 7'si (%5,4) T hücresi/histiyositten zengin büyük B hücreli lenfoma, 6'sı (%4,6) primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma, 3'ü EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma ve 1'i (%0,8) primer kutanöz büyük B hücreli lenfoma, bacak tipi tanısı almış vakalardan oluşmaktaydı.

Tümörde %30'luk kesme değeri esas alındığında gruplar arasında sağ kalım açısından istatistiksel fark izlenmedi. DBBHL NOS; AB (Aktive B hücre/post germinal merkez)-benzeri fenotipte, PD-L1 ekspresyonu GMB(germinal merkez)-benzeri fenotipe göre daha yüksek oranda tespit edildi. Tüm alt tipler göz önüne alındığında, 3 yıllık sağ kalım oranı %72,1 iken, 5 yıllık sağ kalım oranı %67,6 olarak tespit edilmişti. 5 yıllık sağ kalım oranı ise tümörde PD-L1 ekspresyonu (tPD-L1) <%30 şeklinde gruplanan hastalarda %69,3; tPD-L1 ≥%30 olarak gruplanan hastalarda ise % 60,2 olarak tespit edildi. 5 yıllık sağ kalım oranı AB-benzeri fenotipli hastalarda %57,3; GMB-benzeri fenotip hastalarda % 81,6 olarak hesaplandı. tPD-L1 ekspresyonunun, %70 kesme değerinde gruplar arasında sağ kalım açısından belirgin fark olduğu görüldü (p:0,028).

## SONUÇ

Literatürde son yıllarda melanom, kolorektal, gastrik, hepatoselüler, ürotelyal ve meme kanseri gibi farklı organ malignitelerinde immun kontrol noktaları ile çalışmalar yapıldığı, bazılarında ise bu kontrol noktaları için farklı ajanların tedavide yerini aldığı görülmektedir. Hodgkin dışı lenfomalar arasında en sık görülen grup olan DBBHL'larda immun kontrol noktaları üzerinden geliştirilecek immunoterapi özellikle dirençli ve nüks etmiş olgularda tedaviye katkı sağlayabilecektir. Bu yolaklardan birisi olan PD-1/PD-L1 yolağı ile ilgili yaptığımız çalışmamızda, %30'luk kesme değeri için gruplar arasında, tümörde PD-L1 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark gözlenmemiş olmakla birlikte; özellikle DBBHL, NOS AB-benzeri fenotipte daha yüksek oranda PD-L1 pozitifliği görülmüştür. %70'lik kesme değeri için ise gruplar arasında sağ kalım açısından anlamlı farklılık izlenmiştir. Çok merkezli ve daha geniş serilerde yapılacak çalışmalar DBBHL'ların patogenezi anlaşılmaya ışık tutacak ve bu hastaların tedavisine önemli katkılar sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma, PD-L1, İmmunoterapi

## **ABSTRACT**

### **OBJECTIVE**

Diffuse Large B Cell Lymphomas (DLBCL) are the most common aggressive neoplasms among non-Hodgkin's lymphomas. In studies with DLBCLs, which are understood to be a heterogeneous disease group, after the introduction of rituximab treatment at the end of the 90s, approximately 60% of patients are cured, but the remaining 40% have resistant or recurrent disease. In recent years, there have been many studies aiming at immune control points in different cancer types. In some malignancies, immunotherapy has taken place alongside traditional treatment methods or alone. Studies on PD1 / PD-L1 pathway, one of these immune control points in patients with diffuse large B cell lymphoma, show promise for understanding the pathogenesis of the disease, predicting the prognosis and especially in the treatment of resistant/recurrent cases. In this study, we aimed to investigate the relationship between immunohistochemical PD-L1 expression and its histopathological, clinical parameters and prognosis in patients with DLBCL.

### **MATERIALS AND METHODS**

130 patients who were diagnosed as Diffuse Large B-Cell Lymphoma at Istanbul University - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty Pathology Department between 2011-2019 and followed by the Internal Medicine, Hematology department were included in the study. Immunohistochemical PD-L1 antibody (Dako, 22C3) was studied. Then, 5 different areas where tumor cells were found most and complete/incomplete, membranous stained were evaluated using light microscopy x400 magnification, photographed in digitally, then counted manually. The clinical information of the cases included in the study was obtained from pathology reports, patient follow-up files in hematology department and hospital automation system.

### **RESULTS**

The mean age of the patients was  $54 \pm 17$  years, and the median age was 56 years. When the cases were evaluated according to age distribution; 75 (57.7%) cases were 60 years or younger, 55 (42.3%) were over 60 years. Our 130 cases in the study consisted of, 59 (45.4%) DLBCL, NOS; activated B cell /post germinal center phenotype (ABC-like), 50 (38.5%) DLBCL, NOS; germinal center B cell (GCB-like) phenotype, 4 (%3) DLBCL, NOS; unclassified, 7 (5.4%) T cell/histiocyte rich large B cell lymphoma, 6 (4.6%) primary

mediastinal large B cell lymphoma, 3 EBV positive diffuse large B cell lymphoma and 1 (0.8%) primary cutaneous large B cell lymphoma, leg type.

Based on the cut-off value of 30%, no statistical difference was observed between the groups in terms of survival. In DLBCL NOS; ABC-like (post germinal center) phenotype, PD-L1 expression was higher than GCB-like (germinal center) phenotype. In all subtypes, the 3-year survival rate was 72.1%, while the 5-year survival rate was 67.6%. The 5-year survival rate was 69.3% in patients grouped as PD-L1 expression (tPD-L1) <30%; and it was 60.2% in patient grouped as  $30\% \leq$  tPD-L1. The 5-year survival rate was 57.3% in ABC-like phenotype patients; in GCB-like phenotype it was calculated as 81.6%. tPD-L1 showed a significant difference in survival between the groups at a cut-off value of 70% (p: 0.028).

### CONCLUSIONS

In the literature, it has been observed that immun checkpoints have been studied in different malignancies such as melanoma, colorectal, gastric, hepatocellular, urothelial and breast cancers, and different agents related to these inhibitory check points appear to be involved in the treatment. Immunotherapy to be developed through immune check points in DLBCLs, which is the most common group among non-Hodgkin's lymphomas, may contribute to treatment, especially in resistant and relapsed cases. In our study on PD-1/PD-L1 pathway, one of these pathways, although there was no significant difference between groups in terms of PD-L1 expression in the cut-off value of 30%; PD-L1 positivity was observed especially in DLBCL, NOS; ABC-like phenotype. For the cut-off value of 70%, a significant difference was observed between the groups in terms of survival. Multicentre studies in larger series will shed light on our understanding of the pathogenesis of DLBCLs and contribute to the treatment of these patients.

**Key Words:** Diffuse Large B-Cell Lymphoma, PD-L1, Immunotherapy

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomalar (DBBHL) , Hodgkin dışı lenfomalar arasında en sık görülen, agresif seyirli lenfomalar olup Hodgkin dışı lenfomaların yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (1,2,3). Tüm yaş gruplarını etkilese de, ortanca yaş 64 civarı olup erkeklerde daha yüksek oranda görülmektedir. (2,3). Pek çok hastada bilinen herhangi bir risk faktörü olmasada, immun yetmezlik durumları, HIV, EBV gibi enfeksiyonlar, transplantasyon, romatoid artritte kullanılan metotreksat tedavisi DBBHL gelişimine zemin hazırlayabilmektedir (3,4). Çoğu vaka de novo olarak gelişsede, altta yatan foliküler lenfoma, küçük lenfositik lenfoma gibi düşük dereceli bir lenfomadan da dönüşebilmektedir (3). Hastalar kliniğe çoğunlukla hızlı büyüyen kitle şikayeti ile başvurmaktadır (3). En sık ektranodal tutulum gastrointestinal sistem ya da Waldeyer halkasında olmaktadır (3,5). Genellikle erken evrede tanı konan hastalarda kemik iliği tutulumu ise %16 civarındadır (3,5,6).

Bir anti-CD20 monoklonal antikoru olan rituksimabın FDA tarafından onaylanarak DBBHL hastalarında standart tedavide kullanılmaya başlanılmasından sonra, bu hastaların yaklaşık %60'ında kür sağlanabilmiştir. Ancak kalan vakalar dirençli ya da nüks hastalık ile karşımıza çıkmaktadır. Geleneksel tedavilerin dışında, son yıllarda geliştirilen immunoterapi bu hastaların tedavisinde önemli rol oynayabilir (7-9). PD-1'in 1992 yılında keşfinden sonra, 2018 yılında Tasuku Honjo ve James P. Allison'un immun kontrol noktaları ile yaptığı çalışmalar nedeni ile Nobel Tıp veya Fizyoloji ödülünü almasıyla ilerleyen bu süreçte, farklı solid kanserlerde çeşitli immunoterapi ajanları geliştirilip tedavide yerini almıştır. Literatüre bakıldığında bu gelişmelere paralel olarak DBBHL'larda bir immun kontrol noktası olan PD-1/PD-L1 yolağı üzerinde pek çok çalışma yapıldığı görülmektedir. PD-1/PD-L1 yolağının T hücre cevabını düzenleyerek otoimmunitiyi sınırlandırdığı ve immunitate aracılı hasardan organizmanın korunmasını sağladığı belirtilmektedir (10-12). Ancak bu yolak, inhibe edici bir immun kontrol noktası olup PD-1'in PD-L1'e bağlanması ile organizmada immun sistemi baskılamakta ve tümöral hücreler immun sistemden kaçabilmektedir. Bu bağlamda bazı araştırmacılar PD-L1 ekspresyonunu kötü prognozla ilişkilendirmişlerdir (13,14). PD-L1 ekspresyonunun mekanizması ve prognozla ilişkisinin açıklanması, bu akışı tersine çevirerek DBBHL'larda yeni tedavi modalitelerinin şekillenmesini sağlayabilir. Bu amaçla hastanemiz Hematoloji Bilim Dalı tarafından takipli, bölümümüzde tanı almış, 130 hastada PD-L1'in immunhistokimyasal yöntemle çalışılmasının ardından, olgularda PD-L1 ekspresyonunun, histopatolojik, klinik parametreler ve prognozla ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA**

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından diffüz büyüme paternine sahip, nükleusu bir makrofaja eşit ya da daha geniş, normal lenfositlerin ise 2 katından daha büyük çaplı orta ya da büyük boylu B lenfoid hücrelerinden oluşan neoplazmlar olarak tanımlanmaktadır (5). DBBHL'ların yapılan moleküler, genetik ve klinik çalışmalarla heterojen bir grup hastalık olduğu anlaşılmış olup, DSÖ tarafından pek çok alt tipi tanımlanmıştır (5,15). Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma %30-40'luk oran ile Hodgkin dışı lenfomaların en sık görülen tipidir (1,2). DSÖ tarafından yapılan güncel DBBHL sınıflaması Tablo 1'de sunulmuştur (1,5).

#### **2.1.1. DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS**

##### **2.1.1.1. EPİDEMİYOLOJİ**

Olguların yaklaşık %80-85'i DBBHL, NOS (not otherwise specified) grubunda yer almaktadır. Çocuk ve genç yaş grubunda da görülmekle birlikte ileri yaşlarda görülme sıklığı artmaktadır (1,15). Ortalama görülme yaşı 7. dekattır (5). Her iki cinsiyette birbirine yakın oranlarda görülse de, erkeklerde hafifçe daha sık görülmektedir (16).

##### **2.1.1.2. ETİYOLOJİ**

DBBHL NOS'un etiyojisi net olarak bilinmemektedir (5). DLBBHL'lar de novo gelişebileceği gibi küçük lenfositik lenfoma (KLL), foliküler lenfoma, nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma (NLPHL) ya da marjinal zon lenfoma gibi düşük dereceli B hücreli lenfomadan da gelişebilmektedir (5). Vakaların % 20-30' nun ise foliküler lenfomadan geliştiği bildirilmektedir (17). Genetik faktörlerin yanısıra, immünsupresyon (HIV, transplantasyon vb), radyasyona maruziyet, böcek ilaçları, enfeksiyöz etkenler (EBV, HCV), diyet gibi farklı durumların Hodgkin dışı lenfomaların etiyojisinde rol aldığı düşünülmektedir (5,18-20). Piyotoraks ve osteomiyelit gibi kronik inflamasyonla ilişkili DBBHL vakaları da mevcuttur (21,22).

**Tablo 1. DSÖ 2016 Büyük B Hücreli Lenfomalar Sınıflaması**

<b>Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS</b>
Morfolojik Varyantlar -Sentroblastik -İmmunoblastik -Anaplastik -Diğer nadir varyantlar Moleküler Alt tipler -Germinal Merkez B Hücreli -Aktive B Hücreli
<b>Diğer Büyük B Hücreli Lenfomalar</b>
-T Hücreli/Histiyositten Zengin Büyük B Hücreli Lenfoma -Santral Sinir Sisteminin Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoması -Primer Kutanöz Büyük B Hücreli Lenfoma, Bacak Tipi -EBV-Pozitif Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS -Kronik İnflamasyonla İlişkili Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma -Lenfomatoid Granülomatozis -IRF4 rearrangementı İçeren Büyük B Hücreli Lenfoma -Primer Mediastinal (Timik) Büyük B Hücreli Lenfoma -İntravasküler Büyük B Hücreli Lenfoma -ALK-pozitif Büyük B Hücreli Lenfoma -Plazmablastik Lenfoma -HHV8-Pozitif Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma -Primer Efüzyon Lenfoması
<b>Yüksek Dereceli Büyük B hücreli Lenfoma</b>
-Yüksek Dereceli Büyük B hücreli Lenfoma, BCL2 ve/veya BCL6 ve MYC rearrangementı içeren -Yüksek Dereceli Büyük B hücreli Lenfoma, NOS
<b>B hücreli Lenfoma, Sınıflandırılmayan</b>
-B hücreli Lenfoma, Sınıflandırılmayan, Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma ve Hodgkin Lenfoma Arasında Özellikler İçeren

### **2.1.1.3. KLİNİK**

Hastalar genellikle hızlı gelişen tümöral kitle ile başvururken pek çok hasta ise asemptomatik olabilir (5). Ateş, kilo kaybı ve gece terlemesi gibi B semptomları hastaların yaklaşık %30'unda görülebilmektedir (5). Herhangi bir bölgede tek bir odak olarak görülebileceği gibi birden fazla nodal ya da ektranodal odak olarak izlenebilir (5). Vakaların çoğunda primer olarak lenf nodu tutulsa da yaklaşık %40'ı ektranodal alanda gelişebilmektedir. Başta gastrointestinal sistem olmak üzere kemik iliği, santral sinir sistemi, cilt, akciğer, karaciğer, böbrek gibi pek çok farklı organ da tutulabilmektedir (5,23). Evreleme amaçlı pozitron emisyon tomografisi/ bilgisayarlı tomografi (PET/BT) kullanılmaktadır (5). Kemik iliği biyopsisi, PET/BT'de kemik iliği tutulumu saptanmayan olgularda veya tutulum saptansa dahi hastalığın tedavisi ya da gidişatını belirlemek için yapılabilmektedir (24). Hastaların yaklaşık %30-40'ı tanı anında evre I ya da II hastalık grubunda yer almaktadır (16).

### **2.1.1.4. MORFOLOJİ**

Lenf nodunun normal yapısı orta ve/veya büyük boy hücreler tarafından parsiyel ya da total olarak silinmiştir (5). Koagülasyon nekrozu ve sıklıkla perinodal tutulum görülebilir (3,5). Parsiyel tutulum interfoliküler alanda, daha az sıklıkla sinüzoidal olabilmektedir (5). Lenf nodunda eş zamanlı küçük lenfositik lenfoma, foliküler lenfoma gibi düşük dereceli başka bir lenfoma da bulunabilir (3). Atipik lenfoid hücreler, ektranodal bölgelerde interstisyel paternde, normal dokunun yapısını ortadan kaldıracak şekilde infiltre edip, tümöral kitle oluşturabilirler (3). Atipik lenfoid hücrelerin epiteli infiltre etmesiyle mukozal ülserler görülebilir. İnfiltrasyona eşlik eden hücreler ise çoğunlukla T lenfositlerden oluşan küçük lenfositler, histiyositler, plazma hücreleri, polimorf nüveli lökositlerdir (3).

#### **2.1.1.4.1. SIK GÖRÜLEN MORFOLOJİK VARYANTLAR**

DBBHL NOS'ta 3 tane sık görülen morfolojik varyant mevcuttur (5).

Sentroblastik varyant; orta ya da büyük boy atipik lenfoid hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler ince veziküler kromatinli çekirdeğe sahip olup, sitoplazmaları seçilemeyecek kadar az olabilir. Nükleer membrana bitişik 1'den fazla nükleol mevcuttur. Çekirdekler bazen lobüle görünümündedir. Tamamen sentroblastlardan oluşuyorsa monomorfik sentroblastik varyant, sentroblast oranı %10 civarında, immunoblast oranı ise %90'dan az ise polimorfik varyant olarak isimlendirilmektedir (5,25).

İmmunoblastik varyant; Atipik lenfoid hücrelerin hücrelerin %90'ından fazlası santral yerleşimli belirgin bir nükleusa, genişçe amfofilik sitoplazmaya sahiptir (5,25,26). Bazen bu hücreler Reed-Sternberg (RS) hücrelerini taklit edebilir ya da plazmasitoid diferansiyasyon gösterebilmektedirler (5,26). İmmunoblastik varyant otoimmün hastalıklara sahip vakalarda en sık görülen alt tiptir (26,27).

Anaplastik varyant; büyük/çok büyük bizar hücrelerin oluşturduğu koheziv ve/veya sinüzal paternde pleomorfik atipik lenfoid hücrelerin oluşturduğu bir varyanttır. Sinüzal patern göstermesi nedeniyle ile andiferansiye bir karsinomu taklit edebileceği gibi, hücreler Reed-Sternberg (RS) hücrelerini ya da anaplastik büyük T hücreli lenfomadaki hücreleri anımsatabilir. Anaplastik büyük T hücreli lenfoma ile herhangi bir biyolojik ilişkisi yoktur (5,26).

#### **2.1.1.4.2. NADİR GÖRÜLEN MORFOLOJİK VARYANTLAR**

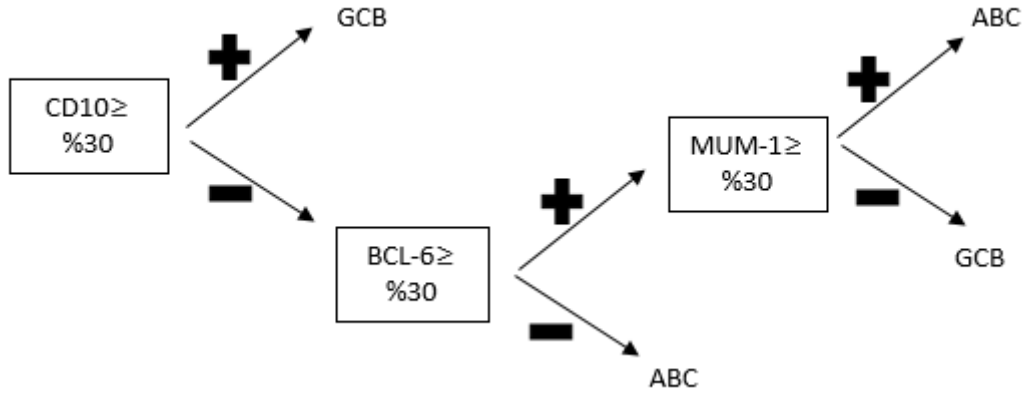
DBBHL'lar nadiren fibriler veya miksoid stromaya sahip olabilir ve atipik lenfoid hücreler iğsi şekilli ya da taşlı yüzük hücre benzeri özellikler gösterebilir (3,5). Bu varyantlarla karışabilecek pek çok antite olduğundan, ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır (3).

#### **2.1.1.5. İMMUNFENOTİPİK ÖZELLİKLER**

Neoplastik hücreler CD19, CD20, CD22, CD79a gibi B hücre belirteçlerini eksprese ederler (5). En sık IgM ardından sırasıyla IgG ve IgA olmak üzere vakaların %50 ile 75'inde yüzey ve sitoplazmik immunglobulinler mevcuttur (5). Hücrelerin çoğunda EBV pozitifliğinin görülmesi EBV (+) DBBHL'ye yönlendirir. EBV (+) DBBHL'larda %25 oranında CD30 pozitifliği beklenmektedir (5,28). CD30 tüm vakaların %10-20'sinde eksprese edilirken CD5 pozitifliği %5-10'ununda görülmektedir (29,30). CD5 (+) vakalar çoğunlukla de novo olarak gelişse de nadiren kronik lenfositik lösemi/ küçük lenfositik lenfomadan dönüşebilmektedir (5). BCL2 ve MYC antijenlerinin ekspresyon oranları, boyanan hücreler için kabul edilen eşik değerine göre değişmekle birlikte, genel olarak BCL2 için tümör hücrelerinin %50'sinden, MYC için %40'ından fazlasında boyanma pozitif olarak değerlendirilmektedir (5, 31, 32). Hans algoritmasında kullanılan CD10, vakaların %30-50'sinde, BCL6 %60-90'ında, IRF-4/MUM1 ise %35-65'inde pozitifdir (5,33-36). GCET-1 ve LMO-2'nin GMB-benzeri alt tipinde daha yüksek oranda olmak üzere DBBHL, NOS vakalarının yaklaşık %50'sinde eksprese edildiği bildirilmektedir (37,38). Ki-67 ile proliferasyon indeksi ise genelde %40'dan yüksek olup %100'e kadar ulaşabilmektedir (5,26).

### 2.1.1.6. HÜCRE ORİJİNİ VE GENETİK PROFİL

DBBHL'lar aynı morfolojiye sahip olmasına rağmen, vakaların birbirinden farklı prognoz gösterdiği anlaşılmıştır (39). DBBHL'lar B lenfositlerden köken alan neoplaziler olup 2000 yılında Alizadeh ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonucu hücre orjinine göre "Germinal Merkez B hücre Benzeri" (GMB-benzeri), "Germinal Merkez dışı B hücre Benzeri"/"Aktive B Hücre Benzeri" (AB-benzeri) ve sınıflanamayan olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır (40,41). Bu sınıflamanın önemi, tanımlanan ilk iki alt gruptaki olguların prognoz ve tedaviye yanıtlarının da farklı olmasından kaynaklanmaktadır (5,39,40). Coğrafik bölgeler, hasta popülasyonu, yaş bu alt tiplerin dağılımlarını etkilese de, DBBHL vakalarının yaklaşık %60'ını GMB-benzeri, %40'ında AB-benzeri DBBHL'lar oluşturmaktadır (5,31). Hans CP ve arkadaşları yaptıkları cDNA mikroarray ve İHK'sal karşılaştırmalı çalışmada her iki yöntem ile benzer sonuçlar elde etmiş olup DBBHL olgularını Alizadeh ve arkadaşları gibi alt tiplere ayırmıştır (42). Olguları sınıflamak için en sık kullanılan immunhistokimyasal algoritmalarından birisi Hans algoritmasıdır (Şekil 1) (5).



**Şekil 1. Diffüz Büyük B hücreli Lenfomalarda Hans Algoritmasına göre alt tiplerin ayrılması**

DBBHL'ların patogenezi, diğer kanser tiplerinde olduğu gibi protoonkogen ve tümör süpressör genlerdeki değişiklikleri kapsayan çok basamaklı bir süreçtir (25). DBBHL'lar başka bir lenfomanın transformasyonu ya da de novo olarak ortaya çıkabilmektedir (3).

Yeni nesil sekanslamalarla (NGS) birlikte DBBHL'larda çok farklı genetik değişiklik ortaya konulmuştur. Kodlanan genom bölgeleri oldukça karmaşık olup her vaka için ortalama 50 gen değişimini içermektedir (3,43-46), (Şekil 2). Yapılan çalışmalarda DBBHL'larda TP53 mutasyonu yaklaşık %22 oranında mevcut iken, immunhistokimyasal olarak P53 protein

ekspresyonu ise %40 oranında görülmektedir. TP53 mutasyonu ve P53 protein ekspresyonu arasında güçlü bir ilişki söz konusu olmayıp, DBBHL oluşumunda TP53 geninin rolü net olarak bilinmemektedir. Ancak çalışmalarda agresif B hücreli lenfomalarda yaklaşık %20 oranında TP53 mutasyonunun görüldüğü ve bunun kötü prognozla ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Bunun yanında TP53' ün DBBHL'nin düşük dereceli bir lenfomadan dönüşümünü gösterebileceğini ifade eden çalışmalar mevcuttur (47-49).

Vakaların yarısından fazlasında BCL6 ve BCL2 protoonkogenlerinde değişiklikler olduğu bildirilmektedir (39). Bir diğeri, protoonkogen olan ve B hücreli lenfomaların patogeneğinde çok önemli bir yer tutan MYC genindeki değişiklikler olup DBBHL'lerin sınıflaması ve prognozu üzerinde önemli bir yere sahiptir (5,50). Bu üç protoonkogenin bir arada değerlendirildiği MYC, BCL2 ve/veya BCL6 bölgelerinin yeniden düzenlenmesini içeren, "Double Hit Lenfoma" ya da "Triple Hit Lenfoma" olarak adlandırılan ve kötü prognozu işaret eden 2 antite mevcuttur.

#### **2.1.1.6.1. BCL2**

BCL2 proteini, mitokondri iç membranında yer alan anti-apoptotik bir protein olup lenfomagenez de rol oynadığı bilinmekte ve çalışmaların bazılarında kemoterapiye direncin sebebi olarak gösterilmektedir (51-54). Foliküler lenfoma için karakteristik t(14;18)(q32;q21) translokasyonu sonucu ortaya çıkan gen, BCL2 proteinin yüksek ekspresyonuna sebep olmaktadır. DBBHL vakalarının yaklaşık %20-30'unda t(14;18) görülebilmektedir. BCL2 protein ekspresyonu ise vakaların %22-80'inde görülmekte olup bu durum BCL2 amplifikasyonunun t(14;18)(q32;q21) dışında farklı mekanizmalarla olduğunu düşündürmektedir (55,56).

#### **2.1.1.6.2. BCL6**

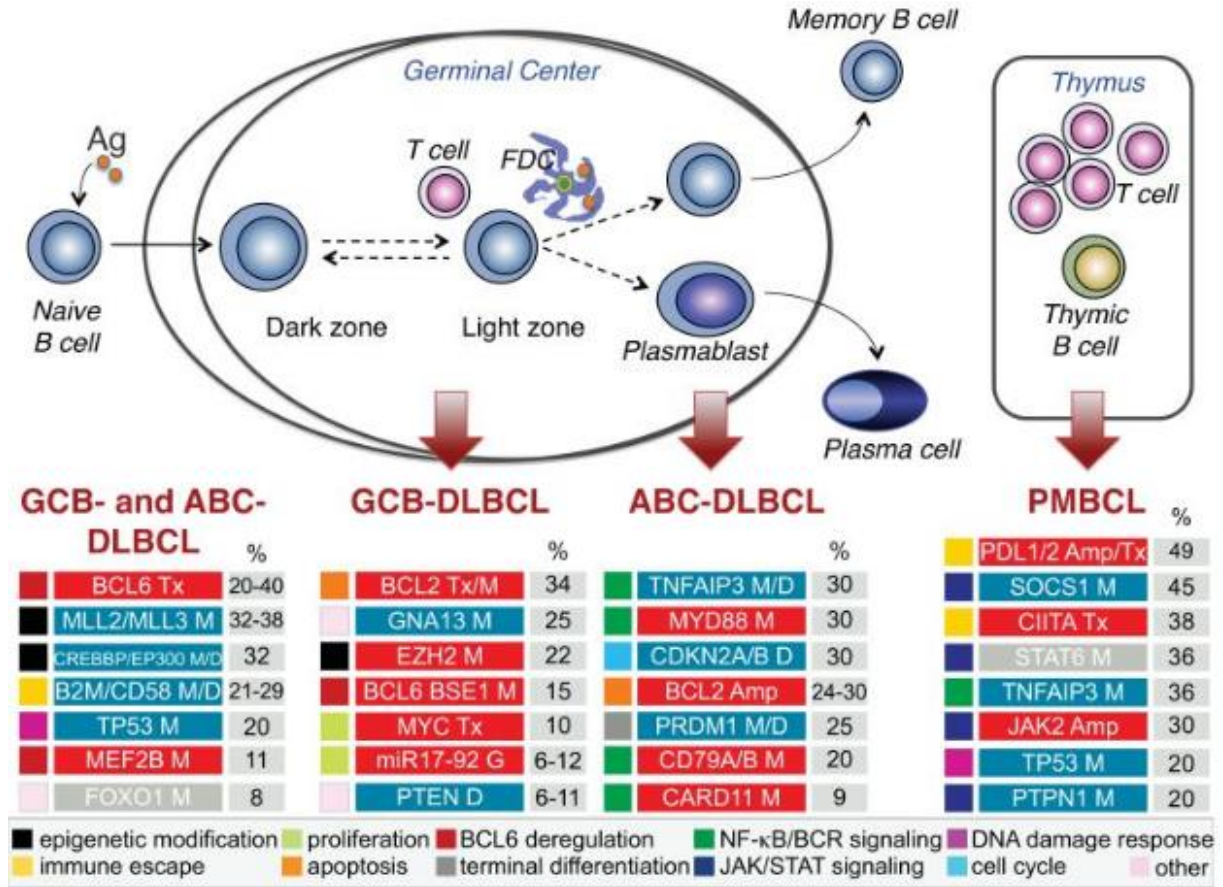
Kromozom 3q27 bölgesinde yer alan BCL6, B hücre maturasyonu esnasında, germinal merkez diferansiyasyonunda eksprese edilen bir protein olup B hücrelerinin proliferasyonundan ve germinal merkez formasyonundan sorumludur. B hücrelerinin devam eden immunglobülin afinite maturasyonunun sağlanması için, DNA hasarına duyarlı genlerin (ATR vb) ve hücre kontrol noktaları ile ilgili genlerin (CDKN1a, PTEN vb.) susturulmasında önemli yer tutar. Ayrıca B hücrelerinin germinal merkezden dışarı çıkmasını sağlayan IRF-4 gibi genleri de baskılayarak immunglobülin somatik mutasyonunun devam etmesini sağlar (25,57,58).

#### **2.1.1.6.3. MYC**

MYC bir protoonkogen olup kromozom 8q24 bölgesinde yer almaktadır. Lenfomagenezde önemli rol oynayan, güçlü bir onkogen olan MYC ile yeniden düzenlenmeler

Burkitt Lenfomada primer olarak görülsede, DBBHL vakalarının yaklaşık %5-15'inde de görülebilmektedir (59,60). MYC protein ekspresyonu ise DBBHL vakalarının %30-50'sinde olduğu bildirilmektedir (1,61). MYC proteinin, kemik iliğinde üretilen erken evre B hücrelerinde eksprese edildiği gösterilmiştir. Germinal merkezde MYC protoonkogeninin rolü net olarak anlaşılammış olmakla birlikte, yapılan bazı çalışmalarda MYC proteinin light zone'daki hücrelerin dark zone'a tekrar geçişini sağladığı, kontrolsüz ekspresyonun bu geçişi arttırarak, light zonda devam eden proliferasyon ve somatik hipermutasyon aracılığı ile neoplazi için gerekli onkojenik değişime zemin hazırladığı düşünülmektedir (50,62-64).

MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 translokasyonlarının birarada görüldüğü double hit ve triple hit lenfomalar (DHL,THL) DSÖ tarafından yüksek gradeli lenfomalar olarak tanımlanmakta olup kötü prognoz ve tedaviye dirençle ilişkilendirilmektedir (5,50,64). Vakaların yaklaşık %65'inde MYC ve BCL2, %14'ünde MYC ve BCL6, %21'inde ise MYC, BCL2 ve BCL6 ile ilgili yeniden düzenlemeler bulunmaktadır (65,66). Proliferasyon indeksleri yüksek olan DHL'lerin morfolojisi ise DBBHL ve Burkitt Lenfoma arasında özellikler sergilemekte olup 2016 DSÖ sınıflamasında "MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 yeniden düzenlenimi gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma" olarak DBBHL NOS dışında ayrı bir alt tipte tanımlanmıştır (5,50). Floresan in situ hibridizasyon (FISH) çalışması, double ve triple hit lenfoma tanısı için altın standarttır (50). Ayrı bir tip olarak kabul edilmeyen, ancak prognozu göstermesi açısından önemli olan double ekspresör lenfoma ise immunhistokimyasal olarak tümöral hücrelerin %40'ından fazlasında MYC, %50'sinden fazlasında ise BCL-2 ekspresyonunu ifade etmektedir (65,67). Double hit lenfoma tanısında FISH altın standart olmakla birlikte, rutin olarak yapılamadığı durumlarda; DHL'lerin %90'ından fazlasını GMB-benzeri DBBHL'lar ve yaklaşık %80'ini MYC/BCL-2 ekspresyonu gösteren tümörler oluşturduğundan, GMB-benzeri alt tip olup MYC/BCL-2 koekspresyonu tespit edilen vakalarda FISH çalışması önerilmektedir (65).



Şekil 2. DBBHL alt tiplerinde en sık görülen genetik değişiklikler. Mavi; fonksiyon kaybı, kırmızı; fonksiyon kazanımı (44)

## 2.1.1.7. PROGNOSTİK FAKTÖRLER

### 2.1.1.7.1. KLİNİK

Hastalığın evresi ve hastanın yaşı hayatta kalma süresini belirgin şekilde etkilemektedir (5). Hastalığın evresini belirlemede Ann Arbor sınıflaması kullanılmaktadır (Tablo 2). DBBHL'da prognozu belirlemek için ise, yaklaşık 30 yıl önce Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) skoru geliştirilmiş olup IPI indeksinde 5 parametreye bakılmaktadır. Bunlar; hastanın yaşı, evresi, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans durumu, ektranodal tutulum ve serum LDH düzeyini içermektedir (68). Rituksimab tedavisinden önce geliştirilen IPI skoru, rituksimab kullanılmaya başlamasından sonra farklı versiyonları geliştirilmiş olup günümüzde DBBHL'da kullanılmaya devam edilen prognostik bir sınıflama olmaya devam etmektedir (69) (Tablo 3,4).



**Tablo 2. Ann Arbor Evrelemesi**

<b>EVRE</b>	<b>ÖZELLİKLER</b>
<b>I</b>	Tek bir lenf düğümü bölgesi veya tek bir ektranodal organ tutulumu (IE)
<b>II</b>	Diyafiramın bir tarafında 2 ya da daha fazla lenf düğümü bölgesi tutulumu, ektranodal organ ve bir ya da daha fazla lenf düğümü bölgesi tutulumu (IIE)
<b>III</b>	Diyafiramın her iki tarafında lenf düğümü bölgesi tutulumu ve bunlara eşlik edebilen ektranodal organ (IIIE) ya da dalak (IIIS) ya da her ikisinin tutulumu (IIISE)
<b>IV</b>	Bir ya da daha fazla uzak ektranodal organın diffüz veya yaygın tutulumu.

**Tablo 3. Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) Skoru**

<b>Prognostik Parametreler (Her parametre 1 puan)</b>	
<b>Yaş</b>	>60
<b>Ann Arbor Evresi</b>	İleri Evre (Evre III-IV Hastalık)
<b>Performans Durumu</b>	ECOG $\geq$ 2
<b>Ektranodal Tutulum</b>	$\geq$ 2 bölge
<b>Serum LDH Düzeyi</b>	> Normal

**Tablo 4. IPI Skorunun Sağ Kalım Üzerine Etkisi (70)**

<b>Risk</b>	<b>IPI Skoru</b>	<b>4 Yıllık Progresyonsuz Sağ Kalım (%)</b>	<b>4 Yıllık Genel Sağ Kalım (%)</b>
Düşük	$\leq$ 1	85	82
Düşük-Orta	2	80	81
Yüksek-Orta	3	57	49
Yüksek	$\geq$ 4	51	59

Erkek cinsiyet, 10 cm'den büyük bulky kitle, düşük vitamin D düzeyi, yüksek serum serbest hafif zincirleri, düşük beden kitle indeksi, düşük lenfosit/monosit sayısı, kemik iliği tutulumu kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (5,71-78) .

#### **2.1.1.7.2. MORFOLOJİ**

Bazı çalışmalarda immunoblastik varyantın kötü prognoza işaret ettiği belirtildi literatürde bu konuda fikir birliği yoktur (5,79-81). İmmunoblastik varyant MYC translokasyonları ile ilişkilendirilmektedir (5).

#### **2.1.1.7.3. İMMUNFENOTİP**

Literatürde bir çok çalışmada immunhistokimyasal BCL2 protein ekspresyon pozitifliği ve BCL6, CD10, LMO2 gibi germinal merkez belirteçlerinin negatifliği DBBHL'da kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (33,56,82-85). Rituksimabın tedaviye girmesi ile bu ekspresyon profilinin olumsuz prognostik etkisi azalmış olsada GMB-benzeri alt tipinde BCL2 immunhistokimyasal boyasının kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir (86). İmmunhistokimyasal MYC protein ekspresyonu ise tek başına kötü prognozla ilişkili olup bu durum, BCL2 pozitifliği ile birlikte daha da güçlenmektedir (32,87-90). De novo CD5 (+) DBBHL'lar CD5 (-) olanlara göre daha daha kötü prognoza sahiptir ve santral sinir sistemi nöksleri ile ilişkili bulunmuştur (91,92). Literatürde düşük Ki-67 proliferasyon indeks düzeyinin kötü prognozla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcut olsa da, özellikle AB-benzeri alt tipinde yüksek Ki67 proliferasyon indeksi saptanan vakaların, rituksimab tedavisinden sınırlı ölçüde fayda gördüğünü gösteren çalışmalar da mevcuttur (93, 94). CD30 immunhistokimyasal pozitifliğinin özellikle EBV (-) GMB-benzeri vakalarda iyi bir prognostik faktör olduğu belirtilmektedir ki bu vakalar anti-CD30 tedavisinden fayda görebilmektedir (95,96). IRF4/MUM-1 protein ekspresyonları birkaç çalışmada kötü prognozla ilişkilendirilse de, Berglund ve arkadaşları çalışmalarında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (33,97).

#### **2.1.1.7.4. GENETİK**

Gen ekspresyon profil çalışmaları sonucunda GMB-benzeri fenotipin daha iyi prognoza sahip olduğu gösterilmiştir.(98,99). BCL2 translokasyonu GMB-benzeri alt tipinde kötü prognozla ilişkili bulunmuşken BCL2 kopya sayısındaki artışlar AB-benzeri fenotipte kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (86,100,101). MYC translokasyonu vakaların yaklaşık %8-14'ünde görülmekte olup kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Aksi yönde çalışmalar mevcut olsa da, MYC genindeki kazanımlar ya da kopya sayısındaki artışlar da kötü prognozla

ilişkilendirilmektedir (102-107). BCL6 translokasyonu ise AB-benzeri alt tipinde daha sık görülmekte olup iyi prognozu gösterdiği yönünde çalışmalar mevcuttur (108,109). TP53 mutasyonu ise kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. (110,111).

#### **2.1.1.7.5. TEDAVİ**

DLBHL'da, bir anti CD20 antikorunu olan rituksimablı sistemik kemoterapi ve radyoterapiyi de içeren farklı tedavi kombinasyonları uygulanmaktadır. FDA onaylı ilk monoklonal antikor olan rituksimabın 1997 yılında DBBHL tedavisinde kullanılmaya başlanmasının ardından bu hastalarda R-CHOP tedavisi ile %60'lara varan kür sağlanmıştır (8,41). Evre II kitlesel (bulky) hastalığı olan vakalar erken evre olarak gruplandırılrsa da, evre III ve IV'e benzer şekilde tedavi edilmektedir (16). DBBHL'da santral sinir sistemi profilaksisi ise serum LDH düzeylerinin arttığı, birden fazla ektranodal hastalık olduğu durumlarda, testis, meme, kemik iliği, paranasal sinüs, orbita, epidural, paravertebral, genitoüriner sistem tutulumlarında, double ya da triple hit lenfomalarda, HIV +/CD4 + hücre sayısı düşük hastalar ile ileri dönem HIV/AIDS hastalarında önerilmektedir (112).

## **2.2. DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMANIN ÇALIŞMAMIZDAKİ SPESİFİK ALT TİPLERİ**

### **2.2.1. T HÜCRESİ/ HİSTİYOSİTTEN ZENGİN BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA (THZBBL)**

Zeminde T lenfositler ve histiyositlerden zengin hücrelerin yer aldığı az sayıda büyük B hücrelerinin izlendiği, agresif gidişli lenfomalar olup DBBHL'ların yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (5). Genelde orta yaş erkeklerde görülür ve tanı anında Ann Arbor sınıflamasına göre ileri evrededirler. Ayırıcı tanısında özellikle NLPHL ile güçlükler yaşanmaktadır (5,113). Foliküler dentritik hücre ağının bulunmaması, zeminde eozinofiller, plazma hücreleri, zengin T hücre içeriğine rağmen T hücre rozetlerinin olmaması, THZBBL lehine değerlendirilebilecek parametrelerdir (5,113).

### **2.2.2. PRİMER KUTANÖZ DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, BACAK TİPİ (PKDBHL)**

Çoğunlukla bacakların alt kısımlarında ortaya çıkan ancak olguların %10-15'nin farklı bölgelerde de görülebildiği kutanöz lenfomalardır (5,114). Genellikle 70 yaş üzerinde çoğunlukla da kadınlarda görülür (114). Histopatolojik olarak sentroblast ve immunoblastların

oluşturduğu monoton ve diffüz bir hücre proliferasyonu vardır (5,115). Epidermotropizm izlenmez. AB-benzeri alt tipine benzer gen ekspresyon profili göstermektedir (116).

### **2.2.3. EBV POZİTİF DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA**

İlk defa 2007 yılında Oyama ve arkadaşları tarafından tanımlanan bu alt grup EBV (+) B hücrelerinin klonal proliferasyonu olarak tanımlanmaktadır (113,117). Genellikle 50 yaşından sonra görülse de gençlerde de görülebilmektedir (113,118). Polimorfik ve monomorfik olmak üzere 2 adet morfolojik varyantı mevcuttur. Polimorfik varyantta tümör hücrelerine, zeminde sayıca daha fazla reaktif hücreler eşlik etmekte olup, neoplastik hücreler AB-benzeri fenotipindedir. Büyük transforme hücreler, immunoblastlar ve Reed-Sternberg benzeri hücreler içermekte olup ayırıcı tanısında plazmablastik lenfoma, Hodgkin lenfoma gibi lenfomalar ve EBV ilişkili lenfoproliferatif hastalıklar akılda tutulmalıdır (5,113).

### **2.2.4. PRİMER MEDİASTİNAL (TİMİK) B HÜCRELİ LENFOMA**

Mediasten bölgesinde gelişen timik B hücre orjinli, DBBHL’in agresif gidişli alt tipidir (5). Adölesan ve genç erişkinler ile kadınlarda daha sık görülmektedir (119). Hastalar genellikle mediastinal kitle ve superior vena cava sendromu semptomları ile başvururlar (5,113). Tanı sırasında böbreklere, sürrenalere, santral sinir sistemine yayılım saptanabilir, kemik iliğine yayılım ise daha nadir görülmektedir (113). Klinik ve morfolojik olarak mediasten kaynaklı Klasik Hodgkin Lenfoma-nodüler sklerozan tip ile benzerlikler göstermekte olup bu iki antite arasında kalan vakalar “gri zon lenfoma” olarak isimlendirilmektedir (119). Hücreler orta-büyük boyutlu, yuvarlak ya da ovoid şekilli, geniş ve soluk sitoplazmalı olup fibrozis nedeni ile kompartmanlara ayrılmış görünümündedir (120).

## **2.3. KANSER VE İMMUNOLOJİ**

### **2.3.1. TÜMÖR İMMUNOLOJİSİ VE İMMUNOTERAPİ**

İmmun sistem doğal ve edinsel immunité olmak üzere 2 alt başlıkta incelenmektedir. Doğal immunité makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, natural killer (NK) hücreler ve dentritik hücrelerden oluşurken; edinsel immunité B lenfositler, T helper ve sitotoksik T hücrelerinden oluşmaktadır. Tümör hücrelerinin etrafında öncelikle, doğal immunitéyi oluşturan hücreler aracılığı ile akut inflamatuvar bir cevap oluşur (121). Natural killer hücreler güçlü sitotoksik özellikleri olan, yüzeyinde aktive ve inhibe edici sinyalleri için reseptör bulunan, doğal immunitéye ait hücrelerdir. Perforin ve granzim enzimleri ile direk olarak ya da tümör hücrelerinde apoptozu indükleyerek tümör hücrelerini öldürme potansiyelleri mevcuttur.

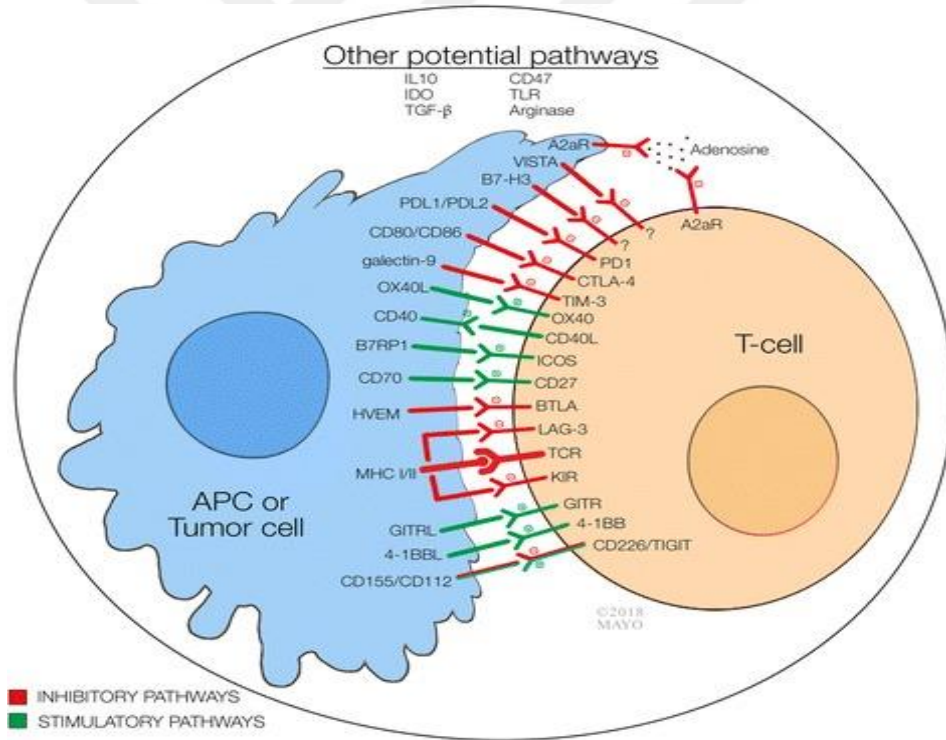
Ayrıca IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  aracılığıyla sistemik olarak antitümöral yanıtın gelişmesine katkıda bulunurlar. Antijen sunan hücreler (APC) tarafından aktive edilen CD8<sup>+</sup> T hücreleri ise tümörün ortadan kaldırılmasında en önemli hücre grubunu oluşturmaktadır. Salgıladıkları perforin ve granzim ile direkt olarak tümör hücrelerini yok edebilmektedirler. Öte yandan CD4<sup>+</sup> T hücreleri, sekrete ettikleri sitokinlerle CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin, sitotoksik T lenfositlerine (CTL) dönüşümünü, B hücrelerinin ve makrofajların ise aktivasyonunu sağlamaktadır (122-124).

Tümörlerin bir enfeksiyon ya da ateşli hastalıklar sonrasında regrese olduğu hatta tamamen kaybolduğu eski Mısırlılardan beri bilinen bir durumdur (125-127). 1868 yılında Busch ve 1882 yılında Fehleisen kanser hastalarında erizipel enfeksiyonunun ardından tümör boyutlarının gerilediğini göstermiştir (125). Daha sonra Amerikalı cerrah Coley, inopere sarkom hastalarına “Cooley Toksini” adı verilen ısı ile inaktive edilmiş bakterileri enjekte ederek 1000’in üstünde tümörlü hastada başarı sağlamıştır. 1959 yılında Old ve arkadaşlarının, farelerde, Bacillus Calmette-Guerin (BCG) bakterisi ile yaptığı çalışmaların ardından, 1976 yılında Morales ve arkadaşları, yüzeysel mesane kanserlerinde BCG tedavisinin etkisini göstermiştir (125,128,129).

Tümör ile immün sistem arasındaki ilişki “immün düzenleme” olarak adlandırılmaktadır ve şu 3 durumdan oluşmaktadır; **i**) eliminasyon **ii**) denge (equilibrium) **iii**) kaçış (escape). Eliminasyon olarak adlandırılan dönem immün sistemin tümör hücreleri ile karşılaştığı ilk dönem olup gerek doğal immünite gerekse edinsel immünite elemanları ile tümör hücreleri ortadan kaldırılmaya çalışılır. Denge (equilibrium); tümörün daha fazla ilerleyemediği ancak tam olarak da ortadan kaldırılamadığı dönemi ifade etmektedir. Kaçış dönemi ise, tümör hücrelerinin immün sistemin kontrolünden çıkarak büyümeye devam ettiği ve metastazların izlendiği bir dönem olarak karşımıza çıkmaktadır (121,125). Tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışında, tümör spesifik yüzey antijenlerindeki değişiklikler, MHC genlerinde meydana gelen mutasyonlar, T hücrelerinde inhibitör cevabın oluşmasını sağlayan yolakların tümör tarafından indüklenmesi, TGF- $\beta$  gibi mediatörler aracılığı ile hücre proliferasyonunun/aktivasyonunun engellenmesi ve regülatör T hücreleri (Treg) ya da tümör ilişkili makrofajlar etkili olmaktadır (125, 130).

İmmün sistem ile konağa yabancı patojenler, tümör hücreleri ortadan kaldırılırken, konağın kendi hücrelerinin zarar görme potansiyeli de bulunmaktadır. Bu yüzden immün sistemde aktive edici ve inhibe edici pek çok farklı kontrol noktası bulunmaktadır (Şekil 3).

Son yıllarda cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi ve hedefe yönelik tedavinin yanında karşımıza çıkan immunoterapi tüm dünyada ilgi ile araştırılmaya devam edilmektedir. 2011 yılında bir monoklonal antikor olan CTLA-4 inhibitörü ipilimumabın metastatik melanomlarda FDA tarafından onaylanmasından sonra başta akciğer karsinomları olmak üzere, gastrik, metastatik kolorektal, meme karsinomları ile renal hücreli ve Merkel hücreli karsinomlar, melanomlar, Hodgkin lenfoma, primer mediastinal büyük B hücreli lenfomalar gibi hematolojik malignitelerde inhibe edici kontrol noktalarını hedefleyen tedaviler FDA tarafından onaylanarak tedavide yerini almıştır (131). Günümüzde de farklı kanser ve immun kontrol noktaları üzerinden çalışmaların yoğun bir şekilde devam ettiği görülmektedir. James P. Allison “Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Protein 4” (CTLA-4), Tasuku Honjo ise “Programlanmış Ölüm 1” (PD-1)/ “Programlanmış Ölüm Ligandı 1” (PD-L1) inhibe edici immun kontrol noktaları ile yaptıkları çalışmalardan dolayı 2018 Nobel Tıp veya Fizyoloji ödülünü almışlardır.



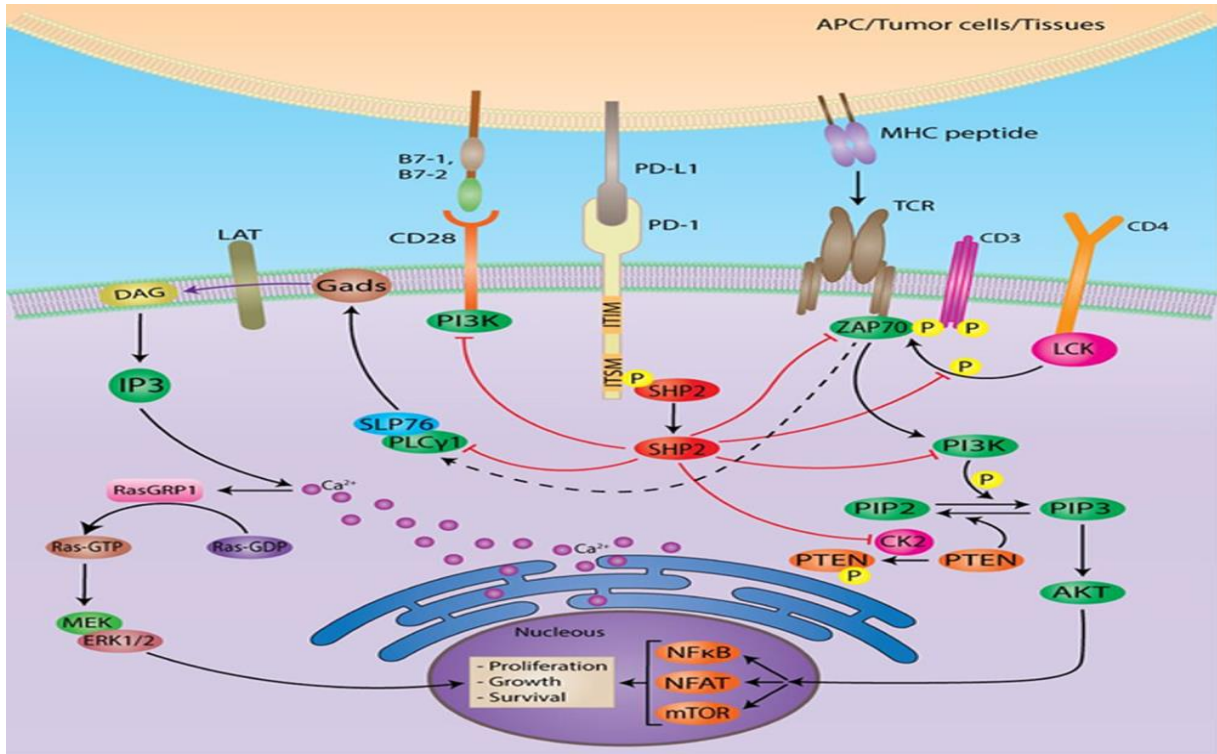
Şekil 3. İnhibitör ve stimülatör immunkontrol noktaları (132)

## 2.3.2. PROGRAMLANMIŞ ÖLÜM 1 (PD1)/ PROGRAMLANMIŞ ÖLÜM LİGANDI 1-2 (PDL1-2) YOLAĞI

PD-1 (CD279), B7-CD28 süperailesine ait, 50-55 kda, 288 aminoasitten oluşan inhibitör bir transmembran reseptör olup, kromozom 2q37.3 üzerindeki PDCD1 geni tarafından kodlanmaktadır (10,133,134). Ekstraselüler tek bir N-terminal IgV (variable) domain, transmembran kısım ve sitoplazmik intraselüler domainden oluşmaktadır (135). Sitoplazmik kısımda, ITIM (immünreseptör tirozin bazlı inhibitör motif) ve ITSM (immunreseptör tirozin bazlı anahtar motif) olmak üzere 2 adet fosforillenebilen yapısal tirozin motifi aracılığı ile Scr homolog fosfataz-1 (SHP-1) ve SHP-22 üzerinden, T hücre reseptör sinyallerini (TCR signals) inhibe eder (136). Bunlardan ITIM mutasyonunun PD-1 üzerinde daha etkili olduğu belirtilmektedir (136).

PD-1, B ve T lenfositlerde, monositlerde, natural killer hücrelerinde, dentritik hücrelerde bulunmaktadır (137,138). PD-1'in PD-L1 (B7- H1; CD274) ve PD-L2 (B7- DC; CD273) olmak üzere B7 ailesine ait 2 ligandı bulunmaktadır. Bunlardan kromozom 9p24.1 üzerindeki CD274 geni tarafından kodlanan 33 kda, 290 aminoasitlik PD-L1, PD-L2'ye göre daha geniş bir hücre grubunda izlenmekte olup bu hücreler, T ve B lenfositler, makrofajlar, dentritik hücreler, kemik iliği kökenli mast hücreleri, bunların yanısıra epitelyal hücreler, vasküler endotel, plasental hücreler ve pankreas adacık hücrelerini kapsamaktadır (137,139). PD-L1 yapısal olarak, ekstraselüler alanda IgV (variable) ve IgC (constant) domainlerini içermekte olup hidrofobik transmembran kısım ve 30 amino asitlik fonksiyonu tam olarak bilinmeyen sitozolik bir uca sahiptir (140). PD-L2 ise CD274 genine bitişik PDCD1LG2 geni tarafından kodlanan yapısal olarak PD-L1 ile benzer özellikte, çoğunlukla antijen sunan hücrelerde (APC) bulunan PD-1'in diğer ligandıdır (140). PD-1'in PD-L1'e PD-L2'den 3 kat daha fazla afinitesinin olduğu ifade edilmektedir (141).

PD-1 ve ligandları diğer CD28 aile üyelerine göre daha yaygın olarak bulunmakta olup PD1/PDL1-2 sinyal yolağı, santral ve periferel toleransın düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (133, 142). Bu yolağın etkinleşmesi ile birlikte T hücre reseptör (TCR) sinyalleri inhibe olmaktadır. Bu konuda araştırmalar hala devam etmekte olup inhibisyonun hücre içerisinde farklı yollar ve moleküller üzerinden gerçekleştiği gösterilmiştir; i) Fosfoinositid 3 kinaz/Akt (PI3/AKT) yolağını PI3K'nın inhibisyonu ii) ZAP70 ve lökosit-spesifik tirozin kinaz (LCK) gibi moleküllerin inhibisyonu iii) C2 molekülünün inhibisyonu ile fosfataz ve tensin homolog (PTEN) üzerinden iv) Ras/MEK/ERK yolağını ise PIP2'yi DAG ve IP3'e hidrolize eden PLC $\gamma$ 1'i inhibe ederek sağlamaktadır (Şekil 4) (142).



**Şekil 4. PD-1/PD-L1 sinyali yoluğu (142)**

PD1/PDL1-2 yoluğu ile T hücre aracılı immun cevap baskılanarak T hücre proliferasyonu engellenmekte ve immuntolerans sağlanmış olmaktadır. Nishmura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PD-1 reseptöründe yapısal bozukluk olan farelerde lupus benzeri otoimmün hastalık geliştığı gösterilmiştir (143). Timusta CD4 ve CD8 timositlerin seçiminde, presental sinsityotrofoblast ve vasküler endotelial hücrelerde sentezlenerek maternal-fetal toleransın sağlanmasında, korneanın aktive T hücrelerinden korunmasında, pek çok farklı doku ve organda bu yolak önemli rol oynamaktadır (133,143-146). Ancak sadece fizyolojik değil patolojik bir dizi olayda da PD1/PDL1-2 yoluğu ön plana çıkmaktadır. Örneğin D'Souza ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tedavi edilmemiş HIV (+) hastalarda, PD1 eksprese eden ve IFN- $\gamma$  üreten CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin belirgin olarak daha fazla olduğu ortaya konmuştur (147). Benzer şekilde Golden-Mason ve arkadaşları da HCV (+) hastalarda sitotoksik CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin anlamlı şekilde PD-1 eksprese ettiğini göstermiştir (148). 1992 yılında PD1'in keşfinden sonra; akciğer, kolorektal, meme, ürotelyal, baş boyun kanserleri, melanomlar, Hodgkin lenfomalar gibi pek çok farklı kanser türünde bu yoluğun antitümoral immünite ile ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır. Aktive olan T hücreleriyle birlikte oluşan immun cevabın sonlandırılmasında görev alan PD1/PDL1-2 yoluğu her ne kadar immun toleransın oluşmasında ve otoimmün hastalıkların engellenmesinde çok önemli bir yer tutsada, kanser ya da viral enfeksiyonlar gibi uzun süreli antijene maruz kalma durumunda, CD8<sup>+</sup>



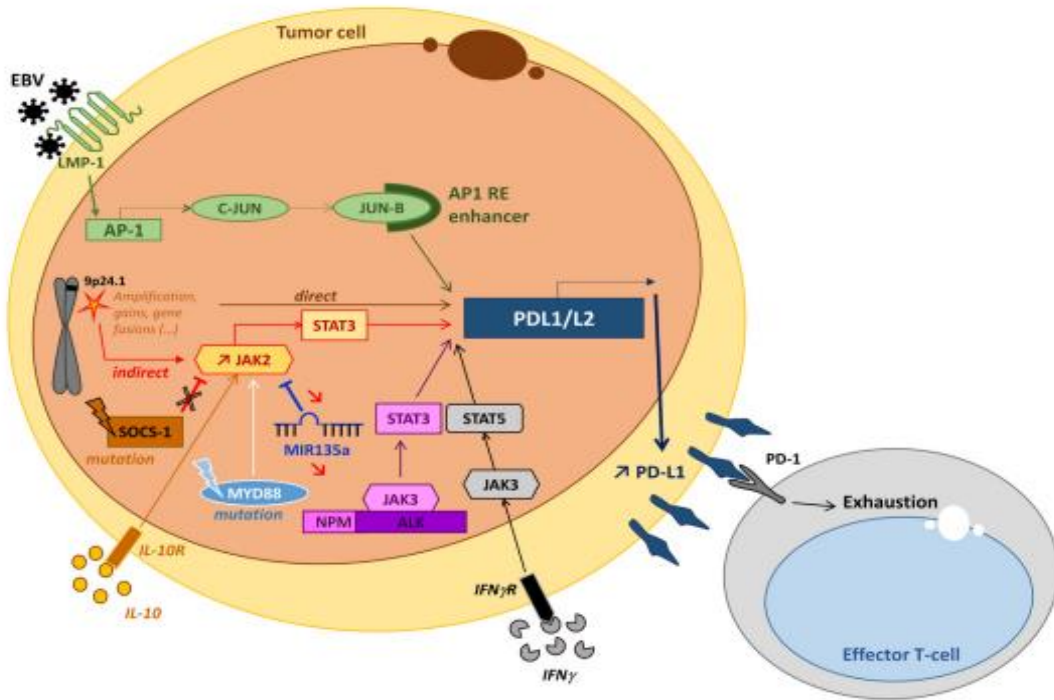
sitotoksik T hücrelerinin fonksiyonları kaybolmakta (T cell exhaustion) ve immun sistem yetersiz kalmaktadır (142). Tümör hücreleri tarafından üretilen PD-L1, T hücrelerinin yüzeyindeki PD-1'e bağlanarak, interlökin 2 (IL-2), tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) gibi mediatörlerin salınımını bloke etmekte, sonuç olarak konağın immun aracılı cevabını engellemekte ve tümör immun sistemden kaçmaktadır (137,142). Öte yandan CD4<sup>+</sup> T hücre alt tipi olan Tregülatör (Treg) hücreler IL-10, TGF-B gibi inhibitör sitokinleri sekrete ederek, granzim ve perforin aracılığı ile efektör T hücrelerinin apoptozisini tetikleyerek ya da CD25 aracılığı ile ortamdaki IL-2'nin tüketilmesini sağlayarak immunsupresif bir ortamın oluşmasına katkıda bulunmaktadır (149).

Tümör hücrelerinin immun sistemden kaçışını sağlayan PD-L1 aşırı ekspresyonu farklı şekillerde meydana gelebilmektedir (Şekil 5). PD-L1'in kodlandığı kromozom 9p24.1'de meydana gelen kopya sayısındaki değişiklikler over, mesane, meme, baş boyun, kolorektal kanserler gibi farklı kanser tiplerinde sıklıkla artmış olarak saptanmaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomları ile melanomlarda ise kazanımdan çok kayıp (delesyon) mevcuttur. Miksofibrosarkomlarda yaklaşık %34, andiferansiye pleomorfik sarkomlarda %35 oranında kopya sayısında artış beklenmektedir. Hematolojik malignitelerden klasik Hodgkin lenfoma ve primer mediastinel büyük B hücreli lenfomada yüksek kopya sayıları saptanırken, diffüz büyük B hücreli lenfomada bu oran oldukça düşüktür (150-154).

Epigenetik olarak PD-L1 promotor bölgesindeki ya da DNA'daki global metilasyonun farklı kanser türlerinde PD-L1 ekspresyonları ile ilişkileri gösterilmiştir (154). Gliomlarda NADP bağımlı izositrat dehidrogenaz-1'in (IDH-1) artmış PD-L1 ekspresyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (154,155). Post transkripsiyonel gen ekspresyonunu düzenleyen mikroRNA'lar (miRS) çoğunlukla PD-L1 ekspresyonu ile ters korelasyon gösterse de, miR-3127-5P ve miR-135'in akciğerin küçük hücreli dışı karsinomunda artmış PD-L1 ekspresyonları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (156,157). EBV, HIV, HBV, HCV gibi viral enfeksiyonlarda, kanserlerde hipoksiye bağlı tümöral hücrelerde PD-L1 ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (158-162). Literatürde radyoterapinin ve kullanılan farklı kemoterapötik ajanların PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı, böylece tedavide direnç oluşumuna sebep olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (163). Bunların dışında onkojenik ve inflamatuvar yollarında PD-L1 ekspresyonunda artış yaptığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, tüm kanserlerin yaklaşık %70'inde değişikliklerinin izlendiği MYC'in PD-L1 ifadesini arttırdığı gösterilmiştir (164,165). BRAF dirençli melanom olgularında mitojen-aktive protein kinaz (MAPK) sinyalinin ve PD-L1 düzeyinin arttığı bilinmektedir (166). Peng ve arkadaşlarının over

kanserleri ile ilgili yaptığı çalışmada kemoterapinin nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) aracılığı ile PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı ve tedaviye kemoterapinin yanında immunoterapinin eklenmesinin antitümöral cevabı arttıracacağı ifade edilmiştir (167).

Yapılan çalışmalarda diffüz büyük B hücreli lenfomaların yaklaşık %20'sinde PD-L1 ekspresyonu ilgili genetik değişiklikler saptanmıştır (149, 168). Georgiou ve arkadaşları, yaptığı çalışmada bu değişikliklerin, vakaların %12'sinde kazanım, %3'ünde amplifikasyon ve %4'ünde translokasyon, bir kısmında ise immunglobülin ağır zincirini içeren (IGH) değişiklikler olduğunu ve bu değişikliklerin daha çok AB-benzeri alt tipte rastlandığını göstermişlerdir (168). Ayrıca aynı çalışmada PD-L1 ekspresyonunun sitogenetik değişiklikler olmaksızın da meydana gelebileceği ifade edilmiştir. DBBHL'ların AB-benzeri alt tipinde yaklaşık %30 oranında görülen MYD-88 genindeki mutasyonların, JAK-STAT yolağını aktive ettiği, dolayısı ile PD-L1 ekspresyonunu arttırdığı düşünülmektedir (153,169). Xue ve arkadaşlarının DBHHL'larda yaptığı çalışmada, AB-benzeri fenotipte, EBV enfeksiyonunun mRNA transkripsiyonu olmaksızın PD-L1 ekspresyonuna sebep olabileceği gösterilmiştir (170).



Şekil 5. Lenfomalarda PD-L1 ekspresyonuna sebep olan genel mekanizmalar (12)

Bir inhibitör immün kontrol noktası olan PD1/PD-L1 yolağını hedefleyen PD-1 reseptör antikoru pembrolizumab ilk defa 2014 yılında metastatik küçük hücreli dışı akciğer karsinomunda FDA tarafından onaylandıktan sonra, hematolojik malignitelerde 2016 yılında nüks etmiş Klasik Hodgkin Lenfomalarda PD-1 antikoru olarak Nivolumab , 2017 yılında refrakter hastalıkta pembrolizumab FDA tarafından onaylanmıştır. 2018 yılında ise pembrolizumab primer mediastinel B hücreli lenfomalarda refrakter hastalık için FDA tarafından onaylanmış olup diffüz büyük B hücreli lenfomalarda PD1/PD-L1 yolağını hedefleyen klinik çalışmalar hala devam etmektedir (154,171).



### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. OLGU SEÇİMİ**

İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalımızda 2011-2019 yılları arasında diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı almış ve İç Hastalıkları Anabilim dalı, Hematoloji Bilim Dalı tarafından takip edilen vakalar incelendi. Hastaların bölümümüzde kayıtlı biyopsisi/ biyopsileri bilgisayar sistemi üzerinden tarandı. Arşivimizden temin edilen, 159 hastaya ait tüm lam ve bloklar, her hasta için gruplandırıldıktan sonra H&E kesitleri ve daha önce uygulanan mevcut immunhistokimyasal çalışmalarla tekrar değerlendirildi. Aynı hastaya ait farklı protokol numaralı vakalardan çalışma için en uygun olanı (doku miktarı, artefakt içerip içermemesi gibi) seçildi. Aynı hastaya ait kemik iliği biyopsisi varsa, rutin olarak kemik iliği biyopsileri formol takibi öncesi asit ile muamele edildiğinden kemik iliği biyopsisi tercih edilmedi. Seçilen vakalarının 24'ünün bloğunda az miktarda doku bulunduğundan, 5 tanesinde ezilme, donma vb. artefaktlar bulunduğundan dolayı çalışma dışında bırakıldı. Bloğunda yeterli doku bulunan, çalışmaya uygun nitelikte nodal ya da ektranodal, diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı almış 130 vaka çalışmaya dahil edildi. Bu vakalardan 3 tanesi kemik iliği biyopsisiydi. Çalışmaya dahil edilen olguların klinik bilgileri patoloji raporlarından, hematoloji bilim dalındaki hasta takip dosyalarından ve hastanemiz bilgi kayıt sisteminden elde edildi. 130 vakanın 59 tanesi DBBHL, NOS post germinal merkez benzeri (AB-benzeri) fenotip, 50 tanesi DBBHL, NOS germinal merkez benzeri (GMB-benzeri) fenotip, 7 tanesi T hücresinden zengin büyük B hücreli lenfoma (THZBBHL), 6 tanesi primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma (PMBBHL), 3 tanesi EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma, 1 tanesi primer kutanöz diffüz büyük B hücreli lenfoma ve 4 tanesi alt tip tayini yapılamayan DBBHL, NOS vakalarından oluşmaktaydı.

Çalışmamızın etik kurul onayı İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından verilmiştir.

#### **3.2. İMMUNHİSTOKİMYASAL YÖNTEM**

Her hastaya ait lamlardan, tümörü en iyi temsil eden bir alan seçildikten sonra, formol takibi yapılmış parafin bloklardan pozitif şarjlı lamlara 2 mikron kalınlıkta kesitler alındı ve lamlar 1 saat, 56 derecede etüvde inkübe edildi. PD-L1 ticari antikorlarından 22C3 pharmDx (Dako, Carpinteria, CA), Dako Autostainer Link48 yarı otomatik immünhistokimya cihazı ve Dako PT link cihazı kullanıldı. Kontrol dokusu olarak ise tonsile ait kesitler kullanıldı.

İmmunhistokimyasal çalışma şu işlemler sırayla takip edilerek uygulandı;

1.Kesitler düşük pH (pH:6.0) EnVision™ FLEX Target Retrieval solüsyonunda, düşük pH (50x) (kod K8005) antijen geri kazanım solüsyonunda 97 derecede 20 dakika inkübe edildi.

2.Peroksidaz Blok EnVision™ FLEX peroksidaz- bloke reagent (SM801) ile 15 dakika inkübe edildi.

3.Dako PD-L1 22C3 antikoru (monoklonal fare anti-human PD-L1, klon 22C3) ile 60 dakika inkübe edildi (1/50 dilüsyon oranında).

4.Mouse Linker EnVision™ FLEX+ Mouse (LINKER) (K8021) ile 15 dakika inkübe edildi.

5.HRP EnVision™ FLEX/HRP detection reagent (SM802) ile 20 dakika inkübe edildi.

6.DAB ile 2x5 dk inkübe edildi. EnVision™ FLEX DAB+ kromojen (DM 827) 20 damla EnVision™ FLEX substrat tampon (SM803) 20 ml karıştırılarak Hematoksilen EnVision™ FLEX hematoksilen (K8008) ile 3 dk inkübe edildi.

7. Aşamalar arasındaki yıkamalar EnVision™ FLEX wash buffer (20x) (DM831) yıkama tamponu ile yapıldı.

### **3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME**

Kontrol dokusu olarak kullanılan tonsil kesitlerinde, kript epitelindeki ve daha zayıf olarak foliküllerdeki lenfoid hücrelerde izlenen membranöz boyanma pozitif kabul edildi. PD-L1 immunhistokimya boyalı lamalar ışık mikroskobu altında H&E lamaları ile birlikte değerlendirildi. Ardından dijital ortamda, x400'lük büyütmede, tümör hücrelerinin komplet ya da inkomplet, membranöz, en fazla boyandığı 5 alan tespit edilerek bu alanların fotoğrafı çekildi. Çekilen fotoğraflar dijital ortamda, cetvel yardımı ile 4 eşit parçaya bölündü. Her parçadaki tümör hücre sayısı manuel olarak, H&E kesitleri ve gerekli durumlarda daha önce uygulanmış immunhistokimyasal çalışmalarla birlikte değerlendirildi. Ardından aynı parçalardaki, PD-L1 boyanıp boyanmamasına bakılmaksızın tüm tümör hücreleri değerlendirildikten sonra bu işlem 5 farklı alan için tekrarlandı. PD-L1 (+) tümör hücreleri, tüm tümör hücrelerine oranlanarak tümör için PD-L1 skoru (tPD-L1) elde edildi. Literatürde DBBHL'larda değişmez bir PD-L1 eşik boyanma oranı ya da sınıflamasından bahsetmek mümkün değildir. Bu nedenle bu aşamadan sonraki istatistiksel değerlendirmeler 3 farklı skorlama sistemine göre yapıldı. Bunlardan birincisinde, akciğer karsinomlarında PD-L1 antikoru 22C3 pharmDx değerlendirmesine benzer şekilde vakalar; tümör hücreleri %1'in

altında boyananlar, %1'den büyük %50'den az boyananlar ve %50 ve üzerinde boyananlar olmak üzere 3 gruba ayrılarak yapıldı. Bu üç grubun diğer parametrelerle ilişkisi değerlendirildi. Bir diğer değerlendirme ise vakalar 5 farklı gruba ayrılarak yapıldı. Bu gruplar, tümörde PD-L1 boyanma yüzdeleri <%1, %1-29, %30-49, %50-69 ve ≥%70 olacak şekilde oluşturuldu. Bunların dışında %30 kesme değeri kabul edilerek, bu kesme değerine göre istatistiksel analizler yapıldı.

Ayrıca her vaka için ışık mikroskopunda, PD-L1 tümör boyanması dışında, tümör mikroçevresinde non-tümöral hücre boyanmaları (mPD-L1) değerlendirildi. Kiyasu ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde, tPD-L1 ekspresyonu saptanmayan hastalarda mikroçevrede non-tümöral hücrelerde pozitiflik saptanan vakalar mPD-L1+, saptanmayan vakalar ise mPD-L1- olarak değerlendirildi. Mikroçevre boyanması için %5'lik kesme değeri kullanıldı.

Olgulara ait CD10, MUM1, BCL2, BCL6, c-MYC immunhistokimyasal çalışma sonuçları mevcut patoloji raporlarından elde edildi. Boyanma mevcut olanlar “var” olmayanlar ise “yok” olarak değerlendirildi. Ki-67 proliferasyon indeksi ise boyanma yüzdesine göre değerlendirildi. EBV pozitifliği EBV-LMP1 immunhistokimyasal ya da EBER insitu hibridizasyon (ISH) çalışmalarına göre değerlendirilmiştir.

Hastalardan 11 tanesinin CD10, 12 tanesinin MUM-1, 19 tanesinin BCL2, 12 tanesinin BCL6, 56 tanesinin c-MYC, 19 tanesinin Ki-67 immunhistokimyasal çalışma sonucuna ulaşılamadı. Vakaların 27 tanesine EBV LMP-1 İHK ya da EBER ISH çalışılmıştı.

### **3.4. KLİNİK VE PROGNOSTİK PARAMETRELER**

Hastalara ait klinik bilgiler hematoloji bilim dalındaki dosyalardan, hastanemiz bilgi kayıt sisteminden ve patoloji raporlarından elde edildi. IPI skorunu elde etmek için gerekli parametrelerden; Ann Arbor evresi için hastalar, hem ayrı ayrı hem de evre I ve II hastalar bir arada, evre III ve IV hastalar bir arada olacak şekilde tekrar gruplandı. LDH düzeyine göre vakalar; normalden yüksek ve normal ya da normalden küçük olanlar şeklinde 2 gruba ayrıldı. Birden fazla ektranodal tutulumu olan hastalar 1 puan, 1 bölgede ektranodal tutulumu olanlar ya da ektranodal tutulumu olmayanlar 0 puan aldı. 60 yaşın üstündeki hastalar 1 puan, 60 yaş ve altındaki hastalar 0 puan olarak değerlendirildi. ECOG performans durumu 2 ve üstündeki hastalar 1 puan, altındaki hastalar ise 0 puan aldı. Vakalar, kemik iliği tutulumuna göre, B semptomları ve HbsAg, anti-HCV, anti-HIV viral seroloji sonuçlarına göre sınıflandı. Hastalar rituksimab tedavisi, radyoterapi ve kemik iliği transplantasyon tedavisi uygulanıp

uygulanmamasına göre gruplandı. Tedavi sonucu; tam yanıt alınanlar, parsiyel yanıt alınanlar, refrakter hastalık ya da nüks hastalık olanlar ayrı ayrı değerlendirildi. Çalışmamızda hastaların laboratuvar bulgularından, lökosit sayıları (WBC), hemoglobin değerleri, ortalama eritrosit hacimleri (MCV), trombosit düzeyleri ve Beta-2 mikroglobülin değerleri, tPD-L1 ekspresyonları ile değerlendirildi.

130 vakanın 1'inde MCV, 21'inde de Beta-2 mikroglobülin düzeylerine ulaşılamadı. Bir hastanın ECOG skoru, ektranodal tutulum, B semptomu, tedavi ve kemik iliği biyopsi bilgilerine ulaşılamadı. LDH düzeyine ulaşılamayan, Ann Arbor evresi 4 olan bir vakanın IPI skoru en az 3 olarak hesaplanmıştı. Sekiz hastanın rituksimab tedavisi alıp almadığına, 4 hastanın HbsAg, Anti-HCV ve anti-HIV viral seroloji sonucuna ulaşılamadı. Kemik iliği biyopsi sonucuna ulaşılamayan 8 hastadan 6 tanesi hayatta değildi. Hayatta olan 2 hastadan, 1 hastanın dosyasına ulaşılamadığından evreleme yapılamadı. Her 2 hastanın sistemimizde kayıtlı kemik iliği biyopsileri mevcut değildi. 11 hastanın tedaviye yanıtları değerlendirilemedi. Çalışmamızdaki 130 hastanın tamamının hayatta olup olmadıkları bilgisine ulaşıldı. İki hasta DBBHL dışında farklı sebeplerden hayatını kaybettiğinden kanser spesifik sağ kalım analizine alınmadı. Sağ kalım süresi açısından, çalışma grubumuzda göre uç değer olduğu düşünülen 2 olgu sağ kalım analizlerine dahil edilmedi. Sağ kalım süresi, ölen hastalar için ilk tanı aldığı tarihten itibaren ölüm tarihine kadar geçen süre, yaşayan hastalar için ise ilk tanı tarihinden, 1 Kasım 2019'a kadar geçen süre esas alınarak hesaplandı.

### **3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Tanımlayıcı istatistiklerde sürekli veriler ortalama standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleriyle, kategorik veriler sayı ve yüzde değerleriyle birlikte verilmiştir.

Verilerin istatistiksel karşılaştırmasında kategorik veriler için chi square test, Fisher Exact, Likelihood ratio uygun şekilde kullanılmıştır. Fisher Exact ve Likelihood ratio testi değerlendirilen olasılık tablolarında hücrelerin herhangi birinde beklenen değer  $<5$  olduğunda kullanılmıştır. Sürekli veriler için normal dağılıma uygunluk Kolmogrov Simirnov analizi ile değerlendirilmiş ve gruplar arası karşılaştırmalarda Student t ve Mann Whitney U, One Way ANOVA, Kruskal Wallis testleri kullanılmıştır. Gruplar arasında saptanan anlamlılığın post hoc analizlerinde Bonferroni düzeltmesi yapılmış ve düzeltilmiş (adjusted) p'ler kullanılmıştır. Sağ kalım, Kaplan Meier Analizi ile hesaplanmış olup, gruplar arası sağ kalım karşılaştırmasında Log rank (Mantel Cox) analizi uygulanmıştır.

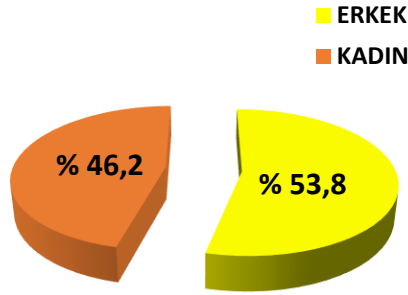
Sağ kalımda çok değişkenli analiz için Cox regresyon analizleri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için %95 güven aralıgında 0.05 in altındaki p değeri anlamlı olarak kabul edilmistir. İstatistiksel analizler için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programı, 21.0 sürümü kullanılmıştır.





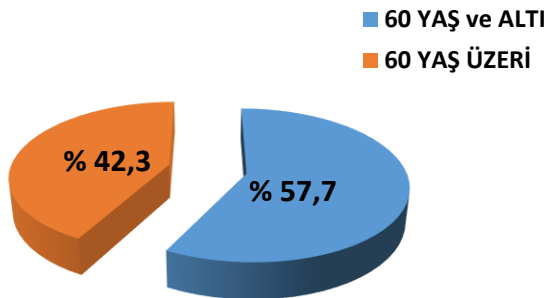
## 4. BULGULAR

2011-2019 yılları arasında İç Hastalıkları Anabilim dalı, Hematoloji bilim dalı tarafından takip edilen ve bölümümüzde tanı alıp raporlanmış 130 Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma vakası çalışmamıza dahil edildi. Olguların 70'i erkek (%54), 60 tanesi kadındı (%46).



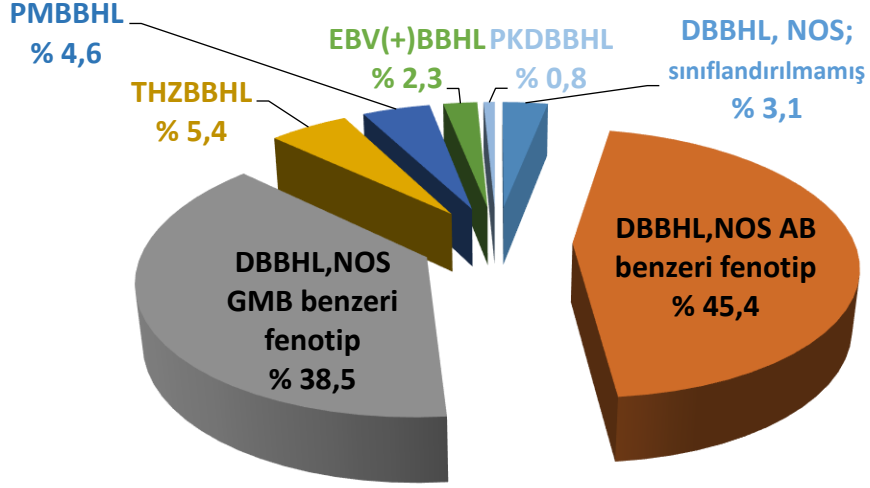
Şekil 6. Olguların cinsiyete göre dağılımı

Hastaların yaş ortalaması  $54 \pm 17$  olup yaş aralığı 18-87; ortanca yaş 56 idi. Olgular yaş dağılımına göre değerlendirildiğinde; 60 yaş ve altındaki vaka sayısı 75 (%57,7), 60 yaş üzerindeki hasta sayısı 55 (%42,3)'ti.



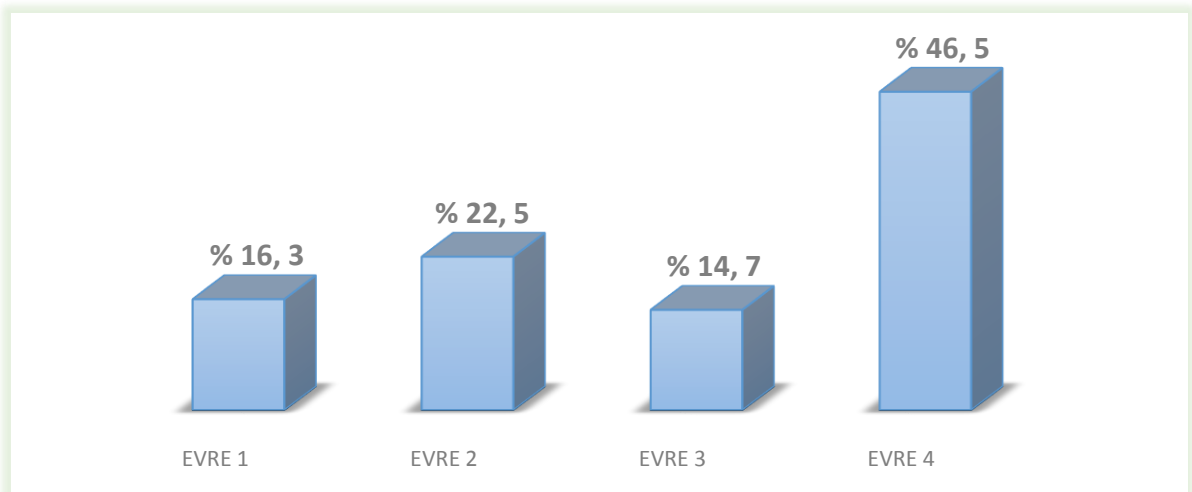
Şekil 7. Olguların yaş gruplarına göre dağılımı

Hastaların 40'ında (%31) B semptomu mevcutken, 89'unda (%69) B semptomu yoktu. Çalışmamıza alınan 130 olgunun 59'u (%45,4) DBBHL, NOS; AB-benzeri fenotip, 50'si (%38,5) DBBHL, NOS; GB-benzeri fenotip, 4'ü (%3,1) DBBHL, NOS sınıflandırılmamış, 7'si (%5,4) T hücresi/histiyositten zengin büyük B hücreli lenfoma, 6'sı (%4,6) primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma, 3'ü (%2,3) EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma ve 1'i (%0,8) primer kutanöz büyük B hücreli lenfoma, bacak tipi tanısı almış vakalardan oluşmaktaydı.



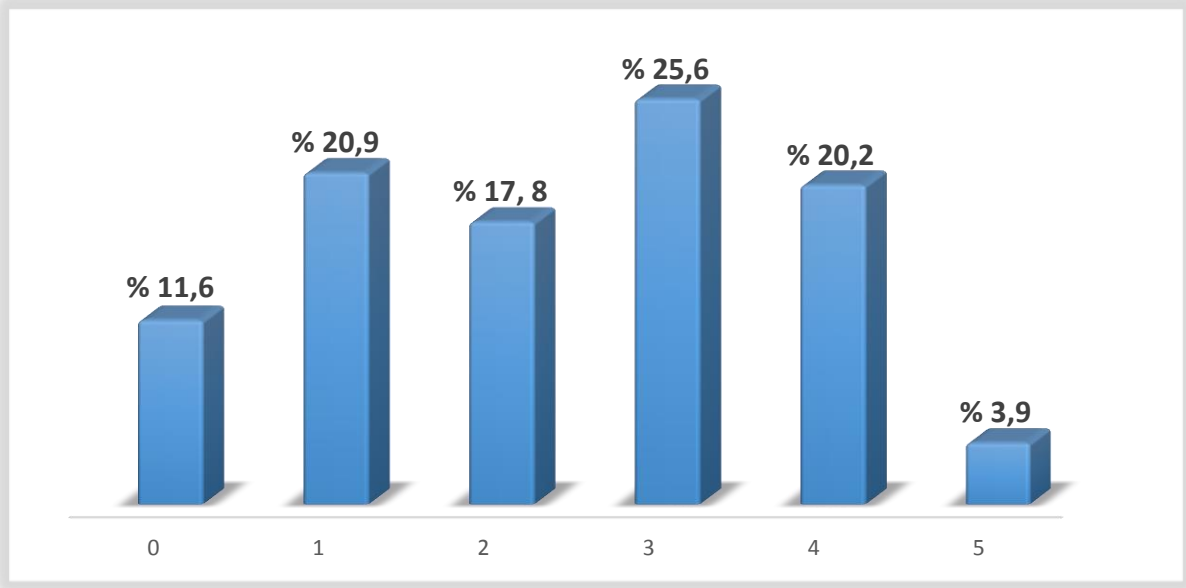
**Şekil 8.Çalışmamızdaki DBBHL olgularının alt tiplere göre dağılımı**

Hastaların 53'ünde (%41,1) LDH düzeyi normal değerler ve altındayken, 76'sında (%58,9) LDH normal değerlerin üzerindedir. ECOG performans durumları 2'den küçük hasta sayısı 105 (%81,4), 2 ve üstünde olan hasta sayısı ise 24 (%18,6)' tır. 63 vakada (%48,8) 2 den az ektranodal tutulum bölgesi mevcutken, 66 vakada (%51,2), 2 ve üzerinde ektranodal tutulum alanı mevcuttu. Olguların 21'i (%16,3) evre I, 29'u (%22,5) evre II, 19'u evre III (%14,7) ve 60'ı (%46,5) evre IV hastalık grubundaydı.



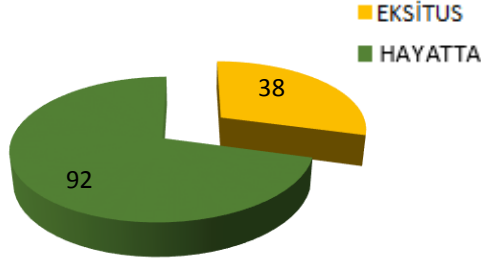
**Şekil 9. Olguların Ann Arbor evresine göre oransal dağılımı**

Evre I ve II olan hastaların toplam sayısı 50 olup vakaların %38,8'ini oluşturuyordu. Evre III ve IV olan vakaların sayısı ise 79 olup vakarın %61,2'siydi. IPI skoruna göre 0 puan alan 15 (%11,6), 1 puan alan 27 (20,9), 2 puan alan 23 (%17,8), 3 puan alan 33 (%25,6), 4 puan alan 26 (%20,2), 5 puan alan 5 (%3,9) hasta mevcuttu. Standart IPI skoruna göre 42 hasta (%32,5) düşük riskli, 23 hasta (%17,8) orta-düşük riskli, 33 hasta (%25,6) orta-yüksek riskli, 31 hasta (%24,1) yüksek riskli grupta yer almaktaydı.



**Şekil 10. Olguların IPI skoruna göre oransal dağılımı**

Kemik iliği biyopsisi yapılan 122 olgunun 19'unda (%15,6) kemik iliği tutulumu mevcuttu. Tedavi bilgisine ulaşılan 122 olgudan 121 tanesi (%99,2)'si rituksimab içeren tedavi, 15'i (%11,6) radyoterapi aldı. Olguların 27'sine (%20,8) cerrahi rezeksiyon işlemi uygulandı, 13 hastaya (%10) ise kemik iliği trasplantasyonu yapıldı. Tedavi sonrası 11 (%9,2) olguda parsiyel yanıt, 81 (%68,1) olguda komplet yanıt, 21 (%17) olguda refrakter ya da stabil hastalık, 6 (%5) olguda nüks saptanmıştı. Olguların 38'i (%29,2) hayatını kaybetti ve 92'si (%70,8) ise hayattaydı. Hayatta olan 92 hastanın 87'sinde (%94,5) tedavi yanıtı değerlendirildi. Bunların 5'inde (%5,7) parsiyel yanıt, 75'inde (%86,2) komplet yanıt, 2'sinde (%2,2) refrakter ya da stabil hastalık, 5'inde (%5,7) nüks hastalık mevcuttu.



**Şekil 11. Olguların yaşam süresine göre dağılımı**

Ölen 38 olgudan 36'sı DBBHL sebebi ile hayatını kaybetmişti. Olgulardan 1'i hepatik ensefalopati, 1'nin ise skuamöz hücreli karsinom nedeni ile eksitus olduğu kabul edildi. Yetmiş erkek olgunun 31'inde (%44,2) hemoglobin (Hgb) değeri 13,5-17,5 g/dl aralığında, 39'unda ise (%55,7) 13,5 g/dl'den düşüktü. Altmış kadın olgunun 28'inde (%46,6) Hgb değeri 12-15,5 g/dl aralığında, 32'sinde (%53,3) 12 g/dl'den düşüktü. Her iki cinsiyette Hgb değeri yüksek vaka saptanmadı. Yüz otuz olgunun 101'inde (%78,9) MCV değeri normal sınırlarda, 27'sinde (%21) düşük olarak değerlendirildi. Çalışmamızdaki 130 olgunun 77'sinde (%59,2) lökosit (WBC) sayısı 4000-10000/ mm<sup>3</sup> arasında, 3'ünde (%2,3) 4000/ mm<sup>3</sup>'den az, 50'sinde (%38,4) ise 10000/ mm<sup>3</sup>'ten yüksekti. 130 olgunun 97'sinde trombosit düzeyi 150000-400000/ mm<sup>3</sup> arasında 9'unda düşük, 24'ünde ise yüksek olarak değerlendirildi.

Hemoglobin değeri ortalama 11,9± 2,3 gr/dl, MCV değeri ortalama 84,4±7,4 fL, lökosit (WBC) sayısı ortanca değeri 7500 uL (2500-21500) olarak hesaplandı. Trombosit sayısı ortanca değeri 265 (27-1228) bin/mm<sup>3</sup> idi. 75 (%68,8) hastanın beta-2 mikroglobülin düzeyi yüksek bulunmuştu. 118 (%93,7) hastada HbsAg, Anti HIV, Anti HCV viral seroloji değerleri negatif olarak saptanmıştı. 4 hasta HbsAg (+), 3 hasta Anti-HCV (+), 1 hasta da HHV-8 pozitif. En fazla boyanan 5 farklı alanı değerlendirerek elde ettiğimiz tPD-L1 boyanmasının ortanca değeri % 0,9 (0-100) olarak hesaplandı. İmmunhistokimyasal çalışma sonuçlarına göre, 119 vakadan 33'ünde (%31,4) CD10, 118 vakanın 81'inde (%68,6) MUM1, 104'ünde (%88,1) BCL6 pozitif olarak değerlendirilmişti. 111 vakanın 56'sında (%50,5) BCL2 pozitif. 74 vakaya uygulanan c-MYC immünhistokimyasal çalışmasında 23 vaka (%31) pozitif olarak değerlendirildi. 27 vakaya EBV LMP-1 immünhistokimyasal çalışması ya da EBER ISH uygulanmıştı. Bu vakaların 3'ünde (%11) pozitif olarak değerlendirildi. Ki-67 proliferasyon indeksinin ortanca değeri 85 (0-100) olarak hesaplandı.

**Tablo 5. 3'lü gruplarda, yaş ve cinsiyete göre dağılım ile tPD-L1 boyanma yüzdesi (%) arasındaki ilişki**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi						p
		<%1		%1-49		≥%50		
		n	%	n	%	n	%	
<b>Cinsiyet</b>	Erkek	37	52,9	20	28,6	13	18,6	0,232
	Kadın	30	50,0	24	40,0	6	10,0	
<b>Yaş</b>	60 yaş ve altı	44	58,7	20	26,7	11	14,7	0,108
	60 yaş üzeri	23	41,8	24	43,6	8	14,5	

Olgular <%1, %1-49, ≥%50 olmak üzere 3 gruba ayrılıp incelendiğinde; tPD-L1 boyanması ile yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel bir anlam izlenmedi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 6. 3'lü gruplarda olguların; LDH düzeyi, ECOG skoru, ekstrasnodal tutulum ve evrelerine göre dağılımı ile tPD-L1 boyanma yüzdesi arasındaki ilişki**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi						p
		<%1		%1-49		≥%50		
		n	%	n	%	n	%	
<b>LDH</b>	LDH Normal Değer ve Altı	30	56,6	17	32,1	6	11,3	0,627
	LDH> Normal Değer	37	48,7	27	35,5	12	15,8	
<b>ECOG</b>	2'den Küçük	54	51,4	37	35,2	14	13,3	0,499
	2 ve Daha Büyük	13	54,2	6	25,0	5	20,8	
<b>Ekstrasnodal Tutulum</b>	2'nin Altında Bölge Tutulumu	34	54,0	21	33,3	8	12,7	0,802
	2 ve Üzerinde Bölge Tutulumu	33	50,0	22	33,3	11	16,7	
<b>Ann Arbor-1</b>	Evre 1	15	71,4	5	23,8	1	4,8	0,199
	Evre 2	17	58,6	9	31,0	3	10,3	
	Evre 3	6	31,6	8	42,1	5	26,3	
	Evre 4	29	48,3	21	35,0	10	16,7	
<b>Ann Arbor-2</b>	Evre 1 ve 2	32	64,0	14	28,0	4	8,0	0,064
	Evre 3 ve 4	35	44,3	29	36,7	15	19,0	

PD-L1 tümör boyanmasında, LDH düzeyinin, normal ya da normalden düşük olduğu durumlar ile normalden yüksek olduğu durumlar arasında anlamlı bir fark görülmedi ( $p>0,05$ ). tPD-L1 boyanması ve ektranodal tutulum arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ). Mevcut kesme değerleri ile tPD-L1 boyanması ve Ann Arbor evresi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 7. 3'lü gruplarda, tPD-L1 boyanma yüzdesi ve Beta-2 Mikroglobülin düzeyi arasındaki ilişki**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi						p
		<%1		%1-49		≥%50		
		n	%	n	%	n	%	
<b>Beta-2 Mikroglobülin</b>	Yüksek	19	55,9	11	32,4	4	11,8	0,807
	Normal ya da düşük	37	49,3	27	36,0	11	14,7	

PD-L1 tümör boyanması ve beta-2 mikroglobulin düzeylerinde istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 8. 3'lü gruplarda tPD-L1'in farklı immunhistokimyasal antikorlarla ilişkisi**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi						p
		<%1		%1-49		≥%50		
		n	%	n	%	n	%	
<b>MUM1</b>	Negatif	20	54,1	12	32,4	5	13,5	0,804
	Pozitif	39	48,1	28	34,6	14	17,3	
<b>BCL2</b>	Negatif	31	56,4	14	25,5	10	18,2	0,15
	Pozitif	25	44,6	24	42,9	7	12,5	
<b>BCL6</b>	Negatif	6	42,9	4	28,6	4	28,6	0,268
	Pozitif	51	49,0	40	38,5	13	12,5	
<b>c-MYC</b>	Negatif	25	49,0	20	39,2	6	11,8	0,691
	Pozitif	12	52,2	7	30,4	4	17,4	

Her 3 grup arasında tPD-L1 ve MUM1, BCL2, BCL6, c-MYC immunhistokimyasal boyanması açısından anlamlı bir ilişki saptanmadı.

**Tablo 9. 3'lü gruplarda tPD-L1 boyanma yüzdesi ve EBV ile ilişkisi**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi						p
		<%1		%1-49		≥%50		
		n	%	n	%	n	%	
EBV	Negatif	7	29,2	11	45,8	6	25,0	0,913
	Pozitif	1	33,3	1	33,3	1	33,3	

Gruplarda PD-L1 ve EBV-LMP1 immnunhistokimyasal ya da EBER ISH pozitifliği arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 10. 3'lü gruplarda Ki-67 proliferasyon indeksi ve tPD-L1 boyanma yüzdesi arasındaki ilişki**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi			p
		<%1	%1-49	≥%50	
		Ortanca (min-max)	Ortanca (min-max)	Ortanca (min-max)	
Ki-67		85(0-100)	80(0-100)	87,5(45-100)	0,343

İmmunhistokimyasal olarak PD-L1 ve Ki-67 proliferasyon indeks arasında 3 grup için anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 11. 3'lü gruplarda, olguların tPD-L1 boyanma yüzdesi ve IPI skoru ile ilişkisi**

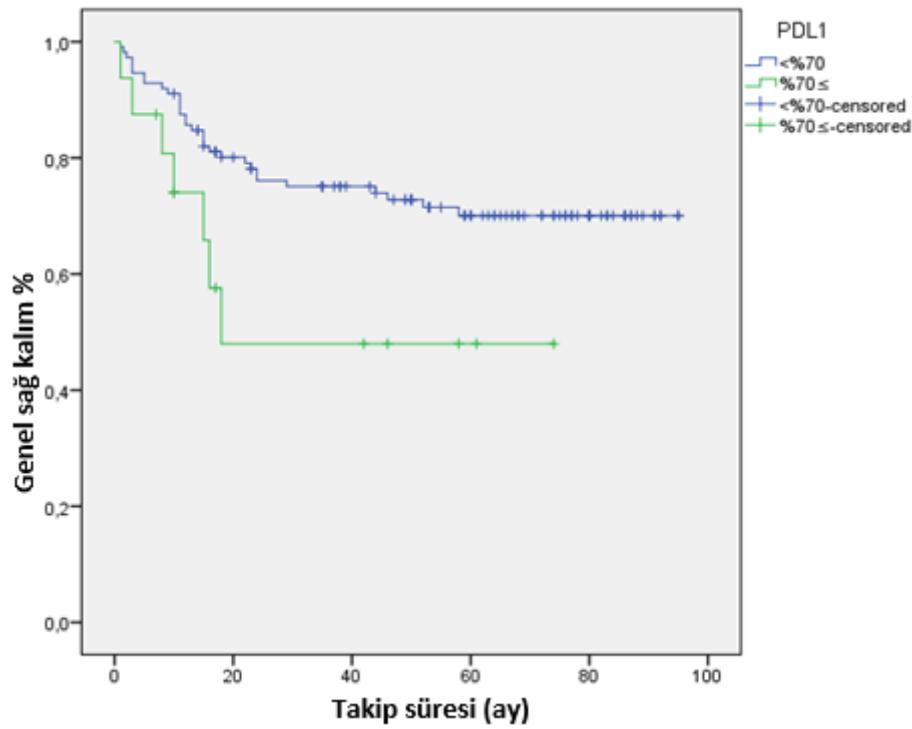
IPI SKORU		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi						p
		<%1		%1-49		≥%50		
		n	%	n	%	n	%	
0	9	60,0%	5	33,3%	1	6,7%	0,160	
1	18	66,7%	4	14,8%	5	18,5%		
2	11	47,8%	10	43,5%	2	8,7%		
3	14	42,4%	14	42,4%	5	15,2%		
4	14	53,8%	9	34,6%	3	11,5%		
5	1	20,0%	1	20,0%	3	60,0%		

Her 3 grupta da IPI skoru ve tPD-L1 boyanması arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 12. Olgularda, farklı kesme değerlerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve kanser spesifik sağ kalım arasındaki ilişki**

Kesme değeri	n(%)	p
%1	63(49,2)	0,344
%5	37(28,9)	0,149
%10	28(21,9)	0,165
%20	25(19,5)	0,196
%30	25(19,5)	0,196
%40	24(18,8)	0,138
%50	19(14,8)	0,171
%60	17(13,3)	0,059
<b>%70</b>	<b>16(12,5)</b>	<b>0,028</b>
%80	14(10,9)	0,044

PD-L1 tümör boyanması ile kanser spesifik ve genel sağ kalım değerleri arasında %1, %5, %10, %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80 kesme değerleri için analizler yapıldı. %70 kesme değeri için kanser spesifik ve genel sağ kalımın belirgin şekilde azaldığı görüldü (p:0,028; 0,039).



**Şekil 12. %70 kesme değerine göre genel sağ kalım ve süre arasındaki ilişki**



5 yıllık sağ kalım oranı, kesme değeri < %70 grup hastalarda %71,1; kesme değeri ≥ %70 olan grup hastalarda % 48 olarak tespit edilmiştir. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time); kesme değeri < %70 grupta olanlarda 72,14±3,50 (65,2-79,01) ay; kesme değeri ≥ %70 olanlarda 41,2±8,8 (23,8-58,6) ay olarak saptandı. Her iki grup arasında sağ kalım açısından anlamlı fark izlendi.

**Tablo 13. Olguların 5'li grup halinde, tPD-L1 ve farklı klinik parametrelerle ilişkisi**

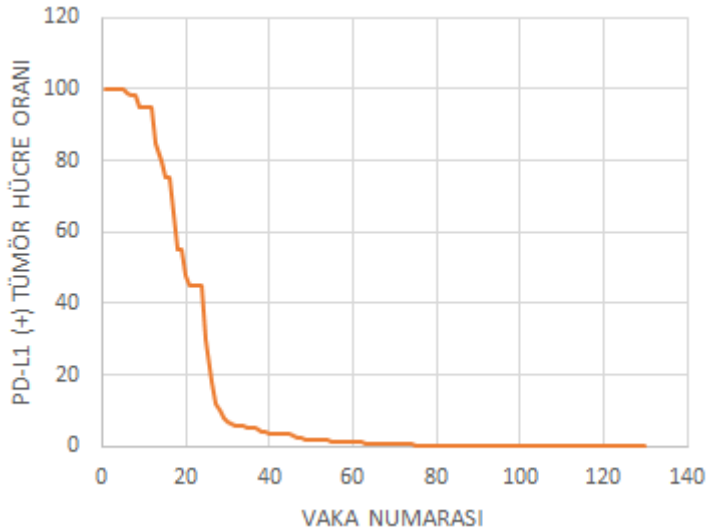
		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi										p
		<%1		%1-29		%30-49		%50-69		≥%70		
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
<b>Yaş</b>	60 yaş ve altı	44	58,7	19	25,3	1	1,3	1	1,3	10	13,3	0,09
	60 yaş üzeri	23	41,8	19	34,5	5	9,1	2	3,6	6	10,9	
<b>B semptomu</b>	Yok	46	51,7	28	31,5	3	3,4	2	2,2	10	11,2	0,72
	Var	21	52,5	9	22,5	3	7,5	1	2,5	6	15,0	
<b>LDH</b>	LDH Normal değerler ve altı	30	56,6	16	30,2	1	1,9	1	1,9	5	9,4	0,64
	LDH Normal değerden yüksek	37	48,7	22	28,9	5	6,6	2	2,6	10	13,2	
<b>ECOG Performans Skoru</b>	<2	54	51,4	32	30,5	5	4,8	2	1,9	12	11,4	0,82
	≥2	13	54,2	5	20,8	1	4,2	1	4,2	4	16,7	
<b>Ekstranodal Tutulum</b>	2'nin altında tutulum bölgesi	34	54,0	18	28,6	3	4,8	1	1,6	7	11,1	0,96
	2 ve üzerinde tutulum bölgesi	33	50,0	19	28,8	3	4,5	2	3,0	9	13,6	
<b>IPI Skoru</b>	2 ve altında	38	58,5	17	26,2	2	3,1	1	1,5	7	10,8	0,60
	3 ve üstünde	29	45,3	20	31,3	4	6,3	2	3,1	9	14,1	

PD-L1 tümör boyanması <1, %1-29, %30-49, %50-69,  $\geq 70$  kesme değerleri ile 5 gruba ayrıldığında, gruplar arasında yaş, B semptomları, LDH düzeyi, ECOG performans skoru, ektranodal tutulum, ve IPI skoru açısından anlamlı farklılık görülmedi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 14. %70 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve tedaviye yanıt arasındaki ilişki**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
		<%70		$\geq$ %70		
		n	%	n	%	
YANIT	Parsiyel Yanıt	10	90,9	1	9,1	0,108
	Komplet Yanıt	73	90,1	8	9,9	
	Refrakter, Stabil Hastalık	15	71,4	6	28,6	

%70 kesme değerine göre olguların tedaviye yanıtları arasında istatistiksel olarak belirgin yanıt farkı saptanmadı.



**Şekil 13. Olguların tPD-L1 boyanma yüzdesine göre dağılımı**

Olgular %100'den %0'a doğru tPD-L1 boyanma yüzdesine göre sıralandı. %30'luk tPD-L1 oranı çalışmamızda kullanılan kesme değerlerinden birisi olarak kabul edildi.

**Tablo 15. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve yaş, hemoglobin, MCV, trombosit sayısı arasındaki ilişki**

	tPD-L1 Boyanma Yüzdesi		p
	<%30	≥%30	
	Ortanca (min-max)	Ortanca (min-max)	
<b>YAŞ</b>	56 (18-86)	61 (23-87)	0,624
<b>MCV</b>	85,6 (40,7-96)	85,6 (60-95)	0,564
<b>WBC</b>	7700 (2500-21500)	7268 (2700-19300)	0,664
<b>PLT</b>	259 (27-895)	309 (65-1228)	0,176
<b>HGB*</b>	12,2±2,2	11,0±2,5	<b>0,023</b>

\*Sürekli verilerin karşılaştırmasında normal dağılıma uyan hemoglobin değeri için student t testi, diğerlerinde Mann Whitney U testi yapılmıştır.

Gruplar arasında hemoglobin değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı (p:0,023).

**Tablo 16. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile yaş grupları, cinsiyet ve B semptomu arasındaki ilişki**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
		<%30		≥%30		
		n	%	n	%	
<b>Cinsiyet</b>	Erkek	54	77,1	16	22,9	0,257
	Kadın	51	85,0	9	15,0	
<b>Yaş</b>	60 yaş ve Altı	63	84,0	12	16,0	0,275
	60 yaş üzeri	42	76,4	13	23,6	
<b>B Semptomu</b>	Yok	74	83,1	15	16,9	0,279
	Var	30	75,0	10	25,0	

%30 kesme değerinde cinsiyet, yaş ve B semptomları açısından gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu (p>0,05).

**Tablo 17. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile bazı klinik ve laboratuvar parametreler arasındaki ilişki**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
		<%30		≥%30		
		n	%	n	%	
<b>LDH</b>	LDH Normal Değerler ve Altı	46	86,8	7	13,2	0,188
	LDH>Normal Değerler	59	77,6	17	22,4	
<b>ECOG Performans Skoru</b>	2'den küçük	86	81,9	19	18,1	0,567
	2 ve daha büyük	18	75,0	6	25,0	
<b>Ekstranodal Tutulum</b>	2 altında bölge	52	82,5	11	17,5	0,590
	2 ve üzerinde bölge	52	78,8	14	21,2	
<b>Ann Arbor Evre Grupları</b>	Evre 1 ve 2	45	90,0	5	10,0	0,032
	Evre 3 ve 4	59	74,7	20	25,3	
<b>B2 Mikroglobülin</b>	Yok	29	85,3	5	14,7	0,416
	Var	59	78,7	16	21,3	

%30'luk kesme değerinde PD-L1 pozitifliği ile LDH düzeyleri, ECOG performans skoru ve ekstranodal tutulum sayısı ve Beta-2 Mikroglobülin gibi klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 18. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile alt tipler arasındaki ilişki**

	tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
	<%30		≥%30		
	n	%	n	%	
<b>NOS, GMB-Benzeri Fenotip</b>	47	94,0	3	6,0	<b>0,006</b>
<b>NOS, AB- Benzeri Fenotip</b>	42	71,2	17	28,8	
<b>THZBBL</b>	4	57,1	3	42,9	
<b>PMBBHL</b>	5	83,3	1	16,7	

PD-L1 tümör boyanması ile gruplar arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 19. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile DBBHL, NOS alt tiplerinin karşılaştırılması**

	tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
	<%30		≥%30		
	n	%	n	%	
<b>NOS, GMB-Benzeri Fenotip</b>	47	94,0	3	6,0	<b>0,002</b>
<b>NOS, AB-benzeri fenotip</b>	42	71,2	17	28,8	

Posthoc analizler sonucunda PD-L1 tümör boyanması açısından farklılığın sebebi DBBHL, NOS; AB-benzeri ve GMB-benzeri alt gruplar arasındaki anlamlı farklılık saptanmasından kaynaklandığı görüldü ( $p:0,002$ ).

**Tablo 20. %30 kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ile alt tiplerin karşılaştırılması**

	tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
	<%30		≥%30		
	n	%	n	%	
<b>DBBHL NOS</b>	93	82,3	20	17,7	0,128
<b>THZBHL</b>	4	57,1	3	42,9	
	n	%	n	%	<b>p</b>
<b>DBBHL NOS</b>	93	82,3	20	17,7	1
<b>PMBBHL</b>	5	83,3	1	16,7	

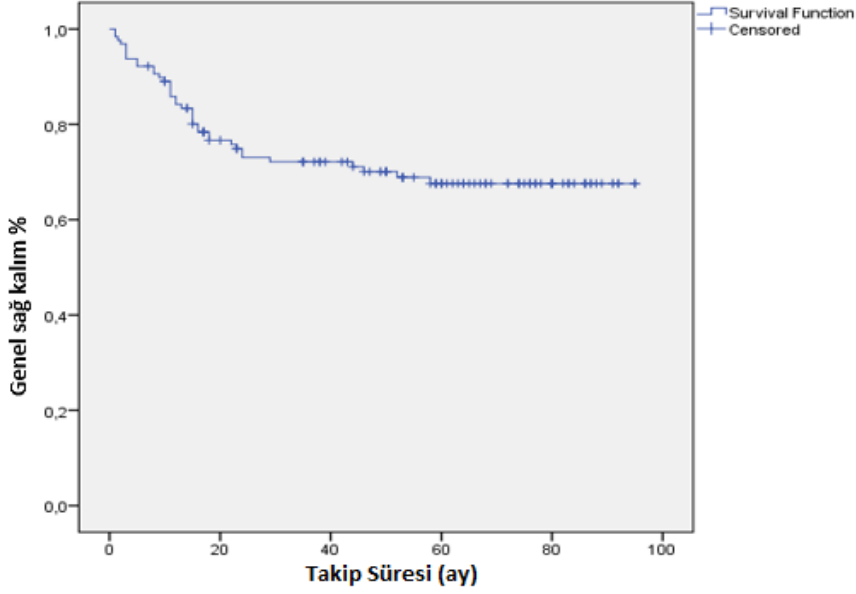
DBBHL NOS sınıflandırılmamış vakalar, DBBHL NOS AB-benzeri ve DBBHL NOS GMB-benzeri fenotip grupları birleştirilip, THZBBL ve PMBBHL grupları ile karşılaştırıldığında tPD-L1 boyanmasında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 21. DBBHL ve DBBHL, NOS olgularında farklı kesme değerlerinde tPD-L1 ekspresyonu ve kanser spesifik sağ kalım değerleri arasında ilişki**

DBBHL		
Kesme değeri	n(%)	p
1%	63(49,2)	0,344
5%	37(28,9)	0,149
10%	28(21,9)	0,165
20%	25(19,5)	0,196
30%	25(19,5)	0,196
40%	24(18,8)	0,138
50%	19(14,8)	0,171
60%	17(13,3)	0,059
<b>70%</b>	<b>16(12,5)</b>	<b>0,028</b>
80%	14(10,9)	0,044

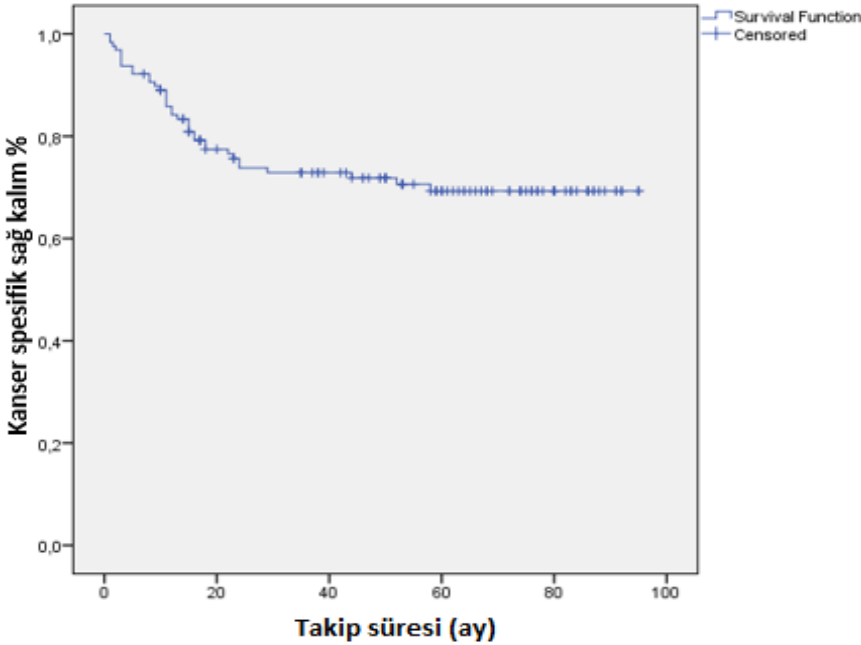
DBBHL, NOS		
Kesme değeri	n(%)	p
1%	53(46,9)	0,47
5%	31(27,4)	0,210
10%	23(20,4)	0,089
20%	20(17,7)	0,116
30%	20(17,7)	0,116
40%	19(16,8)	0,072
50%	14(12,4)	0,074
<b>60%</b>	<b>12(10,6)</b>	<b>0,011</b>
<b>70%</b>	<b>11(9,7)</b>	<b>0,002</b>
80%	10(8,8)	0,015

Tüm vakalarda ilk kez %70'lik kesme değerinde gruplar arasında 5 yıllık sağ kalımlar arasında anlamlı farklılık görülmüştü. Bu oran DBBHL, NOS vakalarında ilk kez %60 kesme değerinde görüldü; ancak p değeri %70'lik kesme değerinde 0,002 olarak hesaplanmıştır.



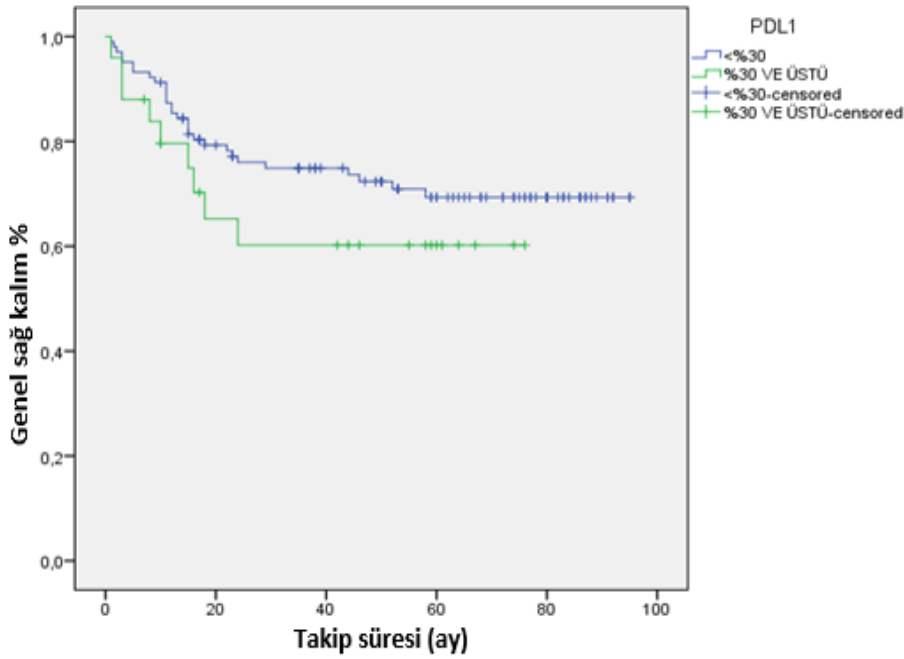
**Şekil 14. Olgularımızda 3 yıllık genel sağ kalım ve süre grafiği**

128 vakanın 3 yıllık genel sağ kalım oranı %72,1 iken, 5 yıllık sağ kalım oranı %67,6 olarak tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time)  $69,8 \pm 3,4$  (63,2-76,5) ay olarak saptandı.



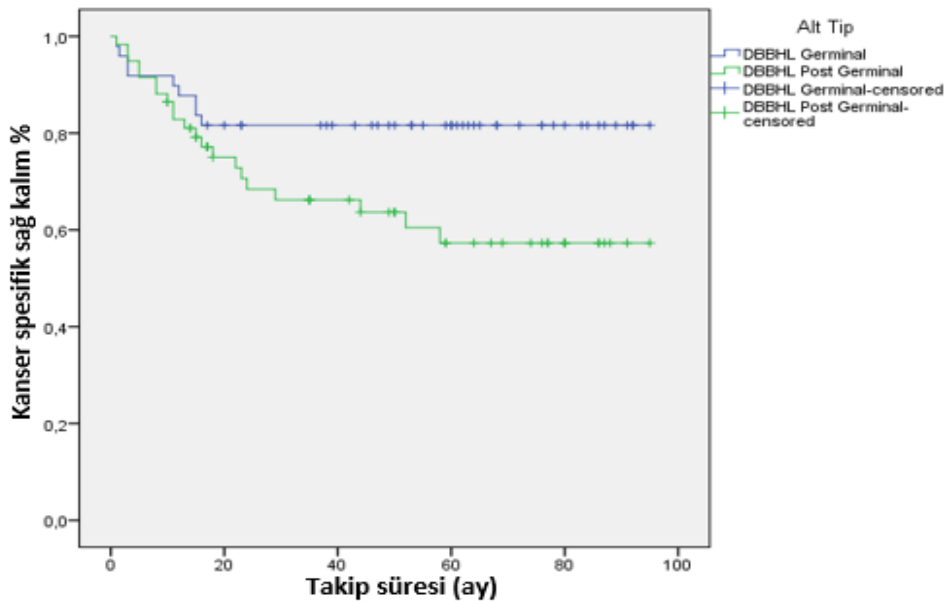
**Şekil 15. Olgularımızda 3 yıllık kanser spesifik sağ kalım ve süre grafiği**

126 vakanın 3 yıllık kanser spesifik sağ kalım oranı %72,9 iken 5 yıllık kanser spesifik sağ kalım oranı %69,3 olarak tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time)  $70,9 \pm 3,4$  (64,2-77,6) ay olarak tespit edildi.



**Şekil 16. Olgularımızda 5 yıllık genel sağ kalım ve süre grafiği**

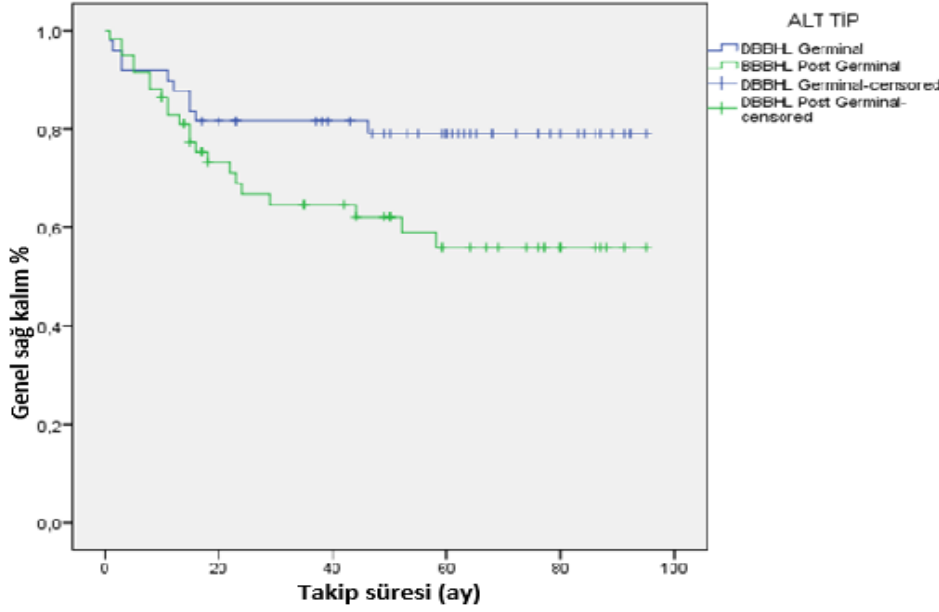
5 yıllık sağ kalım oranı kesme değeri  $<30$  grup vakalarda %69,3 ve kesme değeri  $\geq 30$  grup vakalarda ise % 60,2 olarak tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time) istatistiksel olarak kesme değeri  $<30$  grupta  $71,7 \pm 3,7$  (64,5-78,9) ay ve kesme değeri  $\geq 30$  grupta ise  $50,4 \pm 6,7$  (37,2-63,5) ay olarak saptandı. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (log rank p :0,261).



**Şekil 17. DBBHL (AB-benzeri ve GMB-benzeri fenotip) kanser spesifik sağ kalım ve süre grafiği**



5 yıllık kanser spesifik sağ kalım oranı AB-benzeri (post germinal merkez) fenotip hastalarda %57,3; GMB-benzeri (germinal merkez) fenotip hastalarda %81,6 olarak tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time); AB-benzeri fenotipte  $63,6 \pm 5,4$  (53,0-74,1) ay; GMB-benzeri fenotipte  $79,1 \pm 4,8$  (69,7-88,5) ay olarak saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (log rank p :0,036).



**Şekil 18. DBBHL, (AB-benzeri ve GMB-benzeri fenotip) genel sağ kalım ve süre grafiği**

5 yıllık genel sağ kalım oranı AB-benzeri (post germinal merkez) fenotip hastalarda %55,9; GMB-benzeri (germinal merkez) fenotip hastalarda % 79,1 olarak tespit edilmiştir. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time); AB-benzeri fenotipte  $62,4 \pm 5,4$  (51,8-73,0) ay; GMB benzeri fenotipte  $77,9 \pm 4,9$  (68,3-87,4) ay olarak saptandı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı (log rank p:0,039).

**Tablo 22. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 ve farklı İHK antikörlerle ilişkisi**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
		<%30		≥%30		
		n	%	n	%	
<b>MUM1</b>	Negatif	31	83,8	6	16,2	0,372
	Pozitif	62	76,5	19	23,5	
<b>BCL2</b>	Negatif	45	81,8	10	18,2	0,668
	Pozitif	44	78,6	12	21,4	
<b>BCL6</b>	Negatif	10	71,4	4	28,6	0,470
	Pozitif	85	81,7	19	18,3	
<b>c-MYC</b>	Negatif	40	78,4	11	21,6	0,764
	Pozitif	19	82,6	4	17,4	
<b>EBV</b>	Negatif	15	62,5	9	37,5	1,000
	Pozitif	2	66,7	1	33,3	
<b>CD10</b>	Negatif	62	72,1	24	27,9	<b>0,003</b>
	Pozitif	32	97	1	3	

%30 kesme değerinde PD-L1 boyanması ve MUM1, BCL2, BCL6, c-MYC immunhistokimyasal çalışma sonuçları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. tPD-L1 boyanması ile EBV LMP-1 İHK ya da EBER ISH sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi ( $p>0,05$ ). CD10 ile PD-L1 tümör hücresi boyanması arasında negatif bir korelasyon izlendi ( $p:0,003$ ).

**Tablo 23. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve Ki-67 proliferasyon indeksi arasındaki ilişki**

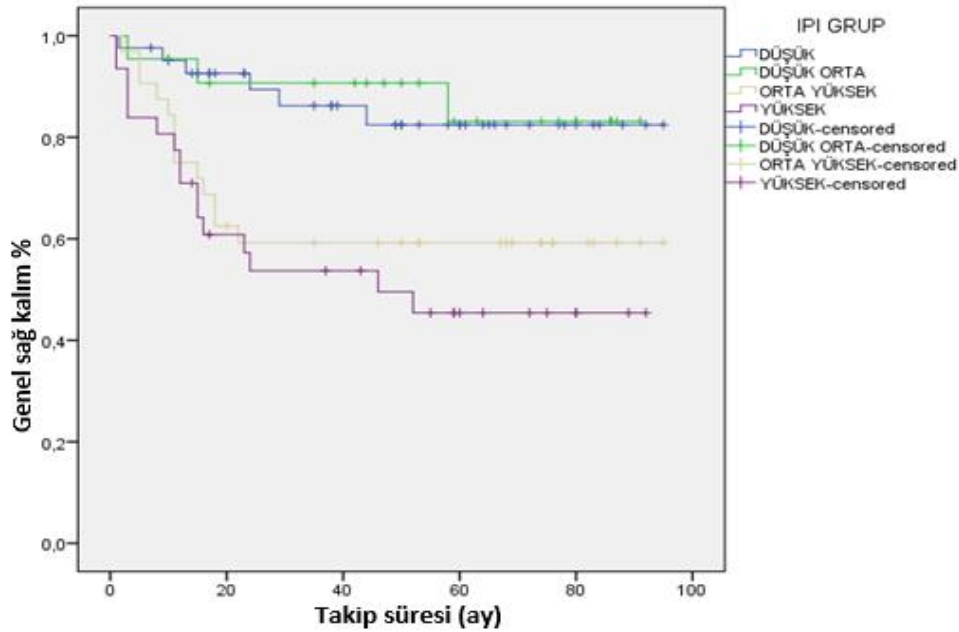
	tPD-L1 Boyanma Yüzdesi		p
	<%30	≥%30	
	Ortanca (min-max)	Ortanca (min-max)	
<b>Ki -67 proliferasyon indeksi</b>	85(0-100)	85(0-100)	0,588

Ki-67 proliferasyon indeksi ile %30 kesme değerinde tPD-L1 boyanma yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0,005$ ).

**Tablo 24. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 ile Ann Arbor evresi ve IPI skoru arasındaki ilişki**

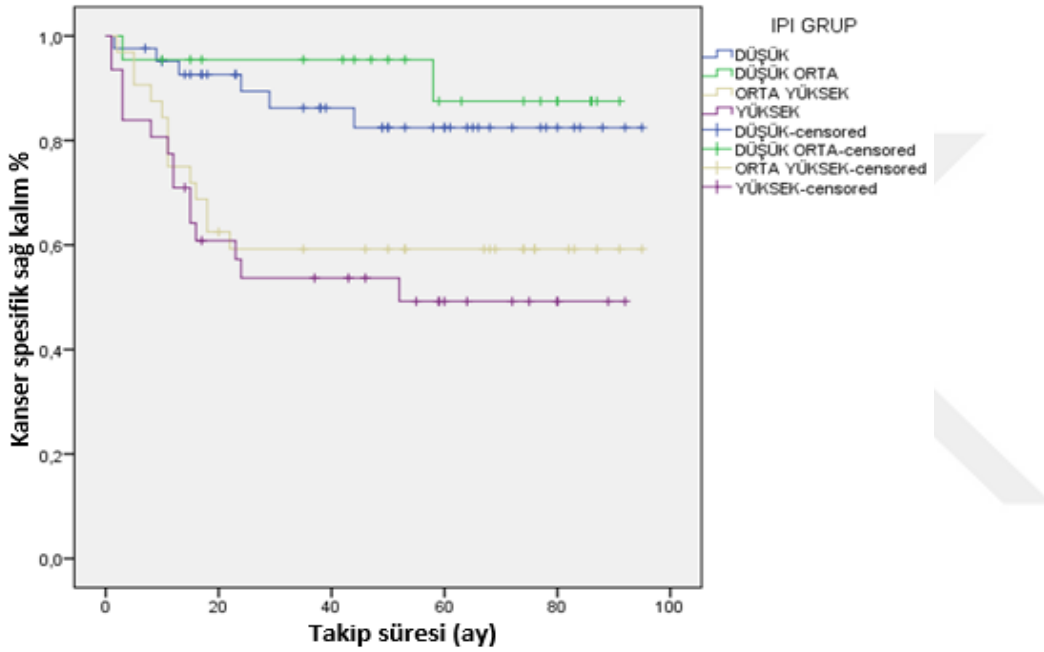
		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
		<%30		≥%30		
		n	%	n	%	
<b>Ann Arbor</b>	Evre 1 ve 2	45	90,0	5	10,0	<b>0,032</b>
	Evre 3 ve 4	59	74,7	20	25,3	
<b>IPI Skoru</b>	0	14	93,3	1	6,7	0,053
	1	22	81,5	5	18,5	
	2	19	82,6	4	17,4	
	3	26	78,8	7	21,2	
	4	22	84,6	4	15,4	
	5	1	20,0	4	80,0	
<b>IPI Grupları</b>	2 veya daha az	55	84,6	10	15,4	0,247
	3 veya üzeri	49	76,6	15	23,4	

tPD-L1 tümör boyanma yüzdesi ile Ann Arbor evre I-II hastalar ve evre III-IV hastalar arasında anlamlı ilişki saptandı (p:0,032), ancak IPI skoru ile sınırdaki istatistiksel ilişki bulundu (p:0,053).



**Şekil 19. IPI skoruna göre genel sağ kalım süre grafiği**

5 yıllık sağ kalım oranı düşük grupta %82,5; düşük-orta grupta %83,1; orta yüksek grupta %59,2; yüksek grupta %45,4 olarak tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time); düşük grupta  $82,3 \pm 4,8$  (73,0-91,6) ay; düşük-orta grupta  $80,9 \pm 5,5$  (70,1-91,7) ay; orta-yüksek grupta  $61,0 \pm 7,3$  (46,8-75,3) ay; yüksek grupta  $50,8 \pm 7,2$  (36,6-65,0) ay olarak tespit edilmiş olup gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı (log rank p:0,001).



**Şekil 20. IPI skoruna göre kanser spesifik sağ kalım süre grafiği**

5 yıllık kanser spesifik sağ kalım oranı düşük grupta %82,5; düşük orta grupta %87,5; orta yüksek grupta %59,2; yüksek grupta %49,2 olarak tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi (mean for survival time); düşük grupta  $82,3 \pm 4,8$  (72,9-91,6) ay; düşük-orta grupta  $84,4 \pm 4,5$  (75,5-93,2) ay; orta-yüksek grupta  $61,0 \pm 7,3$  (46,8-75,3) ay; yüksek grupta  $52,6 \pm 7,3$  (38,2-67,0) ay olarak tespit edilmiş olup gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı (log rank p:0,001).

**Tablo 25. 5 yıllık kanser spesifik sağ kalım ve klinik parametrelerle ilişkisi**

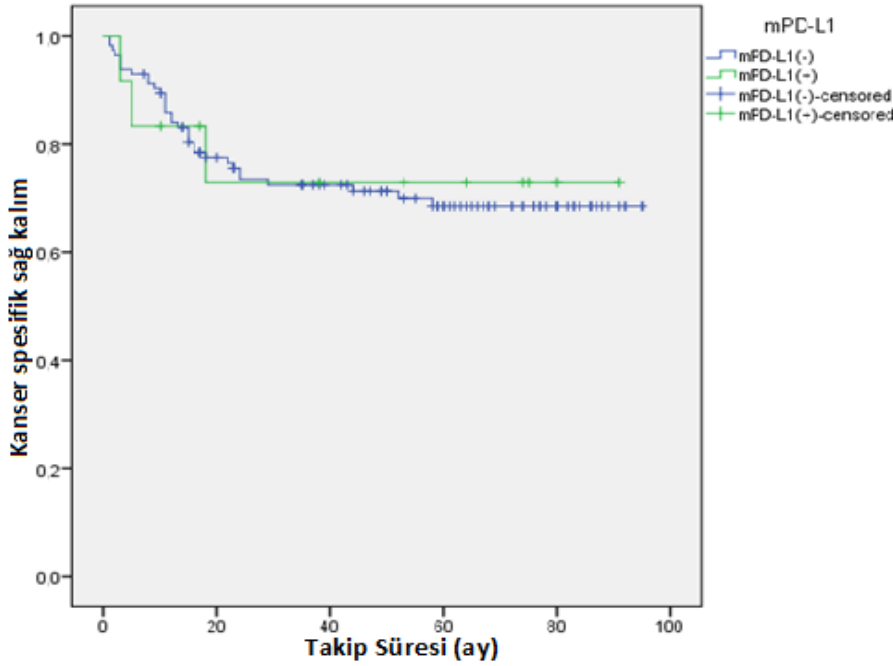
		<b>Ortalama± standart hata (%95 Güven Aralığı)</b>	<b>5 yıllık sağkalım %</b>	<b>p</b>
<b>Cinsiyet</b>	Erkek	65,6±4,4(59,9-77,3)	68,6	0,882
	Kadın	71,4±5,0(61,6-81,2)	70,6	
<b>Yaş</b>	60 yaş ve altı	78,8±3,9(71,2-86,4)	78,4	<b>0,006</b>
	60 yaş üzeri	58,1±5,4(47,5-68,8)	57,1	
<b>B semptomu</b>	Yok	75,2±3,9(67,7-82,9)	74,7	<b>0,044</b>
	Var	59,2±6,4(46,7-71,7)	56,9	
<b>LDH</b>	LDH Normal değerler ve altı	80,2±4,5(71,5-89,0)	78,9	<b>0,044</b>
	LDH Normal değerlerden büyük	65,5±4,7(56,4-74,7)	63,7	
<b>ECOG Performans Skoru</b>	2'den küçük	74,6±3,6(67,6-81,5)	73	<b>0,011</b>
	2 ve daha büyük	50,6±8,4(34,2-67,1)	51,5	
<b>Ekstranodal Tutulum</b>	2'nin altında ekstranodal tutulum bölgesi	76,5±4,6(67,5-85,4)	77,6	0,137
	2 ve üzerinde ekstranodal tutulum bölgesi	65,9±4,9(56,3-75,5)	62,1	
<b>Ann Arbor Evresi</b>	Evre I ve II	81±4,5(72,2-89,9)	81,9	<b>0,021</b>
	Evre III ve IV	64,3±4,6(55,3-73,4)	61,2	
<b>IPI Skoru</b>	0	88,8±6,0(77,0-100,6)	93,3	<b>0,005</b>
	1	73,5±5,8(62,2-84,8)	76,7	
	2	84,4±4,5(75,5-93,3)	87,5	
	3	61,0±7,3(46,8-75,3)	59,2	
	4	54,4±8,0(39,7-70,0)	50,9	
	5	42,2±17,4(8,1-76,3)	40	
<b>IPI Skoru</b>	2 ve daha az	84,3±3,5(77,5-91,2)	84,3	<b>&lt;0,001</b>
	3 ve üstü	57,6±5,3(47,2-68,8)	54,4	

5 yıllık genel sağ kalım kalım ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki görülmedi ( $p>0,05$ ). 5 yıllık sağ kalım ile yaş grupları, B semptomu varlığı, LDH düzeyleri, ECOG performans skoru, Ann Arbor evre grupları ve IPI skoru arasında anlamlı fark mevcuttu ( $p<0,05$ ). Revize edilmiş IPI skoruna göre vakalar 2 gruba ayrıldığında 5 yıllık sağ kalımlar arasındaki ilişki çok belirgindi ( $p<0,001$ ).

**Tablo 26. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 boyanma yüzdesi ve tedaviye yanıt**

		tPD-L1 Boyanma Yüzdesi				p
		<%30		≥%30		
		n	%	n	%	
YANIT	Parsiyel Yanıt	10	90,9	1	9,1	0,082
	Komplet Yanıt	67	82,7	14	17,3	
	Refrakter, Stabil Hastalık	13	61,9	8	38,1	

%30'luk kesme değerinde tPD-L1 boyanma yüzdesi ile tedaviye yanıt arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi (p:0,082).



**Şekil 21. Tümör dışı hücre boyanması (mPD-L1) ve kanser spesifik sağ kalım arasındaki ilişki**

3 yıllık sağ kalım oranı mPD-L1(-) grup hastalarda %72,5 iken, mPD-L1(+) olan grupta %72,9 dur. 5 yıllık sağ kalım oranı mPD-L1(-) grup hastalarda %68,5 iken mPD-L1(+) olan grupta %72,9 (3 yıldan sonra ölen olmadığından) olarak tespit edildi. Ortalama sağ kalım süresi ise (mean for survival time); mPD-L1(-) grupta  $70,5 \pm 3,6$  (63,4-77,5) ay; mPD-L1(+) grupta  $68,9 \pm 11,0$  (47,3-90,4) ay olarak tespit edilmiş olup gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (log rank p :0,878).

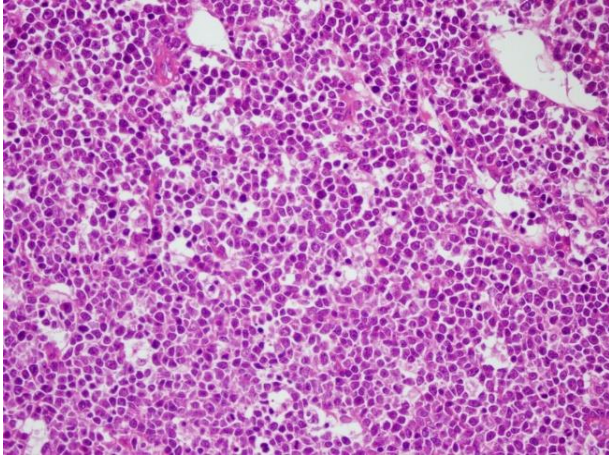
**Tablo 27. Cox regresyon analizi**

		<b>HR *</b>	<b>%95 GÜVEN ARALIĞI</b>		<b>p</b>
<b>Yaş Grupları</b>	60 ve altı (REF)**	2,267	2,267	1,100	0,027
<b>B Semptomu</b>	Yok (REF)	1,593	,749	3,390	,227
<b>LDH Düzeyi</b>	LDH normal değerler ve altı (REF)	,545	,178	1,673	,289
<b>ECOG Performans Skoru</b>	2'den küçük (REF)	1,427	,622	3,277	,401
<b>Ann Arbor Evre Grupları</b>	Evre I+II (REF)	,869	,287	2,628	,804
<b>IPI Skoru</b>	0-1-2(REF)	4,658	1,073	20,211	,040
<b>tPD-L1 Boyanması</b>	%70'in altı (REF)	2,646	1,049	6,675	,039

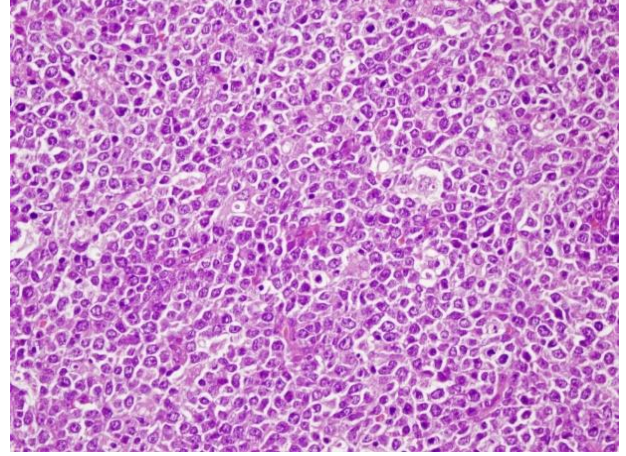
\*Hazard Ratio, \*\*Referans

Cox regresyon analizine, tek değişkenli (univariate) analizlere dahil edilen değişkenlerden; yaş, B semptom durumu, LDH düzeyi, ECOG performans skoru, Ann Arbor evre grupları, IPI skoru ve tPD-L1 %70 kesme değeri alınmıştır (Cox regresyon kıkare değeri: 29,488; p:0,001).

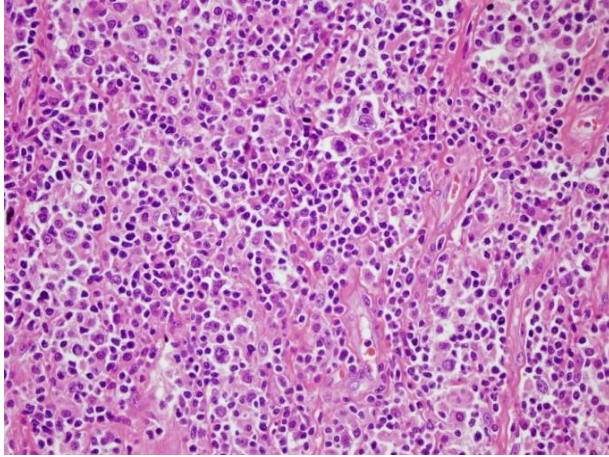
Analiz sonucunda sağ kalım açısından 60 yaş üstü olma 2,27 kat, tPD-L1 düzeyinin %70 ve üzerinde olması 2,65 kat, IPI skorunun 3 ve üzerinde olması 4,66 kat daha kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.



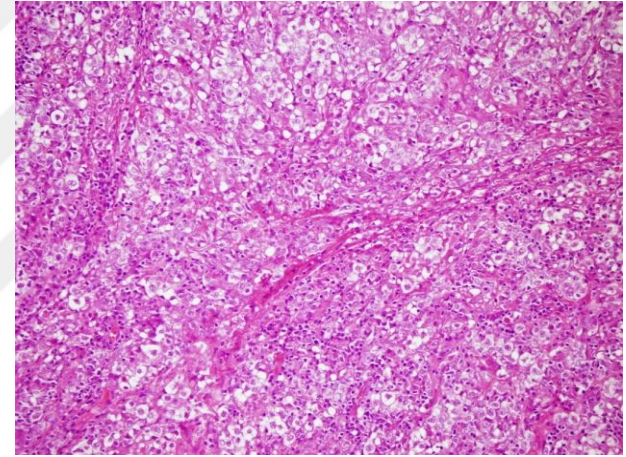
**Resim 1. DBBHL, NOS AB-benzeri fenotip H&E x400**



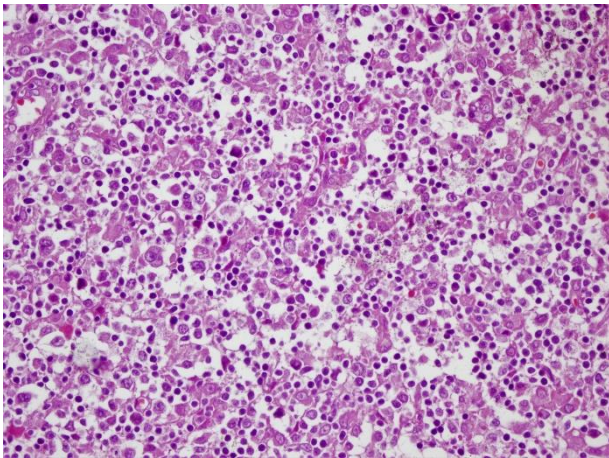
**Resim 2. DBBHL, NOS GMB-benzeri fenotip H&E x400**



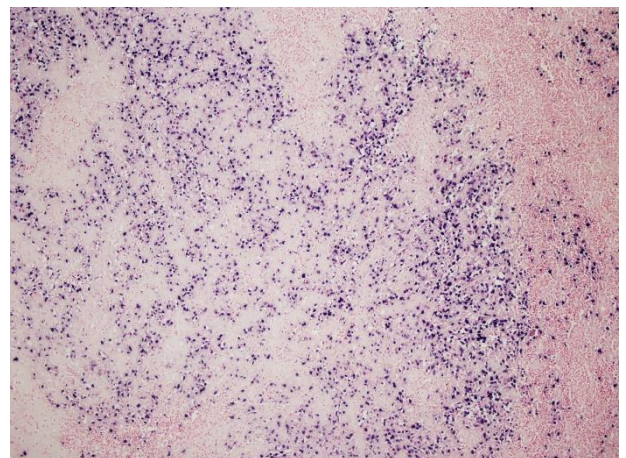
**Resim 3. THZBHL, H&E x400**



**Resim 4. PMBBHL, ince sklerotik bantlar ile ayrılmış tümör hücre grupları, H&E x400**

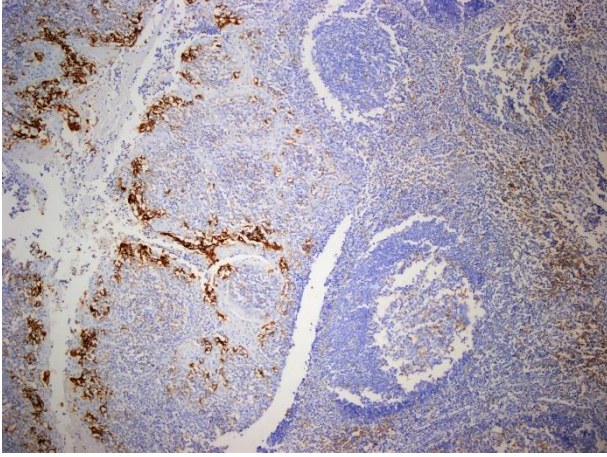


**Resim 5. EBV pozitif DBBHL, NOS H&E x400**

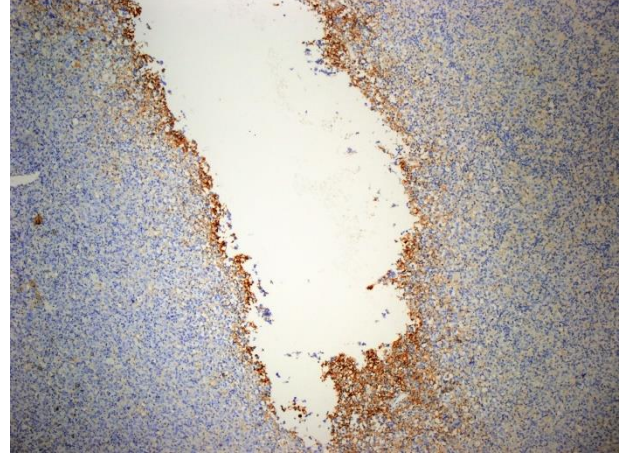


**Resim 6. EBV pozitif DBBHL, NOS EBER ISH x200**

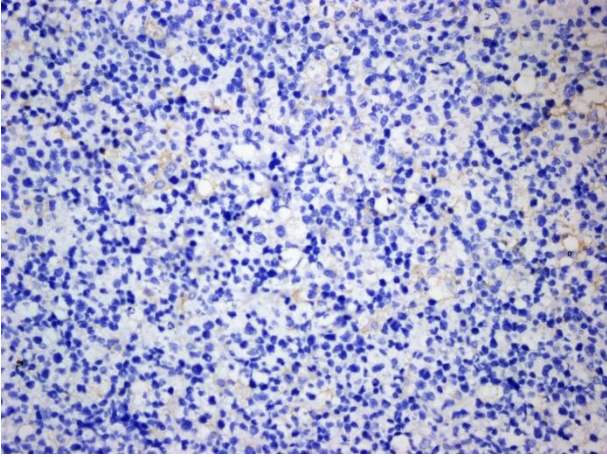




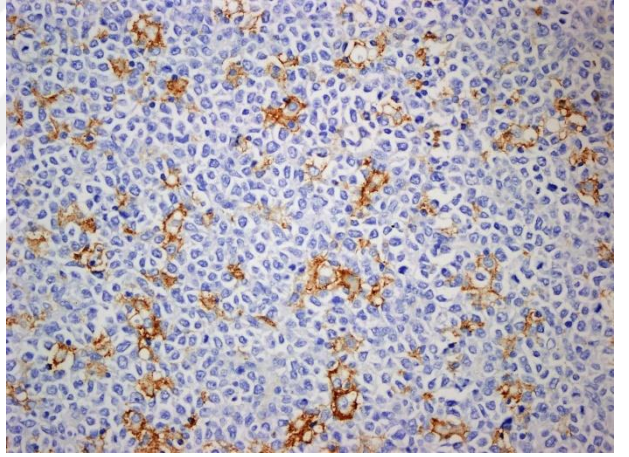
**Resim 7. Kontrol dokusu olan tonsil kript epitelinde kuvvetli, foliküllerde zayıf membranöz PD-L1 pozitifliği, İHK x40**



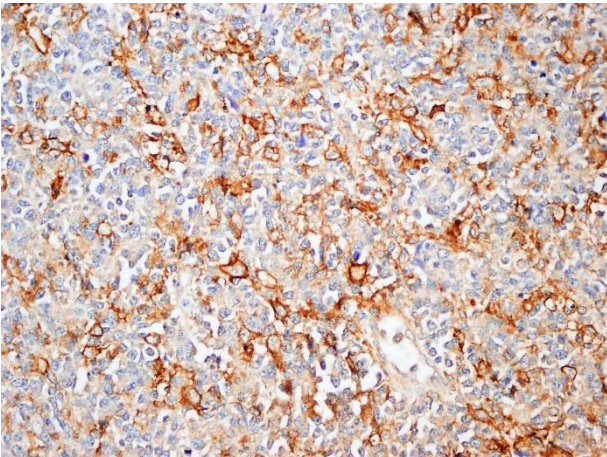
**Resim 8. PD-L1 artifisyel kenar boyanması, İHK x40**



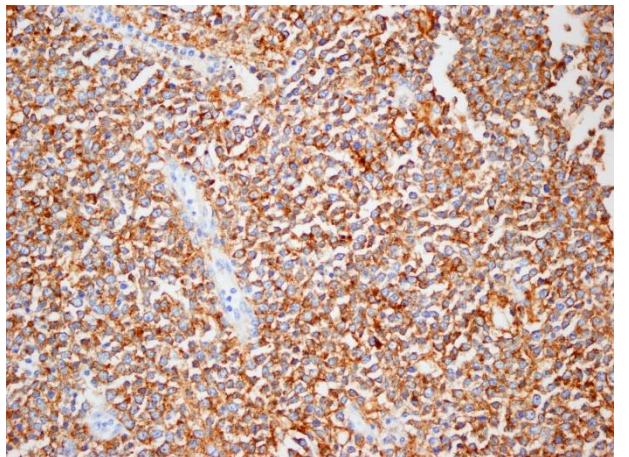
**Resim 9. Tümörde PD-L1 negatifliği, İHK x400**



**Resim 10. Tümörde %30'dan az PD-L1 pozitifliği, İHK x400**



**Resim 11. Tümörde %30'un üstünde PD-L1 pozitifliği, İHK x400**



**Resim 12. Tümörde %100 PD-L1 pozitifliği, İHK x400**

## 5. TARTIŞMA

Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomalar %30-40'lık oran ile Hodgkin dışı lenfomalar arasında en sık görülen, oldukça agresif gidişli B hücreli neoplazmlardır. Yapılan moleküler, genetik ve klinik çalışmalarla heterojen bir hastalık grubu olduğu anlaşılan DBBHL'larda bir anti CD20 antikoru olan rituksimabın 1997 yılından sonra tedavide kullanılması ile hastaların yaklaşık %60'ında kür sağlanmaktadır. Ancak kalan %30- 40'lık kesimde hastalık refrakter olarak seyretmekte ya da tedavi edilmiş olgular nüks edebilmektedir (1,3,7,8).

Son yıllarda klasik tedavilerin dışında yerini almaya başlayan immunoterapi, farklı tedavi modülasyonları ile birlikte ya da tek başına hastaların tedavisinde kullanılmaktadır. 2011 yılında bir CTLA-4 inhibitörü olan 'ipilimumabın' melanom hastalarında FDA tarafından onaylanmasından sonra, ilk defa bir PD-1 immün kontrol noktası inhibitörü olan 'pembrolizumab'ın akciğerin küçük hücreli dışı karsinomlarında kullanımı kabul edildi. Literatürde yapılan farklı çalışmaların ardından melanomlar dışında, gastrointestinal sistem, meme ve böbrek karsinomları gibi farklı bölgelerin solid tümör türlerinde de PD-L1 antikorları tedavideki yerini almıştır (131,154). Bu süreçte hematolojik malignitelerden klasik Hodgkin lenfomada 2016 yılında, primer mediastinel büyük B hücreli lenfomada ise 2017 yılında 'pembrolizumab' FDA onayını alarak tedavide kullanılmaya başlanmıştır (131,171).

Literatürde DBBHL'larda da PD1/PD-L1 yolağı ile ilgili pek çok çalışmanın yapılageldiği görülmektedir. Çalışmalara bakıldığında net bir kesme değerinden (cut-off) bahsetmek mümkün değildir. Kwon D. ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptığı çalışmada PD-L1 pozitifliği için kesme değeri %10, Kiyasu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise %30 olarak kabul edildiği görülmüştür (9,172). Öte yandan literatürdeki çalışmalarda %5, %25 ve %50 gibi farklı kesme değerlerinin kullanıldığı da görülmektedir. Kesme değerlerinin hesaplanması için PD-L1 pozitif tümör hücreleri bulunan vakaların karşısında kıyaslayacak değişmez bir grubun olmaması, bu konuda belirli bir yöntemin bulunmayışı ve PD-L1 immunhistokimyasal pozitifliğini değerlendirmedeki farklı uygulamaların bu belirsizliğe sebep olduğu düşünülmüştür. Kiyasu ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptığı çalışmada bu kesme değeri, her vaka için PD-L1 pozitif tümör hücrelerinin tüm tümör pozitif hücrelere oranı verilerek hesaplanmış ve elde edilen eğriden tümör pozitif hücrelerin yaklaşık %30'luk oran civarında sert bir düşüş gösterdiği gösterilmiş, bu değer kesme değeri olarak kabul edilmiştir (9).

Çalışmamızda da PD-L1 pozitif tümör hücrelerinin, tüm tümör hücrelerine oranlanarak oluşturulan grafik sonucunda benzer şekilde immunhistokimyasal olarak PD-L1 boyanmasının

yaklaşık %30 civarında görece hızlı bir düşüş gösterdiği gözlenmiş ve bu değer kesme değeri olarak kullandığımız noktalardan birisi olmuştur. Ayrıca 2019 yılında Qiu L. ve arkadaşlarının 1613 vakadan oluşan ve 13 çalışmayı içeren meta analiz çalışmasında %30'luk kesme değerinden itibaren PD-L1 immunhistokimyasal boyanmasının hastaların prognozunu belirgin şekilde etkilediği ifade edilmiştir (173). Çalışmamızda da, % 30'luk kesme değerine göre PD-L1 pozitifliği gösteren vakaların oranı %19.2 olup literatürde bu oranın %10,5 ile 61,1 arasında değiştiği görülmektedir (9,172,174-179). Kesme değerini %30 olarak baz alan diğer çalışmalarda ise bu oran %10,5, %15,6, %16.8, %16 ve %21 olarak karşımıza çıkmakta olup elde ettiğimiz sonuç literatür ile uyumlu bulunmuştur (9,174,175,178,179). Ancak kullanılan PD-L1 antikörünün klonu, ışık mikroskopunda ya da dijital ortamda otomatik sayım, değerlendirmelerin kişiler arasındaki değişkenliği gibi durumlar mevcut farkların sebebi olarak gösterilebilir. Ayrıca tümörde PD-L1 pozitif hücrelerin değerlendirilmesinde bazı yazarlar sadece membranöz boyanmayı kabul ederken (180,181) bazıları membranöz ve/veya sitoplazmik boyanmayı pozitif kabul etmektedir (9,172,176). Çalışmaların bazılarında değerlendirmede boyanma şiddeti kullanılırken (177-179) bazılarında ise çalışmamızda olduğu gibi sadece tümör hücrelerinin boyanıp boyanmaması dikkate alınmıştır (174,180,181). DBBHL'da tümör dışında histiyosit gibi hücreler PD-L1 ile boyanabilmekte ve bazen yanlış değerlendirilmelere yol açabilmektedir. Bazı araştırmacılar bu yüzden "kombine PD-L1 pozitifliğini" (CPS) kullanmayı tercih etmişlerdir. Gastrik/gastroözefagial tümörler için geliştirilen ve FDA tarafından onaylanan bu sayım sisteminde CPS değerini elde etmek için tüm boyanan tümör ve immün hücreleri, ayırım gözetmeksizin değerlendirilmekte ve total tümör hücre sayısına bölünerek 100 ile çarpılmaktadır. Huang S. ve arkadaşları 2019 yılında yaptığı çalışmada tümör ve immün sistem hücrelerini ayırmanın zorluğundan bahsetmiş ve modifiye ettikleri CPS sayım sistemini kullanmışlardır (181). Öte yandan Kiyasu ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi PD-L1 ve birlikte bir B hücre göstergesi olarak PAX-5 antikoru ile ikili boyama yapılması yanlış pozitifliklerin önüne geçebilmektedir (9). Ancak bu durumun rutin pratikte, faydası ve maliyet açısından analizinin yapılması gerekmektedir. Tüm bu teknik farklılıklar nedeni ile PD-L1 ekspresyonu açısından net bir uyum elde etmek güç gibi görünmektedir. Ancak yapılacak daha fazla çalışma ile yöntemler sınıflandırılarak daha doğru sonuçlara ulaşmak mümkün olabilir.

Çalışmamızda tPD-L1 pozitifliği DBBHL, NOS grubunda %17,7, THZBHL alt tipinde % 42,9, PMBBHL'de % 16,7 olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca EBV pozitif DBBHL vakalarımızın birinde PD-L1 pozitifliği %95 oranında tespit edilmiştir. PKDBHL olan tek

vakamız ise tPD-L1 negatiftir. Kiyasu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu oran THZBHL'da %30,8 (8/26) olarak hesaplanmıştır. Bu farklılığın sebebi çalışmamıza dahil edilen THZBHL vaka sayısının (7 adet) az olmasından kaynaklanmış olabilir. Kiyasu ve arkadaşları, 7 tane PMBBHL vakasının 3'ünde (%42.9) PD-L1 pozitifliği olduğunu belirtmektedir. Çalışmamıza ise 6 adet PMBBHL vakası dahil edilmiş olup bunların yalnızca bir (%16,7) tanesinde %30'un üstünde bir boyanma saptanmıştır. Bledoe JR. ve arkadaşları 49 PMBBHL tanılı hastada yaptığı başka bir çalışmada ise tPD-L1 pozitifliğini %71 oranında saptamışlardır (182). Ancak bu çalışmada yöntem olarak PD-L1'in boyanma yaygınlığı ile boyanma şiddeti çarpılarak vakalar gruplandırılmıştır. Çalışmalarda tPD-L1 pozitifliğindeki uyumsuzluk, vakalardaki sayı ve uygulanan yöntem farklılığı nedeni ile oluşmuş gibi görünmektedir.

Literatürde tPD-L1 pozitifliği ile genel sağ kalım arasında yapılan çalışmalarda farklı sonuçların ortaya çıktığı görülmektedir. Çalışmaların bazılarında tPD-L1 pozitifliği kötü prognoz ve düşük genel sağ kalımla ilişkilendirilirken diğerlerinde herhangi bir ilişki saptanmadığı ifade edilmektedir. 2015 yılında Kwon D. ve arkadaşlarının 126 hasta üzerinde, %10'luk kesme değeri ile yaptığı çalışmada R-CHOP ile tedavi edilen hastalarda, tümörde PD-L1 ekspresyonunun herhangi bir prognostik etkisi olmadığını belirtmişlerdir (172). Kiyasu ve arkadaşları ise %30'luk kesme değeri ile 1253 hasta üzerinde yaptığı çalışma ise tPD-L1 ekspresyonunun genel sağ kalım açısından bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermektedir (9). Fang X. ve arkadaşları 76 hasta ile yaptığı çalışmada ise PD-L1 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olsada, bağımsız bir prognostik faktör olmadığını ifade etmişlerdir (183). Çalışmamızda %30'luk kesme değerinde, gruplar arasında 3 yıllık ve 5 yıllık, kanser spesifik ve genel sağ kalım açısından herhangi bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Ancak çalışmamızda, tümörde PD-L1 ekspresyonunun %1, %5, %10, %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80 kesme değerleri için kanser spesifik ve genel sağ kalımla ilişkisi araştırılmıştır. Bu değerlerden %70'lik kesme değeri için 2 grup oluşturulduğunda, 2 grup arasında kanser spesifik sağ kalım açısından belirgin fark gözlenmiştir (p:0,028). Her ne kadar %30'luk kesme değerinde sağ kalımla tPD-L1 boyanması arasında bir ilişki gözlenmese de, daha yüksek bir kesme değerinde böyle bir ilişkinin gösterilmesi, seçilmiş hastalarda anti PD-L1 immunoterapisinin etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu kesme değerinin çok merkezli ve daha geniş serilerde araştırılmasının daha doğru sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda %30'luk kesme değerine göre, yaş grupları (60 yaş ve altı ile 60 yaş üstü) ve cinsiyet açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Literatürdeki pek çok

çalışmada da yaş grupları ve cinsiyet açısından anlamlı bir ilişki bulunmadığı görülmektedir (9,172-174,176,178,179,183). Çalışmamızda B semptomları ve tPD-L1 ekspresyonu arasında da belirgin bir ilişki saptanmamıştır. Kiyasu ve arkadaşları ile Kwon D. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda B semptomları ile tPD-L1 arasında anlamlı bir ilişki bulunurken, farklı pek çok çalışmada ise çalışmamıza benzer şekilde belirgin bir ilişki saptanmamıştır (9,172-174, 176,178,179,183). Bu farklılığın sebebi semptomların subjektifliği ile ilişkili olabilir. Öte yandan ECOG performans skoru, 2'den küçük, 2 ve büyük şeklinde iki gruba ayrılarak incelenmiş tPD-L1 ekspresyonu ile ECOG performans skoru arasında literatürdeki pek çok çalışma ile uyumlu olarak herhangi bir ilişki saptanmamıştır (9,172,173,179,180). 2019 yılında da Huang S. ve arkadaşlarının 91 hastada SP263 klonu ile yaptığı bir çalışmada ise ECOG performans skoru ve tPD-L1 ilişkisi anlamlı olarak değerlendirilmiştir (181).

DBBHL'da prognostik önemi olduğu bildirilen Beta-2 mikroglobulin düzeyi, 2017 yılında Hu LY ve arkadaşlarının 204 hasta ile yaptığı çalışmaya benzer şekilde, çalışmamızda gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermemektedir (176). Ancak tPD-L1 ekspresyonu ile Beta-2 mikroglobulin ilişkisini kıyaslayan yeterince çalışma bulunmadığı düşünülmüştür. Hemen her vakada rutin olarak değerlendirilen bu biyokimyasal parametrenin tPD-L1 ekspresyonu ile ilişkisinin aydınlatılması hangi hastalarda immunhistokimyasal PD-L1 çalışılması gerektiği hususunda yön gösterebilir.

IPI skorunu belirleyen parametrelerden birisi olan LDH düzeyi literatürdeki pek çok çalışmaya benzer şekilde gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiştir (9,172,173,176,179, 180). İki ve 2'nin üzerinde ektranodal tutulum ve tPD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamış olup farklı çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir (9,172,179). Huang S. ve arkadaşlarının SP263 klonu ile yaptığı çalışmada ise PD-L1 kombine skoru pozitif olarak değerlendirilen hastalarda 2 ve 2'nin üzerinde tutulumu istatistiksel olarak anlamlı bulmuştur (181).

Çalışmamızda, hastaların prognozunu göstermede çok önemli bir yer tutan Ann Arbor evresi ve tPD-L1 pozitifliği arasında oldukça anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Evre III ve IV olan hastalar bir arada, evre I ve II olan hastalar bir arada değerlendirildiğinde bu iki gruptan ilkinde, belirgin tPD-L1 yüksekliği saptanmıştır. Bu konuda literatürde, elde ettiğimiz sonuçlara benzer çalışmalar olsada (176,178,181) herhangi bir ilişki olmadığını gösteren pek çok yayın da mevcuttur (9,172-174,179,180,183). IPI skorunu oluşturan parametrelerden yaş ve LDH düzeyi dışında çalışmalarda net bir uyumdan bahsetmek mümkün değildir. tPD-L1 değerlendirmesindeki yöntem farklılıkları dışında, DBBHL'ların heterojen bir hastalık olması,

hastaların tanı alma zamanları, ekstrasnodal tutulumlarının uygun görüntülemelerle değerlendirilip değerlendirilmemesi gibi durumlar bu sonuçların oluşmasına neden olmuş olabilir. Bu prognostik parametrelerde görülen farklı sonuçlardan dolayı tPD-L1 ve IPI skoru arasındaki uyumun da değişken olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda IPI skorları arasında tPD-L1 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Revize edilmiş IPI (R-IPI) skoruna göre de vakalar 2 gruba ayrılıp tPD-L1 ekspresyonlarına göre %30'luk kesme değeri baz alınarak değerlendirilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu açıdan çalışmamızla uyumlu yayınlar mevcut olsada (172,174,176,178-180) aksi yönde yayınlar da mevcuttur (9,173).

Çalışmamızda alt tipler olan DBBHL NOS, AB-benzeri ve GMB-benzeri fenotipte tPD-L1 ekspresyonu açısından önemli farklılıklar görülmüştür. Post-germinal merkez benzeri fenotipte (AB-benzeri), GMB benzeri fenotipe göre daha yüksek oranda tPD-L1 ekspresyonu izlenmiş olup bu vakaların sağ kalımlarının ise belirgin şekilde daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu bulgunun literatürde hemen hemen tüm çalışmalarda değişmez şekilde tekrarlandığı görülmektedir (9,172-174,176,178,179,181). Andorsky ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PD-L1 ekspresyonu daha çok AB-benzeri fenotipte görülmüştür. PD-L1'in tümör çevresindeki T lenfositleri baskılayarak immün cevabı engellediği, anti PD-L1 blokajı ile IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-13, TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin salınımının tekrar sağlandığı belirtilmektedir. Bu açıdan AB-benzeri fenotipteki hastaların tespiti oldukça önemlidir (184). Çalışmamızda % 30'luk kesme değeri için sağ kalımlar arasında fark gösterilememiş olsa da, %60'luk kesme değerinde her iki grup arasında anlamlı fark izlenmiştir. Bu fark %70'lik kesme değerinde daha belirgindir (p:0,002). Tüm DBBHL vakalarına kıyasla DBBHL, NOS grubunda daha düşük tPD-L1 kesme düzeyinde sağ kalımlar arasındaki farkın belirginleşmesi dikkat çekicidir. DBBHL, NOS vakalarında, farklı kesme değerleri ile ya da daha geniş serilerde çalışmalar yapılması hastaların prognozuna ışık tutacaktır. Özellikle post germinal merkez benzeri (AB-benzeri) fenotipteki vakalarda anti PD-L1 tedavisi, bu hastaların sağ kalım sürelerine katkı sağlayabilir.

Çalışmamızda DBBHL, NOS grubu ile THZBBHL ve PMBBHL grubu tPD-L1 ekspresyonu açısından kıyaslanmış ve her ikisi arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak THZBBHL ve PMBBHL tanısı almış vaka sayımız sırasıyla 7 ve 6 olup oldukça azdır; bu konuda daha geniş serili çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatüre bakıldığında PD-L1 ve farklı immunhistokimyasal parametrelerin ilişkilerinin değerlendirildiğini görmekteyiz. Xing W. ve arkadaşlarının 86 vaka ile yaptığı

çalışmada CD10, BCL6 ve MUM1 immunhistokimyasal pozitifliğinin PD-L1 pozitif ve negatif gruplar arasında belirgin farklılık gösterdiği tespit edilmiş ve aradaki bu ilişkinin alt tipler olan AB-benzeri ve GMB-benzeri fenotipi temsil ettiği düşünülmüştür (178). Ancak BCL2 ve MYC ile PD-L1 pozitifliği arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Kwon HJ ve arkadaşları ise 107 hasta ile %30'luk kesme değeri ile yaptığı çalışmada tPD-L1 ekspresyonu ile BCL2 ve MUM1 arasında belirgin bir ilişki saptamamışlardır (174). BCL6 ile sınırda bir ilişki bulduklarını ifade ederken (p:0,052) CD10 boyanması ve gruplar arasında belirgin ilişki saptamamışlardır. Çalışmamızda tPD-L1 ekspresyonu ve CD10 İHK boyanması arasında dikkate değer bir ilişki olduğu saptanmıştır (p:0,003). Ancak BCL2, BCL6, MUM1 ve c-MYC ile tümörde PD-L1 boyanması arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. CD10 pozitif vakaların daha çok %30 kesme değerinin altında görülmesinin PD-L1'in daha çok AB-benzeri fenotipte görülmesi ile ilişkili olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Ki-67 proliferasyon indeksi ile PD-L1 ekspresyonu arasında çalışmamızda belirgin bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde Ki-67 proliferasyon indeksi ile PD-L1 arasında belirgin bir ilişkinin bulunmadığını gösteren pek çok çalışma mevcuttur (176,178,179).

130 vakadan oluşan çalışmamızda farklı klinik ve patolojik parametrelerin hastaların 5 yıllık sağ kalım ile ilişkileri de değerlendirildi. DBBHL dışında farklı sebeple eksitus olduğu düşünülen 2 hasta (1 tanesi hepatik ensefalopati, diğeri skuamöz hücreli karsinom metastazı) kanser spesifik sağ kalım değerlendirmesine alınmadı. Her ne kadar tPD-L1 ekspresyonu ile ilişkili olmasa da, yaş grupları ve B semptomlarının varlığı 5 yıllık sağ kalımla belirgin derecede ilişkililikten, cinsiyetler arasında belirgin bir fark gözlenmedi. Bu sonuçlar literatürde pek çok çalışma ile uyumlu bulunmuştur (172,174,176,183).

Literatürde de LDH düzeyinin sağ kalımı etkileyen önemli bir parametre olduğu görülmektedir (9,174,176,178-181). Çalışmamızda da benzer şekilde LDH düzeyi normal ve altında olan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %78,9, normal değerlerin üzerinde olan hastalarda ise %63,7 olarak bulunmuştur (p:0,044).

Çalışmamızda ECOG performans skoru 2 ve 2'in üstünde olan hastalar 2'nin altında olanlara göre, Ann Arbor evresi III ve IV olan hastalar, evresi I ve II olan hastalara göre daha kısa sağ kalımla ilişkilendirilmiştir (p:0,011 ve 0,021). Ekstranodal tutulumun 2 ve 2'in üzerinde olan hastaların sağ kalımı ile 2 ve 2'in altında olan hastaların sağ kalımı arasında belirgin bir fark saptanmamıştır. IPI skorunu belirleyen bu parametrelerin, (yaş, evre, LDH düzeyi, ekstranodal tutulum, ECOG performans skoru) ekstranodal tutulum dışında hastaların

sağ kalım ile yakından ilişkili olduğu pek çok farklı çalışmada olduğu gibi çalışmamızda da gösterilmiştir (9,172,176,178-181).

Çalışmamızda DBBHL'larda prognozu değerlendirmek için kullanılan IPI skoru ve 5 yıllık sağ kalım arasında anlamlı ilişki söz konusuydu. IPI skoru 0 olan vakaların 5 yıllık sağ kalımı %93 iken bu oran IPI skoru 5 olan vakalarda % 40'a kadar inmekte olup gruplar arasında belirgin farklılıklar izlendi. Gruplar revize edilmiş IPI skoruna (R-IPI) göre 2'ye ayrıldığında IPI skoru 3 ve 3'ün üzerinde olan hastalar ile 3'ün altında olan hastalar arasında oldukça anlamlı fark görüldü (p:0,001). Yirmi yılı aşkın süredir Hodgkin dışı lenfomalarda kullanılan IPI skorunun, benzer şekilde pek çok çalışmada sağ kalımla yakın ilişkisi gösterilmiştir (174,176, 179,181).

Çalışmamızda kemik iliği tutulumu %15,6'dır. Sehn LH ve arkadaşlarının 795 hasta ile 2011 yılında yaptığı çalışmada kemik iliği tutulumu yaklaşık %16 olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda kemik iliği tutulumu olan ve olmayan olgularda sağ kalım açısından anlamlı fark izlenmemiş olmakla birlikte, tutulumun konkordant ya da diskordant oluşunun prognozu etkileyebileceği ifade edilmektedir (6).

DBBHL NOS, AB-benzeri ve GMB-benzeri fenotipe tPD-L1 ekspresyonlarının belirgin derecede farklı olduğu görülmüştü. Benzer şekilde AB-benzeri fenotipteki vakaların GMB alt tipindeki vakalara göre 3 ve 5 yıllık sağ kalımlarının anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü. Qui L. ve arkadaşlarının 1478 hasta ile yaptığı meta analiz çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmişti (173). Çalışmamızda %30'luk kesme değeri için, tPD-L1 ekspresyonunu ile DBBHL'lerin prognozu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştı. Bu açıdan özellikle post germinal merkez (AB-benzeri) fenotip vakalarda tPD-L1 ekspresyonunun direkt olarak prognoza etki ettiğini söylemek mümkün olmamakla birlikte, PD-L1 aşırı ekspresyonunun kötü gidişe etkisi olup olmadığı üzerinde araştırılması gereken bir konu olarak dikkat çekmektedir.

Georgiou K. ve arkadaşları yaptığı çalışmada DBBHL, NOS vakalarının yaklaşık %20'sinde PDL1-2 ile ilgili genetik değişiklikler tespit etmişlerdir. DBBHL'larda translokasyonlar, kromozom kazanımları ve amplifikasyonlar daha çok AB-benzeri fenotip ile ilişkilendirilmiştir. EBV pozitif tümörlerde ise genetik değişiklikler olmadan PD-L1'in fazla eksprese edildiği görülmüştür. Ancak EBV pozitif hastalarda da sitogenetik değişikliklerden dolayı da PD-L1 ekspresyonu olabileceği akılda tutulmalıdır. Kiyasu ve arkadaşları EBV



pozitif 90 vakanın 14'ünde (%15,6) PD-L1 ekspresyonu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda EBV pozitif 3 vakanın 1'inde %95 oranında PD-L1 pozitifliği tespit edilmiştir (9,153).

Çalışmamızda yapılan CD10, BCL6, ve MUM1 İHK boyaları 5 yıllık sağ kalımla ilişkili bulundu. CD10 ve BCL6 negatif vakaların pozitif vakalara göre, MUM1 pozitif vakaların negatif vakalara göre daha kötü gidişli olduğu görüldü. DBBHL, NOS vakalarını fenotipik alt tiplerine ayırmak için Hans Algoritmasında kullanılan bu parametrelerin prognozla ilişkisi AB-benzeri fenotipini yansıtır nitelikteydi. Bir germinal merkez belirteci olan BCL6 tek başına değerlendirildiğinde, immunhistokimyasal olarak BCL6'nın negatif olduğu vakalarda 5 yıllık sağ kalım %29 olarak değerlendirildi. Ancak c-MYC ve BCL2 ile 5 yıllık sağ kalım arasında belirgin bir ilişki saptanmamıştı. Li L. ve arkadaşlarının 5576 hasta ile yaptığı meta analiz çalışmasında MYC ve/veya BCL2 protein ekspresyonları kötü prognozla ilişkilendirilmiş olup bu farklılığın sebebi çalışmamızdaki olgu sayısından kaynaklanmış olabilir. (185).

Matsuma ve arkadaşları 2018 yılında 185 DBBHL tanılı hasta ile yaptığı çalışmada hemoglobin değerinin <10 gr/dl'nin altında olmasını kötü prognozla ilişkilendirmişlerdir. Çalışmamızda da tPD-L1 % 30'luk kesme değerine göre hemoglobin düzeyleri için gruplar arasında belirgin farklılık izlenmiştir. Çalışmamızda %30'luk kesme değerine göre prognozlar açısından anlamlı fark izlenmesede tPD-L1 düzeyi arttıkça hemoglobin düzeyinin düşmesi dikkat çekicidir. Benzer şekilde 3 grup halinde incelendiğinde, tPD-L1 ekspresyonu %1'den küçük grupta hemoglobin değeri ortalama  $12,6 \pm 1,9$  gr/dl, %50'den büyük grupta  $10,8 \pm 2,6$  gr/dl olarak hesaplanmış olup gruplar arasında belirgin fark izlenmiştir. Bu açıdan hemoglobin değeri, tedavi öncesi prognozun değerlendirilmesinde fikir verebilecek temel bir laboratuvar testi olarak düşünülebilir (186).

Tedaviye yanıt açısından tPD-L1 %30'luk kesme değerine göre parsiyel yanıt, komplet yanıt, stabil/refrakter hastalık olarak 3 grupta incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Kiyasu ve arkadaşlarının çalışmasında da tPD-L1 pozitif ve negatif gruplar arasında tedaviye yanıt açısından belirgin fark izlenmemişti. ICE (ifosfamid /karboplatin/ etoposid) tedavisi alan hastalarda 5 yıllık sağ kalım %40 olarak hesaplandı; almayan hastalarda bu oran %74,4'tü. Genellikle dirençli hastalıkta tercih edilen bu tedavi ile sağ kalım arasındaki anlamlı ilişki beklendiği gibiydi.

Çalışmamızda Cox regresyon analizi yapılmış ve analiz sonucunda sağ kalım açısından 60 yaş üstü olma 2,27 kat, tPD-L1 düzeyinin %70'in üzerinde olması ise 2,65 kat ve IPI skorunun 3 ve üzerinde olması 4,66 kat daha kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.

Literatüre bakıldığında DBBHL'larda PD-L1 immunhistokimyasal boyanması için farklı kesme değerlerinin kullanıldığı görülmektedir. Standart bir değerlendirme yönteminin bulunmaması, kullanılan klonların farklılığı, İHK boyama tekniği (tek/ikili boyama) gibi durumlar nedeni ile kıyas edilecek grupların oluşturulması subjektif kalabilmektedir. Çalışmamızda bu değişkenler göz önünde bulundurularak farklı gruplama yöntemleri ile analizler tekrar edildi. Çalışmamızda %30'luk kesme değeri dışında akciğer karsinomlarında PD-L1 22C3 klonunun değerlendirmesine benzer şekilde %1'in altı, %1-49 arası ve %50 ve üzerinde olmak üzere 3 grup oluşturulmuştu. Bu 3 grup; yaş grupları, cinsiyet, Beta-2 mikroglobülin ve LDH düzeyi, Ann Arbor evre grupları, IPI skoruna göre değerlendirildiğinde gruplar arasında PD-L1 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark görülmedi.

tPD-L1 ekspresyon yüzdesi ve sağ kalım analizlerinde, %70'lik kesme değerinde istatistiksel olarak belirgin bir ilişki olduğu saptandı (p:0,028). %70 ve üzerinde tPD-L1 ekspresyonu olan hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı %48 bulunmuşken bu değer %70'in altında olan vakalar için %72 olarak bulundu. Burdan hareketle %70 kesme değeri de kullanılarak olgular %1'den küçük, %1-29,%30-59, %50-69 ve %70 üzeri olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Yapılan analizlerde vakalar değerlendirilebilen parametrelerden, yaş grupları, B semptomları, LDH düzeyi, ECOG performans skoru, ektranodal tutulum ve revize edilmiş IPI skorlarına göre gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Sadece tümöral hücrelerde değil PD-L1 ekspresyonu non-malign hücrelerde de görülmektedir. Çalışmamızda %5'lik kesme değeri kullanıldığında 12 vaka (%9,2) mPD-L1 pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kıyasu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pek çok solid tümörün aksine tümörü infiltre eden T lenfositlerde (TIL) düşük PD-1 pozitifliği kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (9). mPD-L1 (+) vakalarda ise daha düşük PD-1 (+) TIL izlenmiş ve mPD-L1 pozitifliği kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Kıyasu ve arkadaşları kesme değeri olarak %20'yi esas almışlardır ve mPD-L1 pozitifliğini %15,3 olarak değerlendirmişlerdir. Xing W. ve arkadaşları %5'lik kesme değeri ile 86 hastada yaptığı çalışmada PD-L1 (+)'liğinin %27 oranında olduğunu ifade etmişlerdir. Xing W. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mPD-L1 pozitif ve negatif vakalar arasında sağ kalım açısından anlamlı farklılık izlenmemiştir (178). Çalışmamızda da benzer şekilde mPD-L1 pozitif ve negatif vakalar arasında sağ kalım analizlerinde belirgin farklılık saptanmamıştır. Ancak lenfoid kökenli bu neoplazilerde non-tümöral hücrelerin PD-L1 yerine PD-1 antikoru ile değerlendirilmesi daha isabetli sonuçlar verebilir. Örneğin Kwon D. ve arkadaşlarının 126 hasta ile yaptığı çalışmada, PD-1 pozitif TIL'lerin uzamış sağ kalımla ilişkili olduğunu ancak non-tümöral hücrelerde PD-L1

ekspresyonunun hastaların prognozu ile ilişkisi olmadığını göstermişlerdir (172). Tümörde PD-L1 pozitifliğine benzer şekilde, non-tümöral hücrelerde de standart bir kesme değerinin bulunmayışının, bu sonuçları etkileyebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Sun C ve arkadaşları 287 olgu ile yaptığı çalışmada, olgularda PD-L1 DNA gen amplifikasyonuna, RNA ISH yöntemi ile PD-L1 mRNA ekspresyonuna ve PD-L1 immunhistokimyasal protein ekspresyonuna bakmışlardır. Yüksek PD-L1 mRNA düzeyleri ve yüksek protein ekspresyonları AB-benzeri fenotip ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. DNA amplifikasyonları ise daha nadir olarak izlenmiştir (180). İmmunhistokimya çalışmalarının yanında FISH gibi moleküler sitogenetik tekniklerle yapılacak çalışmalar DBBHL’de PD-L1 ekspresyonunun mekanizmasını anlamaya, yüksek riskli hasta gruplarının tespit edilmesine ve olası tedavi yollarının geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Öte yandan literatürde DBBHL’lar ile alakalı yeni nesil sekanslama (NGS) çalışmalarının devam ettiği görülmektedir. Yeni nesil sekanslama çalışmaları, hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılmasına ve kişiye özgü tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır (187,188).

## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Çalışmamızda DBBHL'larda tPD-L1 %30'luk kesme değerine göre gruplar arasında sağ kalım açısından fark izlenmedi. Bu bulgu literatürdeki bazı çalışmalarla uyumlu olsa da tPD-L1 ekspresyonunun prognozla ilişkili olduğunu gösteren pek çok yayın da bulunmaktadır.
2. %70'lik kesme değerinde ise gruplar arasında tPD-L1 ekspresyonu ve sağ kalım arasında anlamlı fark mevcuttu. %30'luk tPD-L1 kesme değerine göre, gruplar arasında sağ kalım açısından anlamlı fark gösterilememiş olsada, daha yüksek bir kesme değerinde gruplar arasında sağ kalım açısından böyle bir sonuç elde edildi. Bu durum, herhangi tek bir kesme değeri için PD-L1 ekspresyonu ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmasa bile PD-L1'in bütünüyle göz ardı edilebilecek bir parametre olmadığını göstermektedir. Bu açıdan daha geniş serilerde çalışma yapılması gerekmektedir.
3. %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 pozitifliği DBBHL NOS, AB-benzeri fenotipte, GMB benzeri fenotipe göre daha fazlaydı.
4. DBBHL, NOS grubu (113 vaka) kendi arasında değerlendirildiğinde, bu grupta %60 ve üzerinde PD-L1 ekspresyonu ile kanser spesifik ve genel sağ kalımlar arasında belirgin farklar izlendi. Tüm vakalar için %70'lik kesme değerinde belirginleşen bu fark, %60 gibi daha düşük bir kesme değerinde gösterilmiş oldu.
5. DBBHL NOS, AB-benzeri (post germinal) fenotip ve GMB (germinal merkez)-benzeri fenotip vakalar sağ kalım açısından kıyas edildiğinde AB-benzeri fenotipte yaşam süresi belirgin şekilde daha düşüktü. Bu bulgu literatürde hemen her çalışmada elde edilen bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır. AB-benzeri fenotipte görülen bu durumun PD-L1 ile ilişkisini değerlendirecek daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.
6. THZBBHL ve PMBBHL lenfomalar DBBHL, NOS grubu ile değerlendirildiğinde tPD-L1 ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı fark görülmedi. Ancak bu iki lenfomayı içeren vaka sayısı çalışmamızda oldukça azdı. Çalışmamızda EBV pozitifliği gösteren 27 vakadan 2'sinde %30'un altında tPD-L1 pozitifliği saptandı. Bir vakada ise PD-L1 pozitifliği %95 olarak hesaplandı.
7. Ann Arbor evresine göre vakalar 2 gruba ayrıldığında (I, II ve III, IV), %30'luk tPD-L1 ekspresyonuna göre gruplar arasında anlamlı farklılık izlendi.

**8.** %30'luk kesme değerine göre tPD-L1 ekspresyonu ve IPI skorunu oluşturan yaş grupları, LDH düzeyi, ektranodal tutulum sayısı, ECOG performans skoru arasında ise belirgin fark izlenmedi.

**9.** 60 yaş üzeri hastalarda, 60 yaş ve altındaki hastalara göre; B semptomu olan hastalarda B semptomu olmayan hastalara göre 5 yıllık sağ kalım daha düşüktü. Ancak yaş grupları ve B semptomları ile %30'luk kesme değeri için tPD-L1 ekspresyonları arasında fark izlenmedi.

**10.** İmmunhistokimyasal CD10 ve BCL6 negatif, MUM1 pozitif vakalarda 5 yıllık kanser spesifik sağ kalımların daha kısa olduğu görüldü.

**11.** 5 yıllık kanser spesifik sağ kalım, LDH düzeyi, ECOG performans skoru ve Ann Arbor evresi ile anlamlı derecede ilişkili bulundu. Ektranodal tutulumu 2 ve 2'nin üzerinde olan vakalar ile 2'nin altında olan vakalar kıyas edildiğinde 5 yıllık sağ kalım açısından anlamlı fark izlenmedi.

**12.** Cox regresyona analizi sonunda, sağ kalım açısından 60 yaş üstü olma 2,27 kat, tPD-L1 düzeyinin %70 ve üzerinde olması 2,65 kat, IPI skorunun 3 ve üzerinde olması 4,66 kat daha riskli bulundu.

**13.** DBBHL'larda, PD-L1 ekspresyonları ve sağ kalım arasında literatürde farklı sonuçlar yer alsada daha geniş serilerde ve farklı alt tiplerle yapılacak çok merkezli çalışmalarla, özellikle tedaviye dirençli ve nüks hastalık grubundaki hastalarda, tümörde PD-L1 ekspresyon mekanizması ve bu hastaların anti PD-L1 tedavisinden fayda görüp görmeyeceği değerlendirilebilir.

**14.** Çalışmalarda PD-L1 antikoruna ait farklı klonların kullanılması, değerlendirmede esas alınacak net bir eşik değer bulunmaması, kişiler arasındaki değerlendirme farklılıkları, PD-L1'in sadece tümörde değil non-tümöral hücrelerde de boyanması gibi nedenlerle optimal sonuçların elde edildiğini söylemek mümkün değildir. Bu konuda yapılacak daha fazla çalışma ve benzer çalışmaları bir arada değerlendiren meta analiz çalışmaları standardizasyon sağlayabilir. Böylece PD-L1'in rutin patoloji pratiğinde daha doğru ve hızlı değerlendirmesine imkan sağlayacak yöntemler de geliştirilebilecektir.

## KAYNAKÇA

1. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology*. 2018;50(1): 74-87.
2. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1997;89:3909-3918.
3. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla-Martinez L. *Hematopathology Second Edition*. Philadelphia: Elsevier; 2017:415-445.
4. Kamel OW. Iatrogenic lymphoproliferative disorders in nontransplantation settings. *Semin Diagn Pathol*. 1997;14(1):27-34.
5. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, revised fourth edition. Lyon, France: IARC; 2017 p:291-329.
6. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M, Berry B, Ruskova A, Berkahn L. et al. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Oncol*. 2011;29(11):1452-7.
7. Pierpont TM, Limper CB, Richards KL. Past, Present, and Future of Rituximab-The World's First Oncology Monoclonal Antibody Therapy. *Front Oncol*. 2018;8:163.
8. Zhang J, Medeiros LJ, Young KH. Cancer Immunotherapy in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Front Oncol*. 2018;8:351.
9. Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, Arakawa F, Ichikawa A, Nino D et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2015;126(19): 2193–2201.
10. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and Its Ligands in Tolerance and Immunity. *Annual Review of Immunology*. 2008;26:1, 677-704.
11. Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, Matsuda H, Aoki M, Tanno Y et al. Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J Immunol* 2002;169: 5538–5545.
12. Gravelle P, Burrone B, Péricart S, Rossi C, Bezombes C, Tosolini M, et al. Mechanisms of PD-1/PD-L1 expression and prognostic relevance in non-Hodgkin lymphoma: a summary of immunohistochemical studies. *Oncotarget*. 2017; 8(27):44960–44975.
13. Xiang X, Yu PC, Long D, Liao XL, Zhang S, You XM, et al. Prognostic value of PD -L1 expression in patients with primary solid tumors. *Oncotarget*. 2017;9(4):5058-5072.
14. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*. 2002; 8(8): 793-800.

15. Alkan S, Doğan M. Pratik Neoplastik Lenf Nodu Patolojisi. Ankara:Ankara Nobel Tıp Kitabevleri, 2016, p50.
16. Singh R, Dubey AP, Rathore A, Kapoor R, Sharma D, Singh NK, et al. Diffuse large B-Cell lymphoma-review. J Med Sci 2018;38:137-43.
17. Warnke RA, Weiss LM, Chan J, Cleary M, Dorfman R. Atlas of Tumor Pathology, Tumors of the Lymph Nodes and Spleen, AFIP, 1995, p. 153-221.
18. Blinder V, Fisher SG. The Role of Environmental Factors in the Etiology of Lymphoma. Cancer Invest. 2008;26(3), 306–316.
19. Ekström-Smedby K. Epidemiology and etiology of non-Hodgkin lymphoma – a review. Acta Oncol. 2006;45(3), 258–271.
20. de Sanjose S, Benavente Y, Vajdic CM, Engels EA, Morton LM, Bracci PM, et al. Hepatitis C and non-Hodgkin lymphoma among 4784 cases and 6269 controls from the International Lymphoma Epidemiology Consortium. Clin Gastroenterol Hepatol. 2008 ;6(4):451-8.
21. Aozasa K, Takakuwa T, Nakatsuka S. Pyothorax-associated lymphoma: a lymphoma developing in chronic inflammation. Adv Anat Pathol. 2005;12(6):324-31.
22. Romero-Rojas AE, Diaz-Perez JA, Raju S, Messa-Botero O, Prieto-Bletan A, Criollo-Palacios F. Primary diffuse large B-cell lymphoma associated with chronic osteomyelitis of the knee . Knee. 2014;21(6):1280-3.
23. Hatem J, Bogusz AM. An Unusual Case of Extranodal Diffuse Large B-Cell Lymphoma Infiltrating Skeletal Muscle: A Case Report and Review of the Literature. Case Rep Pathol. 2016;2016:9104839.
24. Teagle AR, Barton H, Charles-Edwards E, Dizdarevic S, Chevassut T, et al. Use of FDG PET/CT in identification of bone marrow involvement in diffuse large B cell lymphoma and follicular lymphoma: comparison with iliac crest bone marrow biopsy. Acta Radiol. 2017;58:1476–1484.
25. Gouveia GR, Siqueira SA, Pereira J. Pathophysiology and molecular aspects of diffuse large B-cell lymphoma. Rev Bras Hematol Hemoter. 2012;34(6):447–451.
26. Rosai J. Rosai ve Ackerman' in Cerrahi Patolojisi. (Özdemir ŞÖ, çev) Onuncu Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2015:1834-37.
27. Lichtenstein A, Levine AM, Lukes RJ, Cramer AD, Taylor CR, Lincoln TL, et al. Immunoblastic sarcoma: a clinical description. Cancer. 1979 Jan;43(1):343-52
28. Tracy SI, Habermann TM, Feldman AL, Maurer MJ, Dogan A, Perepu US, et al. Outcomes among North American patients with diffuse large B-cell lymphoma are independent of tumor Epstein-Barr virus positivity or immunosuppression. Haematologica. 2018;103(2):297-303.
29. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, Manyam GC, Visco C, Tzankov A, et al. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable

prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2013;121(14):2715–2724.

30. Xu-Monette ZY, Tu M, Jabbar KJ, Cao X, Tzankov A, Visco C, et al. Clinical and biological significance of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma in Western countries [published correction appears in *Oncotarget*. 2015 Jun 10;6(16):14720. Nagarajan, Lalitha [Added]]. *Oncotarget*. 2015;6(8):5615–5633.

31. Scott DW, Mottok A, Ennishi D, Wright GW, Farinha P, Ben-Neriah S, et al. Prognostic Significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cell of Origin Determined by Digital Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Biopsies. *J Clin Oncol*. 2015;33(26):2848–2856.

32. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2012;30:3452–3459.

33. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, Book M, Roos G, Erlanson M, et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol*. 2005 Aug;18(8):1113-20.

34. de Leval L, Harris NL. Variability in immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its clinical relevance. *Histopathology*. 2003;43:509-28.

35. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, Van Krieken JH, Jiwa NM, Ossenkoppele GJ, et al. Immunohistochemical profiling based on BCL-2, CD10 and MUM1 ekspresion improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J Pathol*. 2006; 208 (5):714-23.

36. Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;101(1), 78-84.

37. Montes-Moreno S, Roncador G, Maestre L, Martínez N, Sanchez-Verde Camacho F, et al. Gcet1 (centerin), a highly restricted marker for a subset of germinal center-derived lymphomas. *Blood* 2008;111(1), 351-358.

38. Natkunam Y, Zhao S, Mason DY, Chen J, Taidi B, Jones M, et al. The oncoprotein LMO2 is expressed in normal germinal-center B cells and in human B-cell lymphomas. *Blood*. 2007;109(4):1636-42.

39. Özçerezci T, Baş Y. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomada Germinal Merkez B Hücre-Benzeri ve Germinal Merkez-Dışı B Hücre-Benzeri Orijininin Araştırılması. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2019;39(3):310-8.

40. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403(6769), 503–511.



41. Liu Y, Barta SK. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2019;94(5):604-616.
42. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103(1):275-82.
43. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, Ma J, Rossi D, Chiarenza A, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma. *Nat Genet*. 2011;43:830-837.
44. Pasqualucci L, Dalla-Favera R. The genetic landscape of diffuse large B-cell lymphoma. *Semin Hematol*. 2015;52:67-76.
45. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, et al. Frequent mutation of histonemodifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature* 2011;476:298-303.
46. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, Auclair D, Chapuy B, Sougnez C, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109:3879-3884.
47. Ichikawa A. Prognostic and predictive significance of p53 mutation in aggressive B-cell lymphoma. *Int J Hematol*. 2000;71:211-220.
48. Lo Coco F, Gaidano G, Louie DC, Offit K, Chaganti RS, Dalla-Favera R. p53 mutations are associated with histologic transformation of follicular lymphoma. *Blood*. 1993;82:2289-2295.
49. Sander CA, Yano T, Clark HM, Harris C, Longo DL, Jaffe ES, et al. p53 mutation is associated with progression in follicular lymphomas. *Blood*. 1993;82(7):1994-2004.
50. Nguyen L, Papenhausen P, Shao H. The Role of c-MYC in B-Cell Lymphomas: Diagnostic and Molecular Aspects. *Genes (Basel)*. 2017;8(4):116.
51. Hockenbery D, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348:334-6.
52. Zhang Y, Wang H, Ren C, Yu H, Fang W, Zhang N, et al. Correlation Between C-MYC, BCL-2, and BCL-6 Protein Expression and Gene Translocation as Biomarkers in Diagnosis and Prognosis of Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Front Pharmacol*. 2019;9:1497.
53. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G, Dave BJ, Horsman DE, Rosenwald A, et al. BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006;24(6):961-8.
54. Wu G, Keating A. Biomarkers of potential prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer*. 2006;106(2):247-57.

55. Jacobson JO, Wilkes BM, Kwaiatkowski DJ, Medeiros LJ, Aisenberg AC, Harris NL. Bcl-2 rearrangements in de novo diffuse large cell lymphoma. Association with distinctive clinical features. *Cancer*. 1993;72(1):231-6.
56. Hill ME, MacLennan KA, Cunningham DC, Vaughan Hudson B, Burke M, Clarke P et al. 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 (3):1046-1051.
57. Ci W, Polo JM, Melnick A. B-cell lymphoma 6 and the molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *Curr Opin Hematol*. 2008;15(4):381-90.
58. Cardenas MG, Oswald E, Yu W, Xue F, MacKerell AD Jr, Melnick AM. The Expanding Role of the BCL6 Oncoprotein as a Cancer Therapeutic Target. *Clin Cancer Res*. 2017;23(4):885–893.
59. Ott G, Rosenwald A, Campo E. Understanding MYC-driven aggressive B-cell lymphomas: pathogenesis and classification. *Blood* 2013;122(24):3884-3891.
60. Campo E. MYC in DLBCL: Partners matter. *Blood*. 2015;126(22):2439-40.
61. Chisholm KM, Bangs CD, Bacchi CE, Molina-Kirsch H, Cherry A, Natkunam Y. Expression profiles of MYC protein and MYC gene rearrangement in lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(3):294-303.
62. Vallespinos M, Fernandez D, Rodriguez Alvaro-Blanco J, Baena, E, Ortiz M, Dukovska D et al. B Lymphocyte commitment program is driven by the protooncogene c-Myc. *J. Immunol*. 2011;186, 6726–6736.
63. Calado DP, Sasaki Y, Godinho SA, Pellerin A, Kochert K, Sleckman BP, et al. The cell-cycle regulator c-Myc is essential for the formation and maintenance of germinal centers. *Nat. Immunol*. 2012;R13, 1092–1100.
64. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood*. 2011;117(8):2319-31.
65. Riedell PA, Smith SM. Double hit and double expressors in lymphoma: Definition and treatment. *Cancer*. 2018;124(24):4622-4632.
66. Landsburg DJ, Petrich AM, Abramson JS, Sohani AR, Press O, Cassaday R, et al. Impact of oncogene rearrangement patterns on outcomes in patients with double-hit non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2016;122(4):559-64.
67. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.
68. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1993;329(14):987–94.

69. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, Glass B, Schmitz N, Pfreundschuh M, et al. Standard International prognostic index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol*. 2010;28:2373–80.
70. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Hoskins P, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood*. 2007;109(5): 1857-61.
71. Drake MT, Maurer MJ, Link BK, Habermann TM, Ansell SM, Micallef IN, et al. Vitamin D insufficiency and prognosis in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2010;28:4191-8.
72. Carson KR, Bartlett NL, McDonald JR, Luo S, Zeringue A, Liu J, et al. Increased body mass index is associated with improved survival in United States veterans with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2012;30:3217-22.
73. Hong F, Habermann TM, Gordon LI, Hochster H, Gascoyne RD, Morrison VA, et al. The role of body mass index in survival outcome for lymphoma patients: US intergroup experience. *Ann Oncol*. 2014;25:669-74.
74. Maurer MJ, Micallef IN, Cerhan JR, Katzmann JA, Link BK, Colgan JP, et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2011; 29:1620-6.
75. Cox MC, Nofroni I, Ruco L, Amodeo R, Ferrari A, La Verde G, et al. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic factor in diffuse-large-B-cell-lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49:1745-51.
76. Wilcox RA, Ristow K, Habermann TM, Inwards DJ, Micallef IN, Johnston PB, et al. The absolute monocyte and lymphocyte prognostic score predicts survival and identifies high-risk patients in diffuse large-B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2011; 25:1502-9.
77. Chung R, Lai R, Wei P, Lee J, Hanson J, Belch AR, et al. 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;110:12781282.
78. Pfreundschuh M, Ho AD, Cavallin-Stahl E, Wolf M, Pettengell R, Vasova I, et al. Prognostic significance of maximum tumour (bulk) diameter in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: an exploratory analysis of the MabThera International Trial Group (MInT) study. *Lancet Oncol*. 2008;9:435-44.
79. Salar A, Fernandez de Sevilla A, Romagosa V, Domingo Claros A, Gonzalez-Barca E, Pera J et al. Diffuse large B-cell lymphoma: is morphologic subdivision useful in clinical management? *Eur J Haematol*. 1998;60:202-208.
80. Engelhard M, Brittinger G, Huhn D, Gerhartz HH, Meusers P, Siegert W, et al. Subclassification of diffuse large B-cell lymphomas according to the Kiel classification: distinction of centroblastic and immunoblastic lymphomas is a significant prognostic risk factor. *Blood*. 1997;89:2291-2297.

81. Horn H, Staiger AM, Vöhringer M, Hay U, Campo E, Rosenwald A, et al. Diffuse large B-cell lymphomas of immunoblastic type are a major reservoir for MYC-IGH translocations. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(1):61-6.
82. Kramer MH, Hermans J, Parker J, Krol AD, KluinNelemans JC, Haak HL, et al. Clinical significance of bcl2 and p53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study. *J Clin Oncol*. 1996;14:2131-2138.
83. Uherova P, Ross CW, Schnitzer B, Singleton TP, Finn WG. The clinical significance of CD10 antigen expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2001;115:582-588.
84. Barrans SL, O'Connor SJ, Evans PA, Davies FE, Owen RG, Haynes AP, et al. Rearrangement of the BCL6 locus at 3q27 is an independent poor prognostic factor in nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2002;117:322-332.
85. Ohshima K, Kawasaki C, Muta H, Muta K, Deyev V, Haraoka S, et al. CD10 and Bcl10 expression in diffuse large B-cell lymphoma: CD10 is a marker of improved prognosis. *Histopathology*. 2001;39:156-162.
86. Iqbal J, Meyer PN, Smith LM, Johnson NA, Vose JM, Greiner TC, et al. BCL2 predicts survival in germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP-like therapy and rituximab. *Clin Cancer Res*. 2011;17:7785-7795
87. Valera A, Lopez-Guillermo A, Cardesa-Salzmann T, Climent F, Gonzalez-Barca E, Mercadal S, et al. MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica*. 2013;98:1554-1562.
88. Cook JR, Goldman B, Tubbs RR, Rimsza L, Leblanc M, Stiff P, et al. Clinical significance of MYC expression and/or "high-grade" morphology in non-Burkitt, diffuse aggressive B-cell lymphomas: a SWOG S9704 correlative study. *Am J Surg Pathol*. 2014;38:494-501.
89. Perry AM, Alvarado-Bernal Y, Laurini JA, Smith LM, Slack GW, Tan KL, et al. MYC and BCL2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *Br J Haematol*. 2014;165(3):382-91.
90. Wang XJ, Medeiros LJ, Lin P, Yin CC, Hu S, Thompson MA, et al. MYC cytogenetic status correlates with expression and has prognostic significance in patients with MYC/BCL2 Protein Double-positive Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2015;39:1250-1258.
91. Yamaguchi M, Nakamura N, Suzuki R, Kagami Y, Okamoto M, Ichinohasama R, et al. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: results of a detailed clinicopathological review in 120 patients. *Haematologica*. 2008;93:1195-1202.
92. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T, et al. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients. *Blood*. 2002;99: 815-821.

93. 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 Aug;49(8):1501-9.
94. Li ZM, Huang JJ, Xia Y, Zhu YJ, Zhao W, Wei WX, et al. High Ki-67 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients with non-germinal center subtype indicates limited survival benefit from R-CHOP therapy. *Eur J Haematol*. 2012;88(6):510-7.
95. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, Manyam GC, Visco C, Tzankov A et al. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2013;121:2715-2724.
96. Slack GW, Steidl C, Sehn LH, Gascoyne RD. CD30 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study from British Columbia. *Br J Haematol*. 2014;167:608-617.
97. Chang CC, McClintock S, Cleveland RP, Trzypuc T, Vesole DH, Logan B, et al. 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.
98. Alizadeh AA, Gentles AJ, Alencar AJ, Liu CL, Kohrt HE, Houot R, et al. Prediction of survival in diffuse large B-cell lymphoma based on the expression of 2 genes reflecting tumor and microenvironment. *Blood*. 2011;118:1350-1358.
99. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346:1937-1947.
100. Barrans SL, Evans PA, O'Connor SJ, Kendall SJ, Owen RG, Haynes AP, et al. The t(14;18) is associated with germinal center-derived diffuse large B-cell lymphoma and is a strong predictor of outcome. *Clin Cancer Res*. 2003;9:2133-9.
101. Visco C, Tzankov A, Xu-Monette ZY, Miranda RN, Tai YC, Li Y, et al. Patients with diffuse large B-cell lymphoma of germinal center origin with BCL2 translocations have poor outcome, irrespective of MYC status: a report from an International DLBCL rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Haematologica*. 2013; 98:255-263.
102. Barrans S, Crouch S, Smith A, Turner K, Owen R, Patmore R, et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J Clin Oncol*. 2010;28:3360-3365.
103. Copie-Bergman C, Cuilliere-Dartigues P, Baia M, Briere J, Delarue R, Canioni D, et al. MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study. *Blood*. 2015;126(22):2466-74.

104. Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, Connors JM, Sehn LH, Farinha P, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood*. 2009;114:3533-7.
105. Lu TX, Fan L, Wang L, Wu JZ, Miao KR, Liang JH, et al. MYC or BCL2 copy number aberration is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*. 2015;6(21):18374-88.
106. Yoon SO, Jeon YK, Paik JH, Kim WY, Kim YA, Kim JE, et al. MYC translocation and an increased copy number predict poor prognosis in adult diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), especially in germinal centre-like B cell (GCB) type. *Histopathology*. 2008;53:205-217.
107. Testoni M, Kwee I, Greiner TC, Montes-Moreno S, Vose J, Chan WC, et al. Gains of MYC locus and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Br J Haematol*. 2011;155:274- 277.
108. Iqbal J, Greiner TC, Patel K, Dave BJ, Smith L, Ji J, et al. Distinctive patterns of BCL6 molecular alterations and their functional consequences in different subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2007;21:2332- 2343.
109. Vitolo U, Botto B, Capello D, Vivenza D, Zagonel V, Gloghini A, et al. Point mutations of the BCL-6 gene: clinical and prognostic correlation in B-diffuse large cell lymphoma. *Leukemia*. 2002;16:268-275.
110. Young KH, Leroy K, Moller MB, Colleoni GW, SanchezBeato M, Kerbauy FR, et al. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. *Blood*. 2008;112:3088-3098.
111. Xu-Monette ZY, Wu L, Visco C, Tai YC, Tzankov A, Liu WM, et al. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2012;120:3986-3996.
112. Zahid MF, Khan N, Hashmi SK, Kizilbash SH, Barta SK. Central nervous system prophylaxis in diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Haematol*. 2016;97(2):108–20
113. Xie Y, Pittaluga S, Jaffe ES. The histological classification of diffuse large B-cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2015;52(2):57–66.
114. Senff NJ, Hoefnagel JJ, Jansen PM, Vermeer MH, van Baarlen J, Blokx WA, et al. Reclassification of 300 primary cutaneous B- cell lymphomas according to the new WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas: comparison with previous classifications and identification of prognostic markers. *J Clin Oncol*. 2007;25:1581- 1587.
115. Patterson JW. Weedon' s Skin Pathology. Fourth Edition, Charlottesville: Elsevier; 2016,p: 1197.

116. Hoefnagel JJ, Dijkman R, Basso K, Jansen PM, Hallermann C, Willemze R, et al. Distinct types of primary cutaneous large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Blood*. 2005 May 1;105(9):3671-8.
117. Oyama T, Yamamoto K, Asano N, et al. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients. *Clin Cancer Res*. 2007;13:5124–32.
118. Beltran BE, Morales D, Quinones P, Medeiros LJ, Miranda RN, Castillo JJ. EBV-positive diffuse large b-cell lymphoma in young immunocompetent individuals. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 11:512–6.
119. Dunleavy K. Primary mediastinal B-cell lymphoma: biology and evolving therapeutic strategies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2017;2017(1):298–303.
120. Hutchinson CB, Wang E. Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma: a short review with brief discussion of mediastinal gray zone lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135(3):394-8.
121. Jelinek T, Mihalyova J, Kascak M, Duras J, Hajek R. PD-1/PD-L1 inhibitors in Haematological malignancies: update 2017. *Immunology*. 2017;152(3):357–371.
122. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*, Eighth Edition Philadelphia: Elsevier, 2015: p;388-90.
123. Melvold RW, Sticca RP. Basic and tumor immunology: a review. *Surg Oncol Clin N Am*. 2007;16(4):711-35, vii.
124. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev*. 2018;32(19-20):1267–1284.
125. Oiseth SJ, Aziz MS. Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead. *J Cancer Metastasis Treat* 2017;3:250-61.
126. Kucerova P, Cervinkova M. Spontaneous regression of tumour and the role of microbial infection - possibilities for cancer treatment. *Anticancer Drugs*. 2016;27:269-77.
127. Challis GB, Stam HJ. The spontaneous regression of cancer. A review of cases from 1900 to 1987. *Acta Oncol* 1990;29:545-50.
128. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol* 1976;116:180-3.
129. Old LJ, Clarke DA, Benacerraf B. Effect of Bacillus Calmette-Guerin infection on transplanted tumours in the mouse. *Nature* 1959;184:291-2.
130. McAllister SS, Weinberg RA. The tumour-induced systemic environment as a critical regulator of cancer progression and metastasis. *Nat Cell Biol*. 2014;16(8):717–727.

131. Wu Y, Chen W, Xu ZP, Gu W. PD-L1 Distribution and Perspective for Cancer Immunotherapy-Blockade, Knockdown, or Inhibition. *Front Immunol.* 2019;10:2022.
132. Marin-Acevedo JA, Dholaria B, Soyano AE, Knutson KL, Chumsri S, Lou Y. Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges. *J Hematol Oncol.* 2018;11(1):39.
133. Jin HT, Ahmed R, Okazaki T. Role of PD-1 regulating T cell immunity. In: Ahmed R, Honjo T. (eds) *Negative Co-receptors and Ligands. Current Topics in Microbiology and Immunology*, Vol 350. Springer, Berlin, Heidelberg, 2010.
134. Song MK, Park BB, Uhm J. Understanding Immune Evasion and Therapeutic Targeting Associated with PD-1/PD-L1 Pathway in Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Int J Mol Sci.* 2019;20(6):1326.
135. Ostrand-Rosenberg S, Horn LA, Haile ST. The programmed death-1 immune-suppressive pathway: barrier to antitumor immunity. *J Immunol.* 2014;193(8):3835–3841.
136. Chemnitz JM, Parry RV, Nichols KE, June CH, Riley JL. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J Immunol.* 2004 Jul 15;173(2):945-54.
137. Riella LV, Paterson AM, Sharpe AH, Chandraker A. Role of the PD-1 pathway in the immune response. *Am J Transplant.* 2012;12(10):2575–2587.
138. Zak KM, Grudnik P, Magiera K, Dömling A, Dubin G, Holak TA. Structural Biology of the Immune Checkpoint Receptor PD-1 and Its Ligands PD-L1/PD-L2. *Structure.* 2017;25(8):1163-1174.
139. Mahoney KM, Shukla SA, Patsoukis N, Chaudhri A, Browne EP, Arazi A, et al. A secreted PD-L1 splice variant that covalently dimerizes and mediates immunosuppression. *Cancer Immunol Immunother.* 2019;68(3):421-432.
140. Akinleye A, Rasool Z. Immune checkpoint inhibitors of PD-L1 as cancer therapeutics. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):92.
141. Alsaab HO, Sau S, Alzhrani R, Tatiparti K, Bhise K, Kashaw SK, et al. PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy: Mechanism, Combinations, and Clinical Outcome. *Front Pharmacol.* 2017;8:561.
142. Salmaninejad A, Valilou SF, Shabgah AG, Aslani S, Alimardani M, Pasdar A, et al. PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy. *J Cell Physiol.* 2019;234(10):16824-16837.
143. Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity.* 1999;11(2):141-51.



144. Nishimura H, Honjo T, Minato N. Facilitation of beta selection and modification of positive selection in the thymus of PD-1-deficient mice. *J Exp Med*. 2000;191:891–898.
145. Guleria I, Khosroshahi A, Ansari MJ, Habicht A, Azuma M, Yagita H, et al. A critical role for the programmed death ligand 1 in fetomaternal tolerance. *J Exp Med*. 2005; 202:231–237.
146. Sugita S, Usui Y, Horie S, Futagami Y, Yamada Y, Ma J, et al. Human corneal endothelial cells expressing programmed death-ligand 1 (PD-L1) suppress PD-1+ T helper 1 cells by a contact-dependent mechanism. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50:263–272.
147. D'Souza M, Fontenot AP, Mack DG, Lozupone C, Dillon S, Meditz A, et al. Programmed death 1 expression on HIV-specific CD4+ T cells is driven by viral replication and associated with T cell dysfunction. *J Immunol*. 2007;179:1979–1987.
148. Golden-Mason L, Palmer B, Klarquist J, Mengshol JA, Castelblanco N, Rosen HR. Upregulation of PD-1 expression on circulating and intrahepatic hepatitis C virus-specific CD8+ T cells associated with reversible immune dysfunction. *J Virol*. 2007; 81:9249–9258.
149. Shitara K, Nishikawa H. Regulatory T cells: a potential target in cancer immunotherapy. *Ann N Y Acad Sci*. 2018;1417(1):104-115.
150. Budczies J, Bockmayr M, Denkert C, Klauschen F, Gröschel S, Darb-Esfahani S, et al. Pan-cancer analysis of copy number changes in programmed death-ligand 1 (PD-L1, CD274) - associations with gene expression, mutational load, and survival. *Genes Chromosomes Cancer*. 2016;55:626– 39.
151. Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T, O'Donnell E, et al. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 2010;116:3268–77.
152. Budczies J, Mechtersheimer G, Denkert C, Klauschen F, Mughal SS, Chudasama P, et al. PD-L1 (CD274) copy number gain, expression, and immune cell infiltration as candidate predictors for response to immune checkpoint inhibitors in soft-tissue sarcoma. *Oncoimmunology*. 2017;6(3):e1279777.
153. Georgiou K, Chen L, Berglund M, Ren W, de Miranda NF, Lisboa S, et al. Genetic basis of PD-L1 overexpression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. 2016;127:3026–34.
154. Shen X, Zhang L, Li J, Li Y, Wang Y, Xu ZX. Recent Findings in the Regulation of Programmed Death Ligand 1 Expression. *Front Immunol*. 2019;10:1337.
155. Mu L, Long Y, Yang C, Jin L, Tao H, Ge H, et al. The IDH1 Mutation-Induced Oncometabolite, 2-Hydroxyglutarate, May Affect DNA Methylation and Expression of PD-L1 in Gliomas. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:82.
156. Wang N, Zhang T. Down-regulation of microRNA-135 promotes sensitivity of non-small cell lung cancer to gefitinib by targeting TRIM16. *Oncol Res*. 2018;26:1005–1410.

157. Tang D, Zhao D, Wu Y, Yao R, Zhou L, Lu L, et al. The miR-3127-5p/p-STAT3 axis up-regulates PD-L1 inducing chemoresistance in non-small-cell lung cancer. *J Cell Mol Med.* 2018;22(8):3847–3856. doi: 10.1111/jcmm.13657. [Epub ahead of print].
158. Fang W, Zhang J, Hong S, Zhan J, Chen N, Qin T, et al. EBV-driven LMP1 and IFN- $\gamma$  up-regulate PD-L1 in nasopharyngeal carcinoma: Implications for oncotargeted therapy. *Oncotarget.* 2014;5(23):12189-202.
159. Green MR, Rodig S, Juszczynski P, Ouyang J, Sinha P, O'Donnell E, et al. Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-L1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders: implications for targeted therapy. *Clin Cancer Res.* 2012;18(6):1611-8.
160. Zhang WJ, Peng CH, Zheng SS. Programmed death 1 and programmed death ligand 1 expressions in patients with chronic hepatitis B. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2013;12: 394–399.
161. Abdellatif H, Shiha G. PD-L1 Expression on Circulating CD34 (+) Hematopoietic Stem Cells Closely Correlated with T-cell Apoptosis in Chronic Hepatitis C Infected Patients. *Int J Stem Cells.* 2018;11(1):78–86.
162. Muthumani K, Shedlock DJ, Choo DK, Fagone P, Kawalekar OU, Goodman J, et al. HIV-mediated phosphatidylinositol 3-kinase/serine-threonine kinase activation in APCs leads to programmed death-1 ligand upregulation and suppression of HIV-specific CD8 T cells. *J Immunol.* 2011;187(6):2932-43.
163. Skinner HD, Giri U, Yang LP, Kumar M, Liu Y, Story MD, et al. Integrative analysis identifies a novel AXL-PI3Kinase-PD-L1 signaling axis associated with radiation resistance in head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 2017;23:2713–22.
164. Dang CV. MYC on the path to cancer. *Cell.* 2012;149(1):22-35.
165. Casey SC, Tong L, Li Y, Do R, Walz S, Fitzgerald KN, et al. MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1. *Science.* 2016;352:227–31.
166. Jiang X, Zhou J, Giobbie-Hurder A, Wargo J, Hodi FS. The activation of MAPK in melanoma cells resistant to BRAF inhibition promotes PD-L1 expression that is reversible by MEK and PI3K inhibition. *Clin Cancer Res.* 2013;19(3):598-609.
167. Peng J, Hamanishi J, Matsumura N, Abiko K, Murat K, Baba T, et al. Chemotherapy Induces Programmed Cell Death-Ligand 1 Overexpression via the Nuclear Factor- $\kappa$ B to Foster an Immunosuppressive Tumor Microenvironment in Ovarian Cancer. *Cancer Res.* 2015;75(23):5034-45.
168. Twa DD, Chan FC, Ben-Neriah S, Woolcock BW, Mottok A, Tan KL, et al. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood.* 2014;123:2062–2065.
169. Choi JW, Kim Y, Lee JH, Kim YS. MYD88 expression and L265P mutation in diffuse large B-cell lymphoma. *Hum Pathol.* 2013;44:1375–81.

170. Xue T, Wang WG, Zhou XY, Li XQ. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma features PD-L1 protein but not mRNA overexpression. *Pathology*. 2018;50(7):725-729.
171. Tomassetti S, Chen R, Dandapani S. The role of pembrolizumab in relapsed/refractory primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Ther Adv Hematol*. 2019;10:2040620719841591.
172. Kwon D, Kim S, Kim PJ, Go H, Nam SJ, Paik JH et al. Clinicopathological analysis of programmed cell death 1 and programmed cell death ligand 1 expression in the tumour microenvironments of diffuse large B cell lymphomas. *Histopathology*. 2016;68(7):1079-89.
173. Qiu L, Zheng H, Zhao X. The prognostic and clinicopathological significance of PD-L1 expression in patients with diffuse large B-cell lymphoma: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2019;19(1):273.
174. Kwon HJ, Yang JM, Lee JO, Lee JS, Paik JH. Clinicopathologic implication of PD-L1 and phosphorylated STAT3 expression in diffuse large B cell lymphoma. *J Transl Med*. 2018;16(1):320.
175. Chen BJ, Dashnamoorthy R, Galera P, Makarenko V, Chang H, Ghosh S, et al. The immune checkpoint molecules PD-1, PD-L1, TIM-3 and LAG-3 in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*. 2019;10(21):2030-2040.
176. Hu LY, Xu XL, Rao HL, Chen J, Lai RC, Huang HQ, et al. Expression and clinical value of programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) in diffuse large B cell lymphoma: a retrospective study. *Chin J Cancer*. 2017;36(1):94.
177. Dong L, Lv H, Li W, Song Z, Li L, Zhou S, Qiu L, et al. Co-expression of PD-L1 and p-AKT is associated with poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma via PD-1/PD-L1 axis activating intracellular AKT/mTOR pathway in tumor cells. *Oncotarget*. 2016;7(22):33350-62.
178. Xing W, Dresser K, Zhang R, Evens AM, Yu H, Woda BA, et al. Chen BJ. PD-L1 expression in EBV-negative diffuse large B-cell lymphoma: clinicopathologic features and prognostic implications. *Oncotarget*. 2016;7(37):59976-59986.
179. Shi Y, Deng L, Song Y, Lin D, Lai Y, Zhou L, et al. CD3+/CD8+ T-cell density and tumoral PD-L1 predict survival irrespective of rituximab treatment in Chinese diffuse large B-cell lymphoma patients. *Int J Hematol*. 2018;108, 254–266.
180. Sun C, Jia Y, Wang W, Bi R, Wu L, Bai Q, et al. Integrative analysis of PD-L1 DNA status, mRNA status and protein status, and their clinicopathological correlation, in diffuse large B-cell lymphoma. *Histopathology*. 2019;74(4):618-628.
181. Huang S, Nong L, Liang L, Zheng Y, Wang W, Liu J, et al. Comparison of PD-L1 detection assays and corresponding significance in evaluation of diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med*. 2019;8(8):3831–3845.
182. Bledsoe JR, Redd RA, Hasserjian RP, Soumerai JD, Nishino HT, Boyer DF et al. The immunophenotypic spectrum of primary mediastinal large B-cell lymphoma reveals prognostic biomarkers associated with outcome. *American Journal of Hematology*. 2016; 91(10), E436–E441.

183. Fang X, Xiu B, Yang Z, Qiu W, Zhang L, Zhang S, et al. The expression and clinical relevance of PD-1, PD-L1, and TP63 in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(15):e6398.
184. Andorsky DJ, Yamada RE, Said J, Pinkus GS, Betting DJ, Timmerman JM. Programmed Death Ligand 1 Is Expressed by Non-Hodgkin Lymphomas and Inhibits the Activity of Tumor-Associated T Cells. *Clin Cancer Res*. 2011;17(13):4232-4244.
185. Li L, Li Y, Que X, Gao X, Gao Q, Yu M, Ma K, et al. Prognostic significances of overexpression MYC and/or BCL2 in R-CHOP-treated diffuse large B-cell lymphoma: A Systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2018;8(1):6267.
186. Matsumoto K, Fujisawa S, Ando T, Koyama M, Koyama S, Ishii Y, et al. Anemia Associated with Worse Outcome in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients: A Single-Center Retrospective Study. *Turk J Haematol*. 2018;35(3):181-184.
187. Jardin F. Next generation sequencing and the management of diffuse large B-cell lymphoma: from whole exome analysis to targeted therapy. *Discov Med*. 2014;18(97):51-65.
188. Dubois S, Viailly PJ, Mareschal S, Bohers E, Bertrand P, Ruminy P, et al. Next-Generation Sequencing in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Highlights Molecular Divergence and Therapeutic Opportunities: a LYSA Study. *Clin Cancer Res*. 2016;22(12):2919-28.