

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Ali Veral

**DE NOVO VE TRANSFORME DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ
LENFOMALARDA PD-1 VE PD-L1 EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hafize Özdemir

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mine Hekimgil

İZMİR

2018

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Ali Veral

**DE NOVO VE TRANSFORME DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ
LENFOMALARDA PD-1 VE PD-L1 EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hafize Özdemir

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mine Hekimgil

İZMİR

2018

ÖN SÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda ilgi ve desteklerini esirgemeyen, deneyimleriyle donanımlı patologlar olmamız için çaba gösteren başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ali Veral olmak üzere eğitimime katkıda bulunan tüm hocalarıma ve uzmanlarıma,

Eğitim ve tez hazırlık sürecim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve onur duyduğum; güler yüzünü ve samimiyetini hiçbir zaman esirgemeyen, her aşamada sabırla yol gösterici olan değerli hocam tez danışmanım Prof. Dr. Mine Hekimgil'e

Tez hazırlık sürecimde yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Nazan Özsan, Uzm. Dr. Derya Demir ve Uzm. Dr. Gürdeniz Serin'e,

İstatistiksel değerlendirmede ve yorumlamada katkıda bulunan Prof. Dr. Mehmet Orman ve Doç. Dr. Timur Köse'ye,

Tez olgularımın laboratuvar hazırlık aşamasında bana destek olan kesit, döküm, immünohistokimya laboratuvarı, arşiv ve idari bölüm görevlilerimize,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, her konuda destek olan tüm asistan arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum emekli olup giden ve çalışmakta olan tüm patoloji çalışanlarına,

Hayatım boyunca sevgi, hoşgörü ve sabırla her konuda yanımda olan kıymetli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Alt Komisyonu'na projemize verdikleri destek için teşekkür ederim.

Dr. Hafize Özdemir

İZMİR

2018

İÇİNDEKİLER

	<i>Sayfa</i>
İÇİNDEKİLER	i-iii
ÖZET	iv-v
ABSTRACT	vi-vii
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix-xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1.GİRİŞ	1-3
2.GENEL BİLGİLER	4-34
DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....	4-30
2.1.TANIM.....	4
2.2.EPİDEMİYOLOJİ.....	4-5
2.3.ETİYOLOJİ.....	6
2.4.KLİNİK ÖZELLİKLER.....	6-7
2.5.MORFOLOJİK ÖZELLİKLER.....	8-12
2.5.1.TEMEL MORFOLOJİK VARYANTLAR.....	11
2.5.2.SANTROBLASTİK VARYANT.....	11
2.5.3.İMMÜNOBLASTİK VARYANT.....	11
2.5.4.ANAPLASTİK VARYANT.....	12
2.5.5.NADİR MORFOLOJİK VARYANTLAR.....	12
2.6.İMMÜNFENOTİPİK ÖZELLİKLER.....	13-16
2.7.HÜCRE KÖKENİ.....	17
2.7.1.HÜCRE KÖKENİ VE ALT TIPLENDİRME.....	17
2.8.GENETİK PROFİL.....	18-19
2.9.PROGNOSTİK FAKTÖRLER.....	19-22
2.9.1.KLİNİK.....	19
2.9.2.MORFOLOJİ.....	20
2.9.3.İMMÜNFENOTİP.....	20-21
2.9.4.PROLİFERASYON.....	21
2.9.5.GENETİK.....	21-22
2.9.6.MİKROÇEVRE.....	22
2.9.7.MİKRORNA.....	22

2.9.8.TEDAVİ.....	22
2.10.AYIRICI TANI.....	22-24
2.11.TRANSFORME (SEKONDER) DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....	24-27
2.11.1.KLL/SLL'DEN DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMAYA PROGRESYON VE TRANSFORMASYON (RİCHTER SENDROMU).....	24-25
2.11.2. FOLLİKÜLER LENFOMADA DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMAYA PROGRESYON VE TRANSFORMASYON.....	25-26
2.11.3. NODÜLER LENFOSİT PREDOMİNANT HODGKİN LENFOMA'DA DBBHL'YA PROGRESYON VE TRANSFORMASYON.....	26
2.11.4. DİĞER DÜŞÜK DERECELİ B HÜCRELİ LENFOMALARDA DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMAYA PROGRESYON VE TRANSFORMASYON.....	26-27
2.12. DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMALARDA TANISAL VE PROGNOSTİK ÖNEMİ OLAN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLER VE KROMOJENİK İN SİTU HİBRİDİZASYON UYGULAMALARI.....	27-30
2.12.1.CD3.....	27
2.12.2.CD10.....	27
2.12.3.CD20.....	27-28
2.12.4.CD30.....	28
2.12.5.BCL2.....	28
2.12.6.BCL6.....	28-29
2.12.7.MUM1 (IRF4).....	29
2.12.8.MYC.....	29-30
2.12.9.Kİ67.....	30
2.12.10.EBER CISH.....	30
2.13. PROGRAMMED DEATH RECEPTOR-1 (PD-1) VE PROGRAMMED DEATH LİGAND-1/2 (PD-L1/2) YOLAĞI VE LENFOMALARDA ÖNEMİ.....	30-34
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	35-39
3.1.TRANSFORME DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA OLGULARININ SEÇİM KRİTERLERİ.....	35
3.2. <i>DE NOVO</i> DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA OLGULARININ SEÇİM KRİTERLERİ.....	35-36
3.3.ETİK KURUL ONAYI.....	36
3.4.HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	36-37
3.5.İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMİ.....	38
3.6.İMMÜNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME KRİTERLERİ.....	38-39
3.7.BİYOİSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	39
4.BULGULAR.....	40-60

4.1.TRANSFORME DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA GRUBU.....	40-51
4.2. <i>DE NOVO</i> DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA GRUBU.....	51-57
4.3. TÜM (TRANSFORME VE <i>DE NOVO</i> DBBHL) OLGULARDAKİ PD-1 VE PD-L1 EKSPRESYONUNUN DİĞER BULGULAR İLE KORELASYONU.....	57-59
4.4. TRANSFORME VE <i>DE NOVO</i> DBBHL OLGU GRUPLARINDA KARŞILAŞTIRMALI BULGULAR.....	59-60
5.TARTIŞMA.....	61-66
6.SONUÇLAR.....	67-70
7.KAYNAKLAR.....	71-94
8.EKLER	
7.1.ETİK KURUL ONAY BELGESİ	
7.2.BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	
7.3.OLGU RAPOR FORMU	
7.4.TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	

ÖZET

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), non-Hodgkin lenfomaların %25-35'ini oluşturan matür B hücreli neoplazi olup, 5 yıllık genel sağkalım oranı %65'tir. DBBHL gelişimi *de novo* ya da düşük dereceli bir B hücreli neoplazinin transformasyonu ile gerçekleşir. Bu iki yolak arasında farklı mekanizmalar yer almakta olup transforme DBBHL'ların birçoğunun prognozu *de novo* DBBHL'ya göre daha kötü seyretmektedir.

Programmed death receptor (PD-1) ve programmed death ligand (PD-L1) immün sistem regülasyonunda etkili fizyolojik moleküllerdir. Bu moleküller birçok solid tümör ve hematolenfoid malignitede gösterilmiş olup, tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışında etkili olmaktadır. Son yıllarda özellikle solid tümörlerde ve mikroçevresinde oldukça önem kazanan PD-1 ve PD-L1 molekülleri immünoterapide de önemli hedef haline gelmiştir.

Bu çalışmada 2000-2016 yılları arasında düşük dereceli B hücreli lenfomadan transforme DBBHL tanısı almış 57 olgu; 2010-2016 yılları arasında ilk kez *de novo* DBBHL tanısı almış 58 olguda immünhistokimyasal yöntem ile PD-1, PD-L1 belirteçlerinin tümör hücreleri ve mikroçevresinde immünekspresyon düzeyleri, morfolojik, diğer immünhistokimyasal parametreler ile ilişkileri ve bu bulguların birbirleriyle korelasyonu araştırılmıştır.

Çalışmada yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı (erkek:kadın oranı) transforme grupta 61,8 ve 0,7; *de novo* grupta 59,5 ve 0,8 olup, iki grup benzer dağılıma sahiptir. Evreleme kemik iliği biyopsilerinde tutulum oranları transforme grupta %35, *de novo* grupta ise %13,5 bulunmuştur. Hans algoritmasına göre transforme grupta olguların 29'u (%50,9) GCB, 28'i (%49,1) non-GCB/ABC; *de novo* grupta ise 24'ü (%41,4) GCB, 34'ü (%58,6) non-GCB/ABC alt tiplerinde saptanmıştır. PD-1 tümör infiltrate lenfosit ve tümör pozitifliği sırasıyla transforme grupta olguların 56'sında (%98,2) ve 20'sinde (%35,1); *de novo* grupta 49'unda (%84,5) ve 14'ünde (%24,1) saptanmıştır. PD-L1 mikroçevre ve tümör pozitifliği sırasıyla transforme grupta olguların 46'sında (%80,7) ve 10'unda (%17,5); *de novo* grupta 57'sinde (%98,3) ve 11'inde (%19) saptanmıştır. Transforme grupta PD-1 pozitif tümör hücrelerine sahip olguların sekizinde (%40) kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma (KLL/SLL); PD-L1 pozitif tümör hücrelerine sahip olguların beşinde (%50) marjinal zon lenfoma öyküsü bulunmaktaydı. PD-1 tümörü infiltrate eden lenfosit pozitif olgu sayısı *de novo* grupta daha yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. PD-1 ve PD-L1 ekspresyonları birbirleriyle kıyaslandığında transforme ve *de novo* grupta PD-1 pozitif tümörü infiltrate eden lenfosit düzeyi ile mikroçevrenin PD-L1 pozitiflik düzeyi arasında pozitif

korelasyon saptanmıştır. PD-1, PD-L1'in tümör mikroçevresi ve tümör hücrelerindeki ekspresyon düzeyleri ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Çalışmamızda iki farklı patogenetik yolağa sahip olgu grubunda tümör hücrelerinde PD-1 ve PD-L1 ekspresyon düzeyleri arasında fark saptanmamıştır. Her iki olgu grubunda da PD-1'in tümörü infiltre eden lenfositlerdeki pozitifliği ile PD-L1'in tümör mikroçevresindeki pozitifliği arasında korelasyon anlamlı bulunmuştur. Bu da PD-1 ve PD-L1'in fizyolojik etkileşimlerinin yanında tümör mikroçevresinde de etkili olan moleküller olduğunu göstermektedir. Tedaviye solid tümörlerde ve Hodgkin lenfomalarda büyük katkı sağlayan PD-1 ve PD-L1'i hedefleyen ajanların diğer hematolenfoid malignitelerin tedavisinde de kullanımı için hasta seçim kriterlerinin belirlenmesinde PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Çalışmamız sonucunda gerek *de novo*, gerekse transforme DBBHL olgularında PD-1 ve PD-L1'i hedefleyen tedavi seçeneğinin göz önünde bulundurulması amacıyla, ilk aşamada immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirmenin uygun maliyetli bir tarama yöntemi olarak kullanılabilmesi sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar sözcükler: PD-1, PD-L1, diffüz büyük B hücreli lenfoma, *de novo*, transforme

ABSTRACT

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is a mature B cell neoplasm constituting 25-35% of non-Hodgkin lymphomas, with a 5-year overall survival rate of 65%. The development of DLBCL occurs *de novo* or by transformation of a low grade B cell neoplasia. There are different mechanisms between these two pathways, and the prognosis of most transformed DLBCLs is worse than *de novo* DLBCL.

Programmed death receptor (PD-1) and programmed death ligand (PD-L1) are effective physiological molecules in the regulation of the immune system. These molecules have been shown in many solid tumors and hematolymphoid malignancies and are effective in the escape of tumor cells from the immune system. In recent years, PD-1 and PD-L1 molecules have become important targets in immunotherapy, especially in solid tumors and their microenvironment.

In this study, 57 patients of DLBCL transformed from low grade B-cell lymphoma diagnosed between 2000 and 2016, and 58 patients with an initial diagnoses of *de novo* DLBCL in the period of 2010-2016 were assessed with immunohistochemical method, for the immunoexpression levels of PD-1 and PD-L1 markers in tumor cells and microenvironment. The relationship between morphological and other immunohistochemical parameters, and the correlation of these findings with each other were investigated

In the study, the mean age and gender distribution (male: female ratio) were 61.8 years old and 0.7 in transformed group, 59.5 years old and 0.8 in *de novo* group, respectively, and the two groups had a similar distribution. The involvement of the bone marrow in staging biopsies were 35% in the transformed group and 13.5% in the *de novo* group. According to the Hans algorithm, 29 (50.9%) cases in the transformed group were GCB, 28 (49.1%) were non-GCB/ABC; in the *de novo* group, 24 (41.4%) were GCB and 34 (58.6%) were non-GCB/ABC subtypes. Tumor infiltrating lymphocyte and tumor positivity of PD-1 were found in 56 (98.2%) and 20 (35.1%) cases in the transformed group; 49 (84.5%) and 14 (24.1%) cases in the *de novo* group, respectively. Microenvironment and tumor positivity of PD-L1 were found in 46 (80.7%) and 10 (17.5%) cases in the transformed group; 57 (98.3%) and 11 (19%) patients in the *de novo* group, respectively. In the transformed group, eight cases (40%) with PD-1 positive tumor cells had a history of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL), five (50%) cases with PD-L1 positive tumor cells had a history of marginal zone lymphoma. The number of cases with PD-1 positive tumor

infiltrating lymphocytes was higher in *de novo* group and this result was statistically significant. When PD-1 and PD-L1 expressions were compared, a positive correlation was found between the level of PD-1 positive tumor infiltrating lymphocytes and PD-L1 positivity in the microenvironment of both the transformed and *de novo* group. There was no significant relationship between PD-1 and PD-L1 expression levels in tumor microenvironment and in tumor cells and overall survival.

In our study, there was no difference between PD-1 and PD-L1 expression levels in tumor cells, in this group of cases with two pathogenetically different pathways. In both groups, the correlation of PD-1 positivity in the tumor infiltrating lymphocytes and the PD-L1 positivity in the tumor microenvironment were found to be significant. This shows that PD-1 and PD-L1 are molecules that are effective in the tumor microenvironment as well as physiological interactions. It is important to evaluate the expression of PD-1 and PD-L1 in the determination of patient selection criteria for the use of PD-1 and PD-L1-targeting agents that contribute to treatment in solid tumors and Hodgkin lymphomas. As a result of our study, in order to take into consideration the treatment option targeting PD-1 and PD-L1 in patients with both *novo* and transformed DLBCL, it was concluded that immunohistochemical method can be used as a cost-effective screening method in the first stage.

Keywords: PD-1, PD-L1, diffuse large B cell lymphoma, *de novo*, transformed

TABLolar LİSTESİ

	<i>Sayfa</i>
Tablo 1: Büyük B hücreli lenfomalarda DSÖ 2016 sınıflandırması.....	5
Tablo 2: IPI skorlama sistemi.....	20
Tablo 3: Transforme DBBHL olgularının cinsiyet, ilk tanı, tutulum bölgesi, transformasyon süresi ve toplam sağkalım sürelerinin dağılımı.....	42-43
Tablo 4: Transforme DBBHL grubunda PD-1 ve PD-L1'in tümör hücreleri ve tümör mikroçevresindeki ekspresyon düzeyleri (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler).....	49
Tablo 5: PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu ile iki olgu grubunda toplam sağkalım ilişkilerine ait p değerleri	49
Tablo 6: Transforme DBBHL grubunda PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun ilk tanı kategorilerine göre dağılımı (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler).....	50
Tablo 7: Transforme DBBHL grubunda PD-1 ile PD-L1 ekspresyonlarının birbirleriyle korelasyonu; p değerleri ve Spearman korelasyon katsayısı (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler).....	51
Tablo 8: De novo DBBHL grubunda PD-1 ve PD-L1'in tümör hücreleri ve tümör mikroçevresindeki ekspresyon düzeyleri (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler)	56
Tablo 9: De novo DBBHL grubunda PD-1 ile PD-L1 ekspresyonlarının birbirleriyle korelasyonu; p değerleri ve Spearman korelasyon katsayısı (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler).....	57
Tablo 10: PD-1 ve PD-L1'in transforme ve <i>de novo</i> DBBHL olgularında tümör mikroçevresi ile tümör hücrelerindeki ekspresyon dağılımları.....	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1:** Kemik iliğinde blastik morfolojide DBBHL infiltrasyonu (H&E; 4x, 40x)..... 7
- Şekil 2:** Nodal DBBHL’da odaksal koagülasyon nekrozu alanları (H&E; 10x)..... 9
- Şekil 3:** KLL/SLL zemininde gelişmiş DBBHL (Richter sendromu); **A.** Lenf nodülünde perinodal infiltrasyon gösteren diffüz küçük lenfoid infiltrasyon zemininde nodüler görünümde büyük hücre transformasyonu alanları (H&E; 4x), **B.** Sol tarafta küçük, monoton KLL/SLL hücreleri; sağ tarafta transforme büyük neoplastik hücreler (H&E; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede CD20 ile KLL/SLL ve DBBHL alanlarındaki neoplastik infiltrasyonda pozitif boyanma (DAB 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede CD5 ile KLL/SLL’de neoplastik infiltrasyonda pozitif boyanma; DBBHL’de büyük neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x)..... 9
- Şekil 4:** Ekstranodal testiküler DBBHL; **A, B.** Testiste seminifer tübüleri ortadan kaldıran diffüz neoplastik infiltrasyon (H&E; 4x, 10x), **C.** İnfiltrasyonu oluşturan büyük neoplastik hücrelerde santroblastik morfoloji (H&E; 40x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede CD20 ile neoplastik hücrelerde pozitif boyanma (DAB; 20x)..... 10
- Şekil 5:** İnce barsakta ekstranodal DBBHL; İnce barsak duvarında mukozayı infiltre etmiş ve derine doğru ilerleyen diffüz neoplastik infiltrasyon (H&E; 4x)..... 10
- Şekil 6:** DBBHL’de morfolojik varyantlar; **A.** Santroblastik varyant, **B.** İmmünoblastik varyant, **C.** Anaplastik varyant, **D.** HRS benzeri morfoloji (H&E; 40x)..... 12
- Şekil 7:** Hans algoritması 14
- Şekil 8:** Hans algoritmasına göre GCB alt tipinde DBBHL örneği; **A.** Santroblastik morfolojide diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), **B.** İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x).... 15
- Şekil 9:** Hans algoritmasına göre GCB alt tipinde DBBHL örneği; **A.** Anaplastik morfolojide diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), **B.** İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x).... 15

Şekil 10: Hans algoritmasına göre non-GCB/ABC alt tipinde DBBHL örneği A. Santroblastik morfolojide diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), B. İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), C. İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), D. İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x).....	16
Şekil 11: Hans algoritmasına göre non-GCB/ABC alt tipinde DBBHL örneği A. Santroblastik ve immünoblastik morfolojide, mitotik indeksi yüksek diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), B. İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), C. İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), D. İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x).....	16
Şekil 12: PD-1 ve PD-L1/2 yolağının fizyopatolojik süreci ve inhibisyon yolları.....	31
Şekil 13: A. Lenf nodülünde FL + DBBHL olgusunda diffüz paternde izlenen alanlar ve perinodal infiltrasyon (H&E; 4x), B. Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), C. İmmünohistokimyasal incelemede CD3 ile tümör infiltrate T lenfositlerin dağılımı (DAB; 20x), D. İmmünohistokimyasal incelemede PD-1 ile tümör hücreleri negatif; tümörü infiltrate eden CD3 pozitif T lenfositlerin dağılımına uyan paternde güçlü sitoplazmik ekspresyon (DAB; 20x).....	44
Şekil 14: Folliküler lenfoma + DBBHL olgusu; A. Lenf nodülünde DBBHL morfolojisindeki alanlar ve perinodal infiltrasyon (H&E; 4x), B. Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), C-D. İmmünohistokimyasal olarak CD3 pozitif tümör infiltrate T lenfositlerin dağılımı (DAB; 4x, 40x), E-F. İmmünohistokimyasal incelemede PD-1 ile tümör hücreleri ve tümörü infiltrate eden lenfositlerde pozitif ekspresyon (DAB; 4x, 40x).....	46
Şekil 15: A. Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), B. İmmünohistokimyasal incelemede CD68 ile makrofaj/histiosit/myeloid dendritik hücrelerin dağılımı (DAB; 20x), C. İmmünohistokimyasal incelemede PD-L1 ile tümör hücreleri negatif; mikroçevrede makrofaj/histiosit/myeloid dendritik hücrelerin dağılımına uyan paternde zayıf sitoplazmik ekspresyon (DAB; 20x).....	47
Şekil 16: A. Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), B. İmmünohistokimyasal incelemede CD3 ile tümör infiltrate T lenfositlerin dağılımı (DAB; 20x), C. İmmünohistokimyasal incelemede PD-1 ile tümör hücrelerinde soluk, tümör infiltrate T lenfositlerde kuvvetli ekspresyon (DAB; 20x).....	54

Şekil 17: A-B. Santroblast, immünoblast ve HRS benzeri hücre morfolojisinde neoplastik hücreler ve yaygın hemofagositoz (H&E; 40x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede CD68 ile makrofaj/histiosit/myeloid dendritik hücrelerin dağılımı (DAB; 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede PD-L1 ile tümör hücrelerinde güçlü membranöz pozitiflik (DAB; 20x)..... **56**



KISALTMALAR LİSTESİ

DBBHL	: Diffüz büyük B hücreli lenfoma
KLL/SLL	: Kronik lenfositik lösemi/Küçük lenfositik lenfoma
NLPHL	: Nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma
MALT lenfoma	: Mukoza ilişkili lenfoid dokunun ektranodal marjinal zon lenfoması
HRS	: Hodgkin/Reed Sternberg
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FDA	: Food and Drug Administration
GCB	: Germinal merkez B hücre
ABC	: Aktive B hücre
NOS	: Spesifiye edilemeyen
IG	: İmmünglobulin
IPI	: Uluslararası prognostik indeks
EMA	: Epitelyal membran antijen
NLCS	: National LymphoCare Study
CALLA	: Akut lenfoblastik lösemi antijeni
TNF	: Tümör nekroz faktör
ISH	: İn situ hibridizasyon
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
CISH	: Kromojen İn situ hibridizasyon
H&E	: Hematoksilen ve eozin
TIL	: Tümörü infiltre eden lenfositler

1.GİRİŞ

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), non-Hodgkin lenfomaların %25-35'ini oluşturan matür B hücreli neoplazidir. Gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek oranlarda izlenmektedir. Ortalama görülme yaşı 7. dekad olmasına karşın, çocukluk dönemi dahil her yaşta görülebilir. Morfolojik, biyolojik ve klinik çalışmalar ile DBBHL; morfolojik varyantlara, moleküler alt tiplere ve farklı hastalık gruplarına ayrılmıştır. Bununla birlikte spesifik tanısal kategorilerin kriterlerini karşılamayan vakalar Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflandırması 2016 revizyonunda “DBBHL, spesifiye edilemeyen (NOS)” olarak sınıflandırılmıştır (1). DBBHL genellikle *de novo* (primer) olsa da, bazen düşük dereceli bir lenfomanın (küçük lenfositik lenfoma, folliküler lenfoma, marjinal zon lenfoma, nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma) progresyonu ya da transformasyonu sonucu (sekonder) gelişir.

Düşük dereceli B hücreli lenfomaların DBBHL'ya progresyonu ya da transformasyonu; uzun süreli izlemlerde kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfomada (KLL/SLL) %1-10; folliküler lenfomada %25-35; splenik marjinal zon lenfomada %10-15; nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfomada (NLPHL) %3-5 oranlarında bildirilmiş olup, diğer düşük dereceli B hücreli lenfomalarda daha nadir olduğu belirtilmektedir (1). Bu olgular agresif klinik seyir gösterirler. Progresyon ya da transformasyona neden olan olaylar tam olarak anlaşılammış olsa da KLL/SLL'nin Richter transformasyonunda orijinal tümöral B hücreleri ile transforme B hücreleri klonal olarak ilişkili bulunmuştur. Folliküler lenfomadan transforme olgularda da MYC translokasyonu gibi çok sayıda ek genetik anomaliler gösterilmiştir (1).

İmmünkompetan olgularda tümör gelişimi; tümör hücrelerinin çeşitli immün yanıt kaçış mekanizmalarını kullanması ile gerçekleşir. İmmün yanıtta kaçış mekanizmaları içerisinde tümör hücrelerinin en sık kullandığı yol; antijen tanıma ve sunma aşamasında, tümör hücrelerinin immün yanıt tarafından tanınmış antijenik yapısını kaybetmesi veya değiştirmesi ile gerçekleşir (2, 3). Özellikle lenfomalarda tanımlanmış tümör hücrelerinden immünsupresif mediyatörlerin (TGF-B, IL-10 gibi) salınımı, immünsupresif etki gösteren hücrelerin lokal olarak artışı (regülatör T hücreler, tümör ilişkili makrofajlar, myeloid kökenli supresör hücreler vb.) yanı sıra, immün sistem kontrol noktası genlerindeki upregülasyon yolları da immün sistemden kaçışta önemli rol oynamaktadır. Bu yollardan en önemlisi immün sistemin regülasyonunda önemli bir kontrol noktası olan programmed death receptor

(PD-1) ile programmed death ligand 1/2 (PD-L1/2) etkileşimidir. Fizyolojik olarak T hücre yüzeyinde bulunan PD-1 ile makrofaj yüzeyindeki ligandının (PD-L1/2) etkileşimi, T hücrelerde inhibitör sinyallerin oluşması ve immün yanıtın sınırlandırılmasıyla sonuçlanır (4).

İmmün sistemin regülasyonunda yer alan bu yolak, PD-L1 veya PD-L2'nin bazı tümör hücreleri tarafından eksprese edilerek kullanılmasıyla tümörlerin immün yanıtta kaçışında önemli bir rol oynamaktadır (4). Diğer yandan PD-1 ile PD-L1/2 etkileşimini inhibe edip, tümörlerin immün yanıtta kaçışını bloke ederek, solid organ maligniteleri ve hematolojik malignitelerde tedaviyi amaçlayan immünoterapi ajanları önemli bir hedef haline gelmiştir (5).

PD-1 inhibitörleri dünyada ilk olarak metastatik küçük hücreli dışı akciğer karsinomları ve melanomlar ardından, renal hücreli karsinom, ürotelyal karsinom, baş-boyun kanserleri ve klasik Hodgkin lenfomalarında Food and Drug Administration (FDA) onayı ile tedavi seçenekleri arasına girmiştir (6, 7). İlerlemiş hastalıkta; progresyonsuz sağkalımı anlamlı olarak arttıran, klasik kemoterapi ajanlarına oranla minimal toksisiteye neden olan, kanser immünoterapisinin dönüm noktası haline gelmiş bu ajanlar, başta hematolenfoid maligniteler olmak üzere daha birçok tümör tedavisinde yerini almaya adaydır.

Farklı tümör gruplarıyla PD-1 ve PD-L1 ekspresyonuna yönelik yapılan çalışmalar; gelecekte hedefe yönelik tedavinin daha geniş spektrumda hasta profilini kapsayabilmesi için gereklidir. Bu nedenle PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun immünohistokimyasal yöntem ile araştırılması, pratikte uygulanabilirliğinin daha kolay olması nedeniyle güncelliğini koruyan bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Ancak klinik çalışmalara seçilecek hasta gruplarının belirlenmesi için PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun saptanmasında kullanılacak optimal yöntemin seçimi önemlidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda düşük dereceli B hücreli lenfomalardan DBBHL'ya progresyon ya da transformasyon gelişiminde tümör mikroçevresinin de etkili olduğu gösterilmiştir (8). Tümör mikroçevresinde etkili olan moleküller içerisinde PD-1 ve PD-L1/2 de yer almaktadır. Yüksek sayıda CD68 ve PD-L1 pozitif histiositlerin varlığı folliküler lenfomaların daha kısa sürede transformasyonu ile ilişkili bulunmuştur (8).

Çalışmamızda son yıllarda hem prognoz hem de tedaviye yanıtta önemli rol oynadığı düşünülen; solid tümörlerde ve hematolenfoid malignitelerde tümör mikroçevresinde oldukça önem kazanan PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu; immünohistokimyasal yöntem ile 58 *de novo* ve 57 transforme DBBHL olgusunda araştırılmıştır. Daha önce İngilizce literatürde tanımlanmamış olan transforme DBBHL'larda PD-1 ve PD-L1'in neoplastik hücreler, tümörü

infiltrate eden lenfositler ve makrofajlar üzerindeki ekspresyonlarının araştırılması hedeflenmiş, kıyaslama amacıyla *de novo* DBBHL olgularında da aynı yöntemle değerlendirme yapılmıştır. Morfolojik olarak benzer olmalarına rağmen farklı gelişim yolağına sahip iki olgu grubu arasındaki ekspresyon farklılıkları; bulguların morfolojik ve diğer immünohistokimyasal parametreler ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2.GENEL BİLGİLER

DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA

2.1.Tanım

DBBHL, nükleusları normal makrofajlar ile aynı boyutta ya da daha büyük veya normal lenfosit boyutunun iki katından daha büyük boyutlarda nükleuslara sahip, orta-büyük boy B hücrelerin oluşturduğu diffüz büyüme paterni ile karakterli neoplazidir (1). Kiel sınıflandırması gibi önceki sınıflandırmalarda DBBHL'lar santroblastik ve immünoblastik olmak üzere sınıflandırılmıştır (9, 10). Ancak günümüzde morfolojik, biyolojik ve klinik çalışmalar ile DBBHL'lar morfolojik varyantlara, moleküler alt tiplere ve farklı hastalık gruplarına ayrılmıştır (**Tablo 1**). Bununla birlikte biyolojik olarak heterojen olan, tablo 1'de belirtilen spesifik tanısal kategorilerin kriterlerini karşılamayan birçok vaka mevcuttur. Bu vakalar DSÖ sınıflandırması 2016 revizyonunda "DBBHL, spesifiye edilemeyen (NOS)" olarak sınıflandırılmıştır. DBBHL, NOS; germinal merkez B hücre (GCB) ve aktive B hücre (ABC) alt tipi olarak sınıflandırılabilir (1).

2.2.Epidemiyoloji

DBBHL, NOS, non-Hodgkin lenfomaların en sık görülen tipi olup gelişmiş ülkelerde non-Hodgkin lenfomaların %25-35'ini oluşturur (1). Görülme sıklığı gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek oranlardadır. Medyan yaş yedinci dekad içerisinde olup, çocuk ve genç erişkinlerde de görülebilmektedir. Erkeklerde kadınlardan biraz daha sık görülür (1). Asyalılar gibi bazı popülasyonlarda; DBBHL, non-Hodgkin lenfomaların Birleşik Devletler ve Batı Avrupa'dakilere göre daha büyük kısmını oluşturur; ancak bu oran Asyalılarda folliküler lenfoma insidansının daha düşük olmasıyla açıklanabilir (11, 12).

Tablo 1: Büyük B hücreli lenfomalarda DSÖ 2016 sınıflandırması

Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, NOS
Morfolojik varyantlar Santroblastik İmmünoblastik Anaplastik Diğer nadir varyantlar
Moleküler alt tipler Germinal merkez B hücre (GCB) alt tipi Aktive B hücre (ABC) alt tipi
Büyük B Hücreli Diğer Lenfomalar
T hücre/histiositten zengin büyük B hücreli lenfoma Santral sinir sisteminin primer diffüz büyük B hücreli lenfoması Primer kutanöz diffüz büyük B hücreli lenfoma, bacak tipi EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma, NOS Kronik inflamasyon ilişkili diffüz büyük B hücreli lenfoma Lenfomatoid granülomatozis IRF4 rearanjmanı gösteren büyük B hücreli lenfoma Primer mediastinal (timik) büyük B hücreli lenfoma İntravasküler büyük B hücreli lenfoma ALK pozitif büyük B hücreli lenfoma Plazmablastik lenfoma HHV-8 pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma Primer efüzyon lenfoma
Yüksek Dereceli B Hücreli Lenfoma
MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 rearanjmanı gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma Yüksek dereceli B hücreli lenfoma, NOS
B Hücreli Lenfoma, Sınıflandırılmayan
B hücreli lenfoma, sınıflandırılmayan, diffüz büyük B hücreli lenfoma ve klasik Hodgkin lenfoma arasında özellikler gösteren

2.3.Etiyoloji

DBBHL, NOS'un etiyolojisi bilinmemektedir. Bu tümörler genellikle *de novo* (primer) gelişim gösterse de, bazen düşük dereceli bir lenfomanın (KLL/SLL, folliküler lenfoma, marjinal zon lenfoma, NPLHL) progresyonu ya da transformasyonu sonucu (sekonder) gelişirler.

Altta yatan immün yetmezlik önemli bir risk faktörüdür. İmmün yetmezlik ilişkili gelişen DBBHL, NOS olgularında sporadik olgulara göre EBV enfeksiyonu daha sıktır. Tümör hücrelerindeki EBV pozitifliği ile EBV pozitif DBBHL veya başka bir spesifik EBV pozitif lenfoma (kronik inflamasyon ilişkili DBBHL veya lenfomatoid granülomatozis vb.) tanısına varılabilir (1).

Nadir ektranodal DBBHL olguları postmastektomi lenfödem, deri ve kemikte kronik süperatif inflamasyon, cerrahi ve metalik implant öyküsü, jukstaartiküler yumuşak dokuları uzun süre etkileyen romatoid artrit, uzun süren pyotoraks gibi kronik inflamasyon veya irritasyona neden olan faktörler ile ilişkili olarak gelişmektedir (13-19). Bu vakaların çoğu latent EBV ile ilişkili olup "kronik inflamasyon ilişkili DBBHL" olarak sınıflandırılır (14, 16, 18, 19).

2.4.Klinik Özellikler

Çoğu olgu, hızlı büyüyen lenf nodülü veya ektranodal kitle kliniği ile başvurur (20). Hastaların yaklaşık yarısı evre I veya II olarak saptanır. DBBHL'nin ilk evrelemesine FDG-PET'in dahil edilmesi düşük evre hastalığı olan hastaların yüzdesini azaltmıştır (1).

Hastaların büyük bir kısmı asemptomatik olup, B semptomları görülebilir. Ektranodal hastalıkta tutulum bölgesine özgü semptomlar gelişebilir (21).

Olguların yaklaşık %30'unda tanı anında ektranodal tutulum mevcut olup, hastalığın seyri sırasında bu oran %71'e ulaşır (1, 21). En sık ektranodal tutulum bölgesi gastrointestinal sistem (mide ve ileoçekal bölge) olmasına rağmen, primer hastalık diğer ektranodal bölgelerde de görülebilir. Ektranodal hastalığın diğer sık görüldüğü bölgeler

arasında kemik, testis, dalak, Waldeyer halkası, tükürük bezleri, tiroid, karaciğer, böbrekler ve adrenal bezler yer almaktadır (1).

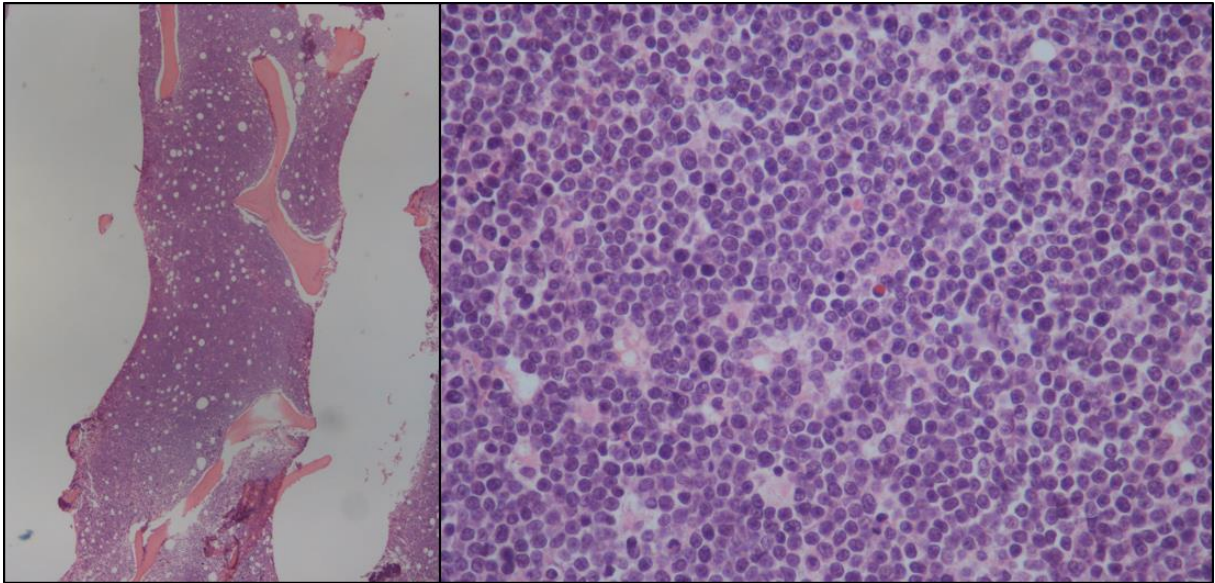
Primer santral sinir sistemi lenfoması ve primer testiküler lenfoma, immün ayrıcalıklı bölgelerin lenfomaları olmaları nedeniyle bazı örtüşen biyolojik özellikleri bulunmaktadır (1).

Özellikle deri ve santral sinir sistemi gibi spesifik bölgelerin ektranodal lenfomaları farklı klinik ve biyolojik özelliklere sahiptir (20). Çoğunlukla büyük B lenfositlerden oluşan kutanöz lenfomalar (primer kutanöz follikül merkez hücreli lenfoma, primer kutanöz DBBHL, bacak tipi) DSÖ 2016 sınıflandırmasında farklı antiteler olarak sınıflandırılmıştır.

Böbrek ve adrenal bez tutulumuyla giden DBBHL'ler artmış santral sinir sistemi tutulum riski ile ilişkilidir (1).

DBBHL'da kemik iliği tutulumu primer hastalık ile uyumlu (**Şekil 1**) (kemik iliğindeki infiltrasyon büyük B hücreli lenfoma morfolojisinde) ya da uyumsuz (kemik iliğindeki infiltrasyon düşük dereceli B hücreli lenfoma morfolojisinde) histolojik bulgular gösterebilir (22-26). Minimal tutulumun tespit edilme oranları akım sitometri, immünohistokimya ve moleküler genetik gibi yardımcı tekniklerin kullanılması ile artırılabilir (27, 28). Lenfoma evrelemesinde en yeni konsensüs kriterleri FDG-PET'in negatif olması durumunda rutin evreleme kemik iliği biyopsisine gerek olmadığını göstermektedir (29).

DBBHL'da periferik kan morfolojik tutulumu nadir görülür (1).



Şekil 1: Kemik iliğinde blastik morfolojide DBBHL infiltrasyonu (H&E; 4x, 40x).

2.5.Morfolojik Özellikler

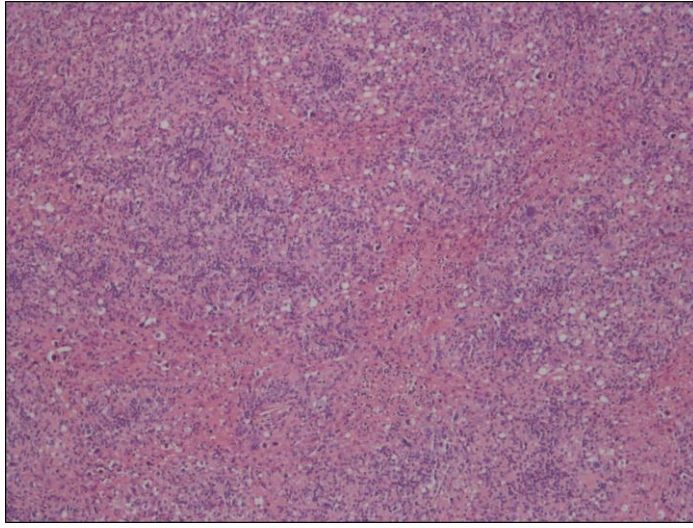
Etkilenen lenf nodülleri veya ektranodal bölgelerde sıklıkla koagülasyon nekrozu (**Şekil 2**) ve çevre doku infiltrasyonunun eşlik ettiği; olağan arşitektürü kısmen veya daha sıklıkla tamamen ortadan kaldıran orta-büyük boy neoplastik hücrelerin diffüz proliferasyonu ile karakterlidir (1, 20). Parsiyel nodal tutulum interfolliküler ve/veya daha seyrek olarak sinüzoidal paternde izlenebilir (1).

Özellikle mediastinal ve retroperitoneal yerleşimli neoplastik proliferasyonlara geniş veya ince sklerotik bantlar eşlik edebilir (1, 30). Çok nadiren neoplastik infiltrasyon karsinomu taklit edecek şekilde koheziv nodüller oluşturabilir (20).

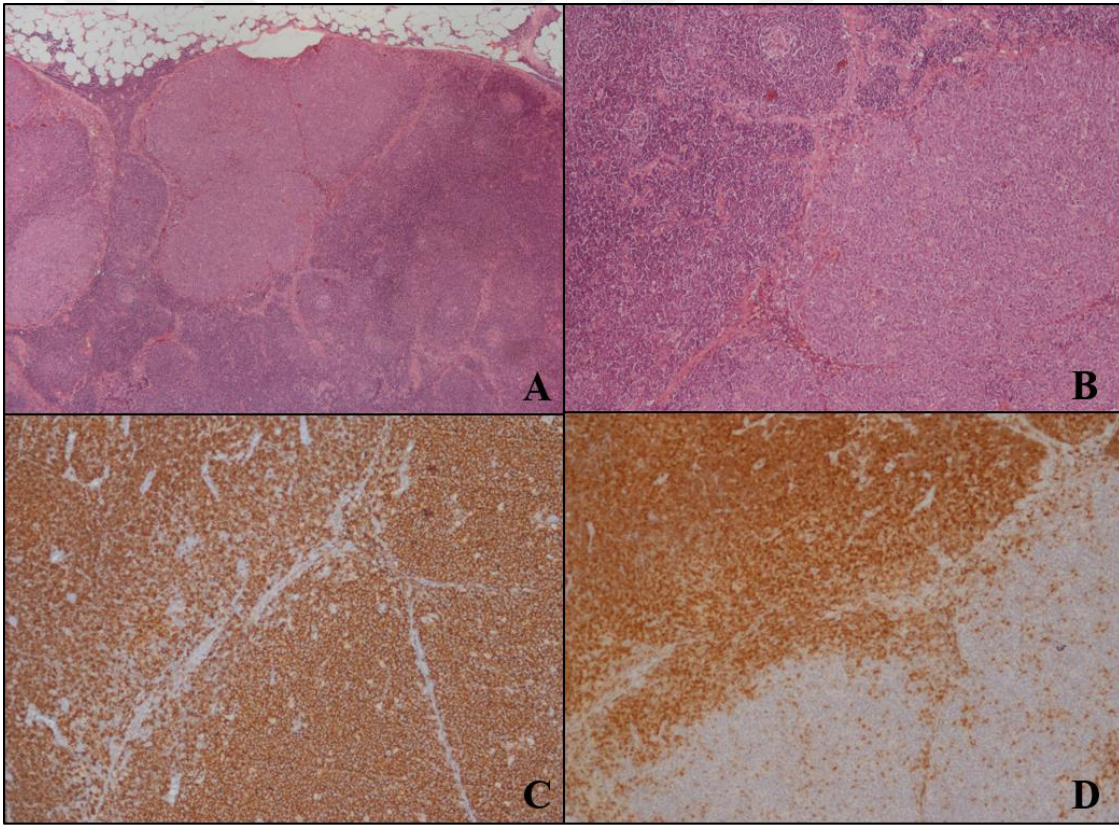
Lenf nodülünde DBBHL, NOS infiltrasyonuna folliküler lenfoma, KLL/SLL gibi düşük dereceli B hücreli lenfoma infiltrasyonları (**Şekil 3**) veya NLPHL infiltrasyonu eşlik edebilir (20).

Ektranodal bölgelerde tümör kitlesine ek olarak tiroid follikülleri, seminifer tübüller, gastrik bezler, tükürük bezi asinüsleri gibi organlara özel yapılara geniş interstisyel infiltrasyon nedeniyle neoplastik sürecin geliştiği dokuya ait elemanların kaybıyla sonuçlanır (**Şekil 4**). Epitel içine infiltrasyon görülebilir; mukozal infiltrasyon sıktır (**Şekil 5**). Altta yatan mukoza ilişkili lenfoid dokunun ektranodal marjinal zon lenfoması (MALT lenfoma) eşlik edebilir (20).

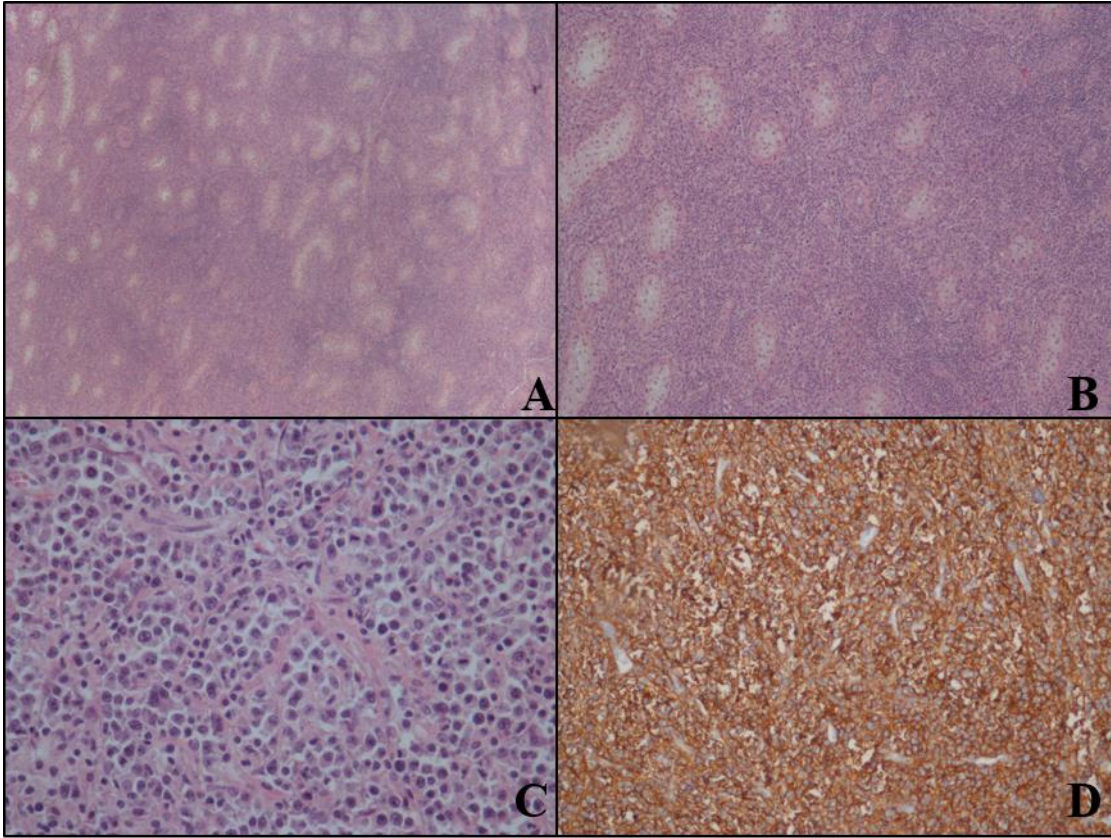
Sonuç olarak DBBHL, NOS'un morfolojisi çeşitli olup, sık ve daha nadir görülen farklı morfolojik varyantlara ayrılabilir. Bu nedenle DBBHL, NOS tanısı verilmeden önce yardımcı testler kritik önem taşır. Özellikle orta büyüklükte neoplastik hücrelere sahip olgular yanlış sınıflandırmaya neden olabilir. Bu olgularda ekstramedüller lösemiler, Burkitt lenfoma, MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 reanjmanı gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma ve blastoid varyant mantle hücreli lenfomaların dışlanması için özel çalışmalara ihtiyaç vardır (1).



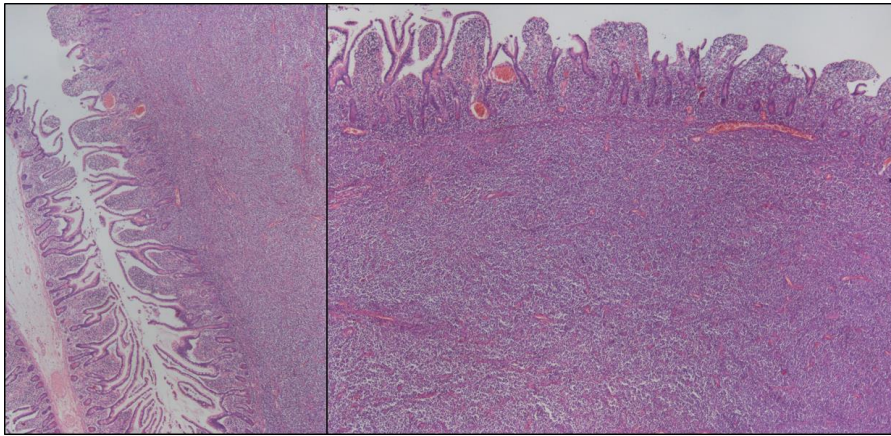
Şekil 2: Nodal DBBHL’da odaksal koagülasyon nekrozu alanları (H&E; 10x)



Şekil 3: KLL/SLL zemininde gelişmiş DBBHL (Richter sendromu); **A.** Lenf nodülünde perinodal infiltrasyon gösteren diffüz küçük lenfoid infiltrasyon zemininde nodüler görünümde büyük hücre transformasyonu alanları (H&E; 4x), **B.** Sol tarafta küçük, monoton KLL/SLL hücreleri; sağ tarafta transforme büyük neoplastik hücreler (H&E; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede CD20 ile KLL/SLL ve DBBHL alanlarındaki neoplastik infiltrasyonda pozitif boyanma (DAB 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede CD5 ile KLL/SLL’de neoplastik infiltrasyonda pozitif boyanma; DBBHL’de büyük neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x).



Şekil 4: Ekstranodal testiküler DBHL; **A, B.** Testiste seminifer tübülleri ortadan kaldıran diffüz neoplastik infiltrasyon (H&E; 4x, 10x), **C.** İnfiltrasyonu oluşturan büyük neoplastik hücrelerde santroblastik morfoloji (H&E; 40x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede CD20 ile neoplastik hücrelerde pozitif boyanma (DAB; 20x).



Şekil 5: İnce barsakta ekstranodal DBHL; İnce barsak duvarında mukozayı infiltre etmiş ve derine doğru ilerleyen diffüz neoplastik infiltrasyon (H&E; 4x).

2.5.1.Temel Morfolojik Varyantlar

Üç yaygın ve birkaç nadir morfolojik varyant tanımlanmıştır. Bütün varyantlarda çok sayıda T lenfosit ve/veya histiositler eşlik edebilir. Bu olgular bütün tanı kriterlerini karşılamadan T hücre/histiositten zengin büyük B hücreli lenfoma olarak sınıflandırılmamalıdır (1).

2.5.2.Santroblastik Varyant

En sık görülen morfolojik varyanttır. Santroblastlar; ince kromatin içeren oval-yuvarlak, veziküler nükleuslara sahip; amfofilik veya bazofilik, dar sitoplazmalı, orta-büyük boy lenfoid hücrelerdir (**Şekil 6A**). Nükleer membrana bağlı 2-4 nükleol içerirler. Bazı olgularda tümör monomorfik görünümde olup, neoplastik hücrelerin neredeyse tamamı santroblastlardan (> %90) oluşmuştur (1). Santroblastik olgular daha sık olarak GCB alt tipindedir (31). Bununla birlikte; çoğu durumda tümör santroblastlar ve immünoblastların karışımından oluştuğu için polimorfik bir görünüme sahiptir (32, 33). Özellikle kemik ve diğer ektranodal bölgelere lokalize olan tümörlerde nadiren baskın olarak multilobe nükleuslu neoplastik hücreler izlenebilir (1).

2.5.3.İmmünoblastik Varyant

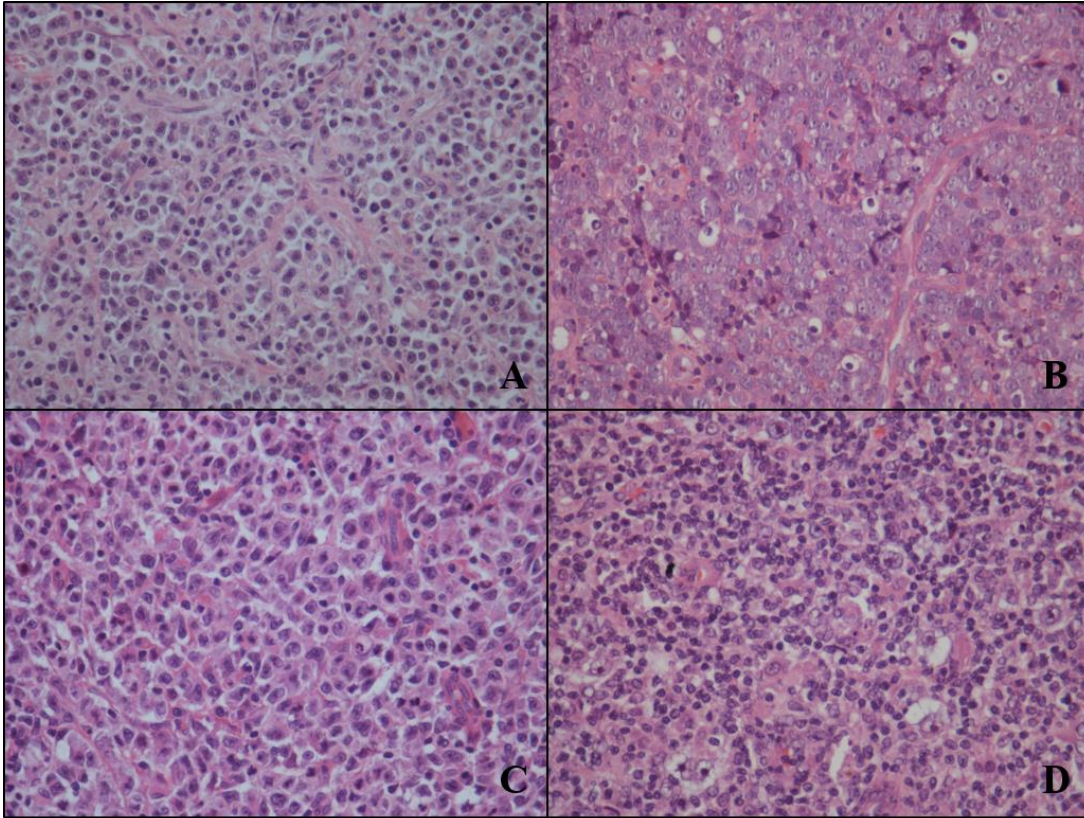
Bu varyantta hücrelerin %90'ından fazlası santral yerleşimli tek nükleoluslu ve geniş, bazofilik sitoplazmalı immünoblastlardan oluşur (**Şekil 6B**). Plazmasitoid diferansiyasyon gösteren immünoblastlar izlenebilir. Bu varyantın immatür bir plazma hücreli myelom ve plazmablastik lenfomanın ekstramedüller tutulumundan ayırt edilmesi için klinik bulgular ve/veya immünohistokimyasal çalışmaların yapılması gereklidir (1). İmmünoblastik ve santroblastik varyantın ayırımında gözlemciler arası ve gözlemci içi uyumun düşük olduğu gösterilmiştir (32, 33).

2.5.4. Anaplastik Varyant

Bu varyant; anaplastik büyük hücreli lenfomanın neoplastik hücrelerine ve kısmen Hodgkin/Reed Sternberg (HRS) hücrelerine benzer, bizar pleomorfik nükleuslu, büyük neoplastik hücrelerle karakterlidir (**Şekil 6C**) (1). Bu hücreler sinüzoidal ve/veya koheziv büyüme paterni gösterebilirler ve indiferan bir karsinomu taklit edebilirler (34). Anaplastik varyant; sitotoksik T hücre kökenli anaplastik büyük hücreli lenfoma ve CD20, CD30 ekspresyonu göstermeyen ALK pozitif büyük B hücreli lenfoma ile biyolojik ve klinik olarak ilişkili değildir (1).

2.5.5. Nadir Morfolojik Varyantlar

Miksoid stromalı veya fibriler matriksli, psödorozet formasyonları içerenler; iğsi şekilli veya taşlı yüzük benzeri neoplastik hücreler DBBHL, NOS'da nadir görülen morfolojik özellikler içerisinde yer alır (1).



Şekil 6: DBBHL'de morfolojik varyantlar; **A.** Santroblastik varyant, **B.** İmmünoblastik varyant, **C.** Anaplastik varyant, **D.** HRS benzeri morfoloji (H&E; 40x).

2.6. İmmünofenotipik Özellikler

Neoplastik hücreler tipik olarak CD19, CD20, CD22, CD79a, PAX-5 gibi pan-B hücre belirleyicilerini ekspresyon ederler. Ancak bu belirleyicilerden tamamını ekspresyon etmeyebilir. Yüzey ve sitoplazmik immünglobulinleri (sıklık sırasıyla IgM, IgG, IgA) olguların %50-75'inde gösterilebilir. Sitoplazmik immünglobulinin (IG) varlığı CD138 gibi plazma hücre ilişkili belirleyicilerin ekspresyonu ile ilişkili değildir. CD138 nadiren CD20 pozitif hücrelerde koekspresyon gösterebilir (1). Olguların %10-20'inde, özellikle anaplastik varyantta CD30 ekspresyonu görülür (35, 36). Neoplastik hücrelerin çoğunda EBV'nin pozitif olması EBV pozitif DBBHL tanısına yönlendirir ve bu olguların çoğunda CD30 ekspresyonu izlenir.

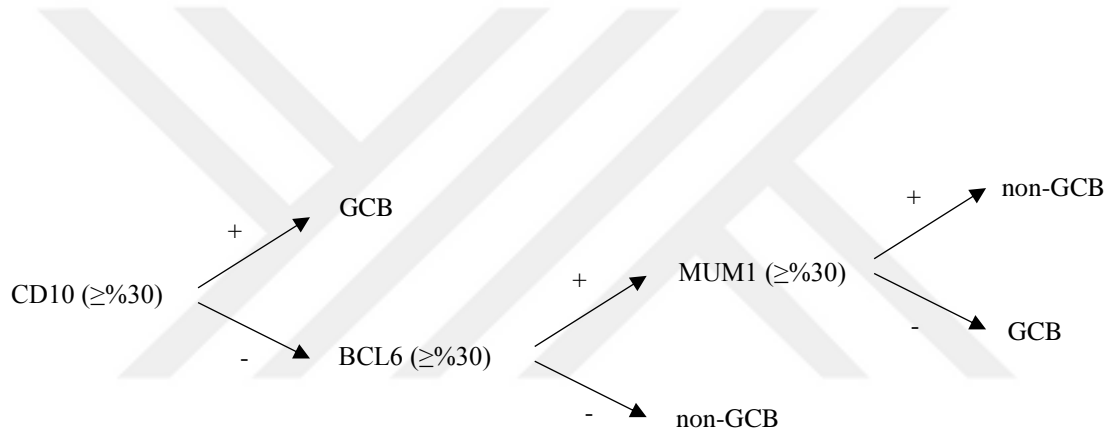
Olguların %5-10'unda neoplastik hücrelerde CD5 ekspresyonu görülmektedir (37, 38). CD5 pozitif DBBHL genellikle *de novo* gelişim gösterir; nadiren KLL/SLL'den gelişir (1). CD5 pozitif DBBHL, mantle hücreli lenfomanın blastoid veya pleomorfik varyantından siklin D1 ve/veya SOX11 ekspresyonu göstermemesi ile ayırt edilebilir (39). Nadir durumlarda DBBHL, NOS'da CCND1 translokasyonu ve SOX11 ekspresyonu göstermeden siklin D1 ekspresyonu izlenebilir. Ancak boyanma mantle hücreli lenfomada olduğu gibi güçlü ve homojen değildir (40-42).

MYC ve BCL2 ekspresyonu; pozitifliği değerlendirmek için kullanılan eşik değerlere göre önemli değişkenlik gösterir (43-50). Birçok çalışmada BCL2'nin pozitif kabul edilebilmesi için tümör hücrelerinin %50 ve üzerinde; MYC'in ise tümör hücrelerinin %40 ve üzerinde pozitif olması beklenmektedir (1). Bu iki proteinin birlikte ekspresyonu (double ekspresör) ABC alt tipinde daha sıktır (46-51).

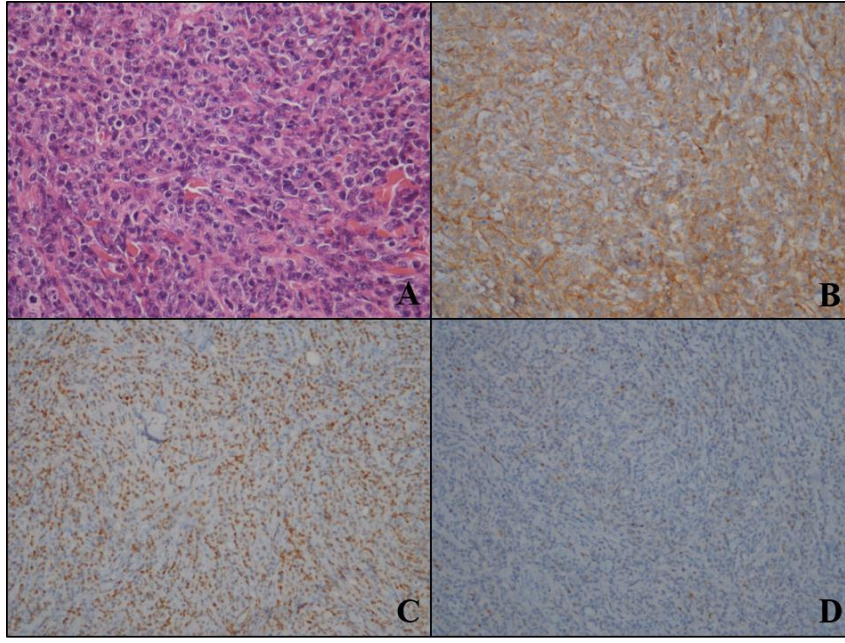
İmmünohistokimyasal incelemede CD10, BCL6, IRF4/MUM1, FOXP1, GCET1 ve LM02 ekspresyonları değişkenlik göstermektedir. GCB ile non-GCB/ABC alt tiplerini belirlemek için Hans algoritması kullanılmaktadır (52) (Şekil 7-11). Hans algoritmasında üç immünohistokimyasal belirteç kullanılır. Bunlar CD10, BCL6 ve IRF4/MUM1 olup; tümör hücrelerinin %30 ve üzerinde boyanması durumunda pozitif olarak kabul edilmektedir (52). CD10 olguların %30-50'sinde; BCL-6 %60-90'ında; IRF4/MUM1 %35-65'inde pozitifdir (53-56). IRF4/MUM1 ve BCL6 normal germinal merkez B hücrelerinin aksine DBBHL'lerin %50'sinde koekspresyon gösterir (57). FOXP1 ekspresyonu, germinal merkez fenotipinde olmayan ve t (14; 18) (q32; q21.3) yokluğunda IRF4/MUM1 ve BCL2 ekspresyonu gösteren DBBHL vakalarının yaklaşık %20'sinde bildirilmiştir (58). Germinal merkez belirleyicisi olan GCET1 olguların %40-50'sinde ekspresyon edilir ve boyanma GCB alt tipinde olan olgular ile

güçlü korelasyon gösterir (59). LM02 ekspresyonu yaklaşık olarak DBBHL'lerin %45'inde bulunur ve germinal merkez belirleyicileri CD10, BCL6 ve HGAL ile yüksek oranda ilişkili olup, IRF4/MUM1 veya BCL2 ile ilişkili değildir (60). BCL2 ekspresyonu farklı çalışmalarda %47-84 arasında değişkenlik göstermektedir (55, 61-63). Gözlenen değişkenlik kullanılan BCL2 antikoru ile ilişkili olabilir (64). GCB alt tipinde, BCL2 ekspresyonu t (14; 18) (q32; q21.3) varlığı ile yakından bağlantılıyken; ekspresyon, ABC alt tipinde daha yaygındır, ancak kopya sayısı kazanımları ve transkripsiyonel upregülasyonların sonucudur (51, 65).

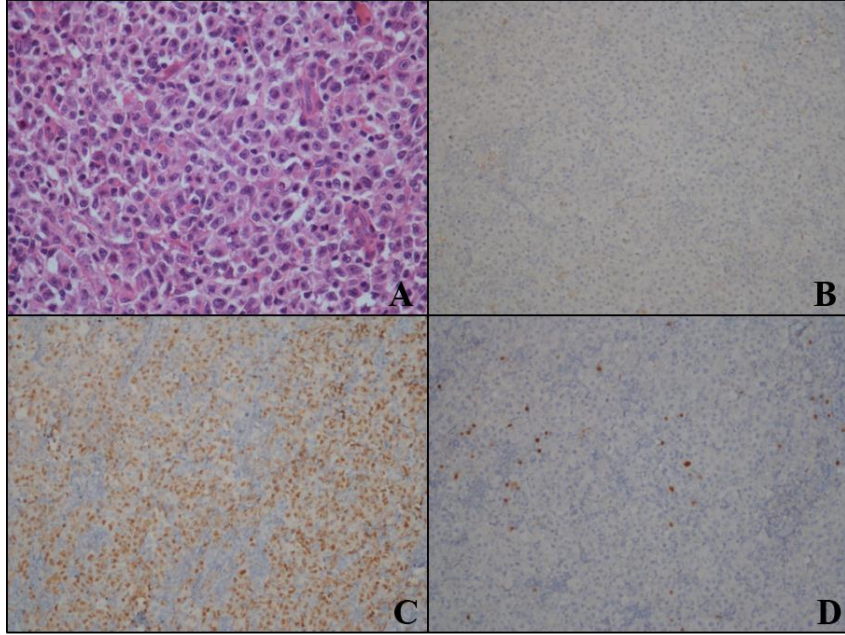
Ki67 proliferasyon indeksi yüksektir; genellikle %40'tan yüksek olup, bazı olgularda %90'ın üzerinde olabilir (66-70). Olguların %20-60'ında p53 ekspresyonu görülür, ancak mutasyona kıyasla protein ekspresyonu daha siktir, bu bulgunun da bazı olgularda wild tip TP53'ün upregülasyonu sonucu olabileceği düşünülmektedir (71-75).



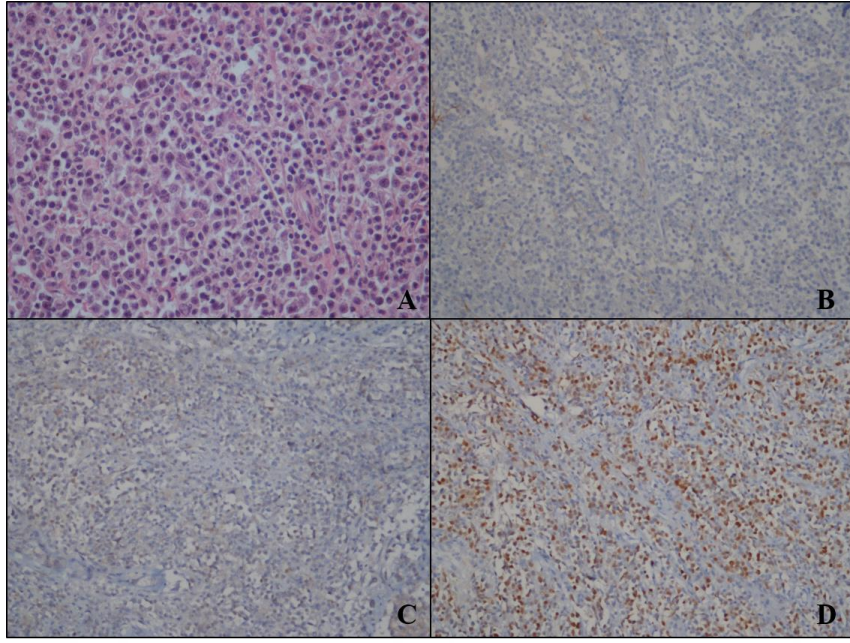
Şekil 7: Hans algoritması (52)



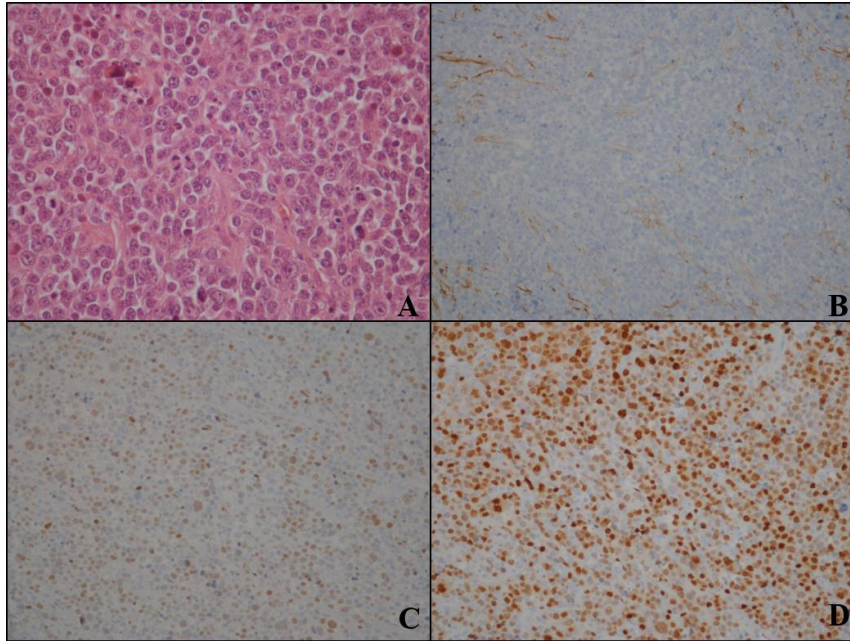
Şekil 8: Hans algoritmasına göre GCB alt tipinde DBBHL örneği; **A.** Santroblastik morfolojide diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), **B.** İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x).



Şekil 9: Hans algoritmasına göre GCB alt tipinde DBBHL örneği; **A.** Anaplastik morfolojide diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), **B.** İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x).



Şekil 10: Hans algoritmasına göre non-GCB/ABC alt tipinde DBBHL örneği **A.** Santroblastik morfolojide diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), **B.** İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x).



Şekil 11: Hans algoritmasına göre non-GCB/ABC alt tipinde DBBHL örneği **A.** Santroblastik ve immünoblastik morfolojide, mitotik indeksi yüksek diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), **B.** İmmünohistokimyasal incelemede CD10 ile neoplastik hücreler negatif (DAB; 20x), **C.** İmmünohistokimyasal incelemede BCL6 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x), **D.** İmmünohistokimyasal incelemede MUM1 ile neoplastik hücreler pozitif (DAB; 20x).

2.7.Hücre Kökeni

Kabul edilen normal karşılıkları germinal merkez kökenli, germinal merkez çıkışlı/erken plazmablastik veya post germinal merkez kökenli periferik matür B hücrelerdir. Hücre kökenindeki farklılıklar; gen ekspresyonu, kromozomal anormallikler ve tekrarlayan anomalilere dayalı farklı biyolojik temellere dayanmaktadır. Bu farklılık aynı zamanda CHOP kemoterapi rejimi ve rituksimab (R-CHOP) ile tedavi edilen DBBHL, NOS olgularında sağkalım sürelerindeki farklılıklar ile ilişkilidir. GCB alt tipinin ABC alt tipinden doğru ayrımı DBBHL, NOS'da önemli bir prediktif faktördür (1).

2.7.1.Hücre Kökeni ve Alt Tiplendirme

Gen ekspresyon profili temeline göre DBBHL, GCB ve ABC alt tipleri olmak üzere iki ana moleküler gruba ayrılır (1). Olguların yaklaşık %10-15'i bu alt tiplerin hiçbirine dahil edilemez ve sınıflandırılmamış olarak kalır (31, 76-79). GCB ve ABC alt tiplerinin rölatif sıklıkları coğrafi konuma, hasta popülasyonunun medyan yaşına ve kullanılan metodolojiye göre değişir; ancak tipik olarak sırasıyla yaklaşık %60 ve %40'tır (52). Asya ülkelerinde GCB alt tipinin sıklığı daha düşüktür (25, 80-84). Alt tiplene düşük dansiteli gen ekspresyon analizi platformlarında parafine gömülü, formalinle fikse dokularda uygulanabilir (51, 85, 86). Çok sayıda immünohistokimyasal algoritma mevcuttur; ancak çoğu ikili sınıflandırıcı niteliğindedir (52, 55, 87-92). Hans algoritması'nda da olduğu gibi, DBBHL'yı, GCB alt tipi ve GCB dışı alt tip olmak üzere iki alt gruba sınıflandırır ve böylece sınıflandırılmamış vakaları tanımlamaz (1). Rutin olarak ulaşılabilir olmasına rağmen tüm immünohistokimyasal algoritmalar tekrarlanabilirlik ve doğruluk eksikliğinden muzdariptir; ancak hücre kökeninin belirlenmesi klinik uygulamaya girmeye başlamıştır ve bu nedenle gereklidir (88, 93). Mevcut klinik çalışmalarda bulgular hücre kökeni statüsünün belirlenmesini gerektirmektedir; çünkü faz I/II çalışmalarda ön verilere göre R-CHOP kemoterapi rejimine eklenen bortezomib, lenalidomid ve ibrutinib gibi ajanlardan ABC alt tipinde olan olgular daha fazla yarar görmektedir (94-100). Bu nedenle, tanı sırasında tüm DBBHL, NOS vakalarında GCB alt tipi ve non-GCB/ABC alt tipi ayrımı yapılmalıdır. Gen ekspresyon teknolojileri mevcut değilse, immünohistokimya teknolojileri kullanılabilir bir alternatif olarak kabul edilir ve kullanılan algoritma raporlarda mutlaka belirtilmelidir (1).

2.8.Genetik Profil

IG ağır ve hafif zincir genlerinde klonal yeniden düzenlenme saptanabilir. IG genlerinde, GCB alt tipinde devam eden somatik hipermutasyonlar ya da ABC alt tipinde önceki somatik hipermutasyonların bulguları izlenebilir (1).

DBBHL'nın patogenezi karmaşıktır; en az iki farklı patogenetik yolak içermektedir. Bunlar transformasyon yolağı ve *de novo* gelişim yolağıdır (20). DBBHL'ların yaklaşık %20'si t (14;18) (q32; q21) translokasyonu nedeniyle folliküler lenfomanın bir özelliğı olan BCL2 rearanjmanı göstermektedir (44, 101-110). Bu tür vakalar; bilinen ya da okkült folliküler lenfomanın transformasyonu sonucu veya folliküler lenfoma prekürsör fazı olmaksızın gelişebilir. BCL6 ve diğere genler *de novo* gelişim yolağında çok önemli rol oynarlar (20). Bazı folliküler lenfomalarda görülen BCL6 (3q27) rearanjmanı, DBBHL'ların yaklaşık %30'unda izlenmektedir (101, 104-106, 110-113). Translokasyon partneri IG genleri olabilir; çoğunlukla t (3;14) (q27; q32) formundadır (20). DBBHL'da BCL6 somatik mutasyonu oldukça yaygındır (vakaların %73'ü) ve BCL6 somatik mutasyonu ile BCL6 gen rearanjmanı arasında ilişki bulunmamaktadır (114, 115). BCL6, bir germinal merkez belirleyicisi olup neoplastik hücreleri germinal merkez ve postgerminal merkez diferansiasyon aşamasına karşılık gelen B hücreli lenfomalarda ekspresyonu gözlenmektedir (114, 116-118). Translokasyon veya mutasyonu sonucu gelişen BCL6 proteininin persistan ekspresyonu, apoptoz ve diferansiasyonu inhibe ederek hücrel proliferasyonla sonuçlanır (119).

Burkitt lenfomanın karakteristik özelliğı olan MYC (8q24) rearanjmanı; HIV ile enfekte hastalarda, pediatrik hastalarda ve ektranodal lenfomalarda daha yaygın olmak üzere DBBHL'ların yaklaşık %10'unda ortaya çıkmaktadır (20). Genellikle kompleks genetik değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkar; partner gen bir IG veya non-IG geni olabilir (120-121). MYC rearanjmanı gözlenen olguların %40-60'ında BCL2 ve/veya BCL6 rearanjmanı eşlik etmesi nedeniyle bu olgular "double/triple hit" lenfomayı temsil etmektedir ve DSÖ 2016 sınıflandırmasında yüksek dereceli B hücreli lenfoma kategorisi altında BCL2 ve/veya BCL6 ve MYC rearanjmanı gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma olarak yeniden sınıflandırılmıştır (20). MYC ve BCL2 rearanjmanı gösteren double hit lenfomalar sıklıkla GCB alt tipi DBBHL'lardır (121). Translokasyon dışında, %7-38 arasında MYC'in kopya sayısında artış bildirilmiştir (101, 122-124).

TP53 mutasyonu ve p53 protein ekspresyonu sırasıyla DBBHL olgularında %22 ve %40 oranlarında görülmekte olup, ikisi arasında katı bir korelasyon bulunmamaktadır (102, 125). TP53'ün DBBHL gelişimindeki rolü bilinmemektedir; ancak bazı düşük dereceli lenfoma olgularının histolojik transformasyonu ile ilişkili olabilir (126-128).

DBBHL'da EBV ile birliktelik nadir görülmesine rağmen (immünkompetan olgularda <%10) özellikle anaplastik ve plazmablastik varyantlarda ya da yaşlı hastalarda bu ilişkiye daha sık rastlanır (129, 130). İmmün sistemi baskılanmış hastalarda EBV ile DBBHL arasında güçlü bir ilişki vardır (20).

2.9.Prognostik Faktörler

2.9.1.Klinik

R-CHOP tedavisi döneminde 5 yıllık progresyonsuz ve genel sağkalım oranları sırasıyla %60 ve %65'e ulaşmıştır (131). Hastalık evresi ve hasta yaşı, sağkalımı etkileyen önemli faktörlerdir (1).

Uluslararası prognostik indeks (IPI), güvenilir bir prediktif faktördür (**Tablo 2**) (20, 132). Yüksek IPI skoru kötü prognozla ilişkilidir; yüksek riskli hastalarda 5 yıllık genel sağkalım oranı %22 iken; düşük riskli hastalarda %73'tür (20).

Diğer klinik prognostik faktörler; büyük tümör kitlesi (> 10 cm), erkek cinsiyet, D vitamini eksikliği, düşük vücut kitle indeksi, yüksek serum hafif zincir değerleri, monoklonal serum IgM proteini, düşük mutlak lenfosit/monosit sayıları olarak sayılabilir (26, 133-141).

Kemik iliği tutulumu primer hastalık ile uyumlu (kemik iliğindeki infiltrasyon büyük B hücreli lenfoma morfolojisinde) morfolojiye sahip olgularda, uyumsuz morfolojiye (kemik iliğindeki infiltrasyon düşük dereceli B hücreli lenfoma morfolojisinde) göre daha kötü prognozludur (20). İkinci grup ile kemik iliği tutulumu olmayan olguların prognozu benzer olmasına rağmen bu olgularda geç relaps riski yüksektir (26, 142-144).

Tablo 2: IPI skorumlama sistemi

Prognostik Faktörler (Her biri 1'er puan)			
Yaş >60			
Serum LDH yüksekliđi			
Kötü performans statüsü			
Yüksek derece (III-IV)			
Birden fazla ekstranodal tutulum			
Risk skorumlaması			
0-1	2	3	4-5
Düşük	Düşük-intermedier	Yüksek-intermedier	Yüksek

2.9.2. Morfoloji

Bazı çalışmalarda immünoblastik morfolojinin santroblastik morfolojiye göre daha kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (32, 145-150). Plazmablastik varyant kötü prognozla ilişkilidir (20).

2.9.3. İmmünfenotip

Pek çok immünhistokimyasal belirleyicinin prognostik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir, ancak çoğu doğrulanmamıştır ve bu nedenle güçlü veya rutin biyobelirteçler olarak kabul edilmemektedir (151-153).

Birçok çalışmada, BCL2 immünreaktivitesi ve germinal merkez belirleyicilerinin (CD10, BCL6, LMO2) negatifliği kötü prognostik göstergeler olduğu bildirilmiştir (52-54, 61, 62, 90, 102, 154-160). Rituksimabın CHOP kemoterapi protokolüne eklenmesi BCL2 ekspresyonunun ve BCL6 negatifliğinin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmaktadır; ancak buna rağmen BCL2 ekspresyonunun, GCB alt tipi olgularda kötü prognostik faktör olarak kaldığı bildirilmektedir (108, 161, 162). Rituksimab, hem GCB hem ABC alt tiplerinin sonuçlarını iyileştirmiştir, fakat ABC immünfenotipi kötü prognostik bir faktör olarak kalmaktadır (87, 89, 92, 163). Ancak GCB ile ABC alt tipi arasındaki prognostik farklılık, tüm serilerde tutarlı bir şekilde görülmemektedir; bu da immünhistokimyasal testlerin tekrarlanabilirliği ve doğruluğundaki kısıtlılık ile açıklanabilir (93, 164). Yakın zamandaki bir

meta-analiz, immünohistokimyasal algoritmaya dayanmayan, gen ekspresyon profili ile belirlenen hücre kökeninin prognostik önemini açıkça ortaya koymuştur (93)

MYC protein ekspresyonu, rituksimab çağında kötü bir prognostik belirleyici olup, MYC ve BCL2 ekspresyonunun birlikteliği ile (double ekspresör lenfoma) kötü prognostik etkinin arttığı gösterilmiştir (43-47, 50, 101, 165-169).

CD5 pozitif *de novo* DBBHL, CD5 negatif DBBHL'ya göre daha kötü prognozlu olup, bu olgular santral sinir sistemi rekürrensine daha yatkındır (37, 38, 170, 171).

CD30 ekspresyonunun, özellikle GCB alt tipinde ve EBV negatif vakalarda, olumlu klinik sonuç ile ilişkili olduğu görülmüştür (35, 36). CD30 ekspresyonunun, anti-CD30 tedavisinin varlığı nedeniyle terapötik etkisi olabilir (1). CD43 ekspresyonu, özellikle ABC alt tipinde kötü prognostik belirleyicidir (172-173).

2.9.4.Proliferasyon

Ki-67 proliferasyon indeksi ile değerlendirilen proliferatif fraksiyonun prognostik önemi tartışmalıdır. Hem CHOP hem de R-CHOP dönemlerinden elde edilen çalışmaların bulguları çoğunlukla çelişkilidir (46, 68, 174, 175).

2.9.5.Genetik

Bazı çalışmalarda BCL2 translokasyonunun varlığı ve kopya sayısında artış R-CHOP ile tedavi edilen hastalarda kötü prognoz ile ilişkilidir (103, 108, 176, 177). BCL6 translokasyonu, DBBHL'nın ABC alt tipinde daha sıktır ve bazı çalışmalarda daha iyi sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (158, 178, 179). MYC translokasyonu DBBHL olgularında kötü prognostik belirleyicidir (110, 121, 175, 180). Birçok çalışmada; BCL2 ve MYC translokasyonu gösteren double hit lenfomaların GCB alt tipinde daha sık görüldüğü ve daha kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (51, 110, 181, 182). MYC ve BCL6 translokasyonlarının prognostik önemi tartışmalıdır; çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (183-185). Bu translokasyonlar ABC alt tipinde daha sık görülmektedir (51, 184, 185). Double ve triple hit lenfomalar; DSÖ 2016 sınıflandırmasında DBBHL, NOS tanısı dışında tutulmuştur; "MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 translokasyonu gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma" olarak tanımlanmaktadır (1).

TP53 kaybı ve/veya mutasyonları düşük sağkalım ile ilişkilidir (74, 75). 9p21 kromozomu üzerindeki CDKN2A lokusunun delesyonları ve trizomi 3; özellikle ABC alt tipinde azalmış sağkalım ile ilişkilidir (186, 187). *FOXO1* hariç, DBBHL'da tekrarlayan mutasyona uğramış genlerin prognostik önemi yoktur (188). DBBHL'da bulunan

mutasyonların en azından bir kısmının gelecekteki hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesinde önemli hale geleceğine dair artan beklentiler mevcuttur (189, 190).

2.9.6.Mikroçevre

Gen ekspresyonu profillemeye çalışmaları, DBBHL’da tümör mikroçevresindeki hem neoplastik olmayan hücreler, hem de hücre dışı matriks bileşenleri için prognostik rol oynadığını göstermektedir (191). Stromal-1 (ekstrasellüler matriks depozisyonu ve histiositik infiltrasyon) ve stromal-2 (tümör kan damarı yoğunluğu/anjyogenez) komponentlerinin R-CHOP tedavi döneminde prognostik olduğu bildirilmiştir (78). Biri mikroçevreyi temsil eden bir gen (TNFRSF9) olmak üzere iki genlik ekspresyon imzası da prognozu belirleyici olarak tanımlanmıştır (192). Mutasyon analizi çalışmaları, mutasyonlar ve beta-2 mikroglobulin, CD58 gibi anormal protein ekspresyonları dahil olmak üzere neoplastik B hücreleri ve non-neoplastik hücreler arasındaki iletişimi hedefleyen tekrarlayan mutasyona uğramış genleri vurgular (193, 194). Eşlik eden veriler, MHC sınıf II kaybının; azalmış tümör infiltre eden CD8 pozitif T hücreleri ve azalmış sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermektedir (195, 196). DBBHL’da immün kaçış mekanizmaları onkojenik yollarda oldukça önemlidir (1). PDL-1 ekspresyonu DBBHL, NOS’ta azalmış sağkalım ile ilişkilidir (197).

2.9.7.MikroRNA

Çeşitli çalışmalarda, DBBHL’da spesifik mikroRNA ekspresyon paternleri prognozla ilişkilidir (198, 199). Son zamanlarda, mikroRNA’ları içeren somatik mutasyonların DBBHL’da prognostik olduğu; hücre kökeni ve IPI’den bağımsız olduğu gösterilmiştir (200).

2.9.8.Tedavi

İleri evre DBBHL, NOS’ta standart tedavi yaklaşımı R-CHOP kemoterapi rejimidir (1). Başka tedavi rejimleri de bulunmaktadır; ancak sağkalım üzerindeki etkileri belirsizdir (131). ABC alt tipi DBBHL, NOS olgularında sağkalımı artırma girişimleri, R-CHOP rejimine yeni ajanların eklenmesiyle yapılmaktadır (94-100).

2.10.Ayırıcı Tanı

DBBHL ayırıcı tanısında diğer hematolenfoid maligniteler, non-hematolenfoid maligniteler ve enfeksiyöz/reaktif süreçler yer alır (20).

DBBHL'da diffüz büyüme paterninin aksine koheziv büyüme paterni de izlenebilir; bu durumlarda karsinom, melanom, seminom gibi hematolenfoid dışı maligniteler ile karıştırılabilir. Lenfoma yönünde düşündürülen histolojik özellikler arasında permeatif büyüme, amfofilik veya bazofilik sitoplazma ve nükleer membran katlantıları sayılabilir. Non-hematolenfoid neoplazilerde CD45 negatiftir ve spesifik belirleyicilerini ekspres ederler; ancak nadiren DBBHL olgularında, neoplastik hücrelerde epitelyal belirleyiciler olan sitokeratin ve epitelyal membran antijen (EMA) ekspresyonu görülebilir (201).

Orta boy neoplastik hücrelerden oluşan, özellikle çok sayıda apoptotik cisimlerin ve “yıldızlı gökyüzü” paterninin eşlik ettiği olgularda Burkitt lenfoma ile ayırım zor olabilir. Burkitt lenfomada neoplastik hücreler daha monoton ve sitoplazma daha dar olup; BCL2 pozitifliği ve CD10 negatifliği beklenmez (20). Burkitt lenfoma son derece yüksek (%100'e yakın) Ki67 proliferasyon indeksine sahip olmasına rağmen, DBBHL olgularının bir kısmında da proliferasyon bu aralıklarda olabilir (202). Burkitt lenfomanın bir özelliği olan MYC rearanjmanı, DBBHL'larda (yaklaşık %10) nadir görülür ve genellikle kompleks genetik aberasyonların bir parçası olarak ortaya çıkar (120). MYC rearanjmanı taşıyan DBBHL'lar, Burkitt lenfomanın gen ekspresyon profilini göstermezler; bunun yerine MYC rearanjmanı taşımayan DBBHL ile benzerlik gösterirler (120, 203). Borderline olguların sınıflandırması zordur, bu olgular yüksek dereceli B hücreli lenfoma olarak sınıflandırılabilir.

Düzensiz, katlantılı nükleuslarla karakterli; büyük pleomorfik hücrelerden oluşan mantle hücreli lenfomanın pleomorfik varyantının DBBHL'dan ayırımı zordur (204-205). Ancak klasik mantle hücreli lenfomanın özelliklerine sahip odaklar genellikle pleomorfik varyanta eşlik eder (20). Nadir DBBHL olgusunda siklin D1 ekspresyonu izlenebilir; ancak SOX11 her zaman negatif olup, CCND1 gen translokasyonu beklenmez (40).

Bazı plazmasitolar, plazmablastik veya anaplastik morfolojiye sahip olabilir; bu olgularda myelom öyküsünün varlığı plazmasitom tanısını destekler. DBBHL'nın aksine CD20 negatiftir (20).

Sitoplazmik eozinofilik granüller veya infiltrasyon içinde eozinofilik myelositlerin varlığında myeloid sarkom tanısı mutlaka akılda tutulmalıdır. Bu tanı myeloperoksidaz (MPO), lizozim, CD33, CD34 ve CD117 ekspresyonunun varlığı ile doğrulanabilir (20).

Klasik Hodgkin lenfoma, nodüler sklerozan tipin sinsisyal varyantı ve lenfositten fakir tipin de DBBHL'dan ayırımı zor olabilir. Eozinofillerin varlığı Hodgkin lenfoma lehine bir bulgudur. Uniform, güçlü CD20 immünreaktivitesi ve IG ekspresyonu, DBBHL'yı desteklerken; CD20'nin negatifliği veya heterojen pozitifliği ve EBV pozitifliği Hodgkin

lenfomayı destekleyen bulgulardır. B hücre transkripsiyon faktörleri olan OCT2 ve BOB1 yardımcı belirleyicilerdir; klasik Hodgkin lenfomada CD20 pozitif olsa bile transkripsiyon faktörlerinden bir ya da ikisinin kaybı izlenir; DBBHL'da her ikisi eksprese edilmektedir (20).

Enfeksiyöz mononükleoz, diğer viral enfeksiyonlar (sitomegalovirüs vb.), ilaç reaksiyonları, aşılama sonrası gelişen reaksiyonlar gibi florid reaktif immünoblastik proliferasyonlarda DBBHL'yı taklit eden nodal arşitektürde parsiyel tutulum ve büyük lenfoid hücrelerle infiltrasyon gelişebilir (206-207). Nekroz yaygındır ve özellikle nekrotik odaklar etrafında HRS benzeri hücreler bulunur. DBBHL'nın aksine, büyük aktive hücrelerden plazmablastlara ve plazma hücrelerine geçiş şeklinde matürasyon gösterirler; genellikle düzensiz veya kıvrımlı nükleer konturlar gibi önemli nükleer atipi bulgularını göstermezler (20). İmmünohistokimyasal olarak, enfeksiyöz mononükleozdaki büyük lenfoid hücrelerin bir kısmı B, bir kısmı T hücre fenotipinde olup; B hücreler politipiktir (206-208). B hücreleri, plazma hücresine doğru ilerleyen çeşitli matürasyon aşamalarındaki hücreler olduğu için; bu hücrelerde CD20 boyanması heterojendir. Birçok hücre EBV pozitifdir. Klinik bulgular ve seroloji ile korelasyon, doğru tanıya ulaşılmasına yardımcı olur (20).

Kikuchi lenfadenitinde lenf nodülleri genellikle küçük boyutlardadır (<2 cm). Lenf nodüllerinde yamalı, non-ekspansil karyorektik odaklar ve eşlik eden çok sayıda büyük lenfoid hücreler izlenir (20). DBBHL'nın aksine, Kikuchi lenfadenitindeki proliferatif hücreler; histiositler (CD68 ve MPO ile pozitif), plazmasitoid dendritik hücreler (CD68 ve CD123 pozitif; MPO negatif), sitotoksik CD8 pozitif T hücreler ve çok az sayıda CD20 pozitif B hücrelerdir (209-210). Histiositlerin bir kısmı intrasitoplazmik fagositik materyal ile doludur; nükleus bir kenara itilerek kresent şeklini almıştır (kresentik histiosit) (211).

2.11. Transforme (Sekonder) DBBHL

Düşük dereceli B hücreli lenfomaların klinik seyri sırasında gelişen, agresif klinik seyir gösteren yüksek dereceli non-Hodgkin lenfomalardır.

2.11.1. KLL/SLL'den DBBHL'ya Progresyon ve Transformasyon (Richter Sendromu)

KLL/SLL'de bildirilen insidans %1-10 arasında değişmektedir. Richter sendromu; ateş, kilo kaybı, disglobulinemi, lenfadenopati gibi klinik seyirde ani değişiklikler ile karakterize olup, histopatolojik olarak sıklıkla multinükleer dev hücreleri de içeren agresif

lenfoma morfolojisindedir (212). Hodgkin tipi bir varyant da tanımlanmıştır, ancak DBBHL'ya kıyasla çok daha nadir olarak görülür ve HRS hücresi benzeri hücreler içeren KLL/SLL vakalarından ayırt edilmelidir. Richter sendromunda yüksek oranlarda litik kemik lezyonu insidansı bildirilmiştir. Kemik iliğinde DBBHL tutulumu görülebilir; aynı biyopsi örneğinde KLL/SLL ve DBBHL morfolojisi bir arada izlenebilir (212).

Richter transformasyonu terimi, benzer klinik gelişim sürecine sahip KLL/SLL olgularının geniş spektrumdaki patolojik bulgularını tanımlar (212).

KLL/SLL'nin klinik progresyonu, KLL hücrelerindeki boyut ve proliferasyonundaki artış ile ilişkilidir (1). Lenf nodülünde, proliferasyon merkezlerinde genişleme ve artmış proliferasyonla birlikte konfluan hale gelebilir (213-215). Histolojik olarak agresif KLL/SLL, proliferasyon merkezlerinin 20x büyütme alanından daha geniş olması durumunda veya konfluan gelişimi olarak kabul edilir (1). Bu olguların KLL/SLL ile klasik Richter sendromu (DBBHL) arasında intermedier davranış gösterdiği bildirilmiştir (213-215).

Richter transformasyonu ile sonuçlanan olaylar tam olarak anlaşılammıştır; ancak iyi diferansiye neoplastik lenfositlerin dediferansiyasyonu ya da transformasyonu olduğu öne sürülmektedir (216). Bu teori, olguların KLL ve transformasyon örneklerinde idantik klonun tespit edilmesiyle desteklenmiştir (212). Klonal ilişkili olgularda ortalama sağkalım süresi 1 yıldan az iken; klonal ilişkisiz olgularda sağkalım *de novo* DBBHL ile aynıdır (217). KLL/SLL'den transforme olguların yaklaşık yarısında TP53 veya CDKN2A'yı içeren hücre siklus regülasyonundaki anormallikler gösterilmiştir (218).

2.11.2.Foliküler Lenfomada DBBHL'ya Progresyon ve Transformasyon

Uzun süreli izlemde, %25-35 olguda DBBHL'ya transformasyon tanımlanmıştır. Nadiren DBBHL tanılı olgularda geç relaps folliküler lenfoma şeklinde olabilir (1). Histolojik progresyonda klinik sonuçlar, geçmiş yıllara göre daha iyidir (219). Folliküler lenfoma, Burkitt lenfoma veya Burkitt lenfoma ve DBBHL arasında özelliklere sahip lenfomalara progrese olabilir (1).

Transformasyon, tipik olarak ek genetik anomaliler içerir; bunlar, MYC translokasyonu ve özellikle kötü prognozla ilişkili BCL2 ve MYC rearanjmanı kombinasyonudur (220). Bu kombinasyona sahip olgular folliküler lenfomadan transforme, BCL2 ve MYC rearanjmanı gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma (double hit lenfoma) olarak adlandırılmalıdır (1)

Nadiren B lenfoblastik lösemi/lenfoma gelişir; yapılan çalışmalarda orijinal tümöral B hücresi ile klonal olarak ilişkili olduğu saptanmıştır (221-222). Bu transformasyon, var olan BCL2 rearanjmanına ek olarak MYC rearanjmanının kazanımını içerir. Bununla birlikte, “MYC ve BCL2 rearanjmanı gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfoma” terimi, lenfoblastik transformasyonda kullanılmamalıdır (1).

National LymphoCare Study (NLCS) çalışmasında folliküler lenfoma tanısı almış 2652 hasta prospektif olarak değerlendirilmiş ve medyan 6,8 yıllık takip sonrasında olguların %14’ünde klinik ve patolojik olarak transformasyon gelişmiştir. Histolojik transformasyon ile ilişkili bulunan parametreler ise birden fazla ektranodal bölge tutulumu, ECOG performans statüsünün 1’in üzerinde olması, artmış serum LDH değerleri, sistemik B semptomlarının varlığı olarak tanımlanmıştır (219).

2.11.3.Nodüler Lenfosit Predominant Hodgkin Lenfomada DBBHL’ya Progresyon ve Transformasyon

NLPHL’da DBBHL’ya progresyon %3-5 oranında bildirilmiştir (1). Neoplastik hücreler lenfosit predominant (LP) hücreleri benzeri, santroblastik veya immünoblastik morfolojide olabilirler. Neoplastik büyük hücreler tipik immünofenotipik özelliklerini (CD20, OCT2 ve CD75 güçlü koekspresyonu) korurlar. Bazı olgularda DBBHL’nın NLPHL’den önce tanı aldığı bildirilmiştir (223). NLPHL ilişkili DBBHL, lokalize ise iyi prognozludur (1). NLPHL ve ilişkili olarak gelişen DBBHL’lar klonal olarak da birbirleriyle ilişkili bulunmuştur (224). T hücre/histiositten zengin büyük B hücreli lenfoma benzeri transformasyon ileri evre, yüksek relaps ve kemik iliği tutulum oranlarıyla ilişkilidir (225).

2.11.4.Diğer Düşük Dereceli B Hücreli Lenfomalarda DBBHL’ya Progresyon ve Transformasyon

Splenik marjinal zon lenfoma olgularında DBBHL’ya transformasyon %10-15 oranında gelişir (226).

Nodal marjinal zon lenfomada tek tek dağılmış ya da kümeler halinde büyük hücreler eşlik edebilir; prognostik önemi yoktur (227). Bununla birlikte DBBHL’ya transformasyon gelişebilir; bu tanı için tabakalar halinde büyük hücrelerin varlığı gereklidir (228).

MALT lenfomadan DBBHL’ya transformasyon nadir görülür (<%10) (229, 230).

Lenfoplazmasitik lenfomadan da DBBHL'ya transformasyon nadir olup, azalmış sağkalım ile ilişkilidir (231).

2.12.DBBHL'larda Tanısal ve Prognostik Önemi Olan İmmünohistokimyasal Belirleyiciler ve Kromojenik in situ Hibridizasyon Uygulamaları

2.12.1.CD3

CD3, T hücre reseptörü (TCR) ile ilişkili 4 subunitten (ϵ , γ , δ ve ζ) oluşan, T hücre dizisinin belirlenmesinde ilk sıra T hücre antijenidir. CD3 boyanması membranöz ve sitoplazmiktir. T hücreleri olgunlaştıkça, CD3 antijeni yüzeye doğru hareket eder (232). CD3 ekspresyonu T hücre dizisine spesifik olmasına rağmen; B hücreli lenfomalarda da bildirilmiştir (233).

2.12.2.CD10

CD10, akut lenfoblastik lösemi antijeni (CALLA) olarak da bilinen, çeşitli peptidleri inaktive eden bir nötral endopeptidazdır. Kemik iliğinde normal prekürsör B hücrelerinde (hematogonlar), lenf nodülünde ise germinal merkez B hücrelerinde eksprese edildiği gibi; B lenfoblastik lösemi/lenfoma, folliküler lenfoma, Burkitt lenfoma ve DBBHL, T lenfoblastik lösemi/lenfoma, myelom, myeloid lösemilerin bir kısmı olmak üzere bazı neoplastik durumlarda da eksprese edilir. Bu molekülün, böbrekte proksimal tübüllerin fırçası kenarında ve glomerüler epitelde; fibroblastlarda, çeşitli normal ve neoplastik epitel tiplerinde ekspresyonu izlenmektedir (234).

2.12.3.CD20

CD20, 35 kDa nonglikolize bir membran fosfoproteinidir. CD20, geç pre-B hücrelerde eksprese edilmeye başlayıp plazma hücresi aşamasına geldiğinde kaybolur. CD20 antijeninin tam işlevi bilinmese de B hücre regülasyonunda, farklılaşmasında ve kalsiyum akışında rol oynadığı düşünülmektedir. CD20 boyanması membranözdür. CD20'ye yönelik kullanılan monoklonal antikoları (rituksimab vb.) içeren terapötik stratejilere bağlı olarak; relaps şüphesinde alternatif B hücre belirleyicilerinin kullanımı gerekli hale gelmiştir.

Rituksimab veya diğ er anti-CD20 ajanların kullanıldığı olgularda; diğ er pan-B belirleyicileri olan PAX5, CD79a, CD19 ve CD22 alternatif olarak kullanılabilir (232).

2.12.4.CD30

CD30, 120 kDa ağırlığında membrana bağlı fosforile glikoproteindir. Bu molekül tümör nekroz faktör (TNF) reseptör süper ailesinin bir üyesidir (TNFRSF8). CD30, normal aktive B ve T hücrelerinde, virüsle enfekte (EBV, HTLV-1/2, HIV) B ve T hücrelerinde eksprese edilir. Monosit/makrofajlar ve granüositler de CD30'u eksprese eder. CD30 boyanması membranöz veya nükleus çevresinde Golgi zon bölgesine yoğunlaşma (paranükleer) şeklinde izlenir. CD30, HRS hücrelerinde pozitifdir. Bununla birlikte; CD30 ekspresyonu, lenfomatoid papulozis, anaplastik büyük hücreli lenfoma, yetişkin T hücreli lenfomalar, bazı kutanöz T hücreli lenfomalar, NK hücreli neoplaziler, B hücreli lenfomaların bir kısmı (DBBHL, Burkitt lenfoma) ve embriyonal karsinom dahil olmak üzere birçok neoplazide görülür. CD30 ekspresyonunun tek başına DBBHL tanısı üzerinde spesifik bir etkisi yoktur. Anti-CD30 monoklonal antikolarıyla yapılan tedavilerin başarılı sonuçları, birçok neoplazide CD30 ekspresyonunun önemini giderek arttırmaktadır (232).

2.12.5.BCL2

İmmünohistokimyasal BCL2 antikoru, sıklıkla t (14;18) (q32; q21) translokasyonuna bağlı artmış antiapoptotik BCL2 proteinini tespit eder. Apoptozun inhibisyonu ile BCL2'nin onkogenik rol oynaması yanısıra kemoterapi ilişkili hücre ölümünü de engelleyebilir. Boyanma membranözdür. BCL2 ekspresyonu, folliküler hiperplaziyi neoplastik karşılığı olan folliküler lenfomadan ayırımında kullanılabilir. Normal lenf nodüllerinde; intrafolliküler T hücreleri, interfolliküler B ve T hücreleri, primer folliküller ve mantle zon B hücrelerinden BCL2 eksprese edilir. BCL2 ekspresyonu sadece lenfomalara sınırlı olmayıp non-hematolenfoid malignitelerde de görülür. Bazı T hücreli lenfomalarda BCL2 ekspresyon kaybı görülebilir (232).

2.12.6.BCL6

BCL6 geni, germinal merkezde B hücre farklılaşmasında rol oynadığı düşünölen 79 kDa ağırlığında bir bağlanma proteinini kodlar. BCL6, germinal merkez B hücrelerinde

nükleer ekspresyon gösterir. İmmünohistokimyasal olarak BCL6 ekspresyonu ile BCL6 gen rearanjmanı korelasyon göstermez. BCL6 gen rearanjmanı yalnızca germinal merkez B hücre kökenine sınırlı olmayıp, çeşitli lenfomalarda da sık görülen bir genetik anormaliktir. Folliküler lenfoma, Burkitt lenfoma gibi germinal merkez kökenli lenfomalarda immünohistokimyasal olarak gösterilen BCL6 ekspresyonu, BCL6 translokasyonunun varlığını göstermez. BCL6 ekspresyonu, ayrıca anaplastik T hücreli lenfomalar ve periferik T hücreli lenfomaların bir kısmında da görülebilir. Germinal merkez kökenini gösteren diğer belirleyiciler ise GCET1, HGAL/GCET2 ve LMO2'dir (232).

2.12.7.MUM1 (IRF4)

Multipl myelom onkogen 1 (MUM1), büyük bir grup olan interferon regülatör ailesine (IRF4) aittir. B, T, plazma, dendritik ve myeloid hücrelerin gelişiminden sorumlu transkripsiyon faktörünü kodlar. Boyanma hem sitoplazmik hem nükleerdir. MUM1 protein ekspresyonu ilk olarak myelomda tanımlanmasına rağmen ardından plazmablastik diferansiasyona spesifik olmadığı ve daha birçok neoplazide de ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. Bunlardan bazıları lenfoplazmasitik lenfoma, KLL/SLL, folliküler lenfoma, marjinal zon lenfoma, DBBHL, primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma, primer efüzyon lenfoması, Burkitt lenfoma, Hodgkin lenfoma, anaplastik büyük hücreli lenfoma ve melanomlardır. MUM1, ayrıca non-neoplastik aktive T hücreler, germinal merkez B hücrelerinin bir kısmı ve melanositlerde de eksprese edilir (232).

2.12.8.MYC

MYC, yüksek proliferasyon ile ilişkili olduğu için DBBHL'lerde de önem taşır. MYC translokasyonu, floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile veya diğer moleküler yöntemler ile gösterilerek lenfomaların tanısına yardımcı olarak kullanılır. MYC translokasyonunun varlığı yüksek oranda Burkitt lenfoma tanısı ile ilişkilidir. Bununla birlikte, DBBHL'ların bir kısmı, MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 translokasyonu gösteren yüksek dereceli B hücreli lenfomalar, nadir folliküler lenfomalar ve nadir B lenfoblastik lösemi/lenfomalarda da gösterilmiştir. MYC'in immünohistokimyasal ekspresyonu MYC translokasyonunun varlığını göstermez (232). Bununla birlikte, yakın zamandaki çalışmalar immünohistokimyasal olarak yüksek düzeylerde MYC ekspresyonuna (hücrelerin %40'ı veya daha fazlasında) sahip lenfomaların bu translokasyonlara sahip olma olasılığının daha yüksek

olduğunu göstermiştir (235). Bu nedenle MYC, immünohistokimyasal tarama testi olarak önerilmektedir. MYC ve BCL2 immünoekspresyonu gösteren DBBHL'lar translokasyondan bağımsız olarak kötü prognosisla ilişkili olduğu gösterilmiştir (232).

2.12.9.Ki67

Hematolenfoid neoplazilerin bir kısmında proliferatif aktivitenin değerlendirilmesi tanısasal ve prognostik olarak önem taşır. Proliferasyon belirteçleri arasında en çok tercih edileni Ki67'dir. Ki67, aktif olarak bölünen ve çoğalan hücreler tarafından eksprese edilen bir nükleer proteindir. Hücre siklusunun G0 evresinde eksprese edilmez. Orijinal Ki67 antikoru; formalinle tespitli, parafine gömülmüş doku kesitlerinde immünreaktif olmasa da Ki67'ye eşdeğer MIB-1 antikoru günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Prolifere olan hücrelerin tanımlanması ve lenfoid doku içindeki dağılımı, reaktif ve neoplastik süreçlerin değerlendirilmesinde önemli parametrelerdir (20).

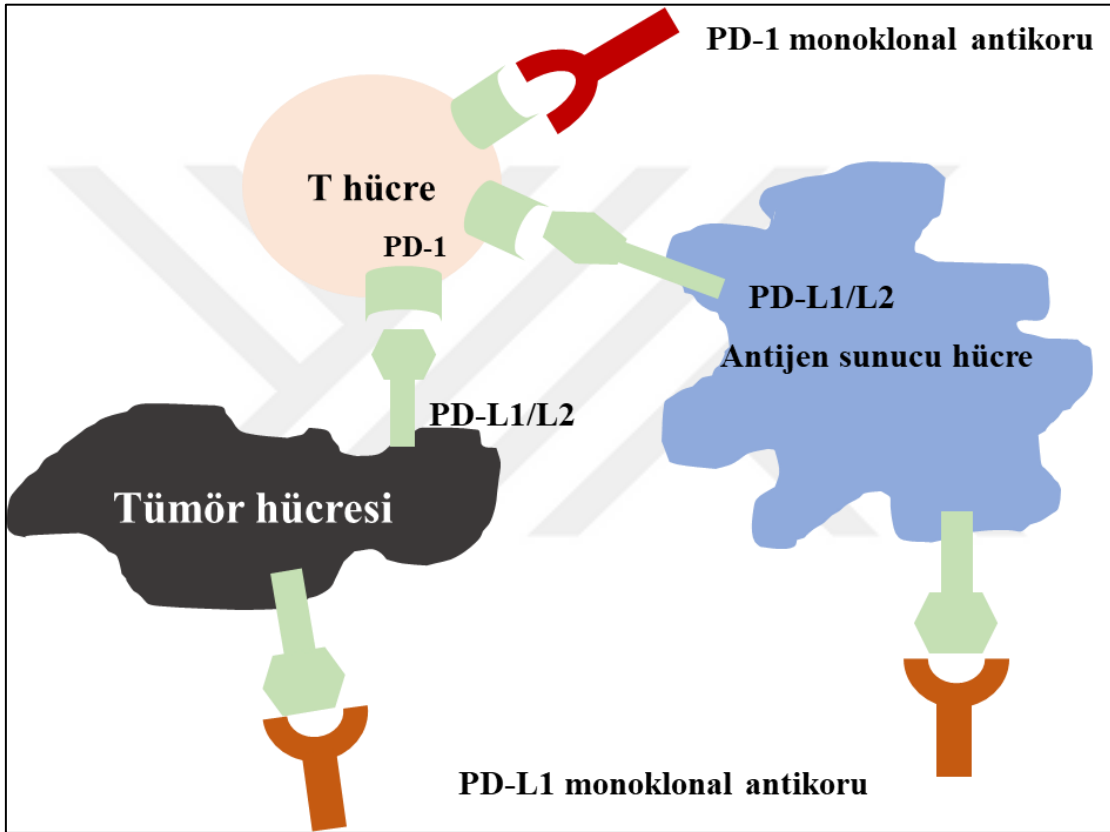
2.12.10.EBER CISH

İn situ hibridizasyon (ISH), donmuş veya parafine gömülmüş doku kesitlerinde DNA veya RNA hedeflerinin doğrudan değerlendirilmesini sağlayan bir tekniktir. Hematopatolojide ISH, duyarlılığın düşük olduğu veya immünohistokimyasal olarak zemin boyanması nedeniyle değerlendirmenin sınırlı olduğu durumlarda (kappa ve lambda hafif zincirleri vb.) kullanılmaktadır. İmmünohistokimyasal yöntemlerdeki antijen-antikor tanıma özelliği yerine, ilgilenilen RNA ya da DNA dizisiyle tasarlanan prob arasındaki etkileşime dayanmaktadır. Bu etkileşim floresan (FISH) veya kromojen (CISH) bazlı yöntemler ile tespit edilebilir. Hematopatolojide CISH'in primer kullanım alanı, B hücre klonalitesinin değerlendirilmesinde IG kappa ve lambda hafif zincirlerinin saptanmasıdır. Diğer sık kullanım alanı ise EBV ile enfekte hücrelerin identifiye edilmesidir. Bu testte hedef, latent olarak bulunan yüksek kopya sayısına sahip kısa nükleer transkriptler olan EBV kodlanmış RNA'lardır (20).

2.13.Programmed Death Receptor-1 (PD-1) ve Programmed Death Ligand-1/2 (PD-L1/2) Yolağı ve Lenfomalarda Önemi

PD-1, B7 reseptör ailesinin bir üyesi olup, PD-L1 ve PD-L2'nin reseptörüdür (236). PD-1 ile PD-L1 veya L2 etkileşimi, T hücre aracılı immün cevap regülasyonunda önemli bir

kontrol noktasıdır (Şekil 12). T hücre yüzeyinde bulunan PD-1 ile makrofaj yüzeyindeki ligandının (PD-L1, L2) etkileşimi, T hücrelerde inhibitör sinyallerin oluşması ve immün yanıtın sınırlandırılmasıyla sonuçlanır (4). PD-1 ve PD-L1'in büyük bir kısmı; aktive T hücreleri, antijen sunucu hücreler ve diğer immün sistem hücrelerinde eksprese edilir. Daha önemlisi; PD-1 ve PD-L1; aynı soya ait hücrelerde birlikte eksprese edilebilir; bu da hücreler arası çapraz konuşmayı ifade etmektedir (237). PD-L2 ekspresyonu, makrofaj, dendritik hücreler ve B hücrelere sınırlı olup; T hücre immün yanıtında rolü belirsizdir (238, 239).



Şekil 12: PD-1 ve PD-L1/2 yolağının fizyopatolojik süreci ve inhibisyon yolları

PD-1 / PD-L1 yolağı periferel dokularda etkindir; T hücre aracılı sitokin üretimi ve T hücre reseptör aracılı hücre proliferasyonunu azaltarak lokal inflamatuvar cevabın kontrolü ve self toleransın temelini oluşturur (240). T hücre aktivasyonunun hemen ardından PD-1 / PD-L1/L2 ligasyonu ile intrasellüler fosfoinozid-3 kinaz aktivitesinin inhibisyonu başlar; Akt aktivasyonu ve T hücre diğer stimülatör yollarını inhibe olarak, T hücre fonksiyonları azalır (237).

İmmün sistemin regülasyonunda yer alan bu yolak, PD-L1 veya PD-L2'nin bazı tümör hücreleri tarafından eksprese edilerek kullanılmasıyla tümörlerin immün yanıtta kaçışında önemli bir rol oynamaktadır (4). PD-L1 birçok solid tümör tipinde eksprese edilmekte olup, tümöre bağlı azalmış sağkalım ile ilişkilidir (241-243).

Hematolenfoid maligniteler, tümör mikroçevresindeki regülatör T hücreleri; neoplastik malign hücrelerden sekrete edilen, tümöre karşı immün cevabı azaltan immünolojik aktif moleküller; immün efektör etkileri baskılayan monosit ve makrofajlar gibi anti-tümör immün cevabını baskılayan çok sayıda mekanizma kullanmaktadır (244). Neoplastik spesifik antijen ilişkili immün stimülasyon; intratümöral T hücre immün aktivitesini azaltır. İnaktif ("worn-out") T hücrelerinin yüzey reseptörlerinde upregülasyon gelişerek kendi sitotoksik etkilerini azaltırlar. Bu reseptörlerden Hodgkin lenfoma ve non-Hodgkin lenfomalarda en iyi tanımlanmış ve karakterize edilmiş olanı PD-1'dir (245, 246). PD-1 sinyali T hücre fonksiyonunda negatif regülasyona neden olur; PD-1 reseptörü ile PD-L1/L2 etkileşimi sitotoksik T lenfositlerde apoptoz ile sonuçlanır. Sıklıkla antijen sunucu hücreler ve malign lenfoid hücrelerden eksprese edilen PD-L1; T hücre yüzeyindeki PD-1 ile etkileşime geçerek T hücre reseptörü üzerindeki inhibitör sinyaller ile efektör anti-tümör cevabı baskılar (247). Malign hücrelerin PD-L1 ekspresyonu, lenfomalarda immün yanıtta kaçışta kullanılan en önemli mekanizmadır (240). Malign hücrelerdeki PD-L1 ve PD-L2 upregülasyonu, hem B hem T hücre serilerine ait birçok lenfomada gösterilebilir (248-250). Bu ekspresyon artışı; interferon gamma gibi sitokin sinyal yollarında artış, enfeksiyöz etiyolojiler veya tümöral hücrelerdeki iyi tanımlanmış genetik değişikliklerin sonucu olabilir. Hodgkin lenfomada PD-L2 ekspresyon artışı; selektif kromozom 9p amplifikasyonu veya kopya kazanımları, MHC sınıf II amplifikasyonu veya upregülasyonu gibi çeşitli mekanizmalar ile ilişkilidir (251). Ayrıca EBV enfeksiyonu da JAK/STAT transkripsiyon yolağını aktive ederek PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunu arttırmaktadır. Bu yolak özellikle Hodgkin lenfomalar ve EBV ilişkili DBBHL'yı içeren lenfoma alt tiplerinde izlenmektedir (252).

Hematolenfoid malignitelerde PD-1, PD-L1 ekspresyonu; multipl myelom, akut myeloid lösemi, Hodgkin lenfoma ve çeşitli non-Hodgkin lenfoma tiplerinde gösterilmiştir (250, 253, 254). PD-1, PD-L1 ekspresyonu tüm lenfomalarda ortak değildir ve ekspresyon heterojen dağılım gösterir. PD-1 ekspresyonu yalnızca malign lenfoid hücrelere sınırlı değildir; bazı non-Hodgkin lenfomalarda tümör infiltre eden lenfositlerde pozitif olabilir (255). Tümör ve mikroçevresi dışında; normal lenf nodülleri, tonsil, dalak ve timus gibi lenfoid dokularda; germinal merkez T hücrelerinde, sekonder lenfoid folliküllerde T

hücrelerle uyumlu pozitif dağılım gösterir (256). PD-L1 ekspresyonu, çoğu B hücreli non-Hodgkin lenfomada nadir olup, T hücre/histiositten zengin büyük B hücreli lenfoma, primer mediastinal B hücreli lenfoma, EBV pozitif lenfomalar, ABC alt tipi DBBHL, primer santral sinir sistemi lenfoması ve lenfoplazmasitik lenfomada gösterilmiştir (237). DBBHL'lar üzerinde PD-L1 ekspresyonunu değerlendiren bir çalışmada, DBBHL'ların yalnızca dörtte birinde PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır (244). Kiyasu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; Asya kökenli 1.200'den fazla DBBHL olgusunda retrospektif olarak PD-L1 ekspresyonu değerlendirilmiş, olguların yalnızca %11'inde PD-L1 ekspresyonu saptanmıştır (197).

Çeşitli çalışmalarda; solid tümörlerde, PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu ile kötü prognosis arasında güçlü korelasyon saptanmıştır (237, 257). Kiyasu ve arkadaşlarının DBBHL olgularında yaptığı çalışmada, PD-L1 pozitif olguların çoğunluğu ABC alt tipinde olduğu ve azalmış sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonunun varlığı bağımsız prognostik faktör olarak tanımlanmıştır. Ayrıca tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu ile tümör infiltrate eden lenfositlerdeki PD-1 ekspresyonu arasında güçlü ilişki bulunmuştur. Bu bulgularla PD-1/PD-L1 yolağının DBBHL mikroçevresinde de etkili olduğu sonucuna varılmıştır (197). Bu da; PD-1/PD-L1 kontrol noktasını hedefleyen tedavi cevaplarında, PD-1 ve PD-L1'in prediktif belirleyici olarak potansiyel bir rolünün olduğunu göstermiştir (237, 257). Preklinik çalışmalarda; PD-1 ve PD-L1 blokajı, tümör infiltrate eden lenfositlerde PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunu engelleyerek anti-tümör cevabı artırır, tümör büyümesini geciktirir, tümör rejeksiyonunu kolaylaştırır (252, 258).

PD-1 ile PD-L1/L2 etkileşimini inhibe edip tümörlerin immün yanıtta kaçışını bloke ederek solid organ maligniteleri ve hematolenfoid malignitelerde tedaviyi amaçlayan immünoterapi ajanları önemli bir hedefdir (5). İleri evre solid tümörlerde PD-1/PD-L1 blokajındaki başarılı girişimler ile bu ajanlar, onkolojik terapötikler içinde, kanserlerin immün yanıtta kaçış özelliğini hedef alan yeni bir paradigma haline gelmiştir (259).

PD-1 inhibitörleri (nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab) dünyada ilk olarak metastatik küçük hücreli dışı akciğer karsinomları ve melanomlar ardından renal hücreli karsinom, ürotelyal karsinom, baş-boyun kanserleri ve klasik Hodgkin lenfomalarda FDA onayı ile tedavi seçenekleri arasına girmiştir (6, 7).

Diğer hematolenfoid malignitelerde ise günümüzde PD-1'i hedef alan monoklonal antikolarla yapılan çok sayıda klinik faz çalışması mevcuttur (256). Alexander M. ve arkadaşlarının nivolumab ile yaptığı bir faz çalışmasında, relaps gelişmiş veya refrakter non-

Hodgkin lenfoma ve multipl myelom hastalarından oluşan 81 olgu dahil edilmiştir. Bu çalışmada, güvenlik profili Hodgkin lenfoma ve solid tümörlerle yapılan çalışmalara benzer bulunmuştur. DBBHL olgularında nivolumaba genel yanıt oranı %36 olarak bulunmuştur (260). DBBHL olguları üzerinde nivolumab ile yapılan diğer klinik çalışmalarda; tümör infiltre eden lenfositlerdeki PD-1 pozitiflik düzeyine oranla, neoplastik hücrelerde PD-L1 pozitif olgularda tedavi cevabının daha etkin olduğu gösterilmiştir (197, 256, 261-270).

İlerlemiş hastalıkta; progresyonsuz sağkalımı anlamlı olarak arttıran, klasik kemoterapi ajanlarına oranla minimal toksisiteye neden olan, kanser immünoterapisinin dönüm noktası haline gelmiş bu ajanlar başta hematolenfoid maligniteler olmak üzere daha birçok tümör tedavisinde yerini almaya adaydır (7, 247).

Ülkemizde yalnızca metastatik melanomlu olgularda CTLA-4 inhibitörü olan ipilimumaba refrakter ise PD-1 inhibitörlerinin kullanımı mümkün olabilmektedir, ancak bürokratik işlemlerin uzunluğu nedeniyle bu aşamada bile kullanımı henüz sınırlıdır. İpilimumab ile kombine kullanımı ise henüz ülkemizde mümkün değildir (271). Farklı tümör gruplarıyla PD-1 ve PD-L1 ekspresyonuna yönelik yapılan çalışmalar; gelecekte hedefe yönelik tedavinin daha geniş spektrumda hasta profilini kapsayabilmesi için gereklidir. Bu nedenle PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun immünhistokimyasal yöntem ile araştırılması, pratikte uygulanabilirliğinin daha kolay olması nedeniyle güncelliğini koruyan bir yöntem olarak değerlendirilmektedir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Transforme DBBHL Olgularının Seçim Kriterleri

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda, 2000-2016 yılları arasındaki arşiv kayıtları incelenerek, 57 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen olguların tanı grupları aşağıda belirtilmiştir.

- Düşük dereceli B hücreli lenfoma tanısı almış ve izlem sürecinde DBBHL gelişmiş 27 olgu;
- Farklı odaklardan alınan biyopsi örneklerinde eş zamanlı düşük dereceli B hücreli lenfoma ve DBBHL tanısı almış 1 olgu;
- Aynı biyopsi materyalinde düşük dereceli B hücreli lenfoma ve DBBHL morfolojisini birlikte barındıran 28 olgu;
- DBBHL tanısıyla izlem sırasında gelişmiş nüks materyallerinde düşük dereceli B hücreli lenfoma tanısı almış 1 olgu.

Aşağıda belirtilen kriterlere sahip olgular çalışma kapsamına alınmamıştır.

- Parafin bloklarında küçük boyutlarda doku örneği kaldığı için seri kesitlerde kaybedilme riski olan biyopsi materyalleri.
- PD-1 ve/veya PD-L1 immünohistokimyasal boyamaları için yapılan kesitlerde tümör dokusu dökülen biyopsi materyalleri

3.2.De Novo DBBHL Olgularının Seçim Kriterleri

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda, 2010-2016 yılları arasındaki arşiv kayıtları incelenerek nodal ya da ektranodal tutulum gösteren 58 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Aşağıda belirtilen kriterlere sahip olgular çalışma kapsamına alınmamıştır.

- Spesifiye edilmiş büyük B hücreli lenfoma olgularına ait biyopsi materyalleri,
- Relaps gelişen olgulara ait biyopsi materyalleri,
- Parafin blok ve preparat konsültasyon materyalleri,
- Tru-cut biyopsi, endoskopik biyopsi ve 1 cm'den küçük boyutlarda insizyonel biyopsi materyalleri,

- Parafin bloklarında küçük boyutlarda doku örneği kaldığı için seri kesitlerde kaybedilme riski olan biyopsi materyalleri.
- PD-1 ve/veya PD-L1 immünohistokimyasal boyamaları için yapılan kesitlerde tümör dokusu dökülen biyopsi materyalleri

3.3.Etik Kurul Onayı

Çalışmamıza Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 29.09.2017 tarihinde 17-8.1/4 karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır.

3.4.Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen olgulara ait arşiv materyalini oluşturan tüm hematoksilen ve eozin (H&E) boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek, morfolojik tanı DSÖ 2016 sınıflandırmasına göre revize edildi.

Histolojik parametreler olarak perinodal infiltrasyon, tutulum paterni, nekroz, skleroz, morfolojik varyant, mitoz; tümörü infiltre eden lenfositler, makrofajlar, plazma hücreleri ve eozinofiller değerlendirildi.

Perinodal infiltrasyon, lenf nodülü eksizyonel biyopsi materyallerinde değerlendirilerek varlığı ya da yokluğu kaydedildi.

Lenf nodülü biyopsi materyallerinde neoplastik infiltrasyonun gelişim paternine göre diffüz, nodüler ve diffüz ve nodüler olmak üzere üç tutulum paterni belirlendi. Ekstranodal bölge ve kemik iliği tutulumlarında ise neoplastik infiltrasyonun çevre doku ile ilişkisi değerlendirilerek multifokal ya da diffüz gelişim; lezyonun kendi içindeki gelişim paterni değerlendirilerek diffüz, nodüler, diffüz ve nodüler patern olarak sınıflandırıldı.

Morfolojik varyantın belirlenmesinde neoplastik hücreler santroblastik, immünoblastik, anaplastik/HRS benzeri, blastik olmak üzere sınıflandırılarak dominant hücre tipi ve eşlik eden diğer hücre tipleri olmak üzere tümörlerde izlenen tüm hücre tipleri kaydedildi.

Tüm olgularda nekroz olup olmadığı belirtildi.

Zeminde sklerozun varlığı değerlendirildi ve şiddetine göre yok (0), hafif (1), orta (2), şiddetli (3) olmak üzere derecelendirildi. Derece 1 skleroz, tümör dokusunun $<1/3$ 'ünde, derece 2 $1/3-2/3$ 'ünde ve derece 3 $>2/3$ 'ünde neoplastik hücreleri çevreleyen skleroz olarak tanımlandı.

Mitoz rastgele seçilmiş 1 büyük büyütme alanında sayılarak 100 neoplastik hücre içindeki oranı verildi.

Makrofaj, plazma hücresi ve eozinofiller; rastgele seçilmiş 1 büyük büyütme alanında sayılarak ayrı ayrı tüm hücre popülasyonuna oranları verildi. Tümörü infiltre eden lenfositler ise immünohistokimyasal boyalı arşiv preparatları üzerinden CD3 ve CD20 ile değerlendirildi. CD3 ile tümör infiltre eden T lenfosit popülasyonu değerlendirilerek tüm hücre popülasyonuna oranı verildi. Benzer şekilde CD20 ile büyük neoplastik hücreler dışlanıp küçük reaktif B lenfositler değerlendirilerek, tüm hücre popülasyonuna oranı hesaplandı. Tümör; non-neoplastik hücrelerin (tümörü infiltre eden B ve T lenfositler, makrofaj, plazma hücresi ve eozinofiller), tüm hücrelere oranı %25 ve altında ise monomorfik; büyük ise polimorfik olarak kabul edildi.

Tüm olguların arşivde yer alan CD30, BCL2, BCL6, MUM1, CD10, MYC, Ki67 immünohistokimyasal boyalı preparatları ve boyalı EBER-CISH preparatları yeniden incelendi. DSÖ 2016'da belirtildiği gibi neoplastik hücrelerde; CD10, BCL6, MUM1 ekspresyonu %30 ve üzerinde; MYC ekspresyonu %40 ve üzerinde; BCL2 ekspresyonu ise %50 ve üzerinde izlenmesi durumunda pozitif olarak kabul edildi. Bu oranların altında kalan boyanmalar negatif olarak değerlendirildi. CD30, ekspresyon görülen hücrelerin tüm hücrelere oranı verilerek kaydedildi. Ki67 proliferasyon indeksi, neoplastik hücreler içindeki boyanma oranı değerlendirilerek verildi. EBER-CISH değerlendirmesinde EBV pozitifliği neoplastik ve non-neoplastik hücrelerde ayrı ayrı belirtildi.

Olgular; CD10, BCL6 ve MUM1 ile Hans algoritması uygulanarak GCB ve non-GCB/ABC alt tiplerine sınıflandırıldı. CD10 pozitif ise GCB alt tipi; CD10 ve BCL6 negatif ise non-GCB/ABC alt tipi olarak kabul edildi. CD10 negatif, BCL6 pozitif ise MUM1 ekspresyonu değerlendirilerek karar verildi. Bu olgularda MUM1 pozitif ise non-GCB/ABC, negatif ise GCB alt tipi olarak sınıflandırıldı.

3.5.İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

PD-1 antikoruna için tonsil ve PD-1 pozitifliği daha önce saptanmış olan, anjiyoimmünoblastik T hücreli lenfoma tanısı almış bir lenf nodülüne ait parafin bloklar; PD-L1 antikoruna için de tonsil ve PD-L1 pozitifliği daha önce saptanmış olan, asiner baskın adenokarsinom tanısı almış bir akciğer dokusuna ait tümörlü bloklar pozitif kontrol olarak seçildi. Tonsil dokusu her iki belirteç için pozitif ve negatif kontrol olarak da kullanıldı.

Çalışma grubumuza ait olguların arşivimizde bulunan formalin tespitli, parafine gömülü uygun doku bloklarından hazırlanan 3 mikron kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü lamalar (ISOTHERM, ca.75x25 mm/3x1 inch, positive charged) üzerine alındı. Bu preparatlar 52°C etüvde bir gece boyunca bekletilerek kurutuldu. Bir gece etüvde bekletilen preparatlar Ventana Medical System-Benchmark XT/ISH Staining module yerleştirilerek Ultraview Universal DAB kiti ve primer antikorlar kullanılarak aşağıdaki prosedürler uygulandı:

1. EZ Prep solüsyonu içerisinde 75°C'de 8 dakika boyunca deparafinizasyon
2. EDTA bazlı buffer ph:7,8 ile 95°C'de 44 dakika boyunca antijen açığa çıkarma işlemi
3. UV INHIBITOR solüsyonu ile 37°C'de 4 dakika boyunca inhibitör bloklama işlemi
4. Primer antikor inkübasyonu
 - PD-1 (klon: NAT105, kullanıma hazır, Cell Marque) için 32 dakika primer antikor inkübasyonu
 - PD-L1 (klon: SP142, kullanıma hazır, Ventana) için 1saat 40 dakika primer antikor inkübasyonu
5. Birer kez sekizer dakika amplifier A ve B uygulaması
6. 8 dakika boyunca Ultraview DAB + Ultraview DAB H₂O₂ inkübasyonu
7. 8 dakika boyunca hematoksilin ile zıt boyanma
8. 4 dakika boyunca BLUING REAGENT ile inkübasyon

Yukarıda belirtilen her basamağın geçişlerinde ve son aşamada Reaction buffer ile durulama

Makineden çıkarılan preparatlar sabunlu suyla yıkanıp durulandı. Saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletilerek sudan kurtarma işlemi uygulandı. Ardından ksilende 1 dakika bekletilerek balzam ile kapatma işlemi yapıldı.

3.6.İmmünohistokimyasal Değerlendirme Kriterleri

PD-1 antikoruna için sitoplazmik boyanma; PD-L1 antikoruna için membranöz ve/veya sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. İmmünohistokimyasal boyama sonuçları üç

patolog (MH, DD, HÖ) tarafından değerlendirildi. PD-1'in tümörü infiltre eden lenfositler ve tümör hücrelerindeki ekspresyonunun değerlendirilmesinde, öncelikle H&E boyalı preparat ile tümör hücrelerinin dağılımı; CD3 boyalı preparat ile T lenfositlerin oranı ve dağılımı göz önünde bulunduruldu. Ardışık olarak PD-1 boyalı preparat değerlendirildi. CD3 pozitif T lenfositlerin PD-1 pozitiflik oranı ve PD-1 pozitif tümör hücrelerinin tüm tümör hücrelerine oranı hesaplandı. PD-L1'in tümör hücreleri ve mikroçevredeki (makrofaj, myeloid dendritik hücre, histiosit) ekspresyonunun değerlendirilmesinde ise öncelikle H&E ve CD68 boyalı preparatlar değerlendirildi. CD68 ile pozitif boyanmış hücrelerin ve tümör hücrelerinin dağılım paternine adapte olunarak, ardından PD-L1 boyalı preparat değerlendirildi. Mikroçevredeki PD-L1 pozitif hücrelerin CD68 pozitif hücrelere oranı; PD-L1 pozitif tümör hücrelerinin tüm tümör hücrelerine oranı hesaplandı.

PD-1'in tümör infiltre lenfositler ve tümör hücreleri; PD-L1'in tümör hücreleri ve mikroçevredeki pozitiflik oranları $\leq 5\%$: 0, %6-25: 1, %26-50: 2, %51-75: 3 ve %76-100: 4 olmak üzere skorlandı.

3.7.Biyoistatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS IBM (Sürüm:25.0) paket programı kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerin kıyaslanmasında "Ki-kare" ve "Fisher's exact test"; nümerik değişkenlerin kıyaslanmasında ise normal dağılım gösteren değişkenler için "Student's T test"; diğer değişkenler için "Mann-Whitney U testi" ve "Spearman's korelasyon katsayısı" kullanılmıştır. Sağkalım analizleri için "Kaplan-Meier" testi uygulanmıştır. Tüm analizler için p değeri 0,05'in altında olanlar anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. TRANSFORME DBBHL GRUBU

Çalışmamızda 57 adet transforme DBBHL olgusu değerlendirilmiştir. Bu olguların 29'u (%50,9) folliküler lenfoma; 11'i (%19,3) KLL/SLL; 10'u (%17,5) marjinal zon lenfoma; dördü (%7) NLPHL ve üçü (%5,3) lenfoplazmasitik lenfomadan transformasyon sonucu gelişen olgulardı. Bu olgularda DBBHL morfolojisinin 27'si (%47,3) izlem sürecinde gelişen nüks materyallerinde; ikisi (%3,5) eş zamanlı farklı odaklardan alınan biyopsi örneklerinde; 28'i (%49,1) düşük dereceli B hücreli lenfoma morfolojisini barındıran biyopsi örneklerinde birlikte izlendi.

Olguların transforme DBBHL tanısını aldıkları yaş aralığı 31 ile 84 arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 61,8 idi. Olguların 32'si (%56,1) kadın, 25'i (%43,9) erkek olup erkek:kadın oranı 0,7 idi.

Olgularda transformasyon süresi sıfır ile 115 ay arasında değişmekteydi, her iki morfolojiyi eş zamanlı birlikte barındıran olgular dışlanarak değerlendirildiğinde düşük dereceli B hücreli lenfoma ile DBBHL tanısı arasında geçen en kısa ve en uzun süre iki ay ve 115 ay, olup ortalama süre 17 aydı.

Lokalizasyon dağılımı açısından değerlendirildiğinde 33 olgu (%57,9) nodal, 24 olgu (%42,1) ektranodal yerleşimdeydi. Ektranodal lokalizasyonlar içinde azalan sıklık sırasıyla yumuşak doku, kemik, kemik iliği, gastrointestinal sistem, deri, tonsil, akciğer, üriner sistem ve dalak yer almaktaydı (**Tablo 3**).

Eksizyonel biyopsi örneklerinde değerlendirilen makroskopik tümör çapı değerleri 12 mm ile 200 mm arasında değişmekte olup, median değer 27 mm idi.

Tanı sırasında kemik iliği evreleme biyopsisi yapılan 40 olgudan 14'ünde (%35) kemik iliği tutulumu saptandı.

Morfolojik parametreler değerlendirildiğinde tutulum paterni olguların 33'ünde (%57,9) diffüz iken, 24'ünde (%42,1) diffüz ve nodüler olarak saptandı. Ektranodal yerleşimli olguların çevre doku ile ilişkisi göz önüne alındığında 19'unda (%79,2) diffüz, beşinde (%20,8), multifokal dağılım saptandı. Nodal yerleşimli olgulardan değerlendirilebilen 33'ünün tamamında perinodal infiltrasyon mevcuttu. Skleroz olguların 13'ünde (%22,8) derece 1; birinde (%1,8) derece 2; üçünde (%5,3) derece 3 olarak izlenmiş olup, 40 (%70,2)

olguda skleroz izlenmedi. Nekroz 47 (%82,5) olguda gözlemlendi. En sık morfolojik varyant 44 (%77,2) olgu ile santroblast morfolojisi olup, diğer morfolojik varyantlar içinde ise birer (%1,8) olgu ile immünoblastik, blastik, HRS benzeri hücreler, iki (%3,5) olgu ile anaplastik ve sekiz (%14) olgu ile mikst morfoloji yer almaktaydı. Non-neoplastik hücre oranına göre olguların 18'i (%31,6) monomorfik; 39'u (%68,4) polimorfik dağılıma sahipti. Mitoz oranları %1 ile %16 arasında değişmekte olup, median değer %5 olarak bulundu.

Non-neoplastik hücre oranı %12 ile %98 arasında değişmekte olup, median değer %30 idi. Tümör infiltrate eden küçük B lenfositlerin oranı 0 ile %30 arasında değişmekte olup, median değer %2'ydi. Tümörü infiltrate eden T lenfositlerin oranı %6 ile %80 arasında değişmekte olup, median değer %20'ydi. Tümörü infiltrate eden plazma hücrelerinin oranı 0 ile %5 arasında değişmekte olup, median değer 0 bulundu. Tümörü infiltrate eden makrofajların oranı %2 ile %67 arasında değişmekte olup, median değer %5 idi. Tümör infiltrate eozinofillerin oranı 0 ile %10 arasında değişmekte olup, median değer 0'dı.

İmmünohistokimyasal değerlendirmelerde CD20 55 (%96,5) olguda pozitif iken, iki olguda negatifti. CD20 ekspresyonu göstermeyen olgular PAX5 ile pozitif izlendi. CD10 ile 24 (%42,1); BCL6 ile 37 (%64,9); MUM1 ile 29 (%50,9) olguda ekspresyon izlendi. CD10, BCL6 ve MUM1 ekspresyonuna göre Hans algoritması uygulandığında olguların 29'u (%50,9) GCB, 28'i (%49,1) non-GCB/ABC alt tiplerinde saptandı. CD30, 27 (%47,4) olguda pozitif saptandı. Ekspresyon oranları %1 ile %99 arasında değişmekte olup, median değer %10 olarak bulundu. BCL2 35 (%61,4); c-MYC ise 24 (%42,1) olguda pozitif izlendi. Ki67 proliferasyon indeksi 0 ile %99 arasında değişmekte olup, median değer %60 bulundu.

CISH yöntemi ile yapılan EBER incelemesinde yalnızca bir (%1,8) olguda neoplastik hücrelerde; yedi (%12,3) olguda nadir non-neoplastik lenfoid hücrelerde EBV pozitifliği saptandı.

Transforme DBBHL grubundaki olguların ortalama genel sağkalım süresi $72 \pm 9,92$ ay bulundu.

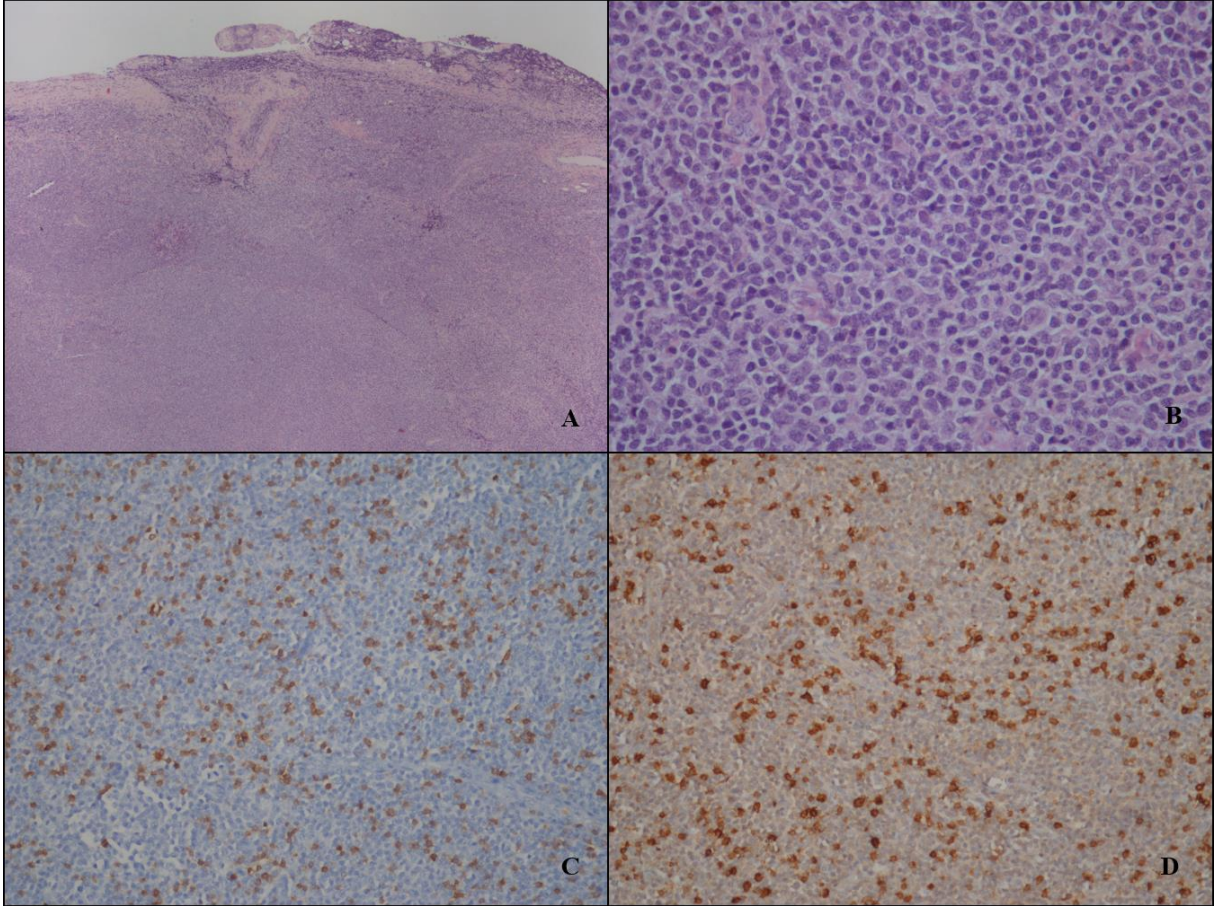
Tablo 3: Transforme DBBHL olgularının cinsiyet, ilk tanı, tutulum bölgesi, transformasyon süresi ve toplam sağkalım sürelerinin dağılımı

HASTA NO	CİNSİYET	İLK TANI	İLK TANI TUTULUM BÖLGESİ	SON TANI	TUTULUM BÖLGESİ	İKİ TANI ARASINDA GEÇEN SÜRE (AY)	TOPLAM SAĞKALIM (AY) (yaşayan olguların takip süreleri)
1	E	KLL/SLL	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	2	Bilinmiyor
2	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	8	Bilinmiyor
3	K	Lenfoplazmatik lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Mide	39	57
4	K	Marjinal zon lenfoma	Bilinmiyor	DBBHL	Akciğer	0	Bilinmiyor
5	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Mesane	89	2
6	E	KLL/SLL	Bilinmiyor	DBBHL	Lenf nodülü		15
7	K	KLL/SLL	Kemik iliği	DBBHL	Böbrek	12	123
8	K	NLPHL	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	84	54
9	K	NLPHL	Parotis	DBBHL	Lenf nodülü	90	2
10	K	Marjinal zon lenfoma	Duodenum	DBBHL	Mide	29	Halen yaşıyor (121)
11	E	Marjinal zon lenfoma	Kemik iliği	DBBHL	Kemik iliği	17	41
12	K	KLL/SLL	Bilinmiyor	DBBHL	Lenf nodülü	0	8
13	K	KLL/SLL	Kemik iliği	DBBHL	Lenf nodülü	4	6
14	K	Lenfoplazmatik lenfoma	Yumuşak doku	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	115	Halen yaşıyor (92)
15	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Kemik iliği	8	5
16	E	Foliküler lenfoma	Deri	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	0	Halen yaşıyor (74)
17	E	Marjinal zon lenfoma	Dalak	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	48	Halen yaşıyor (69)
18	K	KLL/SLL	Bilinmiyor	DBBHL	Mide		0
19	E	KLL/SLL	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	21	21
20	K	NLPHL		DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (44)
21	K	KLL/SLL	Kemik iliği	DBBHL	Dalak	106	4
22	E	Marjinal zon lenfoma	Kemik iliği	DBBHL	Kemik iliği	18	Halen yaşıyor (31)
23	K	KLL/SLL	Kemik iliği	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	44	Halen yaşıyor (30)
24	E	NLPHL	Bilinmiyor	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (24)
25	K	Marjinal zon lenfoma	Kemik iliği	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	15	Bilinmiyor
26	K	Marjinal zon lenfoma	Bilinmiyor	DBBHL	Akciğer	0	1
27	E	KLL/SLL	Kemik iliği	DBBHL	Deri	35	0
28	K	Marjinal zon lenfoma	Parotis	DBBHL	Duodenum	46	Halen yaşıyor (72)
29	E	KLL/SLL	Kemik iliği	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	35	7
30	K	Marjinal zon lenfoma	Kemik iliği	DBBHL	Deri	12	1
31	E	Foliküler lenfoma	Prostat	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	14	Halen yaşıyor (18)

32	K	Marjinal zon lenfoma	Akciğer	DBBHL	Lenf nodülü	27	1
33	E	Lenfoplazmasitik lenfoma	Kemik iliği	DBBHL	Lenf nodülü	4	16
34	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Bilinmiyor
35	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	120
36	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (150)
37	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (104)
38	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	28
39	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	23
40	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (78)
41	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	0
42	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (75)
43	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	4
44	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Bilinmiyor
45	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (48)
46	E	Foliküler lenfoma	Tonsil	DBBHL	Tonsil	0	26
47	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (36)
48	E	Foliküler lenfoma	Yumuşak doku-kemik	DBBHL	Yumuşak doku-kemik	0	Halen yaşıyor (34)
49	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (32)
50	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (32)
51	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (30)
52	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (27)
53	E	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (26)
54	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (23)
55	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	Halen yaşıyor (21)
56	K	Foliküler lenfoma	Lenf nodülü	DBBHL	Lenf nodülü	0	3
57	K	Foliküler lenfoma	Tonsil	DBBHL	Tonsil	0	Halen yaşıyor (29)

Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu 56 olguda (%98,2) saptandı (**Şekil 13**). Pozitiflik oranlarına göre değerlendirildiğinde olguların sekizi skor 1; yedisi skor 2; 11'i skor 3; 30'u ise skor 4 olarak kategorize edildi (**Tablo 4**). Pozitif olan olgular değerlendirildiğinde 32'si erkek, 24'ü kadın; 33'ü nodal, 23'ü ektranodal; 32'si diffüz, 24'ü diffüz ve nodüler tutulumlu; nekroz 46'sında pozitif, altısında negatif; en sık morfolojik varyant santroblast (44 olgu); 18'i monomorfik, 38'i polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, tutulum paterni, nekroz, morfolojik varyant ve tümör hücre oranlarıyla tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı (sırasıyla p=0,439, p=0,421, p=1.000, p=0,642, p=0,284, p=1.000). Mitoz %1 ile %16 arasında değişmekte olup, median değer %5 idi. Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitif olan olgularda non-neoplastik hücre oranı %12 ile %98 arasında değişmekte olup, median değer %30 olarak hesaplandı. Tümörü infiltre eden küçük B ve T lenfositler, plazma

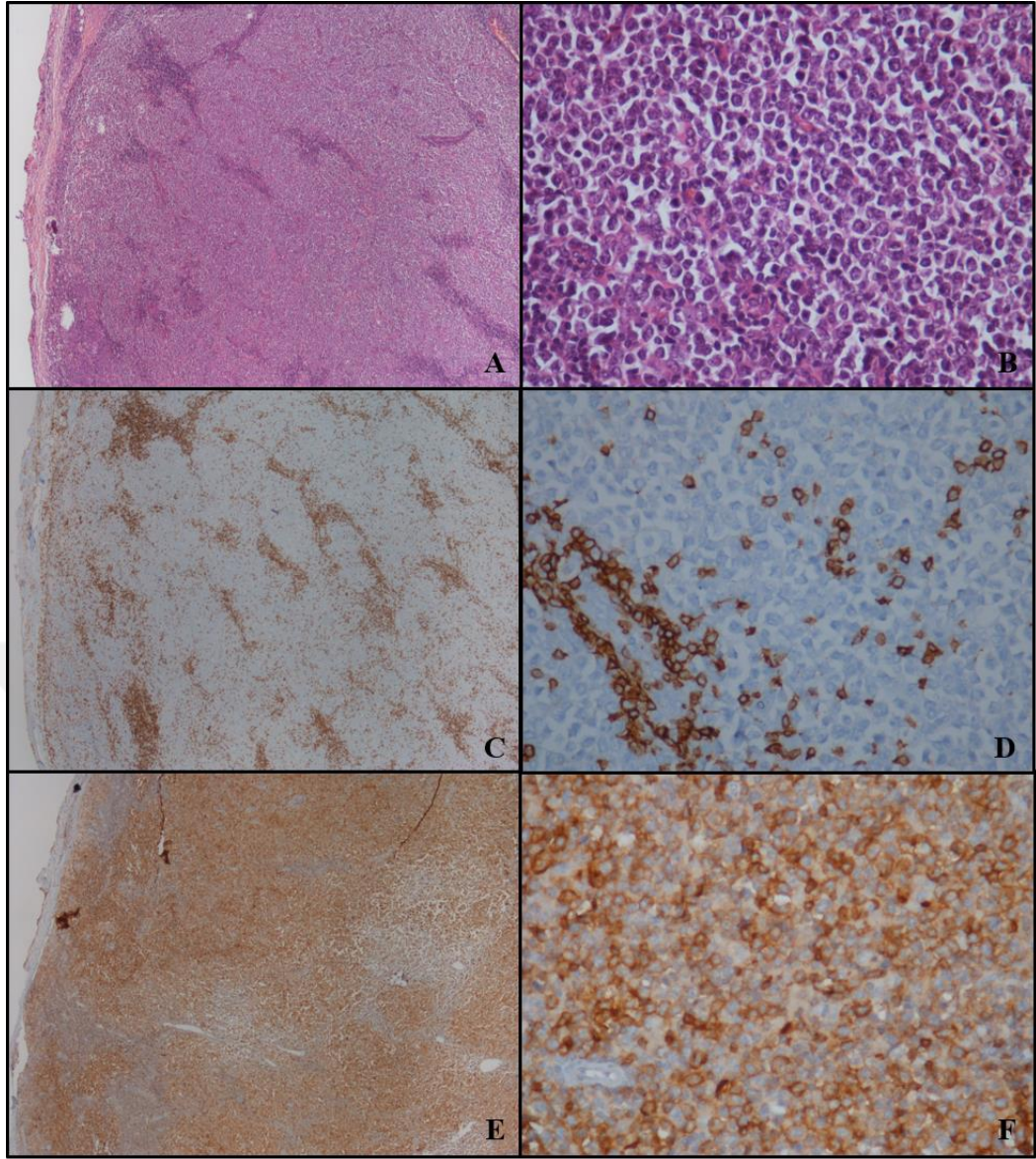
hücreleri, makrofajlar, eozinofiller, mitoz, diğer immünohistokimyasal parametreler ve hücre kökeni ile tümörü infiltre eden lenfositlerdeki PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Tümörü infiltre eden lenfositlerdeki PD-1 pozitifliği ile genel sağkalım (**Tablo 5**) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.



Şekil 13: A. Lenf nodülünde FL + DLBCL olgusunda diffüz paternde izlenen alanlar ve perinodal infiltrasyon (H&E; 4x), B. Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), C. İmmünohistokimyasal incelemede CD3 ile tümör infiltre T lenfositlerin dağılımı (DAB; 20x), D. İmmünohistokimyasal incelemede PD-1 ile tümör hücreleri negatif; tümörü infiltre eden CD3 pozitif T lenfositlerin dağılımına uyan paternde güçlü sitoplazmik ekspresyon (DAB; 20x).

Tümör hücrelerinde 20 (%35,1) olguda PD-1 ekspresyonu saptanmış olup (**Şekil 14**), ekspresyon düzeylerine göre bu olguların altısı skor 1; ikisi skor 2; üçü skor 3; dokuzu skor 4 olarak kategorize edildi (**Tablo 4**). PD-1 ile tümör hücre pozitifliği gösteren olgular eski tanılarına göre kategorize edildiğinde sekizi (%40) KLL/SLL, sekizi (%40) folliküler lenfoma, ikisi (%10) NLPHL ve birer (%5 ve %5) tane de marjinal zon lenfoma ve lenfoplazmatik lenfoma öyküleri mevcuttu (**Tablo 6**). Tümör hücrelerindeki PD-1 pozitifliği

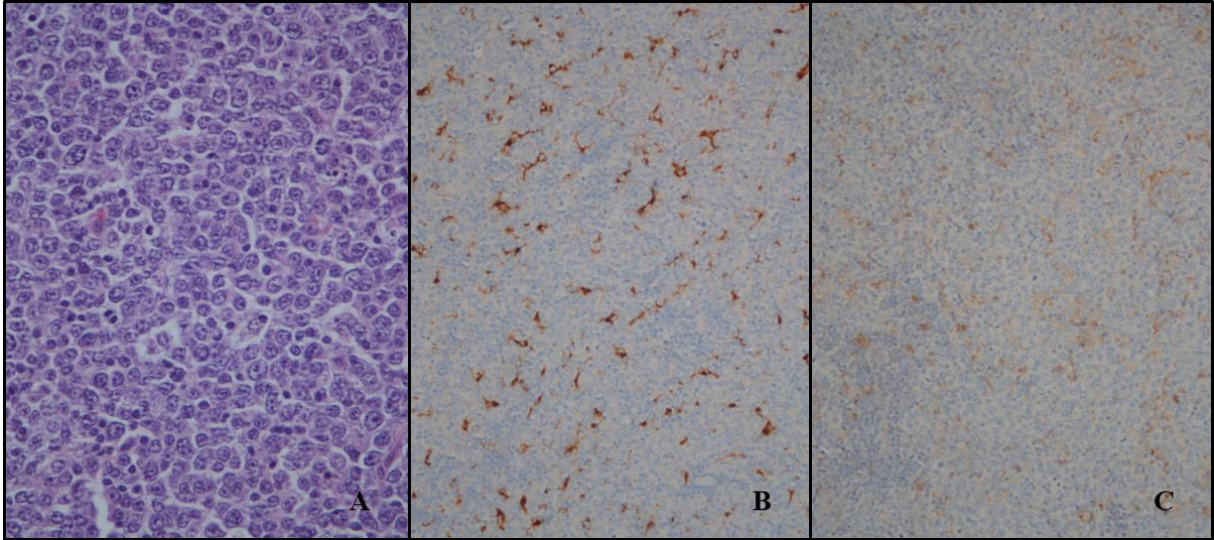
ile eski tanı kategorilerinden KLL/SLL arasındaki ilişkide p değeri 0,003 bulunmasına rağmen, az sayıda olgu bulunması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi. Aynı olgular cinsiyet ve morfolojik özellikler açısından değerlendirildiğinde 12'si kadın, sekizi erkek; 11'i nodal, dokuzu ektranodal; 12'si diffüz, sekizi diffüz ve nodüler tutulumlu; nekroz ikisinde pozitif, 18'inde negatif; en sık morfolojik varyant santroblast (15 olgu); altısı monomorfik, 14'ü polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, tutulum paterni, nekroz, morfolojik varyant ve tümör hücre oranlarıyla, PD-1 tümör hücresi pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. Mitoz %1 ile %13 arasında değişmekte olup, median değer %5,5 idi. Tümör hücrelerinde PD-1 ekspresyonu saptanan olgularda non-neoplastik hücre oranı %12 ile %57 arasında değişmekte olup, median değer 30 bulundu. Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği saptanan olguların diğer immünohistokimyasal özelliklerine bakıldığında CD10 altısında (%30) pozitif, 14'ünde (%70) negatif; BCL6 12'sinde (%60) pozitif, sekizinde (%40) negatif; MUM1 12'sinde (%60) pozitif, sekizinde (%40) negatif saptandı. Hans algoritmasına göre olguların sekizi (%40) GCB, 12'si (%60) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Ayrıca olguların BCL2 ile 14'ü (%70) pozitif, altısı (%30) negatif; c-MYC ile de 10 (%50) olgu pozitif, 10 (%50) olgu negatifti. Tüm olgular CISH EBER ile EBV negatif saptandı. Ki67 proliferasyon indeksi %15 ile %95 arasında değişmekte olup, median değer %80 idi. Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği ile immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım süresi (**Tablo 5**) arasında anlamlı ilişki saptanmadı.



Şekil 14: Folliküler lenfoma + DBBHL olgusu; **A.** Lenf nodülünde DBBHL morfolojisindeki alanlar ve perinodal infiltrasyon (H&E; 4x), **B.** Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), **C-D.** İmmünohistokimyasal olarak CD3 pozitif tümör infiltre T lenfositlerin dağılımı (DAB; 4x, 40x), **E-F.** İmmünohistokimyasal incelemede PD-1 ile tümör hücreleri ve tümörü infiltre eden lenfositlerde pozitif ekspresyon (DAB; 4x, 40x).

Tümör mikroçevresinde PD-L1 ekspresyonu 46 (%80,7) olguda izlendi (**Şekil 15**). Ekspresyon düzeylerine göre bu olguların 13'ü skor 1; sekizi skor 2; altısı skor 3; 19'u skor 4 olarak sınıflandırıldı (**Tablo 4**). Bu olgular eski tanılarına göre kategorize edildiğinde 26'sında (%56,5) folliküler lenfoma, dokuzunda (%19,6) marjinal zon lenfoma, altısında (%13) KLL/SLL, dördünde (%8,7) NLPHL ve birinde (%2,2) lenfoplazmatik lenfoma öyküleri mevcuttu (**Tablo 6**). Tümör mikroçevresindeki PD-L1 pozitifliği ile eski tanı

kategorilerinden marjinal zon lenfoma arasındaki ilişkide p değeri 0,016 olmasına rağmen, az sayıda olgu bulunması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi. Pozitif olan olgular diğer bulgular açısından değerlendirildiğinde 20'si (%43,5) erkek, 26'sı kadın (%56,5); 31'i (%67,4) nodal, 15'i ektranodal (%32,6); 23'ü (%50) diffüz, 23'ü (%50) diffüz ve nodüler tutulumlu; nekroz yedisinde (%15,2) pozitif, 39'unda (%84,8) negatif; en sık morfolojik varyant santroblast (35 olgu); dokuzu (%19,6) monomorfik, 37'si (%80,4) polimorfik olarak saptandı. Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği diffüz ve nodüler paterne sahip olgularda ve polimorfik olgularda daha sık saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla p=0,017, p<0,001). Cinsiyet, lokalizasyon, nekroz ve morfolojik varyantlar ile PD-L1 mikroçevre pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği saptanan olguların diğer immünohistokimyasal özelliklerine bakıldığında CD10 22'sinde (%47,8) pozitif, 24'ünde (%52,2) negatif; BCL6 30'unda (%65,2) pozitif, 16'sında (%34,8) negatif; MUM1 25'inde (%54,3) pozitif, 21'inde (%45,7) negatif saptandı. Hans algoritmasına göre olguların 25'i (%54,3) GCB, 21'i (%45,7) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Ayrıca olguların BCL2 ile 29'u (%63) pozitif, 17'si (%37) negatif; c-MYC ile de 19 (%41,3) olgu pozitif, 27 (%58,7) olgu negatifti. CISH EBER ile bir (%2,2) olguda EBV pozitif saptandı. Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği ile immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım süresi (**Tablo 5**) arasında anlamlı ilişki saptanmadı.



Şekil 15: A. Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), B. İmmünohistokimyasal incelemede CD68 ile makrofaj/histiosit/myeloid dendritik hücrelerin dağılımı (DAB; 20x), C. İmmünohistokimyasal incelemede PD-L1 ile tümör hücreleri negatif; mikroçevrede makrofaj/histiosit/myeloid dendritik hücrelerin dağılımına uyan paternde zayıf sitoplazmik ekspresyon (DAB; 20x).

Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu olguların 10'unda (%17) gözlemlendi. Tümör hücrelerindeki ekspresyon düzeylerine göre olguların beşi skor 1; ikisi skor 2; biri skor 3; ikisi skor 4 olarak derecelendirildi (**Tablo 4**). PD-L1 tümör pozitifliği gösteren olgular eski tanılarına göre kategorize edildiğinde beşi (%50) marjinal zon lenfoma, dördü (%40) folliküler lenfoma, biri (%10) NLPHL öyküleri mevcuttu (**Tablo 6**). Transformasyon öncesi tanısı KLL/SLL ve lenfoplazmasitik lenfoma olan olgularda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gözlenmedi. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile transformasyon öncesi tanı kategorilerinden marjinal zon lenfoma arasındaki ilişkide p değeri 0,03 olmasına rağmen az sayıda olgu üzerinde çalışıldığı için istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi. PD-L1 pozitif tümör hücrelerine sahip transformasyon öncesi marjinal zon lenfoma tanılı beş olgu lokalizasyon ve transformasyon süreleri açısından değerlendirildiğinde; iki olgunun kemik iliği biyopsisinde splenik marjinal zon lenfoma tanısı aldığı, bu olgularda 17 ve 18 ay sonra transformasyon geliştiği saptandı. Diğer üç olgunun tümünün akciğerde MALT lenfoma tanısı aldığı; ikisinde eş zamanlı aynı biyopsi materyalinde DBBHL morfolojisi; birinde ise 27 ay sonra DBBHL'ya transformasyon geliştiği izlendi. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgular cinsiyet ve morfolojik özellikler açısından değerlendirildiğinde yedisi kadın (%70), üçü (%30) erkek; beşi (%50) nodal, beşi (%50) ektranodal; altısı (%60) diffüz, dördü (%40) diffüz ve nodüler tutulumlu; nekroz ikisinde (%20) pozitif, sekizinde (%80) negatif; altısı (%60) santroblastik, ikisi (%20) anaplastik, biri (%10) HRS benzeri, biri (%10) mikst morfolojide; ikisi (%20) monomorfik, sekizi (%80) polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, tutulum paterni, morfolojik varyant, nekroz ve tümör hücre oranlarıyla PD-L1 tümör hücre pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. Mitoz %1 ile %11 arasında değişmekte olup, median değer %6,5 idi. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu saptanan olgularda non-neoplastik hücre oranı %23 ile %98 arasında değişmekte olup, median değer %44,5 olarak bulundu. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği saptanan olguların diğer immünohistokimyasal özellikleri değerlendirildiğinde CD10 birinde (%10) pozitif, dokuzunda (%90) negatif; BCL6 altısında (%60) pozitif, dördünde (%40) negatif; MUM1 altısında (%60) pozitif, dördünde (%40) negatif saptandı. Hans algoritmasına göre olguların üçü (%30) GCB, yedisi (%70) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile CD10 ekspresyon arasındaki negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,034$). Olguların CD30 ile sekizi (%80) pozitif, ikisi (%20) negatif; BCL2 ile beşi (%50) pozitif, beşi (%50) negatif; c-MYC ile de üçü (%30) pozitif, yedisi (%70) negatifti. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile CD30 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0,035$). Olgulardan birinde neoplastik hücrelerde (%10) CISH EBER ile EBV pozitif saptandı. Ki67 proliferasyon indeksi 0 ile %99 arasında değişmekte olup, median

değer %55 idi. CD10 ve CD30 dışındaki diğer immünohistokimyasal parametreler ile PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile hücre kökeni (GCB/non-GCB) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,179). Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile genel sağkalım süresi (**Tablo 5**) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Tablo 4: Transforme DBBHL grubunda PD-1 ve PD-L1'in tümör hücreleri ve tümör mikroçevresindeki ekspresyon düzeyleri (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler)

Ekspresyon düzeyi	PD-1 ekspresyonu		PD-L1 ekspresyonu	
	*TIL n (%)	Tümör hücreleri n (%)	Tümör mikroçevresi n (%)	Tümör hücreleri n (%)
0	1 (1,8)	37 (64,9)	11 (19,3)	47 (82,5)
1	8 (14)	6 (10,5)	13 (22,8)	5 (8,8)
2	7 (12,3)	2 (3,5)	8 (14)	2 (3,5)
3	11 (19,3)	3 (5,3)	6 (10,5)	1 (1,8)
4	30 (52,6)	9 (15,8)	19 (33,3)	2 (3,5)

Tablo 5: PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu ile iki olgu grubunda toplam sağkalım ilişkilerine ait p değerleri

	Toplam sağkalım (p değeri)	
	Transforme DBBHL	<i>De novo</i> DBBHL
Tümör infiltre lenfositlerde PD-1 pozitifliği	0,456	0,514
Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği	0,128	0,370
Tümör mikroçevresinde PD-L1 pozitifliği	0,848	0,406
Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği	0,552	0,853

Tablo 6: Transforme DBBHL grubunda PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun ilk tanı kategorilerine göre dağılımı (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler)

	PD-1 pozitifliği		PD-L1 pozitifliği	
	*TIL n (%)	Tümör hücreleri n (%)	Tümör mikroçevresi n (%)	Tümör hücreleri n (%)
KLL/SLL	11 (19,6)	8 (40)	6 (13)	0
Marjinal zon lenfoma	9 (16,1)	1 (5)	9 (19)	5 (50)
Foliküler lenfoma	29 (51,8)	8 (40)	26 (56,5)	4 (40)
NLPHL	4 (7,1)	2 (10)	4 (8,7)	1 (10)
Lenfoplazmatik lenfoma	3 (5,4)	1 (5)	1 (2,2)	0
Toplam	56	20	46	10

PD-1 ile PD-L1 arasındaki ilişki araştırıldığında PD-1 pozitif tümörü infiltre eden lenfosit düzeyleri ile mikroçevrede PD-L1 pozitifliği arasında pozitif korelasyon; PD-L1 pozitif tümör hücreleri ile negatif korelasyon saptandı (sırasıyla $p=0,047$, $r=0,265$; $p=0,004$, $r=-0,376$) (**Tablo 7**).

Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği ile tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

Tümör hücrelerinin PD-1 pozitifliği ile PD-L1 pozitifliği arasında negatif korelasyon saptandı ($p=0,047$, $r=-0,264$) (**Tablo 7**).

Tümör hücrelerinin PD-1 pozitifliği ile mikroçevrenin PD-L1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadı (**Tablo 7**).

Mikroçevrenin PD-L1 pozitifliği ile tümör hücrelerinin PD-L1 pozitifliği arasında korelasyon bulunmadı.

Tablo 7: Transforme DBBHL grubunda PD-1 ile PD-L1 ekspresyonlarının birbirleriyle korelasyonu; p değerleri ve Spearman korelasyon katsayısı (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler)

		PD-L1	
		Tümör mikroçevresi	Tümör hücreleri
PD-1	*TIL	p=0,047; r=0,265	p=0,004; r=-0,376
	Tümör hücreleri	p=0,536; r=0,084	p=0,047; r=-0,264

4.2.DE NOVO DBBHL GRUBU

Çalışmamızda 58 adet ilk tanı *de novo* DBBHL olgusu değerlendirilmiştir.

Olguların DBBHL tanısı aldıkları yaş aralığı 21 ile 86 yaş arasında değişmekte olup, yaş ortalaması 59,5 idi. Olguların 32'si (%55,2) kadın, 26'sı (%44,8) erkek olup, erkek:kadın oranı 0,8 bulundu.

Lokalizasyon dağılımı açısından değerlendirildiğinde 40 olgu (%69) nodal, 18 olgu (%31) ektranodal yerleşimdeydi. Ektranodal lokalizasyonlar içinde sıklık sırasına göre tonsil, yumuşak doku, testis, tiroid, dalak, deri, akciğer, yer almaktaydı.

Eksizyonel biyopsi örneklerinde değerlendirilen makroskopik tümör çapı değerleri 7 mm ile 180 mm arasında değişmekte olup, median değer 30 mm'di.

Tanı sırasında kemik iliği evreleme biyopsisi yapılan 37 olgudan beşinde (%13,5) kemik iliği tutulumu saptandı.

Morfolojik parametreler değerlendirildiğinde tutulum paterni olguların tamamında (%100) diffüz infiltrasyon şeklindeydi. Ektranodal yerleşimli olguların çevre doku ile ilişkisi göz önüne alındığında 16'sında (%88,9) diffüz, ikisinde (%11,1) multifokal dağılım saptandı. Perinodal infiltrasyon nodal yerleşimli olgulardan 39'unda (%97,5) mevcut olup, bir (%2,5) olguda izlenmedi. Skleroz olguların 10'unda (%17,2) derece 1; ikisinde (%3,4) derece 2; dördünde (%5,3) derece 3 olarak izlenmiş olup, 42 (%72,4) olguda skleroz izlenmedi. Nekroz 42 (%72,4) olguda gözlemlendi. En sık morfolojik varyant 39 (%67,2) olgu ile santroblast

morfolojisi olup, diğerk morfolojik varyantlar içinde ise beş (%8,6) olgu ile anaplastik, iki (%3,4) olgu ile blastik, bir (%1,7) olgu ile immünoblastik ve 11 (%19) olgu ile mikst morfoloji yer almaktaydı. Non-neoplastik hücre oranına göre olguların 34'ü (%58,6) monomorfik; 24'ü (%41,4) polimorfik dağılıma sahipti. Mitoz oranları %1 ile %22 arasında değişmekte olup, median değer %6 olarak bulundu.

Non-neoplastik hücre oranı %10 ile %97 arasında değişmekte olup, median değer %24 idi. Tümör infiltre eden küçük B lenfositlerin oranı 0 ile %35 arasında değişmekte olup, median değer %1'di. Tümör infiltre T lenfositlerin oranı %5 ile %55 arasında değişmekte olup, median değer %17,5 idi. Tümör infiltre plazma hücrelerinin oranı 0 ile %2 arasında değişmekte olup, median değer 0'dı. Tümör infiltre makrofajların oranı %1 ile %20 arasında değişmekte olup, median değer %4 idi. Tümör infiltre eozinofillerin oranı 0 ile %15 arasında değişmekte olup, median değer 0'dı.

İmmünohistokimyasal değerlendirmelerde CD20, 57 (%98,3) olguda pozitif iken, bir (%1,7) olguda negatifti. CD20 ekspresyonu göstermeyen olgu PAX5 ile pozitif izlendi. CD10 ile 18 (%31); BCL6 ile 34 (%58,6); MUM1 ile 34 (%58,6) olguda ekspresyon izlendi. CD10, BCL6 ve MUM1 ekspresyonuna göre Hans algoritması uygulandığında, olguların 24'ü (%41,4) GCB, 34'ü (%58,6) non-GCB/ABC alt tiplerinde saptandı. CD30, 19 (%32,8) olguda pozitif saptandı. Ekspresyon oranları %1 ile %100 arasında değişmekte olup, median değer %6 bulundu. BCL2, 30 (%51,7); c-MYC ise 26 (%44,8) olguda pozitif izlendi. Ki67 proliferasyon indeksi %6 ile %99 arasında değişmekte olup, median değer ise %72,5 olarak hesaplandı.

CISH yöntemi ile yapılan EBER incelemesinde neoplastik hücrelerde EBV pozitifliği izlenmedi. Altı (%10,3) olguda nadir non-neoplastik hücrede EBV pozitifliği saptandı.

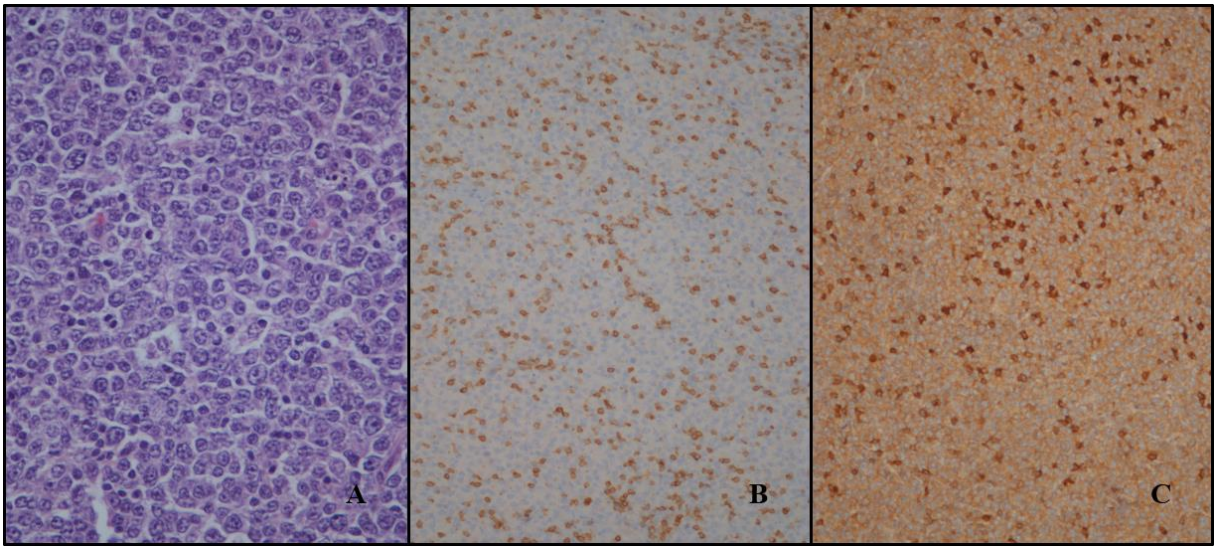
Ortalama genel sağkalım süresi 59±6,34 ay olarak bulundu.

PD-1 ekspresyonu tümörü infiltre eden lenfositlerde 49 olguda (%84,5) saptandı (**Şekil 16**). Pozitiflik oranlarına göre değerlendirildiğinde olguların altısı skor 1; beşi skor 2; 14'ü skor 3; 24'ü ise skor 4 olarak kategorize edildi (**Tablo 8**). Tümörü infiltre eden lenfositleri PD-1 ile pozitif olan olguların 26'sı kadın, 23'ü erkek; 31'i nodal, 18'i ekstranodal; tamamı diffüz tutulumlu; nekroz 14'ünde (%28,6) pozitif, 35'inde (%71,4) negatif; en sık morfolojik varyant santroblast (33 olgu); 27'si (%55,1) monomorfik, 22'si (%44,9) polimorfik olarak saptandı. Tümörü infiltre eden lenfositlerin PD-1 pozitifliği ile ekstranodal lokalizasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,045). Cinsiyet, nekroz, morfolojik varyant ve tümör hücre oranlarıyla, tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1

ekspresyonu arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,495$, $p=1,000$, $p=0,953$, $p=0,282$). Mitoz %1 ile %22 arasında değişmekte olup, median değer %6'ydı. Mitoz oranları ile tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak negatif ilişki bulundu ($p=0,037$). Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitif olan olgularda non-neoplastik hücre oranı %10 ile %97 arasında değişmekte olup, median değer %25 bulundu. Non-neoplastik hücre oranı ve tümörü infiltre eden T lenfositlerin oranı ile tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak pozitif ilişki bulundu (sırasıyla $p=0,039$, $p=0,012$). Tümörü infiltre eden küçük B lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar, eozinofiller ile tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel ilişki yoktu. Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği saptanan olguların immünohistokimyasal özelliklerine bakıldığında CD10 17'sinde (%34,7) pozitif, 32'sinde (%65,3) negatif; BCL6 29'unda (%59,2) pozitif, 20'sinde (%40,8) negatif; MUM1 28'inde (%57,1) pozitif, 21'inde (%42,9) negatif saptandı. Hans algoritmasına göre olguların 22'si (%44,9) GCB, 27'si (%55,1) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Ayrıca olguların BCL2 ile 24'ü (%49) pozitif, 25'i (%51) negatif; c-MYC ile 23 (%46,9) olgu pozitif, 26 (%53,1) olgu negatifti. Ki67 proliferasyon indeksi %17 ile %99 arasında değişmekte olup, median değer %70'ti. Ki67 proliferasyon indeksi ile tümörü infiltre eden lenfositlerdeki PD-1 pozitifliği arasında anlamlı ilişki yoktu. İmmünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım süresi (**Tablo 5**) ile tümörü infiltre eden lenfositlerdeki PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Tümör hücrelerinde 14 (%24,1) olguda PD-1 ekspresyonu saptanmış olup (**Şekil 16**), ekspresyon düzeylerine göre bu olguların ikisi skor 1; beşi skor 2; beşi skor 3; ikisi skor 4 olarak kategorize edildi (**Tablo 8**). Bu olgular cinsiyet ve morfolojik özellikler açısından değerlendirildiğinde sekizi (%57,1) kadın, altısı (%42,9) erkek; altısı (%42,9) nodal, sekizi (%57,1) ektranodal; nekroz beşinde (%35,7) pozitif, dokuzunda (%64,3) negatif; en sık morfolojik varyant santroblast (dokuz olgu); dokuzu (%64,3) monomorfik, beşi (%35,7) polimorfik olarak saptandı. Ektranodal lokalizasyon ile tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p=0,022$). Cinsiyet, nekroz, morfolojik varyant ve tümör hücre oranıyla tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği arasında anlamlı bir istatistiksel ilişki saptanmadı. Mitoz %3 ile %12 arasında değişmekte olup, median değer %6 idi. Tümör hücrelerinde PD-1 ekspresyonu saptanan olgularda non-neoplastik hücre oranı %11 ile %41 arasında değişmekte olup, median değer %24 bulundu. Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği saptanan olguların immünohistokimyasal özelliklerine bakıldığında CD10 üçünde (%21,4) pozitif, 11'inde (%78,6) negatif; BCL6 altısında (%42,9)

pozitif, sekizinde (%57,1) negatif; MUM1 11'inde (%78,6) pozitif, üçünde (%21,4) negatif saptandı. Hans algoritmasına göre olguların üçü (%21,4) GCB, 11'i (%78,6) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Ayrıca olguların BCL2 ile 10'u (%71,4) pozitif, dördü (%28,6) negatif; c-MYC ile sekiz (%57,1) olgu pozitif, altı (%42,9) olgu negatifti. Ki67 proliferasyon indeksi %30 ile %98 arasında değişmekte olup, median değer %80 bulundu. Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği ile immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım süresi (**Tablo 5**) arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

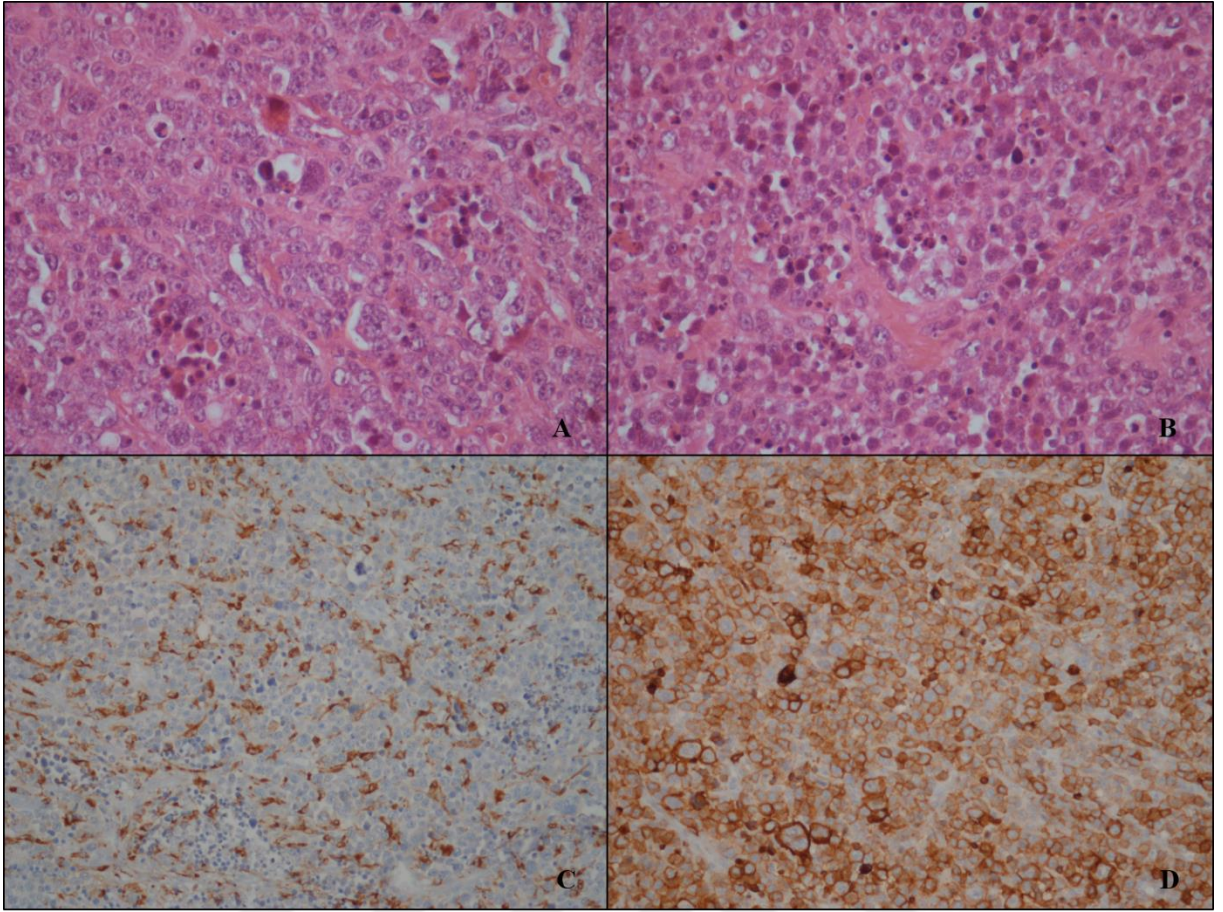


Şekil 16: A. Santroblast morfolojisinde diffüz büyük lenfoid hücre infiltrasyonu (H&E; 40x), B. İmmünohistokimyasal incelemede CD3 ile tümör infiltrate T lenfositlerin dağılımı (DAB; 20x), C. İmmünohistokimyasal incelemede PD-1 ile tümör hücrelerinde soluk, tümör infiltrate T lenfositlerde kuvvetli ekspresyon (DAB; 20x).

Tümör mikroçevresinde PD-L1 ekspresyonu 57 (%98,3) olguda izlendi. Ekspresyon düzeylerine göre bu olguların 23'ü skor 1; altısı skor 2; 10'u skor 3; 18'i skor 4 olarak sınıflandırıldı (**Tablo 8**). Tümör mikroçevresinde PD-L1 pozitifliği saptanan olgular cinsiyet dağılımı ve diğer bulgular açısından değerlendirildiğinde 32'si (%56,1) kadın, 25'i erkek (%43,9); 40'ı (%70,2) nodal, 17'si ektranodal (%29,8); nekroz 16'sında (%28,1) pozitif, 41'inde (%71,9) negatif; en sık morfolojik varyant santroblast (38 olgu); 33'ü (%57,9) monomorfik, 24'ü (%42,1) polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, nekroz, morfolojik varyant ve tümör hücre oranıyla mikroçevrede PD-L1 pozitifliği arasında anlamlı

istatistiksel ilişki saptanmadı. Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği ile immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım süresi (**Tablo 5**) arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu olguların 11'inde (%19) gözlemlendi (**Şekil 17**). Tümör hücrelerindeki ekspresyon düzeylerine göre olguların üçü skor 1; biri skor 2; biri skor 3; altısı skor 4 olarak derecelendirildi (**Tablo 8**). Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu izlenen olgular cinsiyet ve morfolojik özellikler açısından değerlendirildiğinde, beşi kadın (%45,5), altısı (%54,5) erkek; altısı (%54,5) nodal, beşi (%45,5) ekstranodal; nekroz üçünde (%27,3) pozitif, sekizinde (%72,7) negatif; beşi (%45,5) santralblastik, üçü (%27,3) anaplastik, üçü (%27,3) mikst morfolojide; dördü (%36,4) monomorfik, yedisi (%63,6) polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, nekroz, morfolojik varyant ve tümör hücre oranıyla, tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. Mitoz %2 ile %15 arasında değişmekte olup, median değer %8 idi. Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu saptanan olgularda non-neoplastik hücre oranı %13 ile %51 arasında değişmekte olup, median değer %26 bulundu. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği saptanan olguların immünohistokimyasal özellikleri değerlendirildiğinde CD10 ikisinde (%18,2) pozitif, dokuzunda (%81,8) negatif; BCL6 yedisinde (%63,6) pozitif, dördünde (%36,4) negatif; MUM1 yedisinde (%63,6) pozitif, dördünde (%36,4) negatif saptandı. Hans algoritmasına göre olguların dördü (%36,4) GCB, yedisi (%63,6) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Olguların CD30 ile ikisi (%18,2) pozitif, dokuzu (%81,8) negatif; BCL2 ile yedisi (%63,6) pozitif, dördü (%36,4) negatif; c-MYC ile beşi (%45,5) pozitif, altısı (%54,5) negatifti. Ki67 proliferasyon indeksi %6 ile %99 arasında değişmekte olup, median değer %70 olarak bulundu. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım süresi (**Tablo 5**) arasında anlamlı ilişki saptanmadı.



Şekil 17: A-B. Santroblast, immünoblast ve HRS benzeri hücre morfolojisinde neoplastik hücreler ve yaygın hemofagositoz (H&E; 40x), C. İmmünhistokimyasal incelemede CD68 ile makrofaj/histosit/myeloid dendritik hücrelerin dağılımı (DAB; 20x), D. İmmünhistokimyasal incelemede PD-L1 ile tümör hücrelerinde güçlü membranöz pozitiflik (DAB; 20x).

Tablo 8: *De novo* DBBHL grubunda PD-1 ve PD-L1'in tümör hücreleri ve tümör mikroçevresindeki ekspresyon düzeyleri (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler)

Ekspresyon düzeyi	PD-1 ekspresyonu		PD-L1 ekspresyonu	
	*TIL n (%)	Tümör hücreleri n (%)	Tümör mikroçevresi n (%)	Tümör hücreleri n (%)
0	9 (15,5)	44 (75,9)	1 (1,7)	47 (81)
1	6 (10,3)	2 (3,4)	23 (39,7)	3 (5,2)
2	5 (8,6)	5 (8,6)	6 (10,3)	1 (1,7)
3	14 (24,1)	5 (8,6)	10 (17,2)	1 (1,7)
4	24 (41,4)	2 (3,4)	18 (31)	6 (10,3)

PD-1 ile PD-L1 arasındaki ilişki araştırıldığında, tümörü infiltre eden lenfositlerin PD-1 pozitifliği ile mikroçevrenin PD-L1 pozitifliği arasında pozitif korelasyon izlendi ($p<0,001$, $r=0,444$) (**Tablo 9**).

Tümörü infiltre eden lenfositlerin PD-1 pozitifliği ile tümör hücrenin PD-1 ve PD-L1 pozitifliği arasında korelasyon izlenmedi.

Tümör hücrelerinin PD-1 pozitifliği ile mikroçevrenin ve tümör hücrelerinin PD-L1 pozitifliği arasında korelasyon izlenmedi (**Tablo 9**).

Mikroçevrenin PD-L1 pozitifliği ile tümör hücrelerinin PD-L1 pozitifliği arasında pozitif korelasyon izlendi ($p=0,029$, $r=0,286$).

Tablo 9: De novo DBBHL grubunda PD-1 ile PD-L1 ekspresyonlarının birbirleriyle korelasyonu; p değerleri ve Spearman korelasyon katsayısı (*TIL: Tümörü infiltre eden lenfositler)

		PD-L1	
		Tümör mikroçevresi	Tümör hücreleri
PD-1	*TIL	$p<0.001$; $r=0,444$	$p=0,166$; $r=-0,184$
	Tümör hücreleri	$0,496$; $r=-0,091$	$p=0,803$; $r=0,033$

4.3. TÜM (TRANSFORME VE DE NOVO DBBHL) OLGULARDAKİ PD-1 VE PD-L1 EKSPRESYONUNUN DİĞER BULGULAR İLE KORELASYONU

Çalışmaya alınan 115 olgu birlikte değerlendirildiğinde, tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği saptanan 105 (%91,3) olgudan 58'i (%55,2) kadın, 47'si (%44,8) erkek; 64'ü (%61) nodal, 41'i (%39) ektranodal; 72 kemik iliği evreleme biyopsisi yapılan olgudan 54'ünde (%75) tutulum yok, 18'inde (%25) tutulum var; 81'i (%77,1) diffüz, 24'ü (%22,9) diffüz ve nodüler; nekroz 24'ünde (%22,9) pozitif, 81'inde (%77,1) negatif; 45'i (%42,9) monomorfik, 60'ı (%57,1) polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, nekroz ve tümör hücre oranıyla tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. İmmünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve

genel sağkalım ile tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı.

Tüm olgular (n=115) birlikte değerlendirildiğinde, tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği saptanan 34 (%29,6) olgudan 20'si (%58,8) kadın, 14'ü (%41,2) erkek; 17'si (%50) nodal, 17'si (%50) ektranodal; 23 kemik iliği evreleme biyopsisi yapılan olgudan 17'sinde (%73,9) tutulum yok, 6'sında (%26,1) tutulum var; 26'sı (%76,5) diffüz, 8'i (%23,5) diffüz ve nodüler; nekroz 7'sinde (%20,6) pozitif, 27'sinde (%79,4) negatif; 15'i (%44,1) monomorfik, 19'u (%55,9) polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, nekroz ve tümör hücre oranıyla PD-1 tümör hücre pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği saptanan olguların immünohistokimyasal özelliklerine bakıldığında CD10 dokuzunda (%26,5) pozitif, 25'inde (%73,5) negatif; BCL6 18'inde (%52,9) pozitif, 16'sında (%47,1) negatif; MUM1 23'ünde (%67,6) pozitif, 11'inde (%32,4) negatif saptandı. Hans algoritmasına göre olguların 11'i (%32,4) GCB, 23'ü (%67,6) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Ayrıca olguların BCL2 ile 24'ü (%70,6) pozitif, 10'u (%29,4) negatif; c-MYC ile 18 (%52,9) olgu pozitif, 16 (%47,1) olgu negatifti. BCL2 ile tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak pozitif ilişki saptandı (p=0,049). Diğer immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım ile tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı.

Tüm olgular (n=115) birlikte değerlendirildiğinde mikroçevrede PD-L1 pozitifliği saptanan 103 (%89,6) olgudan 58'i (%56,3) kadın, 45'i (%43,7) erkek; 71'i (%68,9) nodal, 32'si (%31,1) ektranodal; 72 kemik iliği evreleme biyopsisi yapılan olgudan 54 'ünde (%75) tutulum yok, 18'inde (%25) tutulum var; 80'i (%77,7) diffüz, 23'ü (%22,3) diffüz ve nodüler; nekroz 23'ünde (%22,3) pozitif, 80'inde (%77,7) negatif; 42'si (%40,8) monomorfik, 61'i (%59,2) polimorfik olarak saptandı. Nodal lokalizasyon ile mikroçevrede PD-L1 pozitifliği arasında ilişki bulundu (p=0,001). Cinsiyet, nekroz ve tümör hücre oranıyla mikroçevrede PD-L1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. İmmünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım ile mikroçevrede PD-L1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı.

Tüm olgular (n=115) birlikte değerlendirildiğinde tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği saptanan 21 (%18,3) olgudan 12'si (%57,1) kadın, dokuzu (%42,9) erkek; 11'i (%52,4) nodal, 10'u (%47,6) ektranodal; 18 kemik iliği evreleme biyopsisi yapılan olgudan 16'sında (%88,9) tutulum yok, ikisinde (%11,1) tutulum var; 17'si (%81) diffüz, dördü (%19) diffüz ve nodüler; nekroz beşinde (%23,8) pozitif, 16'sında (%76,2) negatif; altısı (%28,6) monomorfik, 15'i (%71,4) polimorfik olarak saptandı. Cinsiyet, lokalizasyon, nekroz ve

tümör hücre oranıyla tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği saptanan olguların immünohistokimyasal özelliklerine bakıldığında CD10 üçünde (%14,3) pozitif, 18'inde (%85,7) negatif; BCL6 13'ünde (%61,9) pozitif, sekizinde (%38,1) negatif; MUM1 13'ünde (%61,9) pozitif, sekizinde (%38,1) negatif; saptandı. Hans algoritmasına göre olguların yedisi (%33,3) GCB, 14'ü (%66,7) non-GCB/ABC fenotipindeydi. Ayrıca olguların BCL2 ile 12'si (%57,1) pozitif, dokuzu (%42,9) negatif; c-MYC ile sekiz (%38,1) olgu pozitif, 13 (%61,9) olgu negatifti. CD10 ekspresyonu ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak negatif ilişki bulundu ($p=0,019$). Diğer immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım ile tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki saptanmadı.

4.4.TRANSFORME VE *DE NOVO* DBBHL OLGU GRUPLARINDA KARŞILAŞTIRMALI BULGULAR

Transforme DBBHL ile *de novo* DBBHL olguları arasında tüm parametreler karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde cinsiyet, lokalizasyon, makroskopik çap, perinodal infiltrasyon, nekroz ve genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,917$, $p=0,218$, $p=0,769$, $p=1.000$, $p=0,198$, $p=0,999$).

Kemik iliği tutulumu transforme grupta %35, *de novo* grupta %13,5 oranında izlenmiş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p=0,029$).

Diffüz tutulum paterni, transforme gruba göre *de novo* grupta daha sık izlenmiş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0,001$).

Transforme olguların %31,6'sı monomorfik, %68,4'ü polimorfik; *de novo* olguların ise %58,6'sı monomorfik, %41,4'ü polimorfik dağılımda olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p=0,004$).

İki olgu grubu arasında mitoz değerlerinde istatistiksel fark saptanmadı ($p=0,361$).

Non-neoplastik hücre oranlarının ortalamaları açısından değerlendirildiğinde transforme grupta daha yüksek olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,008$).

Tümörü infiltre eden B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin ortalaması transforme grupta daha yüksek olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,01$).

Tümörü infiltre eden T lenfositler, makrofajlar ve eozinofillerin oranlarında iki olgu grubu arasında fark saptanmadı (sırasıyla p=0,065, p=0,51, p=0,088).

İmmünohistokimyasal olarak CD10, BCL6, MUM1, CD30, BCL2, c-MYC, Ki67 ve CISH EBER sonuçları her iki olgu grubta da benzer bulundu (p=0,218, p=0,488, p=0,404, p=0,11, p=0,295, p=0,768, p=0,092, p=0,311).

PD-1'in tümörü infiltre eden lenfositlerdeki pozitifliği transforme grupta %98,2, *de novo* grupta %84,5 olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,016) (**Tablo 10**).

PD-1'in tümör hücrelerindeki pozitifliği transforme grupta %35,1, *de novo* grupta %24,1 olup, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,198) (**Tablo 10**).

Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği transforme grupta %80,7, *de novo* grupta %98,3 olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,002) (**Tablo 10**).

Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği transforme grupta %17,5, *de novo* grupta %19 olup, istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p=0,844) (**Tablo 10**).

Tablo 10: PD-1 ve PD-L1'in transforme ve *de novo* DBBHL olgularında tümör mikroçevresi ile tümör hücrelerindeki ekspresyon dağılımları

	Tümör mikroçevresinde PD-1 lenfosit pozitifliği n (%)	Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği n (%)	Tümör mikroçevresinde PD-L1 pozitifliği n (%)	Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği n (%)
Transforme DBBHL grubu	56 (98,2)	20 (35,1)	46 (80,7)	10 (17,5)
<i>De novo</i> DBBHL grubu	49 (84,5)	14 (24,1)	57 (98,3)	11 (19)
Toplam	105 (91,3)	34 (29,6)	103 (89,6)	21 (18,3)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda *de novo* ve transforme DBBHL olgu grupları arasında tümör hücreleri ve mikroçevresinde PD-1 ve PD-L1 immünekspresyon farklılıklarını, diğer morfolojik, immünhistokimyasal parametreler arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

57 adet transforme, 58 adet *de novo* DBBHL olgusu değerlendirilmiş olup, transforme DBBHL olgularının 29'u (%50,9) folliküler lenfoma; 11'i (%19,3) KLL/SLL; 10'u (%17,5) marjinal zon lenfoma; dördü (%7) NLPHL ve üçü (%5,3) lenfoplazmasitik lenfomadan transformasyon sonucu gelişen olgulardır. Her iki gruptaki olguların yaş ve cinsiyet dağılımı literatür ile benzerlik göstermektedir (1).

Çalışmamızda transforme grupta tümör hücrelerinde 20 (%35,1) *de novo* grupta ise 14 (%24,1) olguda PD-1 pozitifliği saptanmıştır. Transforme grupta PD-1'in tümör hücrelerindeki pozitifliği eski tanı kategorilerine göre en sık KLL/SLL (n=8) ve folliküler lenfoma (n=8) öyküsüne sahip olgularda rastlanmıştır. KLL/SLL ile arasındaki ilişkide p değeri 0,003 olmasına karşın, olgu sayısının az olmasından dolayı bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. PD-1'in immün kontrol noktası etkileşiminde T hücre yüzeyi üzerinde eksprese edildiği bilinirken, tümör hücreleri üzerinde de ekspresyon gösterdiği keşfedilmiştir. Sonja Kleffel ve arkadaşlarının 2015'te yaptığı çalışmada melanom hücreleri üzerinde PD-1 ekspresyonunu göstermişlerdir. Bunun yanında tümör hücreleri üzerinde eksprese edilen PD-1'in tümör hücreleri ve mikroçevrede yer alan PD-L1 ile otokrin ve parakrin yollar ile etkileşime geçtiği; çeşitli mekanizmalar aracılığıyla tümör büyümesinde etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu etkileşim deneysel olarak inhibe edilerek tümör büyümesi bloke edilmiştir (272). Literatürde çalışmamızda yer alan benzer bir olgu grubu ile Rong He ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 39 KLL/SLL; 15 transforme DBBHL (Richter transformasyonu); 4 adet diğer düşük dereceli B hücreli lenfomalardan transforme DBBHL ve 22 adet *de novo* DBBHL olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışmada PD-1 ile KLL/SLL olgularının tümünde proliferasyon merkezlerinde; *de novo* DBBHL olgularının %3'ünde; transforme DBBHL olgularının %80'inde ekspresyon saptanmıştır. PD-L1 ekspresyonu ise KLL/SLL olgularında izlenmemiş olup, *de novo* DBBHL olgularının %3,8'i; transforme DBBHL olgularının %6,7'sinde saptanmıştır. Ayrıca çalışmada Richter transformasyonu olgularında IG gen rearanjmanı FISH yöntemi ile çalışılarak klonal olarak ilişki araştırılmış, olguların %90'ı klonal olarak ilişkili saptanmıştır. Klonal ilişkili transforme olguların ise %88'inde PD-1 ekspresyonu görülmüştür. Tüm KLL/SLL olgularında proliferasyon

merkezlerindeki PD-1 pozitifliği ve PD-1'in proliferasyon merkezlerini net bir şekilde konturlarını çizerek ortaya koyması nedeniyle KLL/SLL'de proliferasyon merkezlerinin gösterilmesinde yardımcı bir immünohistokimyasal belirleyici olarak kullanılabileceği vurgusu yapılmıştır. Richter transformasyonu olguları ve diğer DBBHL olgularında izlenen PD-1 ekspresyonu arasındaki fark anlamlı bulunmuş; PD-1 ekspresyonunun Richter transformasyonu için karakteristik olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca klonal ilişkili Richter transformasyonu olgularında standart kemoterapi rejimlerine dirençli olması göz önüne alınarak PD-1 blokajının bu olgularda etkin olabileceği belirtilmiştir. Richter transformasyonu olgularında PD-1 pozitifliği ile klonal ilişki arasındaki korelasyon görülmesi; olgu sayısı yetersiz olmasına rağmen yine de PD-1'in KLL/SLL ile transforme DBBHL arasındaki klonal ilişkisini göstermeye yönelik potansiyel bir belirleyici olarak kullanılabileceği öngörülmüştür. KLL/SLL'nin klonal evrim ve progresyonunda PD-1 yolağının önemli rol oynadığı vurgulanmıştır (273). Yetersiz olgu sayımıza rağmen tümör hücrelerindeki PD-1 ekspresyonunun sayıca KLL/SLL öyküsü yönünde ağırlık göstermesi yukarıdaki literatür ile benzerlik göstermektedir.

Ayrıca tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği ile BCL2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak ilişki saptanmıştır.

Anna Kwiecinska ve arkadaşlarının 20 *de novo* DBBHL, 11 folliküler lenfomadan transforme DBBHL olgusu ile yaptığı çalışmada immünohistokimyasal olarak PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu değerlendirilmiştir. PD-L1 ekspresyonu için iki ayrı klon (Ventana: SP142 ve Cell Signaling: E1L3N) kullanılmış olup, FISH yöntemi ile immünohistokimyasal sonuçlar korele edilmiştir. E1L3N klonu ile olguların %45,2'sinde; SP142 klonu ile %6,5'inde PD-L1 ekspresyonu görülmüş, FISH sonuçları SP142 klonuna ait oranlar ile yüksek korelasyon göstermiştir. Ayrıca E1L3N antikoruyla karşılaştırıldığında SP142 antikoruna ait makrofajlarda daha spesifik ve güçlü boyanma saptanmıştır. DBBHL'da SP142 antikorunun, FISH yöntemiyle değerlendirilen CD274/PDCD1LG2 gen amplifikasyon durumu ile mutlak bir şekilde korelasyon gösterdiği, ancak genellikle proteinin düşük/orta seviyelerinin tespit edilmesinde başarısız olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle araştırma immünoterapi için hasta seçiminde PD-L1 ekspresyonunun saptanmasında her iki antikorun birlikte kullanımının daha anlamlı olabileceği yorumu yapılmıştır. Diğer bulgular göz önüne alındığında tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu, *de novo* DBBHL olgularında %75; transforme DBBHL olgularında ise %27,3 oranında saptanmış, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (262). Bizim çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu transforme grupta 10 (%17,5), *de novo* grupta 11 (%19) olguda saptanmış olup, iki grup arasında anlamlı fark

bulunmamıştır. Çalışmamızda tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyon oranları iki grupta da yukarıdaki çalışmaya göre daha düşük oranlarda izlenmiştir. Bu farklılığın nedeni çalışmamızda immünohistokimyasal yöntemin daha güvenilir olan FISH yöntemiyle korele edilmeyişinden kaynaklanıyor olabilir. Junichi Kiyasu ve arkadaşları tarafından relaps ve transforme DBBHL olguları dışlanarak, 1253 DBBHL olgusunda immünohistokimyasal yöntemle PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmada ise, tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonunun ortaya koyulabilmesi için PAX5 antikoruna ile kombine kullanılmıştır (197). PD-L1 ile benzer hasta grupları üzerinde yapılan çalışmalarda pozitiflik oranları arasında uyumsuzluklar mevcuttur. Bu da kullanılan eşik değerlerinin farklılığına ya da PD-L1'in tümör hücrelerindeki ekspresyonunun doğru değerlendirilemeyişinden kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışmada PAX5 ile PD-L1'in kombine olarak çalışılması ile bu uyumsuzluğun azaltılabileceği vurgusu yapılmıştır. Bu sonuçların kromozom analizi tekniği kullanılarak da korele edilmiş olması, çift boyama tekniğinin PD-L1 ekspresyonunun taramasında kullanılacak geçerli ve uygun maliyetli test olabileceği yorumu getirilmiştir (197).

Transforme olgu grubunda tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile transformasyon öncesi tanı kategorilerinden marjinal zon lenfoma arasındaki ilişkide p değeri 0,03 olmasına rağmen, az sayıda olgu üzerinde çalışıldığı için istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir.

Literatürde yer alan birçok çalışmada DBBHL'da tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu hücre kökeni olarak non-GCB/ABC alt tipi ilişkili bulunmuştur (197, 245, 262, 274). Bunun aksine Dohee Kwon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise non-GCB/ABC alt tipinde tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği daha sık görülmüş olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (275). Bizim çalışmamızda ise Hans algoritmasına göre tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği saptanan 21 olgudan yedisi (%33,3) GCB, 14'ü (%66,7) non-GCB/ABC fenotipinde olup, istatistiksel olarak ilişki saptanmamıştır. Bununla birlikte CD10 pozitifliği ile tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği arasında, hem tüm olgular birlikte değerlendirildiğinde, hem de transforme grupta negatif ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,019$, $p=0,034$). Ayrıca transforme grupta tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile CD30 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,035$).

Literatürde yer alan çalışmalara bakıldığında tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile düşük progresyonsuz ve genel sağkalım süreleri arasında ilişki saptanmakla birlikte bizim çalışmamızda tümör ve mikroçevrede PD-L1 pozitifliği ile genel sağkalım süreleri arasında ilişki bulunmamıştır (197, 274).

Junichi Kiyasu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada düşük PD-1 pozitif tümörü infiltre eden lenfosit düzeyleri ektranodal yerleşim ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur. Ayrıca PD-1 pozitif tümörü infiltre eden lenfositler, GCB alt tipi olgularda daha yüksek saptanmıştır (197). Bizim çalışmamızda ise literatürdeki çalışmanın aksine *de novo* olgu grubunda PD-1'in tümörü infiltre eden lenfositlerdeki pozitifliği ile ektranodal lokalizasyon istatistiksel olarak ilişkili saptanmıştır ($p=0,045$).

Anna Kwiecinska ve arkadaşlarının çalışmasında PD-1 pozitif tümörü infiltre eden lenfositlerin düşük düzeyleri ile yüksek Ki67 proliferasyonu arasında ilişki bulunmuştur (262). Bizim çalışmamızda ise PD-1 pozitif tümörü infiltre eden lenfositler ile Ki67 proliferasyon indeksi arasında ilişki bulunmamasına rağmen, *de novo* grupta mitoz ile tümörü infiltre eden lenfositlerdeki PD-1 pozitifliği arasında negatif ilişki bulunmuştur ($p=0,037$). Dohee Kwon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise PD-1 pozitif tümörü infiltre eden lenfositlerin miktarı ile artmış progresyonsuz sağkalım ve toplam sağkalım süreleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (275). Tüm bu bulgular tümör mikroçevresinde tümörü infiltre eden lenfositlerin tümör hücrelerinin proliferatif aktivitesi ile yakından ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

De novo grupta tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği ile non-neoplastik hücre oranı ve tümörü infiltre eden T lenfositlerin oranı arasında istatistiksel olarak pozitif ilişki bulunmuştur (sırasıyla $p=0,039$, $p=0,012$).

Tümör mikroçevresinin PD-L1 ekspresyonunun diğer bulgular ile karşılaştırmasında mikroçevrede PD-L1 pozitifliği diffüz ve nodüler paternde, polimorfik ve nodal lokalizasyonda daha sık saptanmış olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,017$, $p<0,001$, $p=0,001$).

Transforme grupta mikroçevredeki PD-L1 pozitifliği ile eski tanı kategorilerinden marjinal zon lenfoma arasındaki ilişkide p değeri 0,016 olmasına rağmen, az sayıda olgu bulunması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir.

Li-Yang-Hu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tümör mikroçevresindeki PD-L1 ekspresyonu ile C-MYC ekspresyonu negatif korelasyon saptanmıştır (274). Bizim çalışmamızda bu iki parametre arasında ilişki saptanmamıştır.

Anna Kwiecinska ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada makrofajlarda PD-L1 pozitifliğinin artışı ile genel sağkalım sürelerindeki artış ilişkili bulunmuştur (262). Buna rağmen Junichi Kiyasu ve arkadaşlarının çalışmasında ise mikroçevredeki PD-L1

ekspresyonu ile sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır (197). Bizim çalışmamızda da bu iki parametre arasında ilişki saptanmamıştır.

PD-1 ve PD-L1 ekspresyonları birbirleriyle kıyaslandığında transforme ve *de novo* grupta PD-1 pozitif tümörü infiltrate eden lenfosit düzeyi ile mikroçevrenin PD-L1 pozitiflik düzeyi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Literatürde de bu açıdan benzer sonuçlar yer almaktadır (197, 262, 275). Transforme grupta tümörü infiltrate eden lenfositlerdeki PD-1 pozitifliği tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Ayrıca transforme grupta tümör hücrelerinde PD-1 ve PD-L1 pozitifliği arasında negatif korelasyon saptanmış; *de novo* grupta da PD-L1'in tümör hücresi ile mikroçevre pozitifliği arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.

İki olgu grubunun bulguları kıyaslandığında yaş, cinsiyet dağılımı, lokalizasyon, morfolojik varyant, immünohistokimyasal parametreler ve genel sağkalım arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Kemik iliği tutulumu transforme grupta %35, *de novo* grupta %13,5 oranında izlenmiş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,029$). Transforme gruptaki olguların %68,4'ü polimorfik; *de novo* olguların ise %58,6'sı monomorfik dağılımda olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur ($p=0,004$). Non-neoplastik hücre oranlarının ortalamaları açısından değerlendirildiğinde transforme grupta daha yüksek olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı olarak saptanmıştır ($p=0,008$). Tümörü infiltrate eden B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin ortalaması transforme grupta daha yüksek olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$, $p=0,01$). PD-1 ile tümörü infiltrate eden lenfositleri pozitif olgu sayısı, *de novo* grupta daha yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu farklar tümör mikroçevresinin iki olgu grubu arasındaki farklılığını ifade etmektedir.

Son yıllarda oldukça önem kazanan tümör mikroçevresi; prognostik veri ve tedavi seçeneklerinin kararı açısından birçok tümör tipinde son derece önemli hale gelmiştir. Yukarıda görüldüğü gibi iki olgu grubunun mikroçevresinde izlenen inflamatuvar hücre tipleri ve düzeylerindeki farklılıklar prognostik farklılığın temelini oluşturuyor olabilir.

DBBHL olguları üzerinde nivolumab ile yapılan klinik çalışmalarda; tümörü infiltrate eden lenfositlerdeki PD-1 pozitiflik düzeyine oranla, neoplastik hücrelerde PD-L1 pozitif olgularda tedavi cevabının daha etkin olduğu gösterilmiştir (197, 256, 261-270). Özellikle mikroçevredeki PD-1 pozitif tümörü infiltrate eden lenfositlerin miktarı ya da tümör hücrelerindeki PD-1 veya PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesi; PD-1 ile PD-L1 etkileşimini hedef alan tedavi ajanlarının kullanılmasında hasta seçimi ya da tedavi cevabının

öngörüsünün yapılabilmesi için gereklidir. Ancak DBBHL ve diğer hematolenfoid maligniteler üzerinde PD-1 ve PD-L1 ile yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. PD-1 ve PD-L1 'i hedef alan tedavilerin kullanımında doğru hasta seçiminin yapılabilmesi için PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesinde doğru yöntem seçilmelidir. Doğru yöntemin seçiminde farklı hasta grupları ve daha geniş seriler üzerinde çalışmalar yapılarak sonuçların korele edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

PD-1 inhibitörü olan nivolumab solid tümörlerde dünyada ilk olarak 2015 yılında ileri evre küçük hücreli dışı akciğer karsinomları ve ileri evre melanomların tedavisinde FDA onayı alarak kullanılmaya başlanmıştır. Ardından PD-1 inhibitörleri renal hücreli karsinom, ürotelyal karsinom ve baş-boyun kanserlerinde FDA onayı ile tedavi seçenekleri arasına girmiştir (6, 7). Hematolenfoid malignitelerden ise Hodgkin lenfomalarında nivolumab 2014 yılında, pembrolizumab 2016 yılında FDA onayı almış olup bu olgularda etkin bir şekilde kullanılmaktadır (276). Diğer hematolenfoid maligniteler üzerinde de faz çalışmaları devam etmektedir; sağkalım süreleri ve ilaç tolerasyonu açısından olumlu sonuçlar gözlenmektedir (260). Bizim çalışmamız sonucunda da, gerek *de novo*, gerekse transforme DBBHL olguları içinde seçili hasta gruplarında PD-1 ve PD-L1'i hedefleyen tedavinin daha etkin bir şekilde kullanılabileceğini ve tedavinin verileceği hasta grubunun seçiminde immünohistokimyasal incelemenin uygun maliyetli bir tarama yöntemi olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

6. SONUÇLAR

Transforme DBBHL grubunda;

- 57 olgu değerlendirilmiş olup bu olguların 29'u (%50,9) folliküler lenfoma; 11'i (%19,3) KLL/SLL; 10'u (%17,5) marjinal zon lenfoma; dördü (%7) NLPHL ve üçü (%5,3) lenfoplazmatik lenfomadan transformasyon sonucu gelişen olgulardı.
- Tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 ekspresyonu 56 olguda (%98,2) saptandı.
- Tümörü infiltre eden lenfositlerdeki PD-1 pozitifliği ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.
- Tümör hücrelerinde 20 (%35,1) olguda PD-1 ekspresyonu saptandı.
- PD-1 ile tümör hücre pozitifliği gösteren olgular eski tanılarına göre kategorize edildiğinde sekizi (%40) KLL/SLL, sekizi (%40) folliküler lenfoma, ikisi (%10) NLPHL ve birer (%5 ve %5) tane de marjinal zon lenfoma ve lenfoplazmatik lenfoma öyküleri mevcuttu. Tümör hücrelerindeki PD-1 pozitifliği ile eski tanı kategorilerinden KLL/SLL arasındaki ilişkide p değeri 0,003 bulunmasına rağmen, az sayıda olgu bulunması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.
- Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
- Tümör mikroçevresinde PD-L1 ekspresyonu 46 (%80,7) olguda izlendi.
- Tümör mikroçevresinde PD-L1 pozitifliği gösteren olgular eski tanılarına göre kategorize edildiğinde 26'sında (%56,5) folliküler lenfoma, dokuzunda (%19,6) marjinal zon lenfoma, altısında (%13) KLL/SLL, dördünde (%8,7) NLPHL ve birinde (%2,2) lenfoplazmatik lenfoma öyküleri mevcuttu. Tümör mikroçevresindeki PD-L1 pozitifliği ile eski tanı kategorilerinden marjinal zon lenfoma arasındaki ilişkide p değeri 0,016 olmasına rağmen, az sayıda olgu bulunması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.
- Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği diffüz ve nodüler paterne sahip olgularda ve polimorfik olgularda daha sık saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p=0,017$, $p<0,001$).
- Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
- Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu olguların 10'unda (%17) gözlemlendi.
- PD-L1 tümör pozitifliği gösteren olgular eski tanılarına göre kategorize edildiğinde beşi (%50) marjinal zon lenfoma, dördü (%40) folliküler lenfoma, biri (%10) NLPHL

öyküleri mevcuttu. Transformasyon öncesi tanısı KLL/SLL ve lenfoplazmasitik lenfoma olan olgularda tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu gözlenmedi. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile transformasyon öncesi tanı kategorilerinden marjinal zon lenfoma arasındaki ilişkide p değeri 0,03 olmasına rağmen az sayıda olgu üzerinde çalışıldığı için istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.

- Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile CD10 ekspresyon arasındaki negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,034$).
- Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile CD30 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur ($p=0,035$).
- Tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.
- PD-1 ile PD-L1 arasındaki ilişki araştırıldığında PD-1 pozitif tümörü infiltre eden lenfosit düzeyleri ile mikroçevrede PD-L1 pozitifliği arasında pozitif korelasyon; PD-L1 pozitif tümör hücreleri ile negatif korelasyon saptandı (sırasıyla $p=0,047$, $r=0,265$; $p=0,004$, $r=-0,376$).
- Tümör hücrelerinin PD-1 pozitifliği ile PD-L1 pozitifliği arasında negatif korelasyon saptandı ($p=0,047$, $r=-0,264$).

***De novo* DBBHL grubunda;**

- Çalışmamızda 58 adet ilk tanı *de novo* DBBHL olgusu değerlendirilmiştir.
- PD-1 ekspresyonu tümörü infiltre eden lenfositlerde 49 olguda (%84,5) saptandı.
- Tümörü infiltre eden lenfositlerin PD-1 pozitifliği ile ektranodal lokalizasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,045$).
- Mitoz oranları ile tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak negatif ilişki bulundu ($p=0,037$).
- Non-neoplastik hücre oranı ve tümörü infiltre eden T lenfositlerin oranı ile tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak pozitif ilişki bulundu (sırasıyla $p=0,039$, $p=0,012$).
- Tümör hücrelerinde 14 (%24,1) olguda PD-1 ekspresyonu saptandı.
- Ektranodal lokalizasyon ile tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif ilişki bulundu ($p=0,022$).
- Tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

- Tümör mikroçevresinde PD-L1 ekspresyonu 57 (%98,3) olguda izlendi.
- Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği ile genel sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
- Tümör hücrelerindeki PD-L1 ekspresyonu olguların 11'inde (%19) gözlemlendi.
- Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği ile immünohistokimyasal parametreler, hücre kökeni ve genel sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
- PD-1 ile PD-L1 arasındaki ilişki araştırıldığında, tümörü infiltre eden lenfositlerin PD-1 pozitifliği ile mikroçevrenin PD-L1 pozitifliği arasında pozitif korelasyon izlendi ($p < 0,001$, $r = 0,444$).
- Mikroçevrenin PD-L1 pozitifliği ile tümör hücrelerinin PD-L1 pozitifliği arasında pozitif korelasyon izlendi ($p = 0,029$, $r = 0,286$).

Ortak Bulgular

- Tüm olgular ($n = 115$) birlikte değerlendirildiğinde tümörü infiltre eden lenfositlerde PD-1 pozitifliği 105 (%91,3); tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği 34 (%29,6); mikroçevrede PD-L1 pozitifliği toplamda 103 (%89,6); tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği 21 (%18,3) olguda saptandı.
- BCL2 ile tümör hücrelerinde PD-1 pozitifliği arasında istatistiksel olarak pozitif ilişki saptandı ($p = 0,049$).
- Nodal lokalizasyon ile mikroçevrede PD-L1 pozitifliği arasında ilişki bulundu ($p = 0,001$).
- CD10 ekspresyonu ile tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak negatif ilişki bulundu ($p = 0,019$).

Karşılaştırmalı Bulgular

- Transforme DBBHL ile *de novo* DBBHL olguları arasında tüm parametreler karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde cinsiyet, lokalizasyon, makroskopik çap, perinodal infiltrasyon, nekroz ve genel sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- Kemik iliği tutulumu transforme grupta %35, *de novo* grupta %13,5 oranında izlenmiş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p = 0,029$).
- Transforme olguların %31,6'sı monomorfik, %68,4'ü polimorfik; *de novo* olguların ise %58,6'sı monomorfik, %41,4'ü polimorfik dağılımda olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p = 0,004$).

- Non-neoplastik hücre oranlarının ortalamaları açısından değerlendirildiğinde transforme grupta daha yüksek olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,008$).
- PD-1'in tümörü infiltre eden lenfositlerdeki pozitifliği transforme grupta %98,2, *de novo* grupta %84,5 olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,016$).
- Mikroçevrede PD-L1 pozitifliği transforme grupta %80,7, *de novo* grupta %98,3 olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$).



7. KAYNAKLAR

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th Edition. IARC. Lyon 2017.
2. Challa-Malladi M, Lieu YK, Califano O, Holmes AB, Bhagat G, Murty VV, et al. Combined genetic inactivation of β 2-Microglobulin and CD58 reveals frequent escape from immune recognition in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2011 Dec 13; 20(6):728-40.
3. Green MR, Kihira S, Liu CL, Nair RV, Salari R, Gentles AJ, et al. Mutations in early follicular lymphoma progenitors are associated with suppressed antigen presentation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Mar 10; 112(10): E1116-25.
4. Gravelle P, Burroni 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 Jul 4;8(27):44960-44975.
5. Festino L, Botti G, Lorigan P, Masucci GV, Hipp JD, Horak CE, et al. Cancer Treatment with Anti-PD-1/PD-L1 agents: Is PD-L1 expression a biomarker for patient selection? *Drugs* 2016 Jun;76(9):925-45.
6. Sunshine J, Taube JM. PD-1/PD-L1 inhibitors. *Curr Opin Pharmacol* 2015 Aug; 23:32-8.
7. Kasamon YL, de Claro RA, Wang Y, Shen YL, Farrell AT, Pazdur R. FDA approval summary: nivolumab for the treatment of relapsed or progressive classical Hodgkin lymphoma. *Oncologist* 2017 May;22(5):585-591.
8. Blaker YN, Spetalen S, Brodtkorb M, Lingjaerde OC, Beiske K, Østenstad B, et al. The tumour microenvironment influences survival and time to transformation in follicular lymphoma in the rituximab era. *Br J Haematol*. 2016 Oct;175(1):102-14.
9. Lennert K, Feller AC. High Grade Malignant Lymphoma of B-cell Type. *Histopathology of Non-Hodgkin's Lymphoma*. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1990:115-164.
10. The non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project Writing Committee. National Cancer Institute sponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas: summary and description of a working formulation for clinical usage. The Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. *Cancer*. 1982; 49:2112-2135.
11. Ko YH, Kim CW, Park CS, Jang HK, Lee SS, Kim SH, et al. REAL classification of malignant lymphomas in the Republic of Korea: incidence of recently recognized entities and changes in clinicopathologic features. Hematolymphoreticular Study Group of the Korean Society of Pathologists. Revised European-American lymphoma. *Cancer*. 1998; 83:806-812.

12. Chuang SS, Lin CN, Li CY. Malignant lymphoma in southern Taiwan according to the revised European-American classification of lymphoid neoplasms. *Cancer*. 2000; 89:1586-1592.
13. d'Amore ES, Wick MR, Geisinger KR, Frizzera G. Primary malignant lymphoma arising in postmastectomy lymphedema. Another facet of the Stewart-Treves syndrome. *Am J Surg Pathol*. 1990; 14:456-463.
14. Copie-Bergman C, Niedobitek G, Mangham DC, Selves J, Baloch K, Diss TC, et al. Epstein-Barr virus in B-cell lymphomas associated with chronic suppurative inflammation. *J Pathol*. 1997; 183:287-292.
15. Radhi JM, Ibrahim K, al-Tweigeri T. Soft tissue malignant lymphoma at sites of previous surgery. *J Clin Pathol*. 1998; 51:629-632.
16. Cheuk W, Chan AC, Chan JK, Lau GT, Chan VN, Yiu HH. Metallic implant-associated lymphoma: a distinct subgroup of large B-cell lymphoma related to pyothorax-associated lymphoma? *Am J Surg Pathol*. 2005;29: 832-836.
17. Goodlad JR, Hollowood K, Smith MA, Chan JK, Fletcher CD. Primary juxtaarticular soft tissue lymphoma arising in the vicinity of inflamed joints in patients with rheumatoid arthritis. *Histopathology*. 1999; 34:199-204.
18. Aozasa K. Pyothorax-associated lymphoma. *Int J Hematol*. 1996; 65:9-16.
19. Chan JKC, Aozasa K, Gaulard P. DLBCL associated with chronic inflammation. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2008:245-246.
20. Elaine Jaffe, Daniel A. Arber, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Leticia Quintanilla-Fend. *Hematopathology 2nd Edition*. Elsevier, 25th August 2016.
21. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol*. 1998;16: 2780-2795.
22. Arber DA, George TI. Bone marrow biopsy involvement by non-Hodgkin's lymphoma: frequency of lymphoma types, patterns, blood involvement, and discordance with other sites in 450 specimens. *Am J Surg Pathol*. 2005; 29:1549-57.
23. Bnudno J, Tadmor T, Pittaluga S, Nicolae A, Polliack A, Dunleavy K. Discordant bone marrow involvement in non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2016; 127:965-70.

24. Campbell J, Seymour JF, Matthews J, Wolf M, Stone J, Juneja S. The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement. *Eur J Haematol*. 2006 Jun;76(6):473-80.
25. Park MJ, Park SH, Park PW, Seo YH, Kim KH, Seo JY, et al. Prognostic impact of concordant and discordant bone marrow involvement and cell-of-origin in Korean patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Pathol*. 2015 Sep;68(9):733-8.
26. 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; 29:1452-7.
27. Talaulikar D, Dahlstrom JE, Shadbolt B, McNiven M, Broomfield A, Pidcock M. Occult bone marrow involvement in patients with diffuse large B-cell lymphoma: results of a pilot study. *Pathology*. 2007; 39:580-5.
28. Talaulikar D, Shadbolt B, Dahlstrom JE, McDonald A. Routine use of ancillary investigations in staging diffuse large B-cell lymphoma improves the International Prognostic Index (IPI). *J Hematol Oncol*. 2009; 2:49.
29. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. 2014; 32:3059-68.
30. Miller JB, Variakojis D, Bitran JD, Sweet DL, Kinzie JJ, Golomb HM, et al. Diffuse histiocytic lymphoma with sclerosis: a clinicopathologic entity frequently causing superior venacaval obstruction. *Cancer*. 1981; 47:748-756.
31. 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; 346:1937-47.
32. 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; 89:2291-7.
33. Ott G, Ziepert M, Klapper W, Horn H, Szczepanowski M, Bernd HW, et al. Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. *Blood*. 2010 Dec 2;116(23):4916-25.
34. Haralambieva E, Pulford KA, Lamant L, Pileri S, Roncador G, Gatter KC et al. Anaplastic large-cell lymphomas of B-cell phenotype are anaplastic lymphoma kinase (ALK) negative and belong to the spectrum of diffuse large B-cell lymphomas. *Br J Haematol*. 2000; 109:584-91.

35. 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; 121:2715-24.
36. 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; 167:608-17.
37. Xu-Monette ZY, Tu M, Jabbar KJ, Cao X, Tzankov A, Visco C, et al. Clinical and biological significance of de nova CD5+ diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. *Oncotarget*. 2015; 6:5615-33.
38. 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 Feb 1;99(3):815-21.
39. Zeng W, Fu K, Quintanilla-Fend L, Lim M, Ondrejka S, Hsi ED. Cyclin D1-negative blastoid mantle cell lymphoma identified by SOX11 expression. *Am J Surg Pathol*. 2012; 36:214-9.
40. Hsiao SC, Cortada IR, Coloma L, Ye H, Liu H, Kuo SY, et al. SOX11 is useful in differentiating cyclin D1-positive diffuse large B-cell lymphoma from mantle cell lymphoma. *Histopathology*. 2012; 61:685-93.
41. Ok CY, Xu-Monette ZY, Tzankov A, O'Malley DP, Montes-Moreno S, Visco C, et al. Prevalence and clinical implications of cyclin D1 expression in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) treated with immunochemotherapy: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Cancer*. 2014; 120:1818-29.
42. Vela-Chavez T, Adam P, Kremer M, Bink K, Bacon CM, Menon G, et al. Cyclin D1 positive diffuse large B-cell lymphoma is a post-germinal center-type lymphoma without alterations in the CCND1 gene locus. *Leuk Lymphoma*. 2011; 52:458-66.
43. Green TM, Young KH, Visco C, Xu-Monette ZY, Orazi A, Go RS, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2012 Oct 1;30(28):3460-7.
44. Horn H, Ziepert M, Becher C, Barth TF, Bernd HW, Feller AC, et al. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2013; 121:2253-63.
45. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A, Green T, Wu L, Balasubramanyam A, et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-

cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood*. 2013; 121 :4021-31.

46. 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; 30:3452-9.

47. Kluk MJ, Chapuy B, Sinha P, Roy A, Dal Cin P, Neuberger DS, et al. Immunohistochemical detection of MYC-driven diffuse large B-cell lymphomas. *PLoS ONE*. 2012; 7: e33813.

48. Kluk MJ, Ho C, Yu H, Chen BJ, Neuberger DS, Dal Cin P, et al. MYC immunohistochemistry to Identify MYC-driven B-Cell lymphomas in Clinical Practice. *Am J Clin Pathol*. 145: 166-79.

49. Mahmoud AZ, George TI, Czuchlewski DR, Zhang QY, Wilson CS, Sever CE, et al. Scoring of MYC protein expression in diffuse large B-cell lymphomas: concordance rate among hematopathologists. *Mod Pathol*. 2015; 28:545-51.

50. 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; 165:382-91.

51. 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 Sep 10;33(26):2848-56.

52. 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; 103:275-82.

53. 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; 18:1113-20.

54. Coloma L, Lopez-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; 101:78-84.

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

56. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, van Krieken JH, Jiwa NM, Ossenkoppele GJ, et al. Immunohistochemical profiling based on Bcl2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J Pathol*. 2006; 208:71423.

57. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, Marafioti T, Gambacorta M, Pacini R, et al. A monoclonal antibody (MUM1p) detects expression of the MUM1/IRF4 protein in a subset of germinal center B cells, plasma cells, and activated T cells. *Blood*. 2000; 95:2084-92.
58. Barrans SL, Fenton JA, Banham A, Owen RG, Jack AS. Strong expression of FOXP1 identifies a distinct subset of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients with poor outcome. *Blood*. 2004; 104:2933-5.
59. Montes-Moreno S, Roncador G, Maestre L, Martínez N, Sanchez-Verde L, Camacho FI, et al. Gcet1 (center in), a highly restricted marker for a subset of germinal center-derived lymphomas. *Blood*. 2008; 111:351-8.
60. Natkunam Y, Zhao S, Mason DY, Chen J, Taidi B, Jones M, et al. The oncoprotein LM02 is expressed in normal germinal-center B cells and in human B-cell lymphomas. 2007; *Blood*. 109:1636-42.
61. Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, Krajewska M, Horsman DE, Tolcher AW, et al. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1997; 90:244-51.
62. Hermine O, Haioun C, Lepage E, d'Agay MF, Briere J, Lavnac, C et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood*. 1996; 87:265-72.
63. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G, Dave BJ, Horsman DE, Rosenwald A, et al. BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006; 24:961-B.
64. Kendrick SL, Redd L, Muranyi A, Henricksen LA, Stanislaw S, Smith LM, et al. BCL2 antibodies targeted at different epitopes detect varying levels of protein expression and correlate with frequent gene amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Hum Pathol*. 2014; 45:2144-53.
65. Mottok A, Gascoyne RD. Bromodomain inhibition in diffuse large B-cell lymphoma-lifting MYC a brake. *Clin Cancer Res*. 2015; 21:4-6.
66. Grogan TM, Lippman SM, Spier CM, Slymen DJ, Rybski JA, Rangel CS, et al. Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67. *Blood*. 1988; 71:1157-60.
67. Hasselblom S, Ridell B, Sigurdardottir M, Hansson U, Nilsson-Ehle H, Andersson PO. Low rather than high Ki-67 protein expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49:1501-9.

68. Koh YW, Hwang HS, Park CS, Yoon DH, Suh C, Huh J. Prognostic effect of Ki67 expression in rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone-treated diffuse large B cell lymphoma is limited to non-germinal center B-cell-like subtype in late-elderly patients. *Leuk Lymphoma*. 2015; 56: 2630-6.
69. Miller TP, Grogan TM, Dahlberg S, Spier CM, Brazier RM, Banks PM, et al. Prognostic significance of the Ki-67-associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: a prospective Southwest Oncology Group trial. *Blood*. 1994; 83:1460-8.
70. Yoon DH, Choi DR, Ahn HJ, Kim S, Lee DH, Kim SW, et al. Ki-67 expression as a prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab plus CHOP. *Eur J Haematol*. 2010; 85:149-57.
71. Cheung KJ, Horsman DE, Gascoyne RD. The significance of TP53 in lymphoid malignancies: mutation prevalence, regulation, prognostic impact and potential as a therapeutic target. *Br J Haematol*. 2009; 146:257-69.
72. Leroy K, Haioun C, Lepage E, Le Métayer N, Berger F, Labouyrie E, et al. p53 gene mutations are associated with poor survival in low and low-intermediate risk diffuse large B-cell lymphomas. *Ann Oncol*. 2002; 13:1108-15.
73. Li Y, Gordon MW, Xu-Monette ZY, Visco C, Tzankov A, Zou D, et al. Single nucleotide variation in the TP53 3' untranslated region in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-CHOP: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood*. 2013; 121 :4529-40.
74. Xu-Monette Li, 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; 120:3986-96.
75. Young KH, Leroy K, Møller MB, Colleoni GW, Sánchez-Beato 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; 112:3088-98.
76. 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; 403:503-11.
77. Lenz G, Staudt LM. Aggressive lymphomas. *N Engl J Med*. 2010; 362:1417-29.
78. Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H, et al. Stromal gene signatures in large-Bcell lymphomas. *N Engl J Med*. 2008; 359:2313-23.

79. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, Wiestner A, Staudt LM. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100:9991-6.
80. Hwang HS, Park CS, Yoon DH, Suh C, Huh J. High concordance of gene expression profiling-correlated immunohistochemistry algorithms in diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. *Am J Surg Pathol*. 2014; 38:1046-57.
81. Li T, Medeiros LJ, Lin P, Yin H, Littlejohn M, Im W, et al. Immunohistochemical profile and fluorescence in situ hybridization analysis of diffuse large B-cell lymphoma in northern China. *Arch Pathol Lab Med*. 2010 May;134(5):759-65.
82. Seki R, Ohshima K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H, et al. Prognostic impact of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. *Cancer Sci*. 2009; 100:1842-7.
83. Shiozawa E, Yamochi-Onizuka T, Takimoto M, Ota H. The GCB subtype of diffuse large B-cell lymphoma is less frequent in Asian countries. *Leuk Res*. 2007; 31: 1579-83.
84. Xia ZG, Xu ZZ, Zhao WL, Zhao SQ, Ding F, Chen Y, et al. The prognostic value of immunohistochemical subtyping in Chinese patients with de novo diffuse large B-cell lymphoma undergoing CHOP or R-CHOP treatment. *Ann Hematol*. 2010 Feb;89(2):171-7.
85. Mareschal S, Ruminy P, Bagacean C, Marchand V, Cornic M, Jais JP, et al. Accurate classification of germinal center b-cell-like/activated b-cell-like diffuse large b-cell lymphoma using a simple and rapid reverse transcriptase-multiplex ligation-dependent probe amplification assay: A CALYM study. *J Mol Diagn*. 2015 May;7(3): 273–283.
86. Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih CJ, Walsh W, Jaffe ES, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood*. 2014; 123:1214-7.
87. Choi WW, Weisenburger DD, Greiner TC, Piris MA, Banham AH, Delabie J, et al. A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res*. 2009; 15:5494-502.
88. Coutinho R, Clear AJ, Owen A, Wilson A, Matthews J, Lee A, et al. Poor concordance among nine immunohistochemistry classifiers of cell-of-origin for diffuse large B-cell lymphoma: implications for therapeutic strategies. *Clin Cancer Res*. 2013; 19:6686-95.
89. Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, et al. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J Clin Oncol*. 2011; 29:200-7.

90. Natkunam Y, Farinha P, Hsi ED, Hans CP, Tibshirani R, Sehn LH, et al. LM02 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with anthracycline-based chemotherapy with and without rituximab. *J Clin Oncol*. 2008; 26:447-54.
91. Nyman H, Jerkeman M, Karjalainen-Lindsberg ML, Banham AH, Leppä S., et al. Prognostic impact of activated B-cell focused classification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Mod Pathol*. 2009; 22:1094-101.
92. Visco C, Li Y, Xu-Monette ZY, Miranda RN, Green TM, Li Y, et al. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia*. 2012; 26:2103-13.
93. Read JA, Koff JL, Nastoupil LJ, Williams JN, Cohen JB, Flowers CR. Evaluating cell-of-origin subtype methods for predicting diffuse large B-cell lymphoma survival: a meta-analysis of gene expression profiling and immunohistochemistry algorithms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014; 14:460-467.
94. Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS, Dave SS, Wright G, Grant N, et al. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2009; 113:6069-76.
95. Mathews Griner LA, Guha R, Shinn P, Young RM, Keller JM, Liu D, et al. High-throughput combinatorial screening identifies drugs that cooperate with ibrutinib to kill activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111 :2349-54.
96. Nowakowski GS, LaPlant B, Habermann TM, Rivera CE, Macon WR, Inwards DJ, et al. Lenalidomide can be safely combined with R-CHOP (R2CHOP) in the initial chemotherapy for aggressive B-cell lymphomas: phase I study. *Leukemia*. 2011; 25:1877-81.
97. Nowakowski GS, LaPlant B, Macon WR, Reeder CB, Foran JM, Nelson GD, et al. Lenalidomide combined with R-CHOP overcomes negative prognostic impact of non-germinal center B-cell phenotype in newly diagnosed diffuse large B-Cell lymphoma: a phase II study. *J Clin Oncol*. 2015; 33:251-7.
98. Offner F, Samoilova O, Osmanov E, Eom HS, Topp MS, Raposo J, et al. Frontline rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone with bortezomib (VR-CAP) or vincristine (R-CHOP) for non-GCB DLBCL. *Blood*. 2015; 126:1893-901.
99. Wilson WH, Young RM, Schmitz R, Yang Y, Pittaluga S, Wright G, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med*. 2015; 21:922-6.
100. Yang Y, Shaffer AL 3rd, Emre NC, Ceribelli M, Zhang M, Wright G, et al. Exploiting synthetic lethality for the therapy of ABC diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2012; 21 :723-37.

101. 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.
102. Gascoyne RD. Pathologic prognostic factors in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1997; 11:847-862.
103. 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.
104. Akyurek N, Uner A, Benekli M, Barista I. Prognostic significance of MYC, BCL2, and BCL6 rearrangements in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab. *Cancer*. 2012; 118:41734183.
105. Copie-Bergman C, Gaulard P, Leroy K, Briere J, Baia M, Jais JP, et al. Immuno-fluorescence in situ hybridization index predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP: a GELA study. *J Clin Oncol*. 2009;27:5573-5579.
106. Tibiletti MG, Martin V, Bernasconi B, Del Curto B, Pecciarini L, Uccella S, et al. BCL2, BCL6, MYC, MALT 1, and BCL10 rearrangements in nodal diffuse large B-cell lymphomas: a multicenter evaluation of a new set of fluorescent in situ hybridization probes and correlation with clinical outcome. *Hum Pathol*. 2009; 40:645-652.
107. Obermann EC, Csato M, Dirnhofer S, Tzankov A. BCL2 gene aberration as an IPI-independent marker for poor outcome in non-germinal-centre diffuse large B cell lymphoma. *J Clin Pathol*. 2009; 62:903-907.
108. 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.
109. Kramer MH, Hermans J, Wijburg E, Philippo K, Geelen E, van Krieken JH, et al. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 1998; 92:3152-3162.
110. 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.
111. Bastard C, Deweindt C, Kerckaert JP, Lenormand B, Rossi A, Pezzella F, et al. LAZ3 rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 217 patients. *Blood*. 1994; 83:2423-2427.

112. Lo Coco F, Ye BH, Lista F, Corradini P, Offit K, Knowles DM, et al. Rearrangements of the BCL6 gene in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1994; 83:1757-1759.
113. Otsuki T, Yano T, Clark HM, Bastard C, Kerckaert JP, Jaffe ES, et al. Analysis of LAZ3 (BCL-6) status in B-cell non-Hodgkin's lymphomas: results of rearrangement and gene expression studies and a mutational analysis of coding region sequences. *Blood*. 1995;85: 2877-2884.
114. Migliazza A, Martinotti S, Chen W, Fusco C, Ye BH, Knowles DM, et al. Frequent somatic hypermutation of the 5' noncoding region of the BCL6 gene in B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92:12520-12524.
115. Capello D, Vitolo U, Pasqualucci L, Quattrone S, Migliaretti G, Fassone L, et al. Distribution and pattern of BCL-6 mutations throughout the spectrum of B-cell neoplasia. *Blood*. 2000; 95:651-659.
116. Pasqualucci L, Migliazza A, Fracchiolla N, William C, Neri A, Baldini L, et al. BCL-6 mutations in normal germinal center B cells: evidence of somatic hypermutation acting outside Ig loci. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95:11816-11821.
117. Shen HM, Peters A, Baron B, Zhu X, Storb U. Mutation of BCL-6 gene in normal B cells by the process of somatic hypermutation of Ig genes. *Science*. 1998;280: 1750-1752.
118. Lossos IS, Levy R. Higher-grade transformation of follicle center lymphoma is associated with somatic mutation of the 5' noncoding regulatory region of the BCL-6 gene. *Blood*. 2000; 96:635-639.
119. Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of human B cell lymphoma. *J Clin Pathol*. 2002; 55:A24.
120. Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth TF, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med*. 2006; 354:2419-2430.
121. 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 Nov 26;126(22):2466-74.
122. 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.
123. 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; 155:274277.

124. Stasik CJ, Nitta H, Zhang W, Mosher CH, Cook JR, Tubbs RR, et al. Increased MYC gene copy number correlates with increased mRNA levels in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica*. 2010; 95:597603.
125. Ichikawa A. Prognostic and predictive significance of p53 mutation in aggressive B-cell lymphoma. *Int J Hematol*. 2000; 71:211-220.
126. 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.
127. 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; 82:1994-2004.
128. Du M, Peng H, Singh N, Isaacson PG, Pan L. The accumulation of p53 abnormalities is associated with progression of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Blood*. 1995; 86:4587-4593.
129. Hummel M, Anagnostopoulos I, Korbjuhn P, Stein H. Epstein-Barr virus in B-cell non-Hodgkin's lymphomas: unexpected infection patterns and different infection incidence in low- and high-grade types. *J Pathol*. 1995; 175:263-271.
130. Park S, Lee J, Ko YH, Han A, Jun HJ, Lee SC, et al. The impact of Epstein-Barr virus status on clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2007; 110:972-978.
131. Sehn LH, Gascoyne RD. Diffuse large B-cell lymphoma: optimizing outcome in the context of clinical and biologic heterogeneity. *Blood*. 2015; 125:22-32.
132. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1993;329: 987-994.
133. 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.
134. 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.
135. 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.
136. 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.

137. 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.
138. Müller C, Murawski N, Wiesen MH, Held G, Poeschel V, Zeynalova S, et al. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. *Blood*. 2012; 119:327684.
139. 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.
140. Porrata LF, Ristow KM, Habermann TM, Witzig TE, Colgan JP, Inwards DJ, et al. Peripheral blood absolute lymphocyte/monocyte ratio during rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone treatment cycles predicts clinical outcomes in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2014; 55:2728-38.
141. 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.
142. Hodges GF, Lenhardt TM, Cotelingam JD. Bone marrow involvement in large-cell lymphoma. Prognostic implications of discordant disease. *Am J Clin Pathol*. 1994;101: 305-311.
143. 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.
144. Robertson LE, Redman JR, Butler JJ, Osborne BM, Velasquez WS, McLaughlin P, et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large-cell lymphoma: a distinct clinical-pathologic entity associated with a continuous risk of relapse. *J Clin Oncol*. 1991; 9:236-242.
145. 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; 109:1857-1861.
146. Baars JW, de Jong D, Willemsse EM, Gras L, Dalesio O, v Heerde P, et al. Diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphomas: the clinical relevance of histological subclassification. *Br J Cancer*. 1999; 79:1770-1776.
147. Vilella L, Lopez-Guillermo A, Montoto S, Rives S, Bosch F, Perales M, et al. Prognostic features and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma who do not achieve a complete response to first-line regimens. *Cancer*. 2001; 91:1557-1562.

148. Diebold J, Anderson JR, Armitage JO, Connors JM, MacLennan KA, Muller-Hermelink HK, et al. Diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic analysis of 444 cases classified according to the updated Kiel classification. *Leuk Lymphoma*. 2002; 43:97-104.
149. Nakamine H, Bagin RG, Vose JM, Bast MA, Bierman PJ, Armitage JO, et al. Prognostic significance of clinical and pathologic features in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer*. 1993; 71:3130-3137.
150. Salar A, Fernandez de Sevilla A, Romagosa V, DomingoClaros 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.
151. Bachy E, Salles G. Treatment approach to newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. *Semin Hematol*. 2015; 52:107-18.
152. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006; 24:995-1007.
153. O'Malley DP, Auerbach A, Weiss LM. Practical Applications in Immunohistochemistry: Evaluation of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Related Large B-Cell Lymphomas. *Arch Pathol Lab Med*. 2015; 139:1094-107.
154. 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.
155. Xu Y, McKenna RW, Molberg KH, Kroft SH. Clinicopathologic analysis of CD10+ and CD10- diffuse large B-cell lymphoma. Identification of a high-risk subset with coexpression of CD10 and bcl-2. *Am J Clin Pathol*. 2001; 116:183-190.
156. 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.
157. Barrans SL, Carter I, Owen RG, Davies FE, Patmore RD, Haynes AP, et al. Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2002; 99:1136-1143.
158. 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; 117:322-32.
159. 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; 88:1046-51.

160. Wilson WH, Grossbard ML, Pittaluga S, Cole D, Pearson D, Drbohlav N, et al. Doseadjusted EPOCH chemotherapy for untreated large B-cell lymphomas: a pharmacodynamic approach with high efficacy. *Blood*. 2002; 99:2685-93.

161. Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, Emile JF, Lederlin P, Sebban C, et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2-associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood*. 2003; 101:4279-84.

162. Winter JN, Weller EA, Horning SJ, Krajewska M, Variakojis D, Habermann TM, et al. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood*. 2006; 107:4207-13.

163. Fu K, Weisenburger DD, Choi WW, Perry KD, Smith LM, Shi X, et al. Addition of rituximab to standard chemotherapy improves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2008; 26:4587-94.

164. Scott DW. Cell-of-Origin in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Are the Assays Ready for the Clinic? *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015;35 United States: e458-e466.

165. 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.

166. Yan LX, Liu YH, Luo DL, Zhang F, Cheng Y, Luo XL, et al. MYC expression in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in Chinese patients with diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. *PLoS ONE*. 2014; 9: e104068.

167. Bellas C, Garcia D, Vicente Y, Kilany L, Abaira V, Navarro B, et al. Immunohistochemical and molecular characteristics with prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma. *PLoS ONE*. 2014; 9: e98169.

168. Karube K, Campo E. MYC alterations in diffuse large B-cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2015; 52:97-106.

169. 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; 39:1250-8.

170. Harada S, Suzuki R, Uehira K, Yatabe Y, Kagami Y, Ogura M, et al. Molecular and immunological dissection of diffuse large B cell lymphoma: CD5+, and CD5- with CD10+ groups may constitute clinically relevant subtypes. *Leukemia*. 1999; 13:144-7.

171. 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; 93:1195-202.
172. Mitrovic Z, Iqbal J, Fu K, Smith LM, Bast M, Greiner TC, et al. CD43 expression is associated with inferior survival in the non-germinal centre B-cell subgroup of diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2013; 162: 87-92.
173. Ma XB, Zheng Y, Yuan HP, Jiang J, Wang YP. CD43 expression in diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified: CD43 is a marker of adverse prognosis. *Hum Pathol*. 2015; 46:593-9,
174. Obermann EC, Csato M, Dirnhofer S, et al. Aberrations of the MYC gene in unselected cases of diffuse large B-cell lymphoma are rare and unpredictable by morphological or immunohistochemical assessment. *J Clin Pathol*. 2009; 62:754-6.
175. Tzankov A, Xu-Monette ZY, Gerhard M, Visco C, Dirnhofer S, Gisin N, et al. Rearrangements of MYC gene facilitate risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab-CHOP. *Mod Pathol*. 2014; 27:958-71.
176. 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.
177. 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; 6:18374-88.
178. 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 :2332-43.
179. Shustik J, Han G, Farinha P, Johnson NA, Ben Neriah S, Connors JM, et al. Correlations between BCL6 rearrangement and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP or R-CHOP. *Haematologica*. 2010; 95:96-101.
180. 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.
181. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood*. 2011; 117:2319-31.

182. Johnson NA, Savage KJ, Ludkovski O, Ben-Neriah S, Woods R, Steidl C, et al. Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood*. 2009; 114:2273-9.
183. Li S, Desai P, Lin P, Yin CC, Tang G, Wang XJ, et al. MYC/ BCL6 double-hit lymphoma (DHL): a tumour associated with an aggressive clinical course and poor prognosis. *Histopathology*. 2016; 6S:1090-8.
184. Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB, Swerdlow SH. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2013; 37:323-32.
185. Ye Q, Xu-Monette ZY, Tzankov A, Deng L, Wang X, Manyam GC, et al. Prognostic impact of concurrent MYC and BCL6 rearrangements and expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*. 2016; 7:2401-16.
186. Jardin F, Jais JP, Molina TJ, Parmentier F, Picquenot JM, Ruminy P, et al. Diffuse large B-cell lymphomas with CDKN2A deletion have a distinct gene expression signature and a poor prognosis under R-CHOP treatment: a GELA study. *Blood*. 2010; 116:1092-104.
187. Lenz G, Davis RE, Ngo VN, Lam L, George TC, Wright GW, et al. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science*. 2008; 319:1676-9.
188. Trinh DL, Scott DW, Morin RD, Mendez-Lago M, An J, Jones SJ, et al. Analysis of FOXO1 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2013; 121:3666-74.
189. Intlekofer AM, Younes A. Precision therapy for lymphoma-current state and future directions. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014; 11:585-96.
190. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH. Diffuse large B-cell lymphoma-treatment approaches in the molecular era. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014; 11:12-23.
191. Scott DW, Gascoyne RD. The tumour microenvironment in B cell lymphomas. *Nat Rev Cancer*. 2014; 14:517-34.
192. 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; 118:1350-8.
193. Challa-Malladi M, Lieu YK, Califano O, Holmes AB, Bhagat G, Murty VV, et al. Combined genetic inactivation of λ 2-Microglobulin and CD58 reveals frequent escape from immune recognition in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2011; 20:728-40.
194. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature*. 2011; 476:298-303.

195. Rimsza LM, Roberts RA, Campo E, Grogan TM, Bea S, Salaverria I, et al. Loss of major histocompatibility class II expression in non-immune-privileged site diffuse large B-cell lymphoma is highly coordinated and not due to chromosomal deletions. *Blood*. 2006; 107:1101-7.
196. Rimsza LM, Roberts RA, Miller TP, Unger JM, LeBlanc M, Braziel RM, et al. Loss of MHC class II gene and protein expression in diffuse large B-cell lymphoma is related to decreased tumor immunosurveillance and poor patient survival regardless of other prognostic factors: a follow-up study from the Leukemia and Lymphoma Molecular Profiling Project. *Blood*. 2004; 103:4251-8.
197. Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, Arakawa F, Ichikawa A, Niino D, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2015 Nov 5;126(19):2193-201.
198. Alencar AJ, Malumbres R, Kozloski GA, Advani R, Talreja N, Chinichian S, et al. MicroRNAs are independent predictors of outcome in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Clin Cancer Res*. 2011; 17:4125-35.
199. Iqbal J, Shen Y, Huang X, Liu Y, Wake L, Liu C, Deffenbacher K, et al. Global microRNA expression profiling uncovers molecular markers for classification and prognosis in aggressive B-cell lymphoma. *Blood*. 2015; 125:1137-45.
200. Lim EL, Trinh DL, Scott DW, Chu A, Krzywinski M, Zhao Y, et al. Comprehensive miRNA sequence analysis reveals survival differences in diffuse large B-cell lymphoma patients. *Genome Biol*. 2015; 16:18.
201. Lasota J, Hyjek E, Koo CH, Blonski J, Miettinen M. Cytokeratin-positive large-cell lymphomas of B-cell lineage. A study of five phenotypically unusual cases verified by polymerase chain reaction. *Am J Surg Pathol*. 1996; 20:346-354.
202. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2008:262-4.
203. Dave SS, Fu K, Wright GW, Lam LT, Kluin P, Boerma EJ, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med*. 2006; 354:2431-42.
204. Bernard M, Gressin R, Lefrere F, Drenou B, Branger B, Caulet-Maugendre S, et al. Blastic variant of mantle cell lymphoma: a rare but highly aggressive subtype. *Leukemia*. 2001; 15:1785-91.
205. Ott G, Kalla J, Hanke A, Muller JG, Rosenwald A, Katzenberger T, et al. The cytomorphological spectrum of mantle cell lymphoma is reflected by distinct biological features. *Leuk Lymphoma*. 1998; 32:55-63.

206. Segal GH, Kjeldsberg CR, Smith GP, Perkins SL. CD30 antigen expression in florid immunoblastic proliferations. A clinicopathologic study of 14 cases. *Am J Clin Pathol.* 1994; 102:292-8.
207. Strickler JG, Fedeli F, Horwitz CA, Copenhaver CM, Frizzera G. Infectious mononucleosis in lymphoid tissue. Histopathology, in situ hybridization, and differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med.* 1993; 117: 269-78.
208. Anagnostopoulos I, Hummel M, Kreschel C, Stein H. Morphology, immunophenotype, and distribution of latently and/or productively Epstein-Barr virus-infected cells in acute infectious mononucleosis: implications for the interindividual infection route of Epstein-Barr virus. *Blood.* 1995; 85:744-50.
209. Kuo TT. Kikuchi's disease (histiocytic necrotizing lymphadenitis). A clinicopathologic study of 79 cases with an analysis of histologic subtypes, immunohistology, and DNA ploidy. *Am J Surg Pathol.* 1995; 19: 798-809.
210. Sumiyoshi Y, Kikuchi M, Takeshita M, Ohshima K, Masuda Y, Parwaresch MR. Immunohistologic studies of Kikuchi's disease. *Hum Pathol.* 1993;24:1114-9.
211. Tsang WY, Chan JK, Ng CS. Kikuchi's lymphadenitis. A morphologic analysis of 75 cases with special reference to unusual features. *Am J Surg Pathol.* 1994; 18: 219-231.
212. John Goldblum Laura Lamps Jesse McKenney Jeffrey Myers. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 11th Edition. Elsevier. 2017.
213. Ciccone M, Agostinelli C, Rigolin GM, Piccaluga PP, Cavazzini F, Righi S, Sista MT, et al. Proliferation centers in chronic lymphocytic leukemia: correlation with cytogenetic and clinicobiological features in consecutive patients analyzed on tissue microarrays. *Leukemia.* 2012; 26:499-508.
214. Falchi L, Keating MJ, Marom EM, Truong MT, Schlette EJ, Sargent RL, et al. Correlation between FDG/PET, histology, characteristics, and survival in 332 patients with chronic lymphoid leukemia. *Blood.* 2014; 123:2783-90.
215. Gine E, Martinez A, Villamor N, López-Guillermo A, Camos M, Martinez D, et al. Expanded and highly active proliferation centers identify a histological subtype of chronic lymphocytic leukemia ("accelerated" chronic lymphocytic leukemia) with aggressive clinical behavior. *Haematologica.* 2010; 95:1526-33.
216. Kroft SH: Lymphoma transformation: genetic relatedness, stealth lymphomas, and the final frontier. *Am J Clin Pathol* 2001; 116: 811-4.
217. Parikh SA, Kay NE, Shanafelt TD. How we treat Richter syndrome. *Blood.* 2014; 123:1647-57.

218. Chigrinova E, Rinaldi A, Kwee I, Rossi D, Rancoita PM, Strefford JC, et al. Two main genetic pathways lead to the transformation of chronic lymphocytic leukemia to Richter syndrome. *Blood* 2013; 122: 2673-82.
219. Wagner-Johnston ND, Link BK, Byrtek M, Dawson KL, Hainsworth J, Flowers CR, et al. Outcomes of transformed follicular lymphoma in the modern era: a report from the National LymphoCare Study (NLCS). *Blood*. 2015; 126:851-7.
220. Xu X, Zhang L, Wang Y, Zhang Q, Zhang L, Sun B, et al. Double-hit and triple-hit lymphomas arising from follicular lymphoma following acquisition of MYC: report of two cases and literature review. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013; 6:788-94.
221. Kobrin C, Cha SC, Qin H, Raffeld M, Fend F, Quintanilla-Martinez L, et al. Molecular analysis of light-chain switch and acute lymphoblastic leukemia transformation in two follicular lymphomas: implications for lymphomagenesis. *Leuk Lymphoma*. 2006; 47: 1523-34.
222. Kroft SH, Domiati-Saad R, Finn WG, Dawson DB, Schnitzer B, Singleton TP, et al. Precursor B-lymphoblastic transformation of grade I follicle center lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2000; 113:411-8.
223. Fan Z, Natkunam Y, Bair E, Tibshirani R, Warnke RA. Characterization of variant patterns of nodular lymphocyte predominant hodgkin lymphoma with immunohistologic and clinical correlation. *Am J Surg Pathol*. 2003; 27:1346-56.
224. Hartmann S, Schuhmacher B, Rausch T, Fuller L, Döring C, Weniger M, et al. Highly recurrent mutations of SGK1, DUSP2 and JUNB in nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. *Leukemia*. 2016; 30:844-53.
225. Hartmann S, Eichenauer DA, Plütschow A, Mottok A, Bob R, Koch K, et al. The prognostic impact of variant histology in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Study Group (GHSG). *Blood*. 2013; 122:4246-52.
226. Xing KH, Kahlon A, Skinnider BF, Connors JM, Gascoyne RD, Sehn LH, et al. Outcomes in splenic marginal zone lymphoma: analysis of 107 patients treated in British Columbia. *Br J Haematol*. 2015; 169:520-7.
227. Traverse-Glehen A, Felman P, Callet-Bauchu E, Gazzo S, Baseggio L, Bryon PA, et al. A clinicopathological study of nodal marginal zone B-cell lymphoma. A report on 21 cases. *Histopathology*. 2006; 48:162-73.
228. Molina T J, Lin P, Swerdlow SH, Cook JR. Marginal zone lymphomas with plasmacytic differentiation and related disorders. *Am J Clin Pathol*. 2011; 136:211-25.

229. Thieblemont C, Berger F, Dumontet C, Moullet I, Bouafia F, Felman P, Salles G, et al. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma is a disseminated disease in one third of 158 patients analyzed. *Blood*. 2000; 95:802-6.
230. Thieblemont C, Bertoni F, Gopie-Bergman C, Ferreri AJ, Ponzoni M. Chronic inflammation and extra-nodal marginal-zone lymphomas of MALT-type. *Semin Cancer Biol*. 2014; 24:33-42.
231. Lin P, Mansoor A, Bueso-Ramos C, Hao S, Lai R, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma occurring in patients with lymphoplasmacytic lymphoma/ Waldenström macroglobulinemia. Clinicopathologic features of 12 cases. *Am J Clin Pathol*. 2003; 120:246-53.
232. Dabbs, David J., MD. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*, Fifth Edition. Elsevier; January 30, 2018.
233. Oliveira JL, Grogg KL, Macon WR, Dogan A, Feldman AL. Clinicopathologic features of B-cell lineage neoplasms with aberrant expression of CD3: a study of 21 cases. *Am J Surg Pathol*. 2012; 36:1364–70.
234. Faramarz Naeim, P. Nagesh Rao, Sophie X. Song, Wayne W. Grody. *Atlas of Hematopathology, Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches* 2013, Pages 25-46.
235. Tapia G, Lopez R, Muñoz-Mármol AM, Mate JL, Sanz C, Marginet R, et al. Immunohistochemical detection of MYC protein correlates with MYC gene status in aggressive B cell lymphomas. *Histopathology*. 2011; 59:672–8.
236. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev*. 2010 Jul; 236:219-42.
237. Hawkes EA, Grigg A, Chong G. Programmed cell death-1 inhibition in lymphoma. *Lancet Oncol*. 2015 May;16(5): e234-45.
238. Ishida M, Iwai Y, Tanaka Y, Okazaki T, Freeman GJ, Minato N, et al. Differential expression of PD-L1 and PD-L2, ligands for an inhibitory receptor PD-1, in the cells of lymphohematopoietic tissues. *Immunol Lett*. 2002 Oct 21;84(1):57-62.
239. Tseng SY, Otsuji M, Gorski K, Huang X, Slansky JE, Pai SI, et al. B7-DC, a new dendritic cell molecule with potent costimulatory properties for T cells. *J Exp Med*. 2001 Apr 2;193(7):839-46.
240. Bryan LJ, Gordon LI. Blocking tumor escape in hematologic malignancies: the anti-PD-1 strategy. *Blood Rev*. 2015 Jan;29(1):25-32.
241. Hino R, Kabashima K, Kato Y, Yagi H, Nakamura M, Honjo T, et al. Tumor cell expression of programmed cell death-1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer*. 2010 Apr 1;116(7):1757-66.

242. Bouwhuis MG, Ten Hagen TL, Suci S, Eggermont AM. Autoimmunity and treatment outcome in melanoma. *Curr Opin Oncol*. 2011 Mar;23(2):170-6.
243. Konishi J, Yamazaki K, Azuma M, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Nishimura M. B7-H1 expression on non-small cell lung cancer cells and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes and their PD-1 expression. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 1;10(15):5094-100.
244. Ansell SM. Where Do Programmed Death-1 Inhibitors Fit in the Management of Malignant Lymphoma? *J Oncol Pract*. 2016 Feb;12(2):101-6.
245. 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 Jul 1;17(13):4232-44.
246. Wilcox RA, Feldman AL, Wada DA, Yang ZZ, Comfere NI, Dong H, et al. B7-H1 (PD-L1, CD274) suppresses host immunity in T-cell lymphoproliferative disorders. *Blood*. 2009 Sep 3;114(10):2149-58.
247. Batlevi CL, Matsuki E, Brentjens RJ, Younes A. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016 Jan;13(1):25-40.
248. Myklebust JH, Irish JM, Brody J, Czerwinski DK, Houot R, Kohrt HE, et al. High PD-1 expression and suppressed cytokine signaling distinguish T cells infiltrating follicular lymphoma tumors from peripheral T cells. *Blood*. 2013 Feb 21;121(8):1367-76.
249. Xerri L, Chetaille B, Serriari N, Attias C, Guillaume Y, Arnoulet C, et al. Programmed death 1 is a marker of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and B-cell small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia. *Hum Pathol*. 2008 Jul;39(7):1050-8.
250. Dorfman DM, Brown JA, Shahsafaei A, Freeman GJ. Programmed death-1 (PD-1) is a marker of germinal center-associated T cells and angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2006 Jul;30(7):802-10.
251. Villasboas JC, Ansell S. Checkpoint Inhibition: Programmed Cell Death 1 and Programmed Cell Death 1 Ligand Inhibitors in Hodgkin Lymphoma. *Cancer J*. 2016 Jan-Feb;22(1):17-22.
252. Iwai Y, Terawaki S, Honjo T. PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector T cells. *Int Immunol*. 2005 Feb;17(2):133-44.
253. Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczowski K, Hetuin D, et al. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood*. 2007 Jul 1;110(1):296-304.

254. Chemnitz JM, Eggle D, Driesen J, Classen S, Riley JL, Debey-Pascher S, et al. RNA fingerprints provide direct evidence for the inhibitory role of TGFbeta and PD-1 on CD4+ T cells in Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2007 Nov 1;110(9):3226-33.
255. Shimauchi T, Kabashima K, Nakashima D, Sugita K, Yamada Y, Hino R, et al. Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and non-neoplastic CD4+ T-cells in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Int J Cancer*. 2007 Dec 15;121(12):2585-90.
256. Juárez-Salcedo LM, Sandoval-Sus J, Sokol L, Chavez JC, Dalia S. The role of anti-PD-1 and anti-PD-L1 agents in the treatment of diffuse large B-cell lymphoma: The future is now. *Crit Rev Oncol Hematol* 2017 May; 113:52-62.
257. Wu P, Wu D, Li L, Chai Y, Huang J. PD-L1 and Survival in Solid Tumors: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015 Jun 26;10(6): e0131403.
258. Hirano F, Kaneko K, Tamura H, Dong H, Wang S, Ichikawa M, et al. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Res*. 2005 Feb 1;65(3):1089-96.
259. Okazaki T, Chikuma S, Iwai Y, Fagarasan S, Honjo T. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. *Nat Immunol*. 2013 Dec;14(12):1212-8.
260. Lesokhin AM, Ansell SM, Armand P, Scott EC, Halwani A, Gutierrez M, et al. Nivolumab in Patients With Relapsed or Refractory Hematologic Malignancy: Preliminary Results of a Phase Ib Study. *J Clin Oncol*. 2016 Aug 10;34(23):2698-704.
261. Chen BJ, Chapuy B, Ouyang J, Sun HH, Roemer MG, Xu ML, et al. PD-L1 expression is characteristic of a subset of aggressive B-cell lymphomas and virus-associated malignancies. *Clin Cancer Res*. 2013 Jul 1;19(13):3462-73.
262. Kwiecinska A, Tsesmetzis N, Ghaderi M, Kis L, Saft L, Rassidakis GZ. CD274 (PD-L1)/PDCD1 (PD-1) expression in de novo and transformed diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2018 Mar;180(5):744-748.
263. Matsuki E, Younes A. Checkpoint inhibitors and other immune therapies for Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. *Curr Treat Options Oncol* 2016 Jun;17(6):31.
264. 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 Jun;68(7):1079-89.
265. Xia Y, Jeffrey Medeiros L, Young KH. Signaling pathway and dysregulation of PD1 and its ligands in lymphoid malignancies. *Biochim Biophys Acta* 2016 Jan; 1865(1):58-71.

266. Menter T, Bodmer-Haecki A, Dirnhofer S, Tzankov A. Evaluation of the diagnostic and prognostic value of PDL1 expression in Hodgkin and B-cell lymphomas. *Hum Pathol.* 2016 Aug; 54:17-24. doi: 10.1016/j.humpath.2016.03.005.
267. Berghoff AS, Ricken G, Widhalm G, Rajky O, Hainfellner JA, Birner P, et al. PD1 (CD279) and PDL1 (CD274, B7H1) expression in primary central nervous system lymphomas (PCNSL). *Clin Neuropathol.* 2014 Jan-Feb;33(1):42-9.
268. Four M, Cacheux V, Tempier A, Platero D, Fabbro M, Marin G, et al. PD1 and PDL1 expression in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma are frequent and expression of PD1 predicts poor survival. *Hematol Oncol.* 2017 Dec;35(4):487-96.
269. 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. *Am J Hematol.* 2016 Oct;91(10): E436-41.
270. Vranic S, Ghosh N, Kimbrough J, Bilalovic N, Bender R, Arguello D, et al. PD-L1 status in refractory lymphomas. *PLoS One.* 2016 Nov 18;11(11): e0166266.
271. Türkiye’de Son Yıllarda Güncel Tedavilere Ulaşım Konusunda Sorunlar İle İlgili Hazırlanan Rapor, Türk Tıbbi Onkoloji Derneği, <https://kanser.org/saglik/>
272. Kleffel S, Posch C, Barthel SR, Mueller H, Schlapbach C, Guenova E., et al. Melanoma Cell-Intrinsic PD-1 Receptor Functions Promote Tumor Growth. *Cell.* 2015; Sep 10;162(6):1242-56.
273. He R, Ding W, Viswanatha DS, Chen D, Shi M, Van Dyke D, et al. PD-1 Expression in Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma (CLL/SLL) and Large B-cell Richter Transformation (DLBCL-RT): A Characteristic Feature of DLBCL-RT and Potential Surrogate Marker for Clonal Relatedness. *Am J Surg Pathol.* 2018 Jul;42(7):843-54.
274. 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 Dec 16;36(1):94.
275. 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 Jun;68(7):1079-89.
276. Ansell SM. Nivolumab in the Treatment of Hodgkin Lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2017 Apr 1;23(7):1623-1626.

8.EKLER



EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel:0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetik@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	De Novo Ve Transforme Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomalarda Pd-1 Ve Pd-L1 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Mine HEKİMGİL			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Tıbbi Patoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİĞİ	Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>	FAZ 4 <input type="checkbox"/>
	Gözlemsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/>	Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması <input type="checkbox"/>			
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/>	İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz Arşiv Materyali Çalışması.				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	04.07.2017	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	04.07.2017	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> İmza Tarihi: 29.09.2017			
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 17-8.1/4	Tarih: 29.09.2017			
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak koleksiyon materyalleriyle / rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırma kapsamında değerlendirilmiş; araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşenur OKTAY				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlgi (*) Katılım (**) İmza	
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiagnostik	EÜ. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	
			22	28.09.2011/05	
				Sayfa	
				1/2	



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 17-8.1/4				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yard. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ ÜĞURLUBAY Üye	Ceza Hukuku	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİDİDİR
Sumru ERGÖZ
EÜTF Klinik Araştırmaları
Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 105	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	-------------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Arşivimizde bulunan materyalinizdeki tümör dokusunda hastalığın seyrini, gelişimini (prognoz) ve tedavisini etkileyecek antikörlerin olup olmadığının araştırılmasıdır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için sizden alınmış olan doku örneğinin (ameliyat materyali ya da biyopsi) patolojik değerlendirmesi “diffüz büyük B hücreli lenfoma” yönünde tanı almış olması gerekir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Çalışma için size ek bir işlem yapılmayacaktır. Tüm incelemeler sizden daha önce alınmış olan doku örneğinin parafin bloğunda gerçekleştirilecektir.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak rutin kontrollerinizi hastanemizde yaptırmanız ve sonuçları dosyanıza işletmeniz sizin sorumluluklarınızdır. Bu koşullara uymadığımız durumlarda araştırmacı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 150'dir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 36 aydır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırmada sizin için herhangi bir zarar yok olup, bu çalışmadan çıkarılan sonuçlarla size ve sizin hastalığınıza sahip kişilere nasıl yaklaşacağımıza, hangi tedaviyi izleyeceğimize ve hastalığının seyri konusunda bir öngörüde bulunmamıza yardımcı olabileceksiniz. Ancak siz doğrudan yarar görmeyebilirsiniz ya da tedavinizin seyrini değiştirebilirsiniz.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Size bu araştırmada, bu çalışma ile ilgili olarak ek hiç bir şey yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu herhangi bir ilaç ve/veya besinler yoktur.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Gerektiğinde bizimle ilişki kurmadığınız takdirde sizin izniniz olmadan sizi çalışmadan çıkarabiliriz.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Biz sadece araştırma yapıyoruz, bu çalışmaya girdiğiniz sorunla ilgili başka bir tedavi yapılmayacaktır.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu değildir. Tüm işlemler sizden daha önce alınmış olan doku örneğinden hazırlanmış parafin blok üzerinde yapılacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Bu çalışma ile ilgili bir sorun yaşamayacaksınız. Ancak yine de herhangi bir soru ya da düşünceniz olursa 02323881025 no.lu telefondan ya da Dr. Hafize Özdemir (cep telefon no: 05376781957) ile görüşebilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDİR ?

Çalışmayı destekleyen kurum yoktur.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDİR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırmacı, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MIDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 2 sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana

yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Dr. Hafize Özdemir	
TARİH		

GEREKTIĐI DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		



OLGU RAPOR FORMU

Tarih: .../.../20..

Çalışma Adı/Kodu: *De novo* ve transforme diffüz büyük B hücreli lenfomalarda PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun değerlendirilmesi

-Olgu numarası:

-Biyopsi No:

-Yaş:

-Cinsiyet:

-Tanı:

-Primer / Sekonder:

-Tutulmuş bölge:

-Morfolojik varyant:

-Reaktif hücre komponenti:

-Hans algoritmasına göre hücre kökeni:

-Hazır boyalı immünohistokimyasal boyalı preparatların değerlendirmesi:

-Kemik iliği tutulumu:

-Ann Arbor evresi:

-İlk tanı aldığı tarih:

-Hastaliksız sağ kalım süresi:

-Sağ kalım süresi:

-Tedavi alıp-almadığı:

-Nüks durumu:

-Ek hastalık olup olmadığı:

-İmmünohistokimyasal yöntem ile neoplastik hücrelerde PD-1 ekspresyonu:

-İmmünohistokimyasal yöntem ile tümör mikroçevresindeki reaktif hücrelerde PD-1 ekspresyonu:

-İmmünohistokimyasal yöntem ile neoplastik hücrelerde PD-L1 ekspresyonu:

-İmmünohistokimyasal yöntem ile tümör mikroçevresindeki reaktif hücrelerde PD-L1 ekspresyonu:

-Çalışmadan çekilmek isteme nedeni (varsa belirtiniz):

-Notlar:



